

УДК 57.069.4:582.263

Б.К. Касымбеков, *Д.Г. Фалеев

Научно-исследовательский институт проблем экологии,
 Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы
 *E-mail: ex_eko@mail.ru

Влияние арбускулярной микоризы и синезеленых водорослей на содержание фотосинтетических пигментов в листьях *Avena sativa* L.

Истощение и деградация почв приводит к снижению продуктивности возделываемых сельскохозяйственных культур, снижению устойчивости растений к неблагоприятным условиям окружающей среды. Одним из способов восстановления плодородия почвы является использование микориз. Проведенные исследования показали, что совместная инокуляция спорами эндомикоризных грибов (pp. *Claroideoglossum* и *Rhizophagus*) с суспензиями синезеленых микроводорослей (*Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br.) может значительно увеличивать жизнеспособность растений, вызывая существенное повышение концентрации хлорофилла и каротиноидов в листьях *Avena sativa* L. Полученные в ходе проведения данного эксперимента данные могут быть использованы при разработке биотехнологий как в области сельского хозяйства, в целях повышения урожайности растений и плодородия почв пахотных земель и пастбищных угодий, так и в области экологии, при проведении мероприятий по рекультивации и восстановлению антропогенно нарушенных земель.

Ключевые слова: эндомикориза, синезеленые водоросли, инокуляция, хлорофилл *a*, *b*, *a+b*, каротиноиды, *Avena sativa* L.

B.K. Kasymbekov, D.G. Faleev

An effect of arbuscular mycorrhiza and blue-green algae on photosynthetic pigment content in *Avena sativa* L. leaves

Soil depletion and degradation reduces the productivity of cultivated crops and plant resistance to rugged environmental conditions. One of the ways of restoring soil fertility is mycorrhiza. Studies have shown that co-inoculation of *Claroideoglossum* and *Rhizophagus* genera mycorrhizal fungi with suspensions of *Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br. blue-green algae profoundly increases the effect of mycorrhization, eliciting a significant augmentation of chlorophyll and carotenoid concentration in leaves of *Avena sativa* L. The results, obtained in the course of this experiment, can be used in development of relevant technologies both for agriculture, in order to increase crop yield and soil fertility of arable land and pastures, and ecology - for remediation and restoration of anthropogenically deteriorated land.

Key words: endomycorrhiza, blue-green algae, inoculation, chlorophyll *a*, *b*, *a+b*, carotenoids, *Avena sativa* L.

Б.К. Касымбеков, Д.Г. Фалеев

Avena sativa L. жапырақтың фотосинтездеуші пигменттерінің құрамына арбускулярлы микоризаның және көк-жасыл балдырлардың әсері

Титықтау және жердің азшылығы ауыл шаруашылық дақылдың азықтылығын, өсімдіктің тиянағынын төмендететін қатал шарттарға қоршаған орта келтіреді. Бір жердің құнын қалпына келтірет әдіс-тәсілдерден микориздың игерушілігі болып табылады. Жүргізілген зерттеулер эндомикориздік саңырауқұлақтардың споралары (т. *Claroideoglossum* және *Rhizophagus*) мен көк-жасыл микробалдырлардың (*Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br.) суспензиясын бірге дақылдау *Avena sativa* L жапырақтарындағы каротиноидтар мен хлорофиллдің концентрацияларының жоғарылауына ықпал ете отырып, микоризация әсерін айтарлықтай жоғарылата аталындығын көрсетті. Аталған зерттеулерді жүргізу барысында алынған мәліметтер ауыл шаруашылық саласында егіс жерлері мен өндірістік алқаптарының құнарлылығы мен өсімдіктерінің өнімділігін арттыру мақсаттарында, экология саласында – антропогендік жолмен бұзылған жерлерді қалпына келтіру мен рекультивациялау шараларын жүргізуде, биотехнологиялық зерттеулерде қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: эндомикориза, көк-жасыл балдырлар, инокуляция, *a*, *b*, *a+b* хлорофилдері, каротиноидтар, *Avena sativa* L.

Большая часть территории Казахстана характеризуется малоплодородными почвами. Интенсификация использования природных ресурсов и экстенсивные технологии земледелия привели к загрязнению поллютантами антропогенного происхождения, деградации, опустыниванию и засолению земель в республике. Истощение и деградация почв приводит к снижению продуктивности возделываемых сельскохозяйственных культур, снижению устойчивости растений к неблагоприятным условиям окружающей среды. Одним из способов восстановления плодородия почвы является использование микориз.

Микоризы арбускулярного типа (эндомикоризы) широко распространены в природе – от тундр до экваториальных лесов, от равнин до высокогорий, встречаясь у более 80% видов травянистых растений. Эндомикориза благотворно влияет на питание растения-хозяина, повышает устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды как отдельных экземпляров растений, так и растительных ассоциаций. Исследование микосимбиотрофизма имеет большое теоретическое и прикладное значение для повышения урожайности растений и почвенного плодородия. Являясь облигатным симбиотрофом, гриб-микоризообразователь обязательно должен внедриться в кору корня молодого растения-хозяина, в противном случае гриб погибает. В качестве одного из способов продления жизнеспособности прорастающих спор можно было бы использовать одновременное с инокулятом арбускулярной микоризы внесение в почву суспензии водорослей [1-3].

Известно, что на прорастание спор микоризных грибов могут влиять органические соединения. Значительно усиливало прорастание добавление в агаризованную среду пептона, в качестве источника азота и углерода [4]. Добавление в среду экссудатов корней высших растений стимулировало рост гиф на водном агаре. Экстракт хлореллы оказывал еще больший положительный эффект, чем экстракт корней. По-видимому, в хлорелле концентрация активирующих веществ больше, чем в корнях. Стимулирующим действием обладали органические кислоты. Значительно стимулируют прорастание спор микоризных грибов и некоторые почвенные микроорганизмы [1, 2].

В связи с этим целью проведения данного

исследования являлось изучение влияния грибов образующих арбускулярную микоризу и синезеленых водорослей на содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений *Avena sativa* L.

Материалы и методы

Нами было исследовано влияние ассоциации эндомикоризных грибов pp. *Claroideoglossum* и *Rhizophagus* (*Claroideoglossum* = *Glomus*, *Rhizophagus* = *Glomus*): *Claroideoglossum etunicatum* (Schüssler/Walker), *Rhizophagus intraradices* (Schüssler/Walker), *Claroideoglossum claroideum* (Schüssler/Walker) (*Claroideoglossum etunicatum* (Schüssler/Walker) = *Glomus etunicatum* Becker et Gerdemann, *Rhizophagus intraradices* (Schüssler/Walker) = *Glomus intraradices* Schenck et Smith, *Claroideoglossum claroideum* (Schüssler/Walker) = *Glomus claroideum* Schenck et Smith = *Claroideoglossum claroideum* (Schüssler/Walker)), микроводорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br. и смеси pp. *Anabaena sp.* + *Chlorella sp.* на содержание фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b*, *a+b* и каротиноидов) и высоту растений овса посевного – *Avena sativa* L. (сем. *Poaceae*). Чистые культуры водорослей любезно предоставлены С.А. Джокебаевой.

В опыте испытывались варианты как с совместным внесением микоризы (М) и водорослей (А-1 - *A. laxa*, А-2 - *Anabaena sp.* + *Chlorella sp.*), так и с одиночным внесением каждого из инокулятов. Контрольным (К) являлся вариант без внесения грибов и водорослей.

Растения выращивали в пластиковых горшках емкостью 0,5 л, на стерильной смеси крупнозернистого промытого речного песка и вермекулита (представляющего собой вспученную глину – получаемую при высокотемпературном обжиге) (1:1). Для получения проростков отобранные семена промывали мыльным раствором, стерилизовали 2% раствором $KMnO_4$ в течение 15 мин., промывали дистиллированной водой и высаживали в приготовленные емкости. После инокуляции спор и посадки семян вносили по 50 мл суспензий водорослей в концентрации около 31000 клеток/мм³ - *A. laxa* и 178500 - *Anabaena sp.* + *Chlorella sp.*

Выращивание растений проводилось в растительнике, оснащенной специальными лампами, обеспечивающими наиболее оптимальный спектр и интенсивность освещения, наиболее близкие по своим параметрам к солнечному спектру. В ходе конструирования растительника были использованы лампы компании Philips марки MASTER TLD Reflex Super 80. Фотосинтетический поток фотонов PPF (начальное значение) модели лампы MASTER TLD Reflex Super 80 36W составляет 47 $\mu\text{mol}/\text{сек}$. Лампы были установлены на расстоянии 20 см друг от друга. Время освещения растений – 11 ч/сут. Растения поливали 1 раз в 3 дня, при необходимости чаще. Определение высоты растений и содержания хлорофилла и каротиноидов проводили через 45 дней.

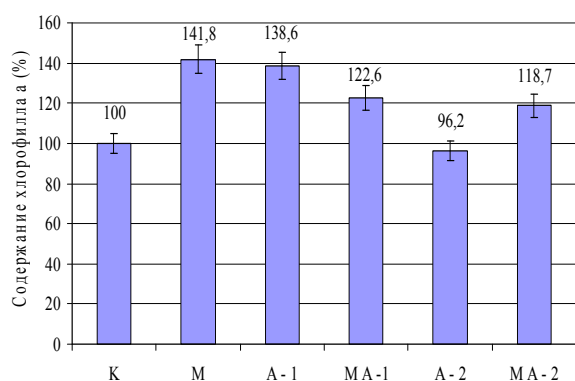
Определение концентрации хлорофилла и каротиноидов в листьях опытных растений было проведено на спектрофотометре Jenway 6405 uv/vis (Англия), при длине волн 662, 644 и 440,5 нм. Для приготовления вытяжки был использован ацетон. Расчет концентрации хлорофилла и каротиноидов был произведен по Хольму-Ветштейну и Реббелену [5].

Для осуществления контроля за инфицированием растений овса посевного отбирали корневые системы лабораторных растений. Взятые образцы аккуратно очищали от прилипших почвенных

частиц встряхиванием, а затем промывали в воде. Мацерированные образцы окрашивали трипановым синим в молочной кислоте. Для проведения микрокопирования корни помещали в глицерин и готовили давленные препараты. Приготовленные препараты рассматриваются под микроскопом при увеличении 120^x раз. В каждом поле зрения определяли наличие микоризной инфекции гриба-микоризообразователя [1].

Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования по изучению влияния ассоциации эндомикоризных грибов и микроводорослей на содержание фотосинтетических пигментов в листьях овса посевного показали, что внесение только спор грибов микоризообразователей приводило к существенному повышению концентрации фотосинтетических пигментов в листьях *Avena sativa* L. Так, содержание хлорофилла выросло по сравнению с контролем (К) 100% (для хлорофилла *a* – 100 \pm 3,8% (5,56 \pm 0,21 мг/л), *b* – 100 \pm 5,4% (3,12 \pm 0,17 мг/л), *a+b* – 100 \pm 6,4% (8,68 \pm 0,56 мг/л) почти в 1,5 раза, составив для хлорофилла *a* – 141,8 \pm 8,2% (7,88 \pm 0,65 мг/л), *b* – 143,8 \pm 10,5% (4,49 \pm 0,47 мг/л), *a+b* – 142,5 \pm 9,0% (12,37 \pm 1,12 мг/л) (рисунок 1-3). Содержание каротиноидов в листьях исследованных растений также было выше по сравнению с контролем – 100 \pm 7,6% (1,58 \pm 0,12 мг/л), составив в среднем 120,1 \pm 9,5% (1,89 \pm 0,18 мг/л) (рисунок 4).



К – контроль (немикоризные растения, без внесения микроводорослей);

М – микоризные растения (без внесения микроводорослей); А-1 – внесение *A. laxa*; М А-1 – внесение спор эндомикоризных грибов и *A. laxa*; А-2 - *Anabaena sp.* + *Chlorella sp.*; М А-2 – эндомикориза + *Anabaena sp.* + *Chlorella sp.*

Рисунок 1 – Влияние эндомикоризы и синезеленых водорослей на содержание хлорофилла *a* в листьях *Avena sativa* L.

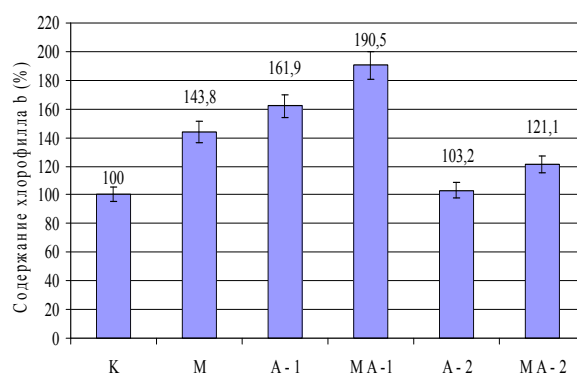


Рисунок 2 - Влияние эндомикоризы и синезеленых водорослей на содержание хлорофилла *b* в листьях *Avena sativa* L.

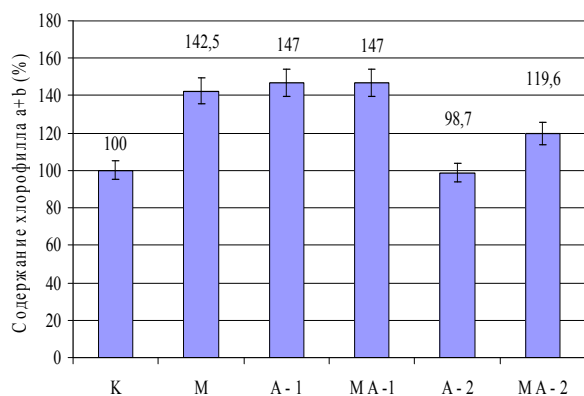
Внесение микроводорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br. приводило к повышению содержания фотосинтетических пигментов в листьях изученных растений: составив в среднем для хлорофилла *a* – 138,6±8,8% (7,7±0,68 мг/л), хлорофилла *b* – 161,9±5,3% (5,06±0,27 мг/л), хлорофиллов *a+b* – 147,0±7,4% (12,76±0,95 мг/л), каротиноидов – 134,7±8,9% (2,13±0,19 мг/л) (рисунок 1-4). Несколько иные данные были получены при внесении суспензионной культуры pp. *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.*: исследованные нами параметры фотосинтетических пигментов растений овса посевного практически не отличались от аналогичных параметров в контроле, более того, по отдельным показателям (концентрация хлорофиллов *a*, *a+b* и каротиноидов) выявлено некоторое снижение. Так, содержание хлорофилла *a* в листьях *Avena sativa* L. составило в среднем 96,2±12,5% (5,35±0,67 мг/л), хлорофилла *b* – 103,2±14,6% (3,22±0,47 мг/л), хлорофиллов *a+b* – 98,7±13,2% (8,57±1,13 мг/л), показатель концентрации каротиноидов по сравнению с контролем снизился до 91,9±11,7% (1,45±0,17 мг/л) (рисунок 1-4). Из представленных данных видно, что водоросли в отдельных случаях могут стимулировать повышение содержания фотосинтетических пигментов в листьях растений, но, очевидно, что данное явление зависит от различных факторов, в частности от видовой принадлежности вносимых микроводорослей.

Совместное внесение эндомикоризных грибов и синезеленых водорослей приводило к повышению всех исследованных показателей содержания фотосинтетических пигментов в листьях *Avena sativa* L. Так, при сочетанном внесении спор эндомикоризных грибов и суспензии микроводорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br. Были выявлены максимальные показатели содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b*, *a+b* и каротиноидов) в ли-

стьях овса посевного из всех вариантов опыта, которые составили в среднем для хлорофилла *a* – 154,2±7,1% (8,57±0,61 мг/л), хлорофилла *b* – 190,5±6,9% (5,95±0,41 мг/л), хлорофиллов *a+b* – 164,4±8,3% (14,27±1,19 мг/л), показатель концентрации каротиноидов по сравнению с контролем повышался до 146,8±4,3% (2,32±0,10 мг/л) (рисунок 1-4). Очевидно, что в данном варианте опыта в полной мере проявлено на биохимическом уровне совместное плодотворное действие грибов-микоризообразователей и микроскопических водорослей. Не исключено, что внесение суспензии микроводорослей способствует не только росту растений *Avena sativa* L., но и росту эндомикоризных грибов, в частности прорастанию спор гриба-микоризообразователя.

Совместное внесение спор грибов и водорослей *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.* не приводило к столь существенному повышению исследованных биохимических параметров, тем не менее, рост данных показателей был весьма заметен. Так, в данном варианте опыта содержание хлорофилла *a* в листьях *Avena sativa* L. составило в среднем 118,7±5,6% (6,59±0,37 мг/л), хлорофилла *b* – 121,1±5,0% (3,78±0,19 мг/л), хлорофиллов *a+b* – 119,6±5,4% (10,38±0,56 мг/л), каротиноидов – 114,9±2,2% (1,82±0,04 мг/л) (рисунок 1-4).

Поскольку показатели содержания фотосинтетических пигментов в листьях овса посевного при внесении только водорослей *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.* были весьма низкими, практически не отличались от контроля. А в отдельных случаях были несколько ниже, скорее всего, при сочетанном внесении грибов и водорослей в основном «работали» грибы-микоризообразователи, а поскольку в данном варианте опыта биохимические показатели были выше, чем в варианте с внесением только грибов, можно предположить, что водоросли способствовали росту эндомикоризного гриба.



К – контроль (немикоризные растения, без внесения микроводорослей);
 М – микоризные растения (без внесения микроводорослей);
 А-1 – внесение *A. laxa*; М А-1 – внесение спор эндомикоризных грибов и *A. laxa*;
 А-2 - *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.*; М А-2 – эндомикориза + *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.*

Рисунок 3 – Влияние эндомикоризы и синезеленых водорослей на содержание хлорофилла *a+b* в листьях *Avena sativa* L.

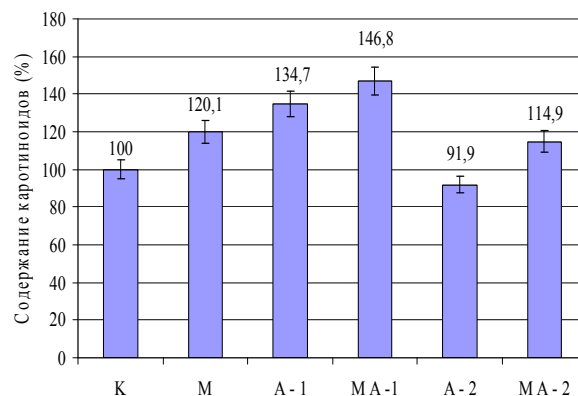


Рисунок 4 – Влияние эндомикоризы и синезеленых водорослей на содержание каротиноидов в листьях *Avena sativa* L.

Таким образом, проведенные исследования показали, что внесение в почву спор эндомикоризных грибов и синезеленых водорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br., как сочетанное, так и раздельное способствовало увеличению концентрации фотосинтетических пигментов

в листьях овса посевного, что не могло не сказаться на высоте исследованных растений: при внесении инокулята эндомикоризных грибов и водорослей наблюдалось заметное увеличение показателей высоты растений, по сравнению с контрольным вариантом (рисунок 5-7).

А



Б



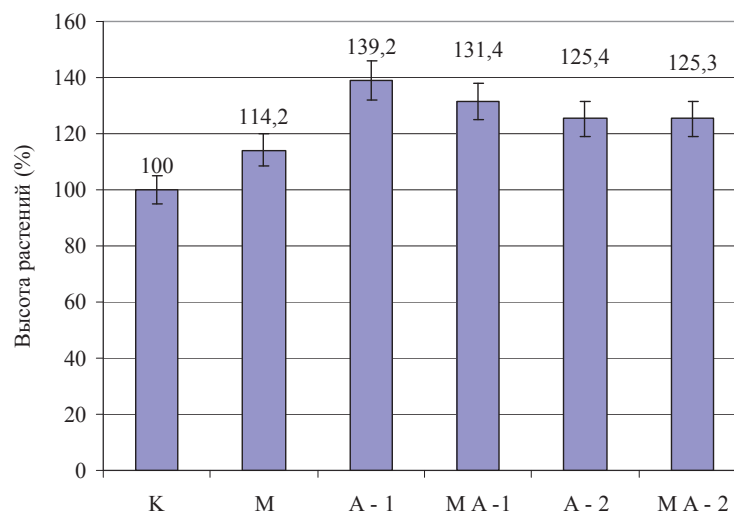
- 1 – контроль; 2 – растения, выращенные с добавлением спор эндомикоризных грибов;
 3 – растения, с добавлением микроводорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.);
 4 – растения, выращенные с добавлением спор эндомикоризных грибов
 и микроводорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.)

Рисунок 5 – Растения *Avena sativa* L., выращенные с внесением спор эндомикоризных грибов и микроводорослей *Anabaena laxa* (А) и с внесением спор эндомикоризных грибов и микроводорослей *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.* (Б)

Так, наибольшие показатели высоты растений, по сравнению с контролем ($100 \pm 3,4\%$, или $196,1 \pm 6,6$ мм), были выявлены в вариантах опыта с внесением водорослей. При этом растения, выращенные с внесением микроводорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.) А. Вр., были заметно выше растений в варианте опыта с внесением *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.*: составив, соответственно, в среднем $273,0 \pm 7,4$ ($139,2 \pm 2,7\%$) и $246,0 \pm 13,5$ ($125,4 \pm 5,5\%$) мм (рисунок 7).

Внесение эндомикоризных грибов также способствовало росту *Avena sativa* L., однако, средний показатель высоты в указанном выше варианте опыта был ниже, чем при внесении водорослей (соответственно, на $49,0$ мм ($25,0\%$) и $22,0$ мм ($11,2\%$)), составив в среднем $224,0 \pm 6,6$ мм ($114,2 \pm 2,9\%$) (рисунок 7).

Совместное внесение водорослей и эндомикоризных грибов (МА-1 и МА-2) приводило к увеличению показателей высоты растений овса посевного по сравнению с контролем и внесением исключительно спор эндомикоризных грибов (К, М), но, вместе с тем, данный показатель был ниже, чем в вариантах с внесением только водорослей (А-1, А-2). Так, при совместном внесении спор гриба-микоризообразователя и микроскопических водорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.) А. Вр. Высота *Avena sativa* L. составила в среднем $257,7 \pm 8,6$ мм ($131,4 \pm 3,3\%$), а при сочетанном внесении инокулята гриба образующего арбускулярную микоризу и микроводорослей *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.* - $245,8 \pm 8,7$ мм ($125,3 \pm 3,5\%$) (рисунок 7).



К – контроль (немикоризные растения, без внесения микроводорослей);
 М – микоризные растения (без внесения микроводорослей); А-1 – внесение *A. laxa*;
 МА-1 – внесение спор эндомикоризных грибов и *A. laxa*; А-2 – *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.*; МА-2 – эндомикориза +
Anabaena sp.+*Chlorella sp.*

Рисунок 7 – Влияние эндомикоризы и синезеленых водорослей на высоту *Avena sativa* L.

Проведенные нами исследования показали, что внесение в почву спор эндомикоризных грибов и синезеленых водорослей *Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br., как сочетанное, так и раздельное, способствовало увеличению концентрации фотосинтетических пигментов в листьях овса посевного, что не могло не сказаться на высоте исследованных растений: при внесении инокулята эндомикоризных грибов и водорослей наблюдалось заметное увеличение показателей высоты растений, по сравнению с контрольным вариантом. При этом инокулирование микроводорослями *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.* как с грибами, образующими арбускулярную микоризу, так и без них оставляло неизменной концентрацию фотосинтетических пигментов в листьях *A. sativa* (хлорофиллов *a*, *b*, *a+b* и каротиноидов), в отдельных случаях эти показатели были даже немного ниже, чем в контроле. Вместе с тем относительно невысокие показатели концентрации фотосинтетических пигментов в листьях овса посевного при внесении *Anabaena sp.*+*Chlorella sp.* не влияли на высоту растений *A. sativa* – в ва-

риантах опыта, как с грибами, так и без грибов, показатели роста были существенно выше, чем в контроле и заметно больше, чем в варианте с внесением исключительно спор эндомикоризных грибов.

Таким образом, проведенные исследования показали, что совместная инокуляция спорами эндомикоризных грибов (pp. *Claroideoglossum* и *Rhizophagus*) с суспензиями синезеленых микроводорослей (*Anabaena laxa* (Rabenh.) A. Br.) может значительно увеличивать жизнеспособность растений, вызывая существенное повышение концентрации хлорофилла и каротиноидов в листьях *Avena sativa* L.

Полученные в ходе проведения данного эксперимента данные могут быть использованы при разработке биотехнологий как в области сельского хозяйства, в целях повышения урожайности растений и плодородия почв пахотных земель и пастбищных угодий, так и в области экологии, при проведении мероприятий по рекультивации и восстановлению антропогенно нарушенных земель.

Литература

- 1 Селиванов И.А. Микосимбиотрофизм как форма консортивных связей в растительном покрове Советского Союза. - М.: Наука, 1981. - 177 с.
- 2 Sharma A.K., Jori B.N. Arbuscular mycorrhizae interactions in plants, rhizosphere and soils. – Plymouth, Enfield: Science Publishers Inc., 2002. – P. 311.
- 3 Peterson L.R., Massicotte B., Lewis H.M. Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology -National Research Council of Canada, Ottawa, 2004. – P. 173.
- 4 Walker C., Vestberg M. Synonymy Amongst the Arbuscular Mycorrhizal Fungi: *Glomus claroideum*, *G. maculosum*, *G. multisubstenum* and *G. stulosum* // Annals of Botany. – 1998. – Vol. 82. – 601-624 p.
- 5 Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. - Л.: Агропромиздат, 1987. - 430 с.

References

- 1 Selivanov I.A. Mikosymbiotrofizm as a form consorts connection in the vegetation of the Soviet Union. - Moscow: Nauka. 1981. - 177 p.
- 2 Sharma A.K., Jori B.N. Arbuscular mycorrhizae interactions in plants, rhizosphere and soils. – Plymouth, Enfield: Science Publishers Inc., 2002. – P. 311.
- 3 Peterson L.R., Massicotte B., Lewis H.M. Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology – Ottawa, National Research Council of Canada, 2004. – P. 173.
- 4 Walker C., Vestberg M. Synonymy Amongst the Arbuscular Mycorrhizal Fungi: *Glomus claroideum*, *G. maculosum*, *G. multisubstenum* and *G. stulosum* // Annals of Botany. – 1998. – Vol. 82. – P. 601-624.
- 5 Methods for biochemical study of plants // pod. red. A.I. Ermakova. - L.: Agropromizdat, 1987. - 430 p.