

УДК 58.084.1: 577.151.63

*С.Б. Оразова, А.А. Ташенова

Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
НИИ проблем экологии, Казахстан, г. Алматы
*E-mail: Saltanat.Orazova@kaznu.kz

Активность кислых и щелочных фосфатаз в микоризных растениях томата

В статье показано влияние 8 штаммов цианобактерий (*Anabaenopsis sp.* (T1), *Anabaenopsis sp.* (D6), *Anabaena laxa*, *Amorphonostoc paludosum*, *Spheronostoc coeruleum*, *Oscillatoria willei*, *Calothrix* (B1), *Anabaena constricta*) на активность кислых и щелочных фосфатаз в корнях микоризных растений томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) сорта Red cherry. Установлено, что активность кислых и щелочных фосфатаз повышается в присутствии *Anabaena laxa*, и напротив, снижается при действии D6 *Anabaenopsis*.

Ключевые слова: кислые фосфатазы, щелочные фосфатазы, микоризация, цианобактерии.

S.B. Orazova, A.A. Tashenova

Activity of acidic and alkaline phosphatases in mycorrhizal tomato plants

The article shows the influence of the 8 strains cyanobacteria (*Anabaenopsis sp.* (T1), *Anabaenopsis sp.* (D6), *Anabaena laxa*, *Amorphonostoc paludosum*, *Spheronostoc coeruleum*, *Oscillatoria willei*, *Calothrix* (B1), *Anabaena constricta*) on the activity of acidic and alkaline phosphatase in the roots of mycorrhizal plant tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties of Red cherry. It is established that the activity of acidic and alkaline phosphatase increased in the presence of *Anabaena laxa*, and on the contrary decreases with action D6 *Anabaenopsis*.

Key words: acid phosphatase, alkaline phosphatase, mycorrhiza, cyanobacteria.

С.Б. Оразова, А.А. Ташенова

Микоризды томат өсімдіктердің қышқыл және сілтілі фосфатазалар белсенділігі

Мақалада Red cherry сорты микоризды томат өсімдіктерінің тамырында қышқыл және сілтілі фосфатазалар белсенділігіне цианобактериялардың 8 штамының (*Anabaenopsis sp.* (T1), *Anabaenopsis sp.* (D6), *Anabaena laxa*, *Amorphonostoc paludosum*, *Spheronostoc coeruleum*, *Oscillatoria willei*, *Calothrix* (B1), *Anabaena constricta*) әсері көрсетілген. *Anabaena laxa* -ның әсерінен қышқыл және сілтілі фосфатазалар белсенділігі өседі, ал D6 *Anabaenopsis*-тың әсерінен белсенділігі төмендейді.

Түйін сөздер: қышқылды фосфатаза, сілтілі фосфатаза, микоризация, цианобактериялар.

Кислая (ЕС 3.1.3.2) и щелочная фосфатаза (ЕС 3.1.3.1) являются ферментами, катализирующими перенос неорганического фосфата (ортофосфата) от органических фосфатных эфиров в кислой или щелочной средах, и традиционно классифицируются по их оптимальным значениям pH, выше или ниже pH 7.0 [1-3]. Эти фосфатазы широко распространены в клетках растений, животных и микроорганизмов [4]. Кислые и щелочные фосфатазы в растении играют важную роль в обмене неорганических фосфатов и поддержании клеточного метаболизма [5-6]. Известно, что функционирование

кислой фосфатазы поддерживает мобильность значительной части неорганического фосфата во время созревания плодов банана [7]. Щелочные фосфатазы вовлечены в гидролиз крахмала и мобилизацию сахарозы при биосинтезе эфирных масел лемонграсса [8]. Неорганический фосфат играет важную функциональную роль в передаче энергии и регулировании метаболизма, а также является важной структурной составляющей многих биомолекул. Следовательно, метаболизм неорганического фосфата имеет важное значение в процессах развития растений [9-10].

Известно, что микоризация растений повышает поступление фосфора в корни растений в 3-5 раза по сравнению с немикоризными растениями [11]. Установлен ген GvPT, кодирующий фосфатную транспортную систему в наружных гифах микоризы сходную по структуре и функциям с таковой у растений [12].

Почва является средой обитания также и некоторых почвенных микроводорослей, которые повышают ее плодородие путем фиксации атмосферного азота, связывания частиц почвы и способствуют сохранению влаги и предотвращают эрозии. Известно, что цианобактерии производят фитогормоны, такие, как цитокинины, ауксины и ауксиноподобные вещества, а также аминокислоты, сахара, витамины, стимулирующие рост и развитие растений [13-15].

Целью работы – определить влияние инокуляции микроводорослями и спорами микоризных грибов рода *Glomales* на активность кислой и щелочной фосфатаз в корнях 45-дневных растений томата.

Материалы и методы

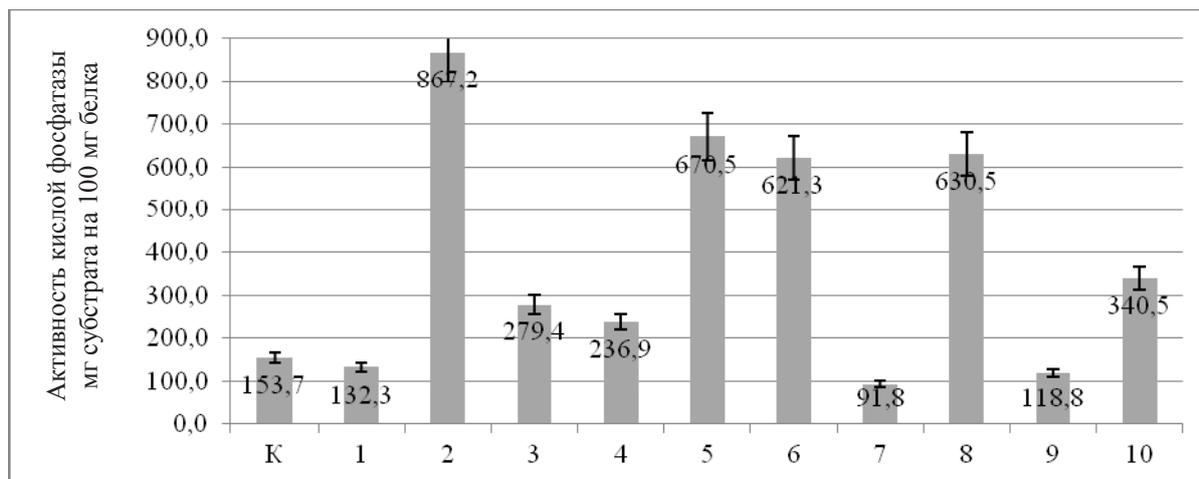
В качестве растения-хозяина использовался томат (*Lycopersicon esculentum* Mill.) сорта Red cherry (Frankia, Италия), микокомпонента – эндомикоризные грибы рода *Glomus*: *G. etunicatum* Becker et Gerdemann, *G. intraradices* Schenck et Smith, *G. claroideum* Schenck et Smith., альгокомпонента – 8 штаммов цианобактерий: *Anabaenopsis* sp. (T1), *Anabaenopsis* sp. (D6), *Anabaena laxa*, *Amorphonostoc paludosum*, *Spheronostoc coeruleum*, *Oscillatoria willei*, *Calothrix* (B1), *Anabaena constricta*. Инокуляция спорами грибов и микроводорослями проводилась в начале эксперимента в объеме по 5 мл. Опытные растения выращивались на смеси предварительно стерилизованного песка, вермикулита, перлита (1:1:0,5, по объему) в 0,5 л пластиковых горшках при температуре 20-25°C, освещенности 2000 Лк, фотопериоде 11 ч / сутки в

течение 45 дней. Биологическая повторность эксперимента шестикратная.

Определение активности кислой и щелочной фосфатазы в корнях томатов проводилось по методике [16]. Принцип метода основан на гидролизе лецитина в присутствии соответствующего буфера при температуре 36°C за 1 час. Определение неорганического фосфора велось по методу Лоури и Лопеса под действием аскорбиновой кислоты [16]. Расчет активности фермента проводился на мг белка, определенного в растительной вытяжке по методу Лоури [16].

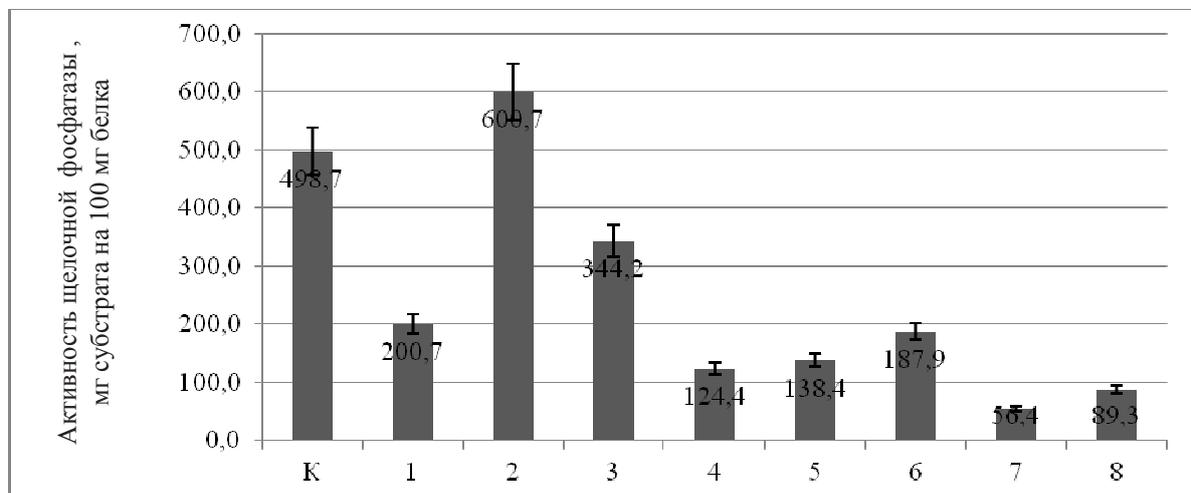
Результаты и их обсуждение

На рисунке 1 и 2 представлены данные по определению влияния инокуляции микроводорослями 5 видов (*Anabaenopsis* (T1), *Anabaenopsis* (D6), *Anabaena laxa*, *Amorphonostoc paludosum*, *Spheronostoc coeruleum*, *Oscillatoria willei*, *Calothrix* (B1), *Anabaena constricta*) и спорами микоризных грибов рода *Glomales* на активность кислой и щелочной фосфатаз в корнях 45-дневных растений томата. В качестве контроля использовались микоризные растения. Анализ результатов показал, что присутствие *Anabaena laxa* в почве повышает активность кислой фосфатазы в корнях томата почти в 7 раз, с 153,7 до 867,2 мг / 100 мг белка. Подобной активностью обладали и клетки таких микроводорослей, как *Amorphonostoc paludosum*, *Spheronostoc coeruleum*, *Oscillatoria willei*, *Anabaena constricta* и др., повышая активность фермента от 154,2 до 436,3% по сравнению с контролем. Среди исследованных микроводорослей оказались и такие, которые ингибировали активность кислой фосфатазы – *Anabaenopsis* (T1), *Anabaenopsis* (D6), *Calothrix* (B1) и др. К примеру, в присутствии *Calothrix* (B1) активность фермента снизилась в 1,7 раза по сравнению с контрольными значениями и составила всего 91,8 мг/ 100 г белка.



К – контроль – микоризные растения, 1-10 – микоризные растения, выращенные в присутствии цианобактерий (1 – *T1 Anabaenopsis*, 2 – *Anabaena laxa*, 3 – *Pseudoanaena*, 4 – *Amorphonostoc paludosum*, 5 – *Sph. coeruleum*, 6 – *Oscillatoria willei*, 7 – *Calotrrix B1*, 8 – *Sph. Zetterstetii*, 9 – *D6 Anabaenopsis*, 10 – *Anabaena constricta*)

Рисунок 1 – Влияние инокуляции спорами эндомикоризных грибов рода *Glomales* и микроводорослями на активность кислой фосфатазы в листьях 45-дневных растений томата



К – контроль – микоризные растения, 1-10 – микоризные растения, выращенные в присутствии цианобактерий (1 – *T1 Anabaenopsis*, 2 – *Anabaena laxa*, 3 – *Anabaena (K)*, 4 – *Pseudoanaena*, 5 – *Amorphonostoc paludosum*, 6 – *Oscillatoria willei*, 7 – *D6 Anabaenopsis*, 8 – *Anabaena constricta*)

Рисунок 2 – Влияние инокуляции спорами эндомикоризных грибов рода *Glomales* и микроводорослями на активность щелочной фосфатазы в листьях 45-дневных растений томата

Определив активность щелочной фосфатазы в корнях микоризных растений томата в присутствии микроводорослей в почве, установлено, что активность фермента оказалась значительно выше по сравнению с активностью кислой фосфатазы. Так, если активность кислой фосфатазы в корнях контрольных растений равнялась 153,7 мг/100 мг белка, то активность щелочной фосфатазы в этих же корнях составила 498,7 мг/100 мг белка, т.е. в 3,2 раза выше. Стимулирующим эффектом на активность данного фермента отличалась *Anabaena laxa*, активность щелочной фосфатазы возросла на 299,3% по сравнению с данным показателем в корнях контрольных растений. Большинство исследованных видов

микроводорослей оказали ингибирующее действие на активность фермента, среди таковых отмечены *Anabaenopsis* (Т1), *Anabaenopsis* (D6), *Calotrhix* (Б1) и др., значение активности колебалось в пределах от 56,4 (*Calotrhix* (Б1)) до 344,2 мг/100 мг белка (*Pseudoanaena sp.*).

Таким образом, нами экспериментально показано, что биологически активные метаболиты, синтезируемые и выделяемые цианобактериями в окружающую среду, влияют на активность кислых и щелочных фосфатаз в корнях микоризных растений томата. Установлено, что активность кислых и щелочных фосфатаз повышается в присутствии *Anabaena laxa*, и напротив, снижается при действии *D6 Anabaenopsis*.

Литература

- 1 BarretLennard E.D., Robson A.D., Greenway H. Effect of phosphorus deficiency and water deficit on phosphatase activities from wheat leaves // J. Exp. Bot. – 1982. – V. 33. – P.682-693.
- 2 Sharma A.D., Thakur M., Rana M., Singh K. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphatase activities in *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds // Afr. J. Biotechnol. 2004. – V. 3. – P. 308-312.
- 3 Asmar F., Gahoonia T., Nielsen N. Barley genotypes differ in activity of soluble extracellular phosphatase and depletion of organic phosphorous in the rhizosphere soil // Plant Soil. – 1995. – V. 172. – P.117-122.
- 4 Duff S.M.G., Sarath G., Plaxton W.C. The role of acid phosphatase in plant phosphorus metabolism // Physiol. Plant. – 1994. – V. 90. – P. 791-800.
- 5 Tabaldi L.A., Ruppenthal R., Cargnelutti D., Morsch V.M., Pereira L.B., Schetinger M.R.C. Effects of metal elements on acid phosphatase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings // Environ. Exp. Bot. – 2007. – V. 59. – P. 43-48.
- 6 Mishra S., Dubey R.S. Changes in phosphate content and phosphatase activities in rice seedlings exposed to arsenite // Braz. J. Plant. Physiol. – 2007. – V. 20. – P. 19-28.
- 7 Turner W.L., Plaxton W.C. Purification and Characterization of banana fruit acid phosphatase // Planta. – 2001. – V. 214. – P. 243-249.
- 8 Ganjewala D., Nagaraja C., Nayak M.R., Devi S.A. Effects of sodium nitroprusside on activity of acid and alkaline invertases and alkaline phosphatase in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud) Wats. // International Journal of Plant Biology. – 2010. – V. 1. – P. 9-12.
- 9 Julie E.H., Simpson R.J., Richardson A.E. The growth and phosphorus utilization of plants in sterile media when supplied with inositol hexaphosphate, glucose-1-phosphate or inorganic phosphate // Plant Soil. – 2010. – V. 220. – P. 165-174.
- 10 Bozzo G.G., Raghothama K.G., Plaxton W.C. Purification and characterization of two secreted purple acid phosphatase isozymes from phosphate starved tomato (*Lycopersicon esculentum*) cell cultures // Eur J. Biochem. – 2002. – V. 269. – P. 6278-6280.
- 11 Smith S.E., Read D.J. Mycorrhizal Symbiosis. - San Diego: Academic Press, 1997. – 405 p.
- 12 Harrison M.J., van Buuren M.L. A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* // Nature. – 1995. – V. 378. – P. 626-629.
- 13 Sikes B.A., Cottenie K., Klironomos J.N. Plant and fungal identity determines pathogen protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas // J. Ecol. – 2009. – V. 97. – P. 1274-1280.
- 14 Sbrana C., Giovannetti M. Chemotropism in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Mycorrhiza. -2005. – V. 15. – P. 539-545.
- 15 Hampp R., Ecke M., Schaeffer C., Wallenda T., Wingler A., Kottke I., Sundberg B. Axenic mycorrhization of wild type and transgenic hybrid aspen expressing T-DNA indolacetic acidbiosynthesis genes // Trees. – 1996. – V. 11. – P. 59-64.
- 16 Ермаков А.И., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И., Ярош Н.П., Луковникова Г.А. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Колос, 1972. – Изд. 2-е. – 456 с.

References

- 1 BarretLennard E.D., Robson A.D., Greenway H. Effect of phosphorus deficiency and water deficit on phosphatase activities from wheat leaves // J. Exp. Bot. – 1982. – V. 33. – P.682-693.
- 2 Sharma A.D., Thakur M., Rana M., Singh K. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphatase activities in *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds // Afr. J. Biotechnol. 2004. – V. 3. – P. 308-312.

- 3 Asmar F., Gahoonia T., Nielsen N. Barley genotypes differ in activity of soluble extracellular phosphatase and depletion of organic phosphorous in the rhizosphere soil // *Plant Soil*. – 1995. – V. 172. – P.117-122.
- 4 Duff S.M.G., Sarath G., Plaxton W.C. The role of acid phosphatase in plant phosphorus metabolism // *Physiol. Plant*. – 1994. – V. 90. – P. 791-800.
- 5 Tabaldi L.A., Ruppenthal R., Cargnelutti D., Morsch V.M., Pereira L.B., Schetinger M.R.C. Effects of metal elements on acid phosphatase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings // *Environ. Exp. Bot*. – 2007. – V. 59. – P. 43-48.
- 6 Mishra S., Dubey R.S. Changes in phosphate content and phosphatase activities in rice seedlings exposed to arsenite // *Braz. J. Plant. Physiol*. – 2007. – V. 20. – P. 19-28.
- 7 Turner W.L., Plaxton W.C. Purification and Characterization of banana fruit acid phosphatase // *Planta*. – 2001. – V. 214. – P. 243-249.
- 8 Ganjewala D., Nagaraja C., Nayak M.R., Devi S.A. Effects of sodium nitroprusside on activity of acid and alkaline invertases and alkaline phosphatase in lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud) Wats. // *International Journal of Plant Biology*. – 2010. – V. 1. – P. 9-12.
- 9 Julie E.H., Simpson R.J., Richardson A.E. The growth and phosphorus utilization of plants in sterile media when supplied with inositol hexaphosphate, glucose-1-phosphate or inorganic phosphate // *Plant Soil*. – 2010. – V. 220. – P. 165-174.
- 10 Bozzo G.G., Raghothama K.G., Plaxton W.C. Purification and characterization of two secreted purple acid phosphatase isozymes from phosphate starved tomato (*Lycopersicon esculentum*) cell cultures // *Eur J. Biochem*. – 2002. – V. 269. – P. 6278-6280.
- 11 Smith S.E., Read D.J. Mycorrhizal Symbiosis. - San Diego: Academic Press, 1997. – 405 p.
- 12 Harrison M.J., van Buuren M.L. A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* // *Nature*. – 1995. – V. 378. – P. 626-629.
- 13 Sikes B.A., Cottenie K., Klironomos J.N. Plant and fungal identity determines pathogen protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas // *J. Ecol*. – 2009. – V. 97. – P. 1274-1280.
- 14 Sbrana C., Giovannetti M. Chemotropism in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // *Mycorrhiza*. -2005. – V. 15. – P. 539-545.
- 15 Hampp R., Ecke M., Schaeffer C., Wallenda T., Wingler A., Kottke I., Sundberg B. Axenic mycorrhization of wild type and transgenic hybrid aspen expressing T-DNA indolacetic acidbiosynthesis genes // *Trees*. – 1996. – V. 11. – P. 59-64.
- 16 Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Smirnova-Ikonnikova M.I., Jarosh N.P., Lukovnikova G.A. Metody biokhimicheskogo issledovaniya rastenij. – L.: Kolos, Izd.2-e.- 1972.- 456 p.