

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*, *Calotrhix* (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*, *Calotrhix* (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*, *Calotrhix* (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

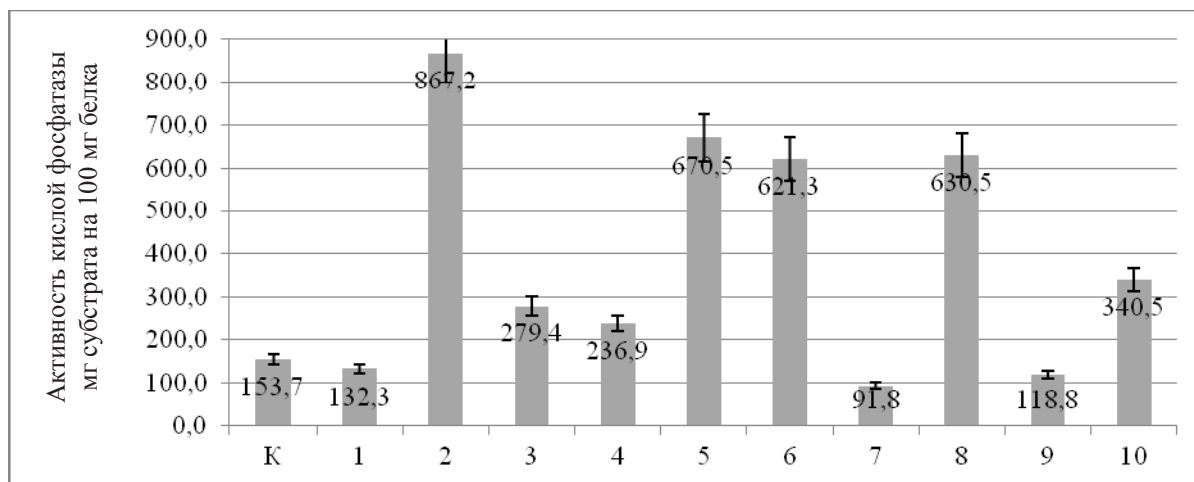
В качестве растения-хозяина использовался томат (*Lycopersicon esculentum* Mill.) сорта Red cherry (Frankia, Италия), микокомпонента – эндомикоризные грибы рода *Glomus*: *G. etunicatum* Becker et Gerdemann, *G. intraradices* Schenck et Smith, *G. claroideum* Schenck et Smith., альгокомпонента – 8 штаммов 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].

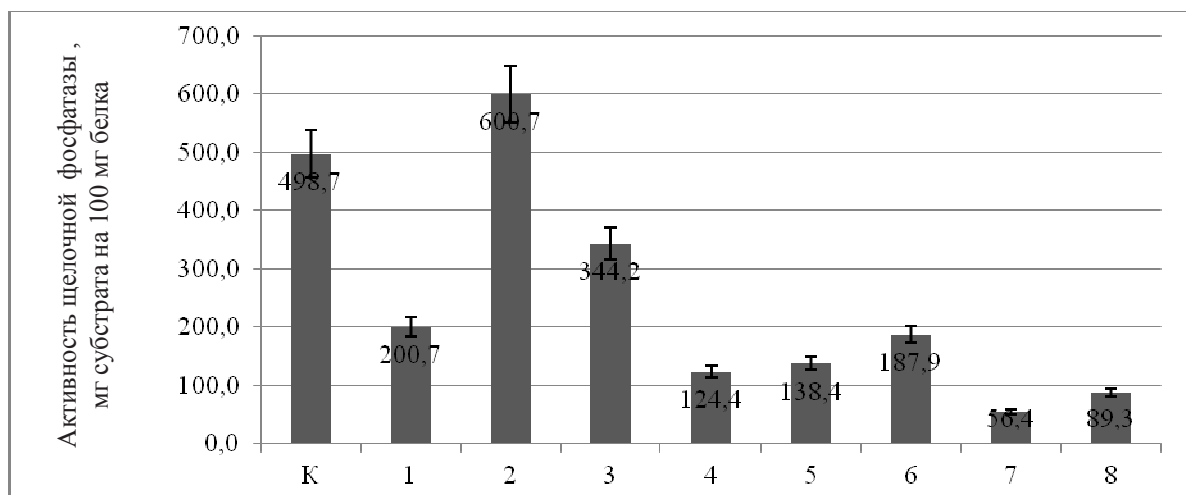
#### Результаты и их обсуждение

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.