

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОТНОШЕНИЙ РАСТЕНИЙ С C₄-ТИПОМ МЕТАБОЛИЗМА И ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA*

В статье приведены результаты исследований по взаимоотношению растений с C₄-типом метаболизма и грибов рода *Trichoderma*. Установлено, что грибы способствовали увеличению всех изучаемых физиолого-морфологических параметров растений. Влияние же их на скорость электронного транспорта и квантовый выход обнаружить не удалось.

Ключевые слова: кукуруза, растения, грибы рода *Trichoderma*, актиномицеты, энергия прорастания, биомасса растений, ассимиляционный аппарат, зеленые пигменты, квантовый выход, скорость электронного транспорта.

T.I. Golovanova, A.F. Valiulina, T.A. Simonova

THE INTERRELATION STUDY OF THE PLANTS WITH C₄-TYPE METABOLISM AND GENUS *TRICHODERMA* FUNGI

The research results on the relationship of plants with C₄-type metabolism and genus *Trichoderma* fungi are given in the article. It is established that fungi contributed to the increase of all studied plant physiological and morphological parameters. Their influence on the speed of electronic transport and quantum output was not found.

Key words: corn, plants, genus *Trichoderma* fungi, actinomycetes, germination energy, plant biomass, assimilation apparatus, green pigments, quantum output, electronic transport speed.

Введение. Важнейшей задачей в сельском хозяйстве в настоящее время является повышение продуктивности растений и их устойчивости к факторам окружающей среды. Большую роль в культивировании сельскохозяйственных растений играет человек, но, создавая необходимые условия для роста и развития растительных организмов, он не исключает возможного взаимодействия растений с патогенными микроорганизмами, которые могут подавлять или задерживать рост растений, а в некоторых случаях приводить к их гибели [4, 5]. В качестве стимуляторов роста и развития растений могут выступать микроорганизмы-антагонисты патогенов, способные образовывать ассоциации с корнями растений и оказывать, помимо защитного эффекта, прямое стимулирующее действие на рост и развитие растений. К таким микроорганизмам относятся грибы рода *Trichoderma* [7, 8, 10]. В связи с этим изучение взаимодействия микроорганизмов-антагонистов патогенов и растений в настоящее время представляет большой научный интерес и особенно актуально в связи с возможностью альтернативной замены пестицидов на вещества биологической природы.

Цель исследований. Изучение особенности развития растений с C₄-типом метаболизма в условиях их взаимодействия с грибами рода *Trichoderma*.

Задачи исследований: изучить влияние грибов рода *Trichoderma*:

- 1) на морфофизиологические параметры растений кукурузы;
- 2) ассимиляционный аппарат растений;
- 3) кинетические параметры флуоресценции хлорофилла и скорость электронного транспорта.

Объекты и методы исследований. В качестве объектов исследований использовали растения кукурузы сахарной – гибрид Сахарный початок и микромицеты *Trichoderma asperellum* штамм МГ-97. Кукуруза относится к C₄-типу растений, к NADP-МДГ подгруппе. Растения выращивали на питательном грунте следующего состава: верховой торф, низинный торф, песок, известняковая (доломитовая) мука, дренаж, комплексное минеральное удобрение. Содержание доступных для растений питательных элементов: N – 300–550 мг/кг, P₂O₅ – 300–550 мг/кг, K₂O – 450–850 мг/кг, pH – 5,5–6,5. Температура воздуха в дневное время колебалась в пределах 25–28°C. Перед посевом в почвенный субстрат проводили поверхностную стерилизацию семян 0,1 %-м раствором KMnO₄. Споры гриба *Trichoderma* вносили методом опудривания семян до полного их насыщения. Контролем служил вариант, где семена не подвергались обработке спорами данного гриба.

В ходе исследований определяли всхожесть семян в соответствии с ГОСТ 12038-84 [3], количество листьев, длину корневой системы и надземной части, сырую и сухую биомассу. Площадь листовой пластинки вычисляли по формуле $S = 2/3 \times d \times l$, где d – ширина листа; l – длина листа [6]. Содержание зеленых пигментов определяли спектрофотометрическим методом по молярным коэффициентам экстинкции [1].

Определение оптической плотности экстракта осуществляли на спектрофотометре SPECOL1300. Концентрацию пигментов (мкг/мл) рассчитывали по формулам [10]: $C_a = 13,7 \times (D_{665} - D_{720}) - 5,7 \times (D_{649} - D_{720})$, $C_b = 25,8 \times (D_{649} - D_{720}) - 7,6 \times (D_{665} - D_{720})$, где C_a – концентрация хлорофилла a , C_b – концентрация хлорофилла b ; D – оптическая плотность раствора при заданной длине волны.

Оптическая плотность раствора при 720 нм выступала в качестве поправки для значений оптической плотности при 649 и 665 нм. Процентное содержание зеленых пигментов к сырой массе рассчитывали по формуле $(C \times V/m) \times 100 \%$, где C – концентрация пигментов (мкг/мл); V – объем вытяжки (мл); m – масса навески (мкг).

Флуоресценцию хлорофилла регистрировали на приборе IMAGING-PAM M-Series MAXI Version [9]. Измерения проводили при фотосинтетически активной радиации в диапазоне от 0 до 800 мкмоль фотонов/м²с. В ходе экспериментов измеряли квантовый выход фотосистемы II ($Y(II)$), скорость фотосинтетического электронного транспорта (ETR) с участием фотосистемы II. Скорость электронного транспорта (ETR) рассчитывалась по формуле:

$$ETR = 0,5 \times I_{PAR} \times (ETR\text{-Factor}) \times Y(II),$$

где I_{PAR} – интенсивность света; ETR-Factor равен 0,84 %, который отражает эффективность поглощения фотонов пигментами; $Y(II)$ – эффективность квантового выхода ФСII; $Y(II) = F'_m - F' / F'_m$ [9].

Построение графиков и статистическую обработку данных выполняли с помощью Microsoft Office 2007. Измерение параметров растений выполняли в 6 биологических повторностях. Оценку достоверности различий проводили по критерию Стьюдента для уровня вероятности не менее 95 %.

Результаты исследований и их обсуждение. Инокуляция семян растений спорами *Trichoderma asperellum* привела к увеличению всхожести на 8 % (рис. 1), что, возможно, связано с непосредственным взаимодействием грибов с корнями растений и использованием растением метаболитов, выделяемых грибами [2]. Показано стимулирующее влияние *T. asperellum* на длину надземной части и корневой системы растений, причем существенные различия проявились на 21-е сутки вегетации, при этом корневая система у растений была более разветвлена, чем у контрольных (рис. 2–3).

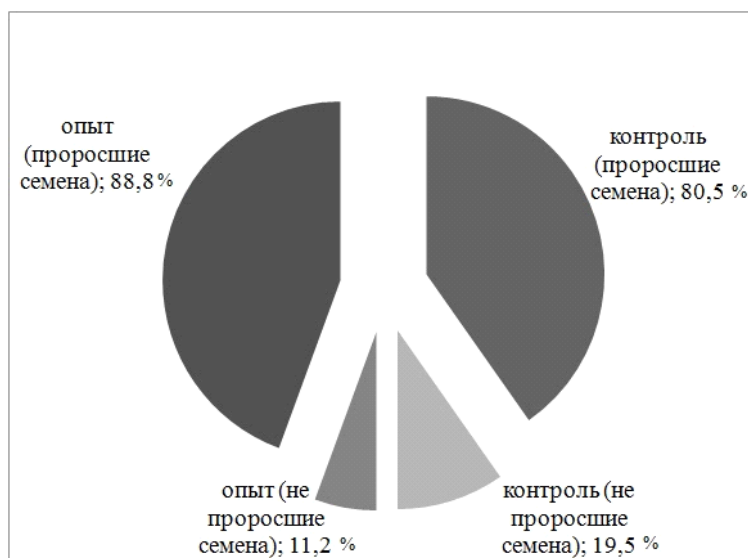


Рис. 1. Всхожесть семян растений кукурузы

Это имеет большое значение для растений, поскольку за счет корневой системы в растения поступают минеральные вещества с током воды, следовательно, чем более развита корневая система, тем больше минеральных веществ поступит в растение.

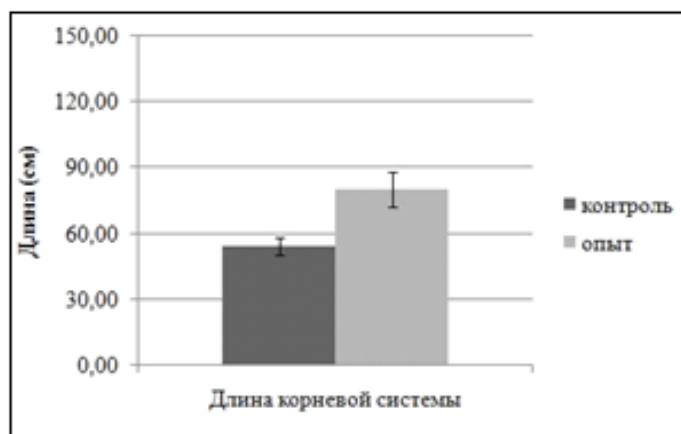


Рис. 2. Длина корневой системы растений кукурузы на 21-е сутки вегетации

Грибы *T. asperellum* способствовали не только линейному росту, но и оказывали влияние на продуктивность растений, включающую накопление биомассы. Результаты исследований показали (рис. 4), что грибы рода *Trichoderma* оказывали достоверное положительное влияние на накопление сырой биомассы растения. Однако ее содержание в опытных растениях могло быть связано как с увеличением содержания воды в тканях растения, так и накоплением в них сухого вещества.



Рис. 3. Внешний вид растений кукурузы на 21-е сутки вегетации: А – опыт; Б – контроль

Данные по содержанию воды в растениях показали, что оводненность растений, обработанных и не-обработанных грибами рода *Trichoderma*, одинакова (рис. 5).

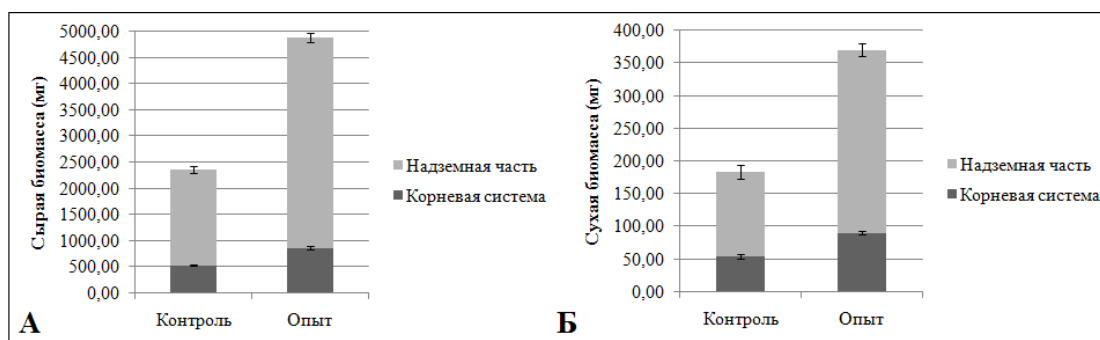


Рис. 4. Сырая (а) и сухая (б) биомасса растений кукурузы на 21-е сутки вегетации растений

Следовательно, продукты жизнедеятельности данного микромицета оказывали стимулирующее влияние на накопление биомассы растениями кукурузы за счет увеличения в них сухого вещества, что было подтверждено результатами исследований (рис. 4).

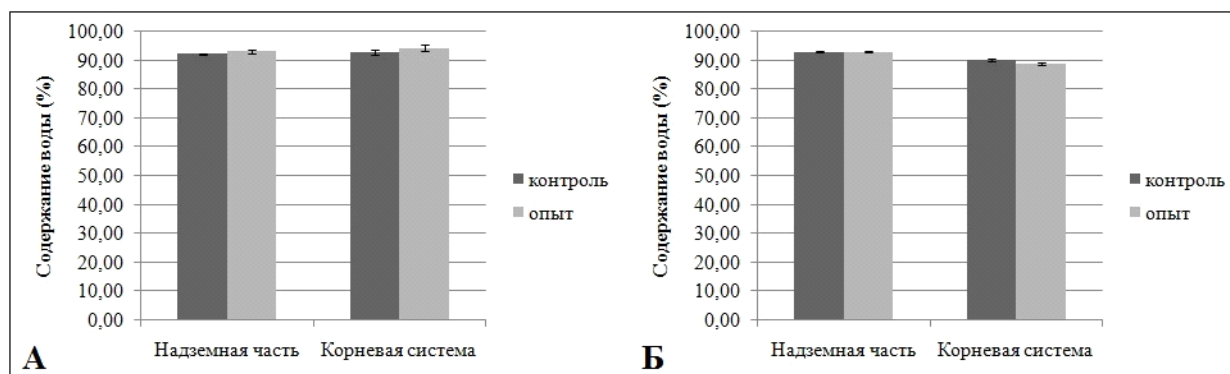


Рис. 5. Процентное содержание воды в растениях кукурузы: а – 15-е сутки вегетации; б – 21-е сутки вегетации

Актиномицеты оказывали влияние на развитие ассимиляционного аппарата растения, о чем свидетельствовало увеличение площади листьев опытных растений (рис. 6).

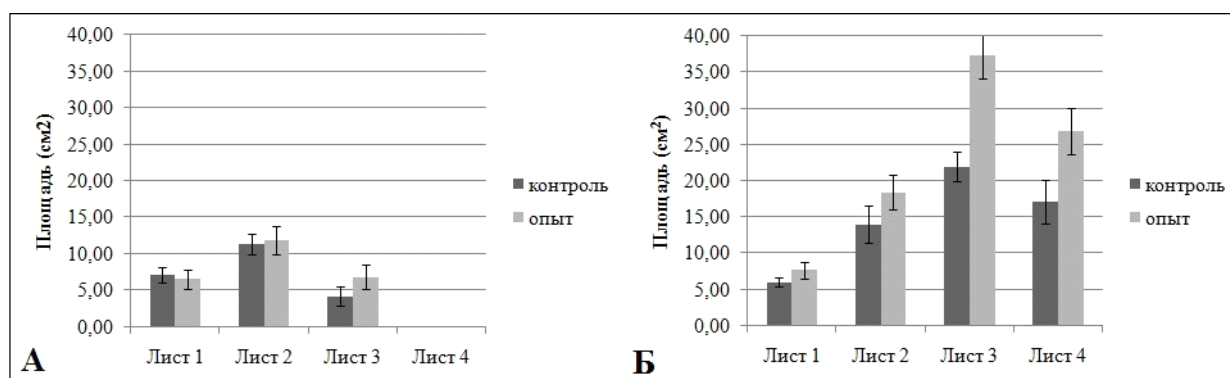


Рис. 6. Площадь листьев растений кукурузы: а – 15-е сутки вегетации; б – 21-е сутки вегетации

Показано, что под влиянием грибов-антагонистов содержание хлорофилла в расчете на сырую массу было больше, чем у растений, не подвергшихся обработке (рис. 7). Под действием данного гриба происходило изменение соотношения форм хлорофиллов (рис. 8–9).

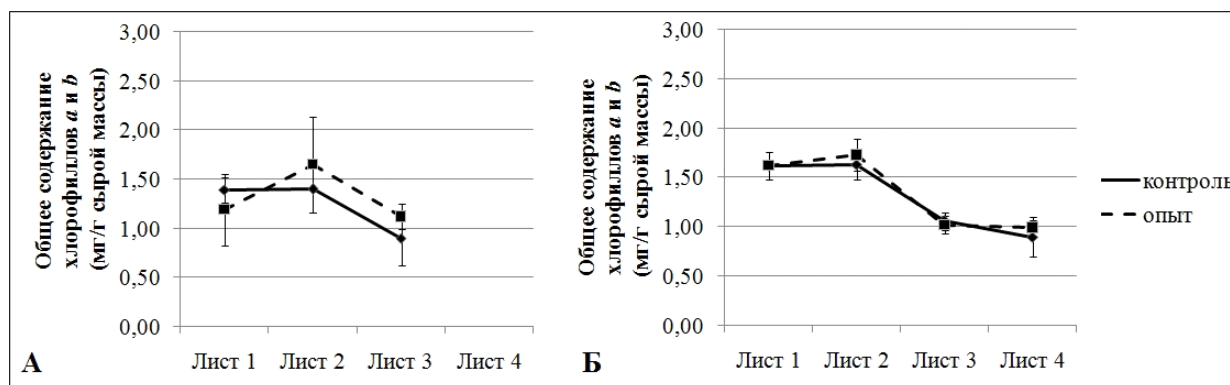


Рис. 7. Общее содержание хлорофиллов а и б в растениях кукурузы: а – 15-е сутки вегетации; б – 21-е сутки вегетации

При этом под действием *Trichoderma* наблюдалось изменение соотношения хлорофиллов *a* и *b* в листьях С₄-растений в сторону незначительного увеличения содержания хлорофилла *b*. Увеличение содержания хлорофилла *b* в результате взаимодействия с грибами рода *Trichoderma* характерно и для растений с С₃-типом метаболизма. Данный эффект указывает на большую активность фотосистемы II у растений, обработанных микромицетами.

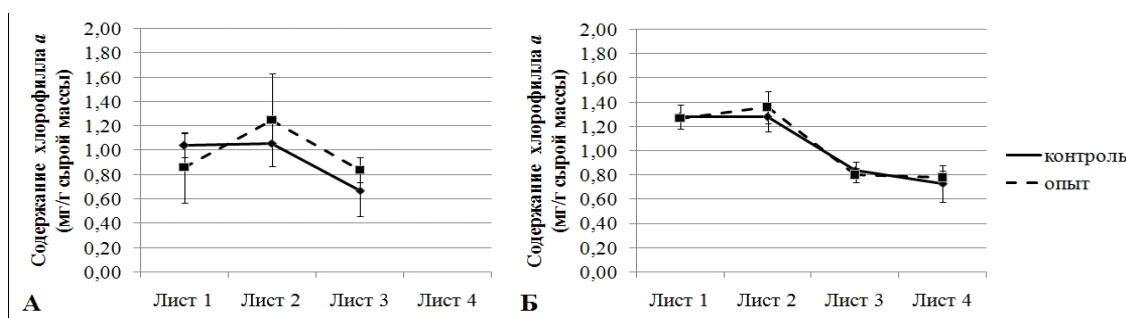


Рис. 8. Содержание хлорофилла *a* в растениях кукурузы: а – 15-е сутки вегетации; б – 21-е сутки вегетации

Одной из основных характеристик комплексов ФС II является квантовый выход фотохимического превращения энергии, осуществляемого ФС II. Этот показатель определяется как соотношение количества квантов, используемых в разделении зарядов в ФС II, к общему количеству квантов, поглощенных антенной этой фотосистемы.

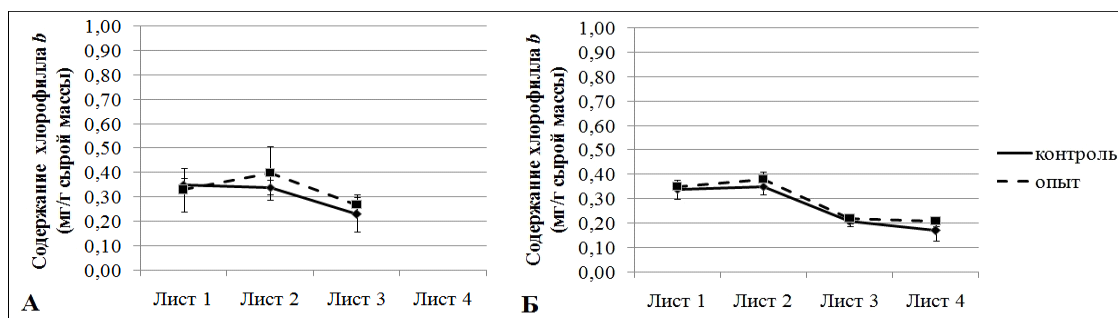


Рис. 9. Содержание хлорофилла *b* в растениях кукурузы: а – 15-е сутки вегетации; б – 21-е сутки вегетации

Установлено, что предпосевная обработка семян спорами гриба рода *Trichoderma* не нарушала скорость электронного транспорта, хотя результаты проведенных исследований не выявили достоверных различий по величине квантового выхода и скоростью электронного транспорта между растениями контрольного и опытного вариантов (рис. 10–11).

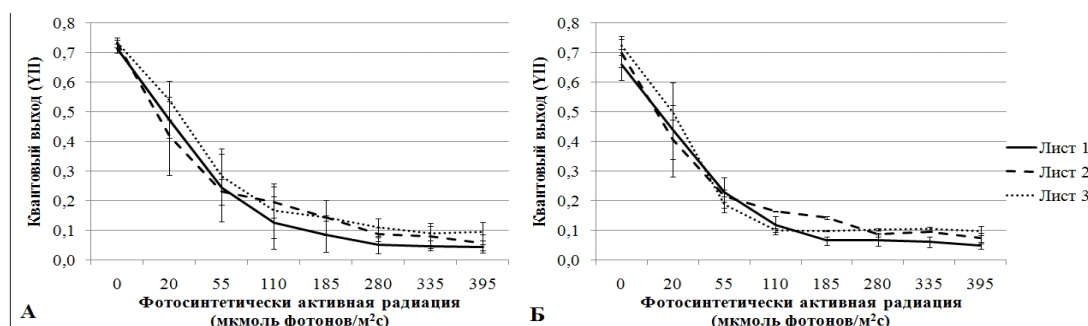


Рис. 10. Квантовый выход фотосистемы II у растений кукурузы на 15-е сутки вегетации: а – контроль; б – опыт

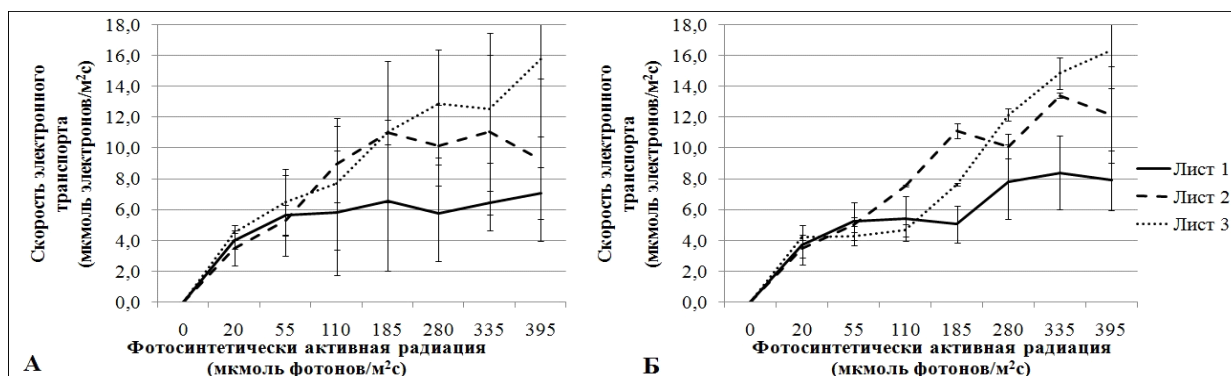


Рис. 11. Скорость фотосинтетического электронного транспорта у растений кукурузы на 15-е сутки вегетации: а – контроль; б – опыт

Выводы

1. Инокуляция семян растений кукурузы спорами гриба штамма *Trichoderma asperellum* МГ-97 привела к увеличению энергии прорастания семян, накоплению сырой и сухой биомассы растений, площади листьев. Наибольший стимулирующий эффект действия микромицетов был отмечен в развитии корневой системы.

2. Под действием грибов рода *Trichoderma* в листьях кукурузы увеличивалось общее содержание хлорофиллов; соотношение форм хлорофиллов *a* и *b* изменялось в сторону незначительного увеличения хлорофилла *b* на 15-е сутки вегетации.

3. Не было установлено достоверного влияния грибов рода *Trichoderma* на квантовый выход фотосистемы II и скорость фотосинтетического электронного транспорта у растений.

Литература

1. Гаериленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу: учеб. пособие. для студ. вузов. – М.: Академия, 2003. – С. 46–51.
2. Голованова Т.И., Аксентьева А.А. Физиолого-морфологические параметры растений при действии спор гриба рода *Trichoderma* // Вестн. КрасГАУ. – 2003. – № 3. – С. 134–139.
3. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Изд-во стандартов, 1985. – С. 45.
4. Эффективность действия *Trichoderma asperellum* G. Samuels штамм МГ-97 на развитие фузариоза на сеянцах *Larix sibirica* L. / Т.И. Громовых [и др.] // Микология и фитопатология. – 2002 – Т. 36. – Вып. 4. – С. 70–75.
5. Кацы Е.И. Молекулярная генетика ассоциативного взаимодействия бактерий и растений: состояние и перспективы исследований. – М.: Наука, 2007. – С. 5–63.
6. Усманов И.Ю., Рахманкулова З.Ф., Кулагин А.Ю. Экологическая физиология растений. – М.: Логос, 2001. – С. 223.
7. Sheridan L.W., Lorito M. Exploring the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol // Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management. – 2007. – P. 107–130.
8. Shores M.G., Harman E. The relationship between increased growth and resistance induced in plants by root colonizing microbes // Plant Signaling & Behavior. – 2008. – P. 737–739.
9. Walz H. IMAGING-PAM M-series Chlorophyll Fluorometer, Instrument Description and Information for Users. – 2009. – P. 7–25.
10. Wintermans J.F. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll *a* and *b* and their pheophytins in ethanol // Biochem. Biophys. Acta. – 1965. – P. 448–453.