

УДК 632.122:632.937

## Роль *Trichoderma* в адаптации растений томатов к воздействию цинка The role of *Trichoderma* in the adaptation of tomato plants to zinc exposure

Валиулина А. Ф., Голованова Т. И.

Valiulina A. F., Golovanova T. I.

Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, г. Красноярск, Россия.  
E-mail: valiulina1988@mail.ru, tigoivanova@mail.ru

Siberian Federal University, Institute of fundamental biology and biotechnology, Krasnoyarsk, Russia

**Реферат.** Исследования показали, что на взаимоотношение грибов *Trichoderma asperellum* штамм МГ-97 и *Solanum lycopersicum* большое влияние оказывали ионы цинка в концентрации:  $1 \times 10^{-5}$  моль/л и  $5 \times 10^{-5}$  моль/л. Эти концентрации оказывали влияние на содержание фотосинтетических пигментов *Solanum lycopersicum* и приводили к деградации общего содержания пигментов и изменению соотношения пулов зеленых и желтых фотосинтетических пигментов. Критической концентрацией цинка являлась  $5 \times 10^{-5}$  моль/л. Грибы рода *Trichoderma* снижали токсическое действие цинка. Их влияние на ростовые процессы растений неоднозначно, зависело от содержания цинка в среде, времени его воздействия и от возраста самого растения. Наибольшее влияние микромицет на растения наблюдалось при их выращивании на среде, содержащий цинк в концентрации  $5 \times 10^{-5}$  моль/литр.

**Summary.** The research shows that the relationship of MG-97 *Trichoderma asperellum* and *Solanum lycopersicum* is influenced by zinc ions at concentrations of  $1 \times 10^{-5}$  mol/l and  $5 \times 10^{-5}$  mol/l. These concentrations affect the content of photosynthetic pigments in *Solanum lycopersicum*, lead to the decrease of the total amount of pigments, and change the ratio of pools of green and yellow photosynthetic pigments. The critical zinc concentration is  $5 \times 10^{-5}$  mol/l. Introducing *Trichoderma asperellum* removes the inhibiting effect of zinc and increases physio-morphological and biophysical parameters of the plants. The effect of *Trichoderma* on plant growth processes is not unambiguous, depended on the zinc content in the environment, the time of its impact and the age of the plant. The greatest influence of micromycetes on plants observed the concentration of zinc  $5 \times 10^{-5}$  mol/l.

Растения находятся в постоянных условиях стресса, на рост и развитие которого оказывают влияние целый ряд как абиотических, так и биотических факторов. Во многих случаях эти условия складываются неблагоприятно, что приводит к резкому снижению урожая и даже гибели посевов. Среди многочисленных абиотических факторов особое место занимают тяжелые металлы (Чиркова, 2002). Поступающие из различных источников тяжелые металлы аккумулируются в почве, которая является участником всех процессов трансформации и миграции веществ, протекающих в биосфере. Дальнейшее влияние металлов зависит от их химической природы и свойств почв (Панин, 2009). Действие металлов на растительный организм зависит от природы элемента, содержания его в окружающей среде, от формы его химического соединения, вида загрязнения, срока от момента загрязнения. Одним из таких элементов, оказывающих существенное влияние на рост и развитие растений, является цинк. Основные функции цинка в растениях связаны с метаболизмом углеводов, протеинов и фосфатов, а также с образованием ДНК и рибосом. В растениях цинк наряду с его участием в дыхании, белковом и нуклеиновом обменах регулирует рост и развитие растений. Однако цинк проявляет высокую степень не только биологической активности, но и токсичности. Накапливаясь в почве, он может достичь критической концентрации и привести не только к снижению урожайности растений, но и к его гибели (Скочилова, Закаменская, 2011). В связи с этим проблемы неоднозначного влияния данного металла на растительный организм вызывают усиленный интерес к его изучению как стрессового фактора. На влияние цинка на растения могут оказывать микроорганизмы, совместно обитающие с растениями. Они оказывают положительное влияние на целый комплекс физиолого-биохимических программ, протека-

ющих в растительном организме, обеспечивают их необходимыми элементами питания и регуляторами роста, защищают растения от патогенных микроорганизмов, способствуют повышению устойчивости к различным стрессовым факторам (Komy et al., 2015). К таким микроорганизмам-антагонистам патогенов относятся грибы рода *Trichoderma* (Голованова, Аксентьева, 2003; Голованова, Логинова, 2005), которые являются продуцентами комплекса антибиотических веществ, обладающих высокой физиологической активностью, и подавляют рост и развитие целого ряда фитопатогенных микроорганизмов путем индуцирования системной и локальной резистентности растений. Под действием метаболитов, выделяемых грибом-антагонистом, происходит изменение транспорта и распределение ассимилятов в растении, изменяется биохимическая направленность, увеличивается рост и развитие корневой системы и масса хозяйственно ценных органов. Накопление сухой массы растением может быть связано с интенсивностью фотосинтеза, протекание которого зависит от состояния фотосинтетического аппарата, на формирование и функционирование которого, вероятно, оказывают влияние микроорганизмы-антагонисты. Цель данного исследования – изучить влияние *Trichoderma asperellum* на биофизические показатели *Solanum lycopersicum*, выращенных при различных концентрациях цинка.

В качестве тест-объекта использовали растения томатов – *Solanum lycopersicum* ‘Лакомка’. Это высокоурожайный, раннеспелый сорт. Растение детерминантное, высотой 55–60 см. В качестве микроорганизмов-антагонистов – грибы *Trichoderma asperellum* штамма МГ-97. Растения выращивали в условиях естественного освещения в течение 60 суток, освещенность на уровне проростков составляла 300 мкмоль фотонов м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup>, относительная влажность воздуха – 75 ± 3%, температура воздуха колебалась в пределах 25 ± 2°C. Количество растений в каждом варианте – 50 штук. Перед посевом семян проводили их поверхностную стерилизацию. Часть семян опудривали спорами *Trichoderma asperellum*. Семена проращивали рулонным методом (Бенкен, 1980). Проросшие семена помещали в емкости с отстоянной водопроводной водой. На восьмые сутки часть проростков оставляли в емкостях с отстоянной водопроводной водой, а другую помещали в отстоянную водопроводную воду, содержащую цинк в различных концентрациях (1·10<sup>-5</sup> моль/литр и 5·10<sup>-5</sup> моль/литр). В качестве контроля использовали растения, семена которых не обработаны спорами *Trichoderma* и выращены на водопроводной воде. Концентрацию пигментов измеряли спектрофотометрическим методом по молярным коэффициентам экстинкции на приборе Specol 1300 (analytic jena, Германия). Вычисление концентрации зеленых и желтых пигментов проводили по формулам (Wintermans, De Mots, 1965):

$$C_a = 13,7 \times (D_{665} - D_{720}) - 5,76 \times (D_{649} - D_{720})$$

$$C_b = 25,8 \times (D_{649} - D_{720}) - 7,6 \times (D_{665} - D_{720}),$$

$$C_{кар} = ((D_{470} - D_{720}) - C_a \times 0,001666 - C_b \times 0,03315) / 0,21, \text{ где}$$

$C_a$  – концентрация хлорофилла *a*,  $C_b$  – концентрация хлорофилла *b*,  $C_{кар}$  – концентрация желтых пигментов,  $D$  – оптическая плотность раствора при заданной длине волны.

Количество пигментов рассчитывали по формуле:

$$M = (C \times V) / m, \text{ где}$$

$C$  – концентрация пигментов,  $V$  – объем навески (мл),  $m$  – масса навески (мг).

Для статистической обработки экспериментальных результатов использовали пакет программы Microsoft Excel 2007. Оценку достоверности различий средних проводили на основе критерия Стьюдента при уровне вероятности не менее 95 %. Достоверность действия фактора проводили с использованием дисперсионного анализа. В таблице приведены средние арифметические значения с двухсторонним доверительным интервалом из 3–5 независимых экспериментов, каждый из которых проведен в 50 биологических повторностях.

Показателем, который характеризует состояние растений в условиях стресса, является содержание пигментов в листьях растений. Оптимальное соотношение пигментов обеспечивает работу фотосинтетического аппарата и позволяет создавать большой запас ассимилятов для формирования урожая. Пигменты являются фотоакцепторами, от их количества и эффективности работы зависит продуктивность растений. Исследования показали, что содержание зеленых пигментов в растениях зависело от концентрации цинка в среде. Цинк в концентрациях 1 × 10<sup>-5</sup> моль/л и 5 × 10<sup>-5</sup> моль/л приводил к уменьшению количества хлорофилла и снижению отношения хлорофиллов *a* и *b* (табл.). Возможно, снижение общего содержания хлорофилла и изменение соотношения его форм связано с влиянием

цинка на деградацию как хлорофилла *a*, так и хлорофилла *b* (табл.), что экспериментально доказано О. Аюени (Аюени et al., 2010). Существенное влияние цинка на содержание каротиноидов и изменение соотношения пулов зеленых и желтых фотосинтетических пигментов проявлялось на более поздних стадиях развития растений. Содержание желтых пигментов на 25-е сутки практически не изменялось, существенное влияние цинка на содержание каротиноидов проявлялось на 4-е и 60-е сутки во всех исследуемых вариантах. Увеличение концентрации цинка сопровождалось уменьшением содержания желтых пигментов (табл.). Наибольшее действие грибов *Trichoderma asperellum* проявлялось на 45-е сутки развития растений: в первом варианте содержание желтых пигментов увеличивалось на 15 %, во втором и третьем вариантах – на 47 % и 62 %, соответственно, то есть вид *Trichoderma* не только нивелировал отрицательное действие цинка, но и способствовал накоплению каротиноидов (табл.).

Таблица

Влияние *Trichoderma* на содержание пигментов (мг/г.с.м.) и их соотношение у *Solanum lycopersicum*

Пигменты	Сутки	Растения, выращенные на водопроводной воде (вариант 1)		Растения, выращенные на растворе, содержащем Zn ( $1 \times 10^{-5}$ моль/литр) (вариант 2)		Растения, выращенные на растворе, содержащем Zn ( $5 \times 10^{-5}$ моль/литр) (вариант 3)	
		-Trichoderma	+Trichoderma	-Trichoderma	+Trichoderma	-Trichoderma	+Trichoderma
Хл. <i>a</i>	25	0,46 ± 0,02	0,56 ± 0,03	0,43 ± 0,02	0,45 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,37 ± 0,01
	45	1,01 ± 0,05	1,12 ± 0,08	0,45 ± 0,01	0,67 ± 0,02	0,37 ± 0,02	0,65 ± 0,03
	60	1,28 ± 0,08	1,54 ± 0,05	0,85 ± 0,07	0,95 ± 0,08	—	0,44 ± 0,05
Хл. <i>b</i>	25	0,28 ± 0,04	0,25 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,22 ± 0,00	0,22 ± 0,01	0,16 ± 0,01
	45	0,31 ± 0,02	0,35 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,23 ± 0,06	0,13 ± 0,05	0,22 ± 0,01
	60	0,61 ± 0,02	0,55 ± 0,04	0,44 ± 0,06	0,39 ± 0,05	—	0,24 ± 0,01
Хл. ( <i>a+b</i> )	25	0,74 ± 0,03	0,81 ± 0,01	0,53 ± 0,01	0,67 ± 0,01	0,65 ± 0,02	0,53 ± 0,01
	45	1,32 ± 0,04	1,47 ± 0,07	0,62 ± 0,01	0,90 ± 0,05	0,50 ± 0,04	0,87 ± 0,03
	60	1,90 ± 0,03	2,09 ± 0,01	1,29 ± 0,03	1,34 ± 0,03	—	0,68 ± 0,05
Хл. <i>a/b</i>	25	1,64	2,24	2,38	2,04	1,59	2,31
	45	3,25	3,20	2,81	2,91	2,81	2,95
	60	2,10	2,31	1,93	2,43	—	1,83
Каротиноиды	25	0,13 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,12 ± 0,01
	45	0,26 ± 0,02	0,30 ± 0,04	0,15 ± 0,01	0,22 ± 0,07	0,13 ± 0,07	0,21 ± 0,02
	60	0,35 ± 0,02	0,41 ± 0,03	0,27 ± 0,04	0,31 ± 0,03	—	0,18 ± 0,01
Хл. ( <i>a+b</i> )/Каротиноиды	25	5,6	5,1	4,0	5,1	3,8	4,4
	45	5,1	4,9	4,1	4,1	3,8	4,1
	60	5,4	5,1	4,8	4,3	—	3,7

Влияние тяжелых металлов и степень физиологического стресса оценивали не только по содержанию зеленых и желтых пигментов растения, но и по их соотношению. Соотношение пулов зеленых и желтых пигментов является немаловажным показателем напряженности энергетических процессов в хлоропластах (Бессонова, 2006). Исследования показали, что соотношение хл (*a + b*)/каротиноиды в листьях растений первого варианта находилось в пределах от 5,1 до 5,6 (растения, семена которых не обработаны *Trichoderma*) и от 4,9 до 5,1 (семена, обработанные спорами гриба штамма МГ–97). Такое отношение фотосинтетических пигментов является типичным для здоровых, хорошо функционирующих зеленых растений. Однако произрастание растений в условиях, характеризующихся повышенным содержанием цинка, приводило к изменению величины данного показателя. Выявлены различия между соотношениями зеленых и желтых пигментов у всех вариантов: соотношение хл (*a + b*)/каротиноиды уменьшалось от первого к третьему варианту (табл.). *Trichoderma* частично нивелировал негативное действие ионов цинка. Под влиянием *Trichoderma* увеличивалось общее содержание зеленых пигмен-

тов, изменялся качественный состав различных форм пигментов, общее увеличение зеленых пигментов происходило за счет хлорофилла *a* (табл.). Полученные данные указывают на отличие в проявлении действия грибов рода *Trichoderma* на содержание зеленых пигментов растений при различных концентрациях цинка в среде. Наибольший эффект воздействия *Trichoderma* проявлялся при больших концентрациях тяжелого металла, что согласуется с данными F. Mastouri, T. Bjorkman, G. E. Harman (Mastouri et al., 2010), где говорится о том, что в условиях стресса данный гриб проявляет наибольшую активность в отношении растений. Аналогичная закономерность наблюдалась и по изменению содержания каротиноидов в растениях (табл.). *Trichoderma* не только нивелировал отрицательное действие цинка, но и способствовал накоплению каротиноидов.

Таким образом, предпосевная обработка семян растений спорами гриба *Trichoderma* увеличивала общее содержание пигментов в течение всего срока развития растения независимо от условий его выращивания. Однако эффективность действия микромицет зависела от концентрации цинка в среде и времени его воздействия на растение.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Бенкен А. А., Хацкевич Л. К.** Оценка устойчивости растений к почвенным фитопатогенам // Микология и фитопатология, 1980. – Т. 14, вып. 6. – С. – 531 – 538.
- Бессонова В. П.** Влияние тяжелых металлов на фотосинтез растений. – Днепропетровск: ДГАУ, 2006. – 208 с.
- Голованова Т. И., Аксентьева А. А.** Физиолого–морфологические параметры растений при действии спор гриба рода *Trichoderma* // Вестник Красноярского государственного университета. – Красноярск, 2003. – С. 134 – 139.
- Голованова Т. И., Логинова Е. А.** Реакция фотосинтетического аппарата на обработку растений пшеницы спорами гриба рода *Trichoderma* // Вестник Красноярского государственного университета. – Красноярск, 2005. – С. 210 – 215.
- Панин М. С., Калентьева Н. В.** Формы соединений цинка в почвах Семипалатинского Прииртышья при полиэлементном и цинковом видах загрязнения // Сибирский экологический журнал, 2009. – №1. – С. 9 – 16.
- Скочилова Е. А., Закаменская Е. С.** Накопление меди и цинка растениями мари белой (*Chenopodium album* L.) на территории республики Марий Эл // Агрохимия, 2011. – № 3, – С.72 – 75.
- Чиркова Т. В.** Физиологические основы устойчивости растений: учеб. пособие. – СПб.: Изд-во С. –Петербург. ун-та, 2002. – 244 с.
- Ayeni O. O., Ndakidemi P. A., Snyman R. G., & Odendaal J. P.** Chemical biological and physiological indicators of metal pollution in wetlands // Scientific Research and Essays, 2010. – Vol. 5(15). – P. 1938–1949.
- Komy M. H., Saleh A. A., Eranthodi A., Molan Y. Y.** Characterization of Novel *Trichoderma asperellum* Isolates to Select Effective Biocontrol Agents Against Tomato Fusarium Wilt // Plant Pathology J., 2015. – Vol.31, № 1. – P. 50 – 60.
- Mastouri F., Bjorkman T., Harman G. E.** Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings // Phytopathology, 2010. – P. 1213 –1221.
- Wintermans J. F. G. M., De Mots A.** Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their phenophytins in ethanol // Biochimica et Biophysica Acta, 1965. – Vol. 109. – P. 448 – 453.