



УДК 632.122:632.937

Т.И. ГОЛОВАНОВА, доктор биологических наук,
А.Ф. ВАЛИУЛИНА, аспирант

Сибирский федеральный университет

660041 г. Красноярск, пр. Свободный, 79

e-mail: valiulina1988@mail.ru

РОЛЬ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ ТОМАТА К ВОЗДЕЙСТВИЮ ЦИНКА

Изучено влияние грибов рода *Trichoderma* на ростовые процессы томатов (*Solanum lycopersicum*), выращенных в условиях различной концентрации цинка. Цинк оказывал существенное влияние на все изученные физиолого-морфологические параметры томатов: приводил к уменьшению длины надземной части и в особенности корневой системы, снижению накопления растением как сырой, так и сухой биомассы, уменьшению фотосинтетической поверхности растений, деградации общего содержания зеленых пигментов и изменению соотношения пулов зеленых и желтых пигментов. Негативное действие данного металла на растения проявлялось на самых ранних этапах их развития: повышение концентрации данного металла в среде приводило к резкому снижению энергии прорастания и всхожести семян томатов. Показано, что степень действия тяжелого металла на ростовые процессы томатов зависела от его концентрации в среде. *Trichoderma* оказывала положительное влияние на продуктивность растений: происходило накопление сырой и сухой биомассы, увеличивалась фотосинтетическая поверхность исследуемых растений. Обработка семян томатов микромицетами способствовала активному синтезу пигментов. Грибы рода *Trichoderma* оказывали существенное влияние на ростовые процессы растений, произрастающих в условиях повышенного содержания цинка. Внесение *Trichoderma* не только снижало ингибирующее действие цинка, но и в ряде случаев увеличивало физиолого-морфологические параметры исследуемых растений. Однако влияние микромицет на ростовые процессы было неоднозначно, зависело от содержания цинка в среде, времени его воздействия и от возраста самого растения.

Ключевые слова: томаты, *Trichoderma*, *T. asperellum*, цинк, антагонисты, тяжелые металлы, ассимиляционный аппарат, пигменты, стресс, адаптация.

Растительный организм прямо или косвенно подвергается воздействию абиотических факторов окружающей среды, таких как pH среды, высокие и низкие температуры, засоленность почв, действие тяжелых металлов. Накопление тяжелых металлов в большом количестве может привести к существенному изменению состояния растения: увяданию надземной части растения, повреждению его корневой системы, нарушению водного баланса, газообмена и в конечном итоге к снижению продуктивности [1]. В условиях загрязнения почв тяжелыми металлами актуальными становятся проблемы, связанные с адаптацией к ним растений. В настоящее время имеются многочисленные данные, свидетельствующие о том, что разные виды растений проявляют различную устойчивость к действию данного стрессового фактора [2, 3]. К группе тяжелых металлов относится цинк, который является необходимым микроэлементом для нормальной жизнедеятельности растений. Он характеризуется высокой интенсивностью по-

глощения растениями, а увеличение техногенной эмиссии в окружающую среду делает его одним из опасных загрязнителей биоты. Наряду с абиотическими факторами на растительный организм действуют факторы биотической природы, которые обусловлены влиянием на растения деятельностью других живых организмов, в частности микроорганизмов. В настоящее время больший интерес стали проявлять к микроорганизмам – антагонистам патогенов. Они в значительной степени снижают поражение растений болезнями и повышают урожайность и качество продукции [4]. Среди микроорганизмов-антагонистов большое внимание заслуживают грибы рода *Trichoderma* и препараты, созданные на их основе. Они оказывают существенное влияние на ростовые процессы растений, ингибируют действие патогенной микрофлоры, под действием данного гриба повышается термоустойчивость и продуктивность растений [5, 6].

Цель исследования – определить влияние грибов рода *Trichoderma* на регуляцию ростовых процессов томатов в условиях повышенного содержания цинка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследования служили растения томатов (*Solanum lycopersicum*) сорта Лакомка. Перед посевом семян проводили их поверхностную стерилизацию. Часть семян опудривали спорами гриба *Trichoderma asperellum* (титр 10^8). Проращивали семена рулонным методом [7]. Проросшие семена помещали в емкости с отстоянной водопроводной водой. На 8-е сутки часть проростков оставляли в этих емкостях, другую помещали в отстоянную водопроводную воду, содержащую цинк в различных концентрациях (1×10^{-5} и 5×10^{-5} моль/л). Смену растворов проводили через каждые 5 дней эксперимента. Контрольными были выращенные на водопроводной воде растения, семена которых не обработаны микромицетами. В качестве оценки токсичности цинка использовали следующие параметры: всхожесть и энергию прорастания, длину надземной и корневой систем, накопление биомассы, площадь поверхности листьев и содержание пигментов. Растения выращивали в условиях естественного освещения, освещенность на уровне проростков составляла $300 \text{ мкмоль фотонов м}^{-2} \text{ с}^{-1}$, относительная влажность воздуха $75 \pm 3 \%$, температура – $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Растения выращивали в течение 60 сут, число растений в каждом варианте – 50.

Энергию прорастания и всхожесть семян определяли согласно ГОСТ 12038–84 [8], площадь листовой поверхности – с помощью программы Image-J 1.45 на основе цифрового изображения, полученного путем сканирования (the HP Scanjet G3010 at 600 DPI), содержание пигментов – спектрофотометрическим методом по молярным коэффициентам экстинкции на приборе Specol 1300 [9, 10]. Сырую, сухую массу, размерные показатели, содержание пигментов определяли на 25, 45, 60-е сутки после появления всходов.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Excel пакета Microsoft Office. Для всех средних величин рассчитывали стандартную ошибку, оценивали достоверность различий по Стьюденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Под влиянием *T. asperellum* происходило увеличение энергии прорастания и всхожести семян. Однако цинк оказывал большое влияние на данные показатели (табл. 1).

Эффект действия данного металла зависел от его концентрации в среде. При концентрации цинка 1×10^{-5} моль/л всхожесть и энергия прорастания были несколько выше по сравнению с растениями, выращенными на водопроводной воде. Это, вероятно, связано с тем, что данная концентрация металла на начальных этапах развития растений оказывала стимулирующее действие на растения, однако его увеличение в 5 раз приводило к резкому снижению как энергии прорастания, так и всхожести семян. Внесение *T. asperellum* не только снимало ингибирующее действие высокой концентрации цинка, но и увеличивало данные показатели. Обнаружен положительный эффект действия микромицет на физиолого-морфологические параметры растительного организма. Под влиянием *T. asperellum* происходило увеличение длины надземной и корневой систем, накопление сырой и сухой биомассы (см. рисунок, табл. 2). Наиболее сильное влияние отмечено на развитие корневой системы. Это связано с тем, что *T. asperellum* может непосредственно взаимодействовать с корневой системой растений и выделять биологически активные вещества, которые могут включаться в метаболические процессы растений, что, вероятно, и спо-

Таблица 1

Влияние грибов *T. asperellum* на энергию прорастания и всхожесть семян томатов, выращенных в различных растворах, %

Показатель	Водопроводная вода		Раствор, содержащий Zn			
			1×10^{-5} моль/л		5×10^{-5} моль/л	
Энергия прорастания	71,4	89,2*	75,0	82,1*	57,1	75,0*
Всхожесть	60,7	96,4*	82,1	85,7*	60,7	67,8*

*Обработка спорами гриба *T. asperellum*.



Влияние грибов *T. asperellum* на длину надземной и корневой систем растений томатов сорта «Лакомка»:

1, 2 – растения, выращенные на водопроводной воде; растения, выращенные на растворе, содержащем цинк: 3, 4 – 1×10^{-5} моль/л; 5, 6 – 5×10^{-5} моль/л; 1, 3, 5 – растения, семена которых не обработаны микромицетами; 2, 4, 6 – растения, семена которых обработаны микромицетами

Таблица 2

Влияние грибов *T. asperellum* на биомассу растений, мг

Условия выращивания растений	Сутки	Сухая биомасса целого растения	Сырая биомасса целого растения	Общее содержание воды в растении, %
Водопроводная вода:				
не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	9,0 ± 0,4	135,0 ± 3,7	93,0 ± 0,1
	45-е	70,3 ± 1,5	875,0 ± 4,0	91,9 ± 0,2
	60-е	330,4 ± 5,6	3117,0 ± 5,6	89,4 ± 0,2
обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	12,0 ± 0,4*	153,0 ± 3,5*	92,2 ± 0,3
	45-е	86,6 ± 2,0*	1113,3 ± 10,3*	92,2 ± 0,3
	60-е	370,1 ± 9,3*	3533,8 ± 61,8*	89,5 ± 0,1
Раствор, содержащий Zn (1 × 10 ⁻⁵ моль/л):				
не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	12,0 ± 0,4*	126,3 ± 1,9*	90,5 ± 0,2
	45-е	28,0 ± 2,0*	317,7 ± 1,7*	91,2 ± 0,3
	60-е	116,3 ± 0,9*	1305,9 ± 22,5*	91,1 ± 0,2
обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	10,7 ± 0,2	140,0 ± 1,9*	92,4 ± 0,5
	45-е	28,3 ± 1,9*	342,3 ± 0,7*	91,7 ± 0,5
	60-е	149 ± 5,0*	1634,3 ± 19,8*	90,9 ± 0,2
Раствор, содержащий Zn (5 × 10 ⁻⁵ моль/л):				
не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	7,3 ± 0,5*	84,0 ± 4,6*	91,3 ± 0,2
	45-е	19,0 ± 1,2*	241,0 ± 5,3*	92,1 ± 0,2
	60-е	–	–	–
обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	7,7 ± 0,9	97,3 ± 3,7*	92,0 ± 0,2
	45-е	23,7 ± 1,3*	283,0 ± 2,6*	91,6 ± 0,5
	60-е	32,5 ± 2,0	348,0 ± 38,0*	90,6 ± 0,4

* Различия достоверны при $p = 0,05$.

способствует ускорению ростовых процессов растений. Цинк ингибировал рост надземной и корневой систем, снижалось накопление сырой и сухой биомассы растительного организма (см. рисунок, табл. 2). У растений, произрастающих на среде с цинком, отмечено резкое снижение биомассы, возможно, это связано с активацией механизмов детоксикации организма, что приводит к понижению снабжения растения питательными веществами и уменьшению накопления биомассы. Увеличивалось отношение массы надземной части к массе корневой системы, что указывает на преимущественное уменьшение биомассы корневой системы и ее разветвленности по сравнению с массой побегов. *T. asperellum* сглаживал ингибирующее действие цинка, вероятно, антагонисты могут связывать ионы металлов поляризованными группами клеточной стенки. Основным фотосинтезирующим органом растения является лист, мощность фотосинтезирующего аппарата характеризуется рядом показателей, одним из которых является площадь листьев. Гриб *T. asperellum* увеличивал поверхность листовой пластинки в 1,3 раза.

Под влиянием цинка происходило уменьшение площади ассимиляционного аппарата растений (табл. 3). Более существенно этот показатель изменился на 60-е сутки при концентрации цинка 5×10^{-5} моль/л. *T. asperellum* снижал негативное влияние цинка, однако действие исследуемого штамма носило неоднозначный характер. Наибольшее влияние грибов рода *Trichoderma* проявлялось при наименьшей концентрации цинка в среде. Это вполне объяснимо, так как на эффективность действия микроскопических грибов оказывало влияние высокое содержание тяжелых металлов в среде.

Другим важным показателем, характеризующим состояние растения, является содержание хлорофилла в листьях (табл. 4).

По своим функциональным свойствам молекулы пигментов неравнозначны: одни из них входят в состав реакционных центров фотосистем, другие выполняют только светособирающую функцию, поэтому для поддержания нормального уровня фотосинтеза и сопряжения энергетических процессов является соотношением различных групп фотосинтетических пигментов. Исследования показали, что содержание зеленых пигментов в растении зависело от концентрации цинка в среде. Цинк в концентрациях

Таблица 3
Влияние грибов *T. asperellum* на площадь листьев томатов сорта, см²

Условия выращивания растений	Сутки	Площадь листьев	Процент к контролю
Водопроводная вода:			
не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,39 ± 0,12	100
	45-е	7,90 ± 0,63	100
	60-е	45,39 ± 1,77	100
обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,57 ± 0,13*	146,1
	45-е	8,73 ± 0,78	110,5
	60-е	58,02 ± 1,73*	127,8
Раствор, содержащий Zn (1×10^{-5} моль/л):			
не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,37 ± 0,15	94,9
	45-е	2,27 ± 0,25*	28,7
	60-е	16,52 ± 0,63*	36,4
обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,45 ± 0,15	115,4
	45-е	5,10 ± 0,34*	64,6
	60-е	21,34 ± 1,23	47,0
Раствор, содержащий Zn (5×10^{-5} моль/л):			
не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,30 ± 0,12	76,9
	45-е	2,41 ± 0,51*	30,5
	60-е	–	–
обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,35 ± 0,10	89,7
	45-е	2,89 ± 0,27*	36,6
	60-е	5,49 ± 1,63*	12,1

* Различия достоверны при $p = 0,05$.

Влияние грибов *T. asperellum* на пигментный состав томатов сорта Лакомка, мг/г сырой биомассы

Условия выращивания растений	Сутки	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Хлорофилл (<i>a</i> + <i>b</i>)	Каротиноиды	Хлорофилл <i>a/b</i>	Хлорофилл (<i>a</i> + <i>b</i>)/каротиноиды
Водопроводная вода: не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,46 ± 0,02	0,28 ± 0,04	0,74 ± 0,03	0,13 ± 0,02	1,64	5,7
	45-е	1,01 ± 0,05	0,31 ± 0,02	1,32 ± 0,04	0,26 ± 0,02	3,25	5,1
	60-е	1,28 ± 0,08	0,61 ± 0,02	1,89 ± 0,03	0,35 ± 0,02	2,10	5,4
	25-е	0,56 ± 0,03*	0,25 ± 0,01	0,81 ± 0,01	0,16 ± 0,01	2,24	5,1
	45-е	1,12 ± 0,08	0,35 ± 0,01	1,47 ± 0,07	0,30 ± 0,04	3,20	4,9
	60-е	1,54 ± 0,05*	0,55 ± 0,04	2,09 ± 0,01*	0,41 ± 0,03	2,80	5,1
Раствор, содержащий Zn (1×10^{-5} моль/л): не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,43 ± 0,02	0,18 ± 0,01*	0,61 ± 0,01*	0,13 ± 0,01	2,39	4,7
	45-е	0,45 ± 0,01*	0,16 ± 0,01*	0,62 ± 0,01*	0,15 ± 0,01*	2,81	4,1
	60-е	0,85 ± 0,07*	0,44 ± 0,06*	1,29 ± 0,03*	0,27 ± 0,04*	1,93	4,8
	25-е	0,45 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,67 ± 0,01*	0,13 ± 0,01	2,05	5,2
	45-е	0,67 ± 0,02*	0,23 ± 0,06	0,90 ± 0,05*	0,22 ± 0,07	2,91	4,1
	60-е	0,95 ± 0,08*	0,39 ± 0,05*	1,34 ± 0,03*	0,31 ± 0,03	2,44	4,3
Раствор, содержащий Zn (5×10^{-5} моль/л): не обработанные <i>T. asperellum</i>	25-е	0,35 ± 0,02*	0,22 ± 0,01	0,57 ± 0,02*	0,17 ± 0,01*	1,59	3,4
	45-е	0,37 ± 0,02*	0,13 ± 0,05*	0,50 ± 0,04*	0,13 ± 0,07*	2,85	3,8
	60-е	—	—	—	—	—	—
	25-е	0,37 ± 0,01*	0,16 ± 0,01*	0,53 ± 0,01*	0,12 ± 0,01	2,31	4,4
	45-е	0,65 ± 0,03*	0,22 ± 0,01*	0,87 ± 0,03*	0,21 ± 0,02	2,95	4,1
	60-е	0,44 ± 0,05*	0,24 ± 0,01*	0,68 ± 0,05*	0,18 ± 0,01*	1,83	3,8

* Различия достоверны при $p = 0,05$.

1×10^{-5} и 5×10^{-5} моль/л приводил к резкому уменьшению количества хлорофилла, изменялось и соотношение различных его форм (см. табл. 4). Наблюдалось снижение отношения хлорофиллов a/b в 1,16 и 1,14 раза соответственно по сравнению с контролем, что, вероятно, связано с влиянием цинка на деградацию как хлорофилла a , так и хлорофилла b . Полученные данные указывают на различие в проявлении действия грибов рода *Trichoderma* на содержание зеленых пигментов при различных концентрациях цинка.

При больших концентрациях тяжелого металла эффект действия *T. asperellum* был наибольшим. Содержание желтых пигментов на 25-е сутки практически не изменялось, существенное влияние цинка на содержание каротиноидов проявлялось на 45-е и 60-е сутки во всех исследуемых вариантах. Увеличение концентрации цинка сопровождалась уменьшением содержания желтых пигментов. *T. asperellum* не только нивелировал отрицательное действие цинка, но и способствовал накоплению каротиноидов, хотя достоверных различий обнаружить не удалось. Влияние тяжелых металлов и степень физиологического стресса оценивались не только по изменению содержания отдельных пигментов растения, но и по их соотношению. Соотношение пулов зеленых и желтых пигментов – важный показатель напряженности энергетических процессов в хлоропластах. Исследования показали, что соотношение «Ch $a + b$ /car» в листьях контрольных растений находилось от 5,6 до 5,07, от 4,9 до 5,1 – в листьях растений, семена которых обработаны спорами исследуемого гриба. Такое отношение фотосинтетических пигментов является типичным для здоровых, хорошо функционирующих зеленых растений. Однако произрастание растений в условиях, характеризующихся повышенным содержанием цинка в среде, приводит к изменению данного показателя: отношение «Ch $a + b$ /car» уменьшается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цинк оказывал негативное влияние на все изученные физиолого-морфологические параметры томатов. Предпосевная обработка семян *Solanum lycopersicum* микроскопическими грибами рода *Trichoderma* снижала губительное воздействие цинка на все исследуемые параметры, повышала устойчивость томатов к данному экстремальному фактору среды. Однако их действие было неоднозначно и зависело от возраста растительного организма и времени воздействия тяжелого металла.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Сkochилова 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.
2. Алексеева-Попова Н.В., Игошина Т.И., Косицин А.В., Ильинская Н.Л. Устойчивость к тяжелым металлам (Pb, Zn, Cu) отдельных видов и популяций естественных фитоценозов из района медноколчеданных рудопроявлений // Растения в экстремальных условиях минерального питания. – Л.: Наука, 1983. – С. 22–42.
3. Жуйкова Т.В., Позолотина В.Н., Безель В.С. Разные стратегии адаптации растений к токсическому загрязнению среды тяжелыми металлами (на примере *Taraxacum officinale* S.L.) // Экология. – 1999. – № 3. – С. 189–196.

4. Mukherjee V., Mukherjee P.K., Horwitz B.A., Zachow C., Berg G., Zeilinger S. *Trichoderma*-Plant-Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control // *Indian Microbiology*. – 2012. – Vol. 52. – P. 522–529.
5. Голованова Т.И., Логинова В.А. Реакция фотосинтетического аппарата на обработку растений пшеницы спорами гриба рода *Trichoderma* // Красноярск: Вестн. КГУ. – 2005. – С. 210–214.
6. Голованова Т.И., Аксентьев А.А. Физиолого-морфологические параметры растений при действии спор гриба *Trichoderma* // Красноярск: Вестн. КГУ. – 2003. – С. 134–138.
7. Бенкен А.А., Хапкевич Л.К. Оценка устойчивости растений к почвенным фитопатогенам // Микология и фитопатология. – 1980. – Т. 14, вып. 6. – С. 531–538.
8. ГОСТ 12038–84. Межгосударственный стандарт. Семена сельскохозяйственных культур // Методы определения всхожести. – М.: Стандартинформ. – 2011. – 64 с.
9. Winternans 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.
10. Гольд В.М., Гаевский Н.А., Григорьев Ю.С., Попельницкий В.А. Теоретические основы и методы изучения флуоресценции хлорофилла. – Красноярск: Изд-во КрасГУ, 1984. – 84 с.

Поступила в редакцию 09.12.2015

T.I. GOLOVANOVA, Doctor of Science in Biology,
A.F. VALIULINA, Postgraduate

Siberian Federal University

79, Svobodny Av, Krasnoyarsk, 660041, Russia

e-mail: valiulina1988@mail.ru

A ROLE OF FUNGI OF THE GENERA TRICHODERMA IN ADAPTING TOMATO PLANTS TO ZINC IMPACT

There was studied the effect of fungi of the genera *Trichoderma* on the growth processes in tomatoes (*Solanum lycopersicum*) grown under conditions of various zinc concentrations in the environment. Zinc was found to have a significant effect on physiological and morphological parameters of tomatoes: it reduced the length of the above-ground part of plants and, in particular, of the root system; decreased accumulation of both fresh and dry biomass by plant; resulted in decreased assimilation areas of the leaves and degradation of the total content of green pigments, and changed the ratio of green and yellow pigment pools. A negative impact of this metal on the tomato plants could be observed at the earliest stages of plant development: increase in the zinc concentration in the environment resulted in reduction in germination energy and germination rate of tomato seeds. It has been shown that a degree of zinc impact on the growth processes depended on its concentration in the environment. The *Trichoderma* exerted positive influence on the productivity of plants: accumulation of fresh and dry biomass by plants took place; the assimilation areas of the leaves in the plants studied increased. The treatment of tomato seeds with micromycetes stimulated the synthesis of pigments. The fungi of the genera *Trichoderma* had a significant impact on the growth processes of plants grown under conditions of elevated zinc concentrations. Application of *Trichoderma* not only reduced the inhibiting action of zinc but also, in certain cases, increased the physiological and morphological parameters of the tomato plants studied. However, the micromycete effect on the growth processes was found to be ambiguous, and it depended on a zinc concentration in the environment, time of its impact, and an age of a plant itself.

Keywords: tomato, *Trichoderma*, zinc, antagonists, heavy metals, assimilation mechanism, pigments, stress, adaptation.