

Казанский (Приволжский) федеральный университе

Сервис виртуальных конференций Raх Grid

Растения и Микроорганизмы

Сборник трудов

I Международная Интернет-Конференция

Казань, 18-21 апреля 2011г.

издательство Казанского университета

2011

УДК 579/58

ББК 28.4:28.5

P24

Печатается по рекомендации ученого совета биолого - почвенного факультета, Казанского (Приволжского) федерального университета

Ответственный редактор: Изотова Е.Д.

P24 РАСТЕНИЯ И МИКРООРГАНИЗМЫ: сборник трудов Международной интернет-конференции. Казань, 18-21 апреля 2011 г./Отв. редактор Е.Д. Изотова.; Казанский (Приволжский) федеральный университет. - Казань: Казанский университет, 2011. - 301 с.

В сборнике содержится материалы Международной интернет-конференции РАСТЕНИЯ И МИКРООРГАНИЗМЫ. Книга рассчитана на научных работников, аспирантов, студентов соответствующих специальностей.

(С)Казанский (Приволжский) федеральный университет, 201

(С) Система виртуальных конференций Raх Grid, 2011

(С) Авторы, 2011

УПРАВЛЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВОМ ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ ЭКДИСТЕРОИД СИНТЕЗИРУЮЩИХ ВИДОВ МЕТОДОМ РЕГУЛЯЦИИ МИКРОБНО-РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ВЕЗИКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ

Тимофеев Н.П.

КХ БИО (Научно-производственное предприятие); г. Коряжма,
Россия, www.leuzea.ru

timfbio@atnet.ru

Введение. Лекарственное сырье растений *Rhaponticum carthamoides* (левзея сафлоровидная) и *Serratula coronata* (серпуха венценосная), содержащее фитоэкдистероиды (ФЭС), используется в официальной медицине для решения широкого круга задач по сохранению здоровья человека, в том числе для лечения и профилактики сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, повышения адаптации организма к действию неблагоприятных и вредных факторов среды обитания (Саратиков и др., 1970; Яковлев и др., 1991; Opletale.a., 1997; Плотников и др., 2001, Лекарства и БАД, 2003; Разина, 2006; Маслов и др. 2007; Gaube e.a., 2008; Тимофеева и Тимофеев, 2010).

Несмотря на способность к биосинтезу ФЭС у всех представителей мировой флоры, источниками могут служить только отдельные виды дикорастущих растений (Тимофеев, 2007). У традиционных, исторически давно возделываемых видов, биосинтез блокируется на уровне генной экспрессии, причины которых остаются неизвестными (Лафон, 1998). Культивирование тканей экдистероид синтезирующих (ЭС) растений методами биотехнологии также сопровождается утратой способности к синтезу ФЭС. Химическими методами промышленный синтез ФЭС не реализован.

Содержание ФЭС в фитомассе *R. carthamoides* и *S. coronata* может превышать другие виды на 4-6 порядков. Поэтому в настоящее время в 15 странах проводятся работы по их

интродукции. Нами выдвинута гипотеза, что можно управлять продуктивностью, биосинтезом и накоплением ФЭС - регулируя биологическими, технологическими или агрохимическими методами эффективность микробно-растительных взаимодействий микоризы.

Цели и задачи. Исходя из необходимости выявления факторов, регулирующих рост, развитие и максимальную продуктивность ЭС-растений с улучшенным содержанием целевых веществ в лекарственном сырье, была поставлена задача провести следующий комплекс научных исследований:

1. Изучение закономерностей жизнедеятельности ЭС-растений в симбиозе с микоризообразующими грибами; особенностей формирования, роста и развития симбиотических структур (эндомикоризы), их макро- и микроанатомического строения.

2. Исследование динамических связей между развитием эндомикоризы в годовом цикле и ростом надземных органов ЭС-растений во время вегетации.

3. Выявление ответной реакции ЭС-растений на интенсификацию почвенного питания.

4. Влияние агрохимических технологических факторов культивирования на величину биосинтеза и состава ФЭС.

Методы. Для выполнения проекта была создана исследовательская база из 12 агропопуляций ЭС-растений в возрасте 1-20 лет, расположенных на основных почвах Европейского Севера, каждая на площади 1-4 га (62°с.ш., подзона средней тайги, Архангельская область). Работы проводили в полевых и лабораторных условиях. Использовали популяционные, модельные, микробиологические, анатомо-морфологические, биохимические, агрохимические методы исследований.

Результаты. Формирование и развитие микоризы. По результатам исследований установлено, что жизнедеятельность изучаемых видов ЭС-растений (*R. carthamoides*, *R. scariosum*, *S. coronata*) в онтогенезе тесно связана с симбиотическими взаимоотношениями с гломусовыми грибами (*ssp. Glomus: Glomeromycota*). Подробно изучены возрастные этапы развития

микоризы в годовом цикле, изменчивость параметров вегетативных структур, а также ключевые моменты, позволяющие растению контролировать гриб и природные факторы, управляющие самим растением.

Эндомикориза как морфологический фенотип возникает в результате объединения генотипов 2-х разных организмов, ежегодно формируясь на неодревесневших придаточных корнях растения-хозяина сезонного (последнего) порядка ветвления. Тип – *Arum*, дихотомически разветвленная везикулярно-арбускулярная микориза (ВАМ). Местоположение – в межклеточном пространстве апопласта и межклетниках коровой паренхимы кортекса.

Интенсивность развития гриба (обилие мицелия в виде частоты встречаемости и ветвления гифов, плотность и величина везикул) контролируется растением-хозяином по фазам вегетации (суммой положительных температур в почве). Сезонное развитие самого растения подчинено динамике солнечной радиации (уровню освещения, температуре и длине фотопериода). Поэтому развитие микоризы происходит синхронно развитию растения, но с опережением роста побегов в 1-й половине вегетации (до фазы цветения). После достижения фазы цветения микориза постепенно отмирает, синхронно отмирающим надземным частям растения. Процесс отмирания длится до фазы глубокого покоя (середина ноября).

Рост симбиотического организма (мицелий гриба + корешки растения) начинается сразу же после оттаивания почвы, еще под слоем снега 40-50 см (в конце марта-начале апреля). К началу отрастания побегов число ветвлений микоризы увеличивается с 1-2 до 3, массовая доля в корневой системе – с 8 до 25 %, а мощность (сумма поглощающих микотрофных структур) – с 4-6 до 47-50 м на 1 взрослое растение. В период интенсивного роста побегов (стеблевание-бутонизация) наблюдается наибольшее развитие микоризы – 4 порядка ветвления, массовая доля возрастает до 57 %, а длина поглощающих мельчайших корней – 880 м.

Инфицирование происходит из остатков гиф и везикул в почве

– в ходе прорастания семян (первоначально), или же гриб внедряется и развивается с апикальной зоны корней диаметром 30-60 мкм (перезаражение). Вначале образуется линейная сеть мицелия из гиф диаметром 1-2 мкм, которые впоследствии многократно ветвятся; поэтому число нитей возрастает с 2-6 до 10-24 (32) шт.

На гифах формируются везикулы (узелковидно-клубневидные образования) – размером от 2-5 x 3-7 до 7-10 x 15-20 мкм. Везикулы имеют крупные ядра, и по всей вероятности, являются центрами ферментативного синтеза и биохимической трансформации органического вещества. Через сеть интрарадикального мицелия, погруженного в жидкую среду апопласта, происходит обмен веществ между почвой, грибом и растением.

Регуляция продуктивности и биосинтеза ФЭС. В 1-й половине вегетации органическое вещество (ОВ), поступающее из надземных частей в подземные, расходуется на опережающий рост микоризы и ферментативный синтез ФЭС, которые затем перераспределяются к молодым и развивающимся органам в надземную часть. После отцветания нисходящие потоки ОВ используются на прирост корневища и придаточных корней. Отчуждение надземных органов приводит к снижению величины оттока ОВ в подземные, дефицит которых задерживает развитие микоризы и синтез ФЭС.

Экспериментально доказана сильная отрицательная реакция *R. carthamoides* на внесение средних и высоких доз органических удобрений в качестве легкодоступных источников питания. При этом ингибировалось заложение полициклических почек возобновления и кущение, рост побегов обоих типов, биосинтез ФЭС. В итоге способность растений к репродукции снижается в 2-4 раза, продуктивность – в 1.5-2 раза, биосинтез ФЭС – в 3-10 раз.

Воздействие факторов минерального питания проявляется через ответную реакцию эндомикоризы в корнеобитаемом слое почвы. Например, предполагалось, что внесение органических удобрений будет стимулировать развитие надземных частей,

увеличивать продуктивность, и тем самым, может привести к повышению синтеза ФЭС. Действительно, внесение больших количеств легкодоступных форм элементов питания сопровождалось усиленным их поглощением из почвы и повышением зольности фитомассы в 1.1-1.4 раза, в т.ч. по калию в 2.0-2.7, фосфору в 1.4-2.3 раза.

Однако развитие микоризы при этом было подавлено; в случае с *R. carthamoides* она полностью отсутствовала в верхнем удобренном слое почвы и обнаружена только в глубинных горизонтах. Меняется и топология придаточных корней – если в контроле она горизонтальная или под углом к ней, то при внесении органических удобрений (в т.ч. мульчировании) – она направлена вертикально вниз, за пределы зоны легкодоступных элементов питания в почве.

Отзывчивость на разные формы азота, фосфора из минеральных удобрений является неоднозначной. При использовании небольших доз ($N_{45}P_{45}K_{45}$ кг/га) снижение уровня ФЭС в лекарственном сырье было незначительным (на 7-12 %). По влиянию же на продуктивность разница между удобрениями была более существенной и составила: по азотным – 1.71, фосфорным – 1.75, калийным – 1.02 раза. При внесении мочевины и суперфосфата наблюдалось селективное блокирование поглощения амидного азота и кальциевых солей фосфора, а также торможение роста и развития вегетативных и генеративных побегов во время вегетации.

Факторы, влияющие на состав ФЭС в фитомассе. Также исследовали факторы, влияющие на качественный состав экидистероидов в лекарственном сырье, оценивая изменение соотношения концентраций *экидистерона* и *экидизона*, являющихся основными компонентами ФЭС этих видов растений (Тимофеев, 2009). Последний в биотестах в 148 раз менее активен первого (Dinan, 2003).

Выявлено, что качественный состав ФЭС тесно связан с формированием репродуктивных побегов в онтогенезе и интенсивностью их развития. Поэтому у растений генеративного возрастного периода баланс ФЭС может быть изменен через

воздействие экологических или антропогенных факторов на агропопуляцию. Факторами воздействия выступают экологические условия окружающей среды и антропогенные факторы культивирования – микроклимат окружающей среды, размещение популяций по элементам рельефа местности, а также агротехнические мероприятия (интенсивность отчуждения фитомассы, избыточная влажность и т.д.). Например, при переувлажнении почвы и интенсификации укусов соотношение высокоактивного экидстероида *экидстерона* к слабоактивному *экидзону* снижается в 1.5-2.0 раза. При внесении высоких доз органических удобрений, а также частичного отчуждения корневой системы прослеживается аналогичная закономерность.

Благодарности. Работа выполнена при финанс. поддержке РФФИ и Правительства Архангельской обл. (Грант №08-04-98840).

Литература

1. Dinan L. Ecdysteroid structure-activity relationships // *Studies in Natural Products Chemistry*, 2003, Vol. 29. P. 3-71.
2. Gaube F., Wolfl S., Pusch L., e.a. Effects of *Leuzea carthamoides* on Human Breast Adenocarcinoma MCF-7 Cells Determined by Gene Expression Profiling and Functional Assays // *Planta Med.*, 2008, Vol. 74, No 14. P. 1701-1708.
3. Лафон Р. Фитоэкидстероиды и мировая флора: Разнообразие, распространение, биосинтез и эволюция // *Физиология растений*, 1998, № 3. С. 326-346.
4. Тимофеев Н.П. Достижения и проблемы в изучении биологии лекарственных растений *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Ijlin и *Serratula coronata* L. (Обзор) // *Сельскохозяйственная биология. Серия "Биология растений"*, 2007, № 3. С. 3-17.
5. Тимофеев Н.П. Изменчивость состава фитоэкидстероидов в агроценозе и их роль в поражаемости растений вредителями // *Сибирский экологич. журнал*, 2009, Том 16, № 6. С. 829-842.
6. Тимофеева Т.Н., Тимофеев Н.П. Идентификация и строение эндомикоризы у трех видов экидстероид синтезирующих

лекарственных растений / Перспективы развития и проблемы современной ботаники. Новосибирск, ЦСБС СО РАН, 2010. С. 230-232.