

ВПЛИВ ІНОКУЛЯЦІЇ АРБУСКУЛЯРНИМИ МІКОРИЗНИМИ ГРИБАМИ НА СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ЛЮЦЕРНИ ДО ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА АРСЕНУ

**¹Гуральчук Ж.З., ²Дель Валь К., ²Бареа Х.М.,
²Аскон-Агилар К.**

¹Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,
вул. Васильківська 31/17, м. Київ, 03022, Україна

²Експериментальна станція Саїдин Вищої ради наукових
досліджень,
вул. Проф. Альбаредо, 1, м. Гренада, 08018, Іспанія

*Вивчали вплив інокуляції рослин арбускулярним мікоризним грибом *Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.) Gerd. et Trappe на ріст рослин люцерни на ґрунтах, різною мірою забруднених важкими металами (Zn, Pb, Cd, Cu) та арсеном внаслідок аварії на піритовій шахті. Встановлено значне прискорення росту рослин та збільшення накопичення маси сирової і сухої речовини надземних органів у мікоризованих рослин. Позитивний вплив мікоризації на ріст рослин люцерни сильніше проявлявся на ґрунтах з вищим ступенем забруднення важкими металами й арсеном.*

Ключові слова: важкі метали, цинк, свинець, кадмій, мідь, арсен, мікориза, *Glomus mosseae*, люцерна

Останнім часом у зв'язку з невідпинним розвитком промисловості спостерігається значне зростання у довкіллі рівня важких металів (ВМ). До них належать як елементи, фізіологічну роль яких не з'ясовано і необхідність для життєдіяльності рослин не доведено, так і метали, які є необхідними для рослин (залізо, марганець, мідь, цинк). Останні у низьких концентраціях відіграють важливу роль як кофактори багатьох ферментативних реакцій, однак у разі надлишку можуть завдавати значної шкоди рослинному організмові. У зв'язку з цим рослина повинна контролювати рівень акумуляції необхідних катіонів і токсичних важких металів та металоїдів, таких як кадмій, свинець, ртуть, арсен та інші. Оскільки ВМ не можуть бути хімічно деградованими і залишаються у ґрунті протягом тривалого часу, особливої актуальності набуває розробка способів очистки ґрунтів від ВМ або їх іммобілізації у ґрунті.

Відомо, що ґрунтові мікроорганізми відіграють ключову роль

у мобілізації та імобілізації катіонів ВМ, внаслідок чого змінюється їх доступність для рослин [1,5,6]. Арбускулярні мікоризні гриби (АМГ) є ґрунтовими мікроорганізмами, які утворюють взаємовигідний симбіоз із більшістю вищих рослин, при цьому гриб отримує від рослини органічні сполуки, а рослина – фосфор та інші макро- і мікроелементи. Наявні у літературі дані свідчать про те, що ВМ можуть уповільнювати або й повністю усувати колонізацію рослин АМ грибами [8], проте зустрічаються також відомості про те, що в деяких випадках при внесенні в ґрунт осадів стічних вод, ВМ, що в них містяться, незначною мірою впливають на розвиток арбускулярних мікориз [3]. Така неоднозначна дія ВМ може бути пов'язана з різним ступенем стійкості екотипів АМГ до дії ВМ [7, 9].

Слід зазначити, що дія АМ грибів на рослини в умовах комбінованого забруднення ВМ і таким небезпечним для здоров'я людини металоїдом, як арсен, залишається нез'ясованою.

У зв'язку з цим метою роботи стало вивчення стійкості рослин до дії ВМ та арсену за їх інокуляції АМ грибами.

Матеріали й методи. Об'єктом дослідження слугували рослини люцерни (*Medicago sativa L.*), які завдяки здатності до накопичення ВМ [11], а також формуванню великої кореневої системи, що глибоко проникає в ґрунт [2], можуть бути використані для фітореMediaції, і, зокрема, для фітомеліорації шахтних відвалів. Субстратом для їх вирощування були ґрунти, різною мірою забруднені ВМ та металоїдами внаслідок техногенної аварії, що сталася через прорив стінки відстійника на одній із піритових шахт на півдні Іспанії, поблизу Севільї. Суміш, що вилілася з відстійника, містила неорганічні забруднювачі у високих концентраціях (Zn – 8000 мг/кг, Cd – 28, Pb – 8000, As – 5000, Cu – 2000, Co – 90, Tl – 55, Bi – 70, Hg – 15 мг/кг) та ароматичні вуглеводи. Це призвело до підвищення концентрації важких металів і арсену на значній площі сільськогосподарських угідь. Невдовзі після аварії верхній шар ґрунту товщиною 40 см було знято, проте деяка частина забруднювачів усе ж встигла просочитися в нижні його горизонти. Що призвело до забруднення, рівень якого залежав від фізико-хімічних характеристик верхнього шару, а також від того, наскільки ефективно був знятий цей шар.

Зразки ґрунту для проведення досліджень було взято в чотирьох пунктах на різній відстані від шахти, умовно їх позначено

грунти 1-4. Для оцінки ступеня забрудненості відібраних зразків ґрунту, які мало відрізнялись між собою за рН (6,9-7,5), але значно – за вмістом глини (14,6-34,0 %), був проведений їх аналіз. Загальний вміст металів визначали шляхом екстрагування царською горілкою та подальшого аналізу методом атомної абсорбції [4,10]. Концентрацію рухомих форм ВМ визначали після їх екстрагування ЕДТА (0,05 М) у співвідношенні ґрунту та ЕДТА 1:25 (w/v).

Ґрунт просіювали через сито з діаметром отворів 4 мм і стерилізували водяним паром за температури 80 °С протягом години послідовно тричі через добу. Механічний склад ґрунту поліпшували, додаючи пісок у пропорції 1:1 (за об'ємом). Рослини люцерни (*Medicago sativa L.*) вирощували в пластикових посудинах місткістю 2 л на стерильному ґрунті (контроль) та з інокуляцією грибом-мікоризоутворювачем *Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.) Gerd. et Trappe BEG 119 із колекції Експериментальної станції Саїдин. Насіння люцерни поверхнево стерилізували за допомогою 0,5 %-ного гіпохлориту натрію протягом 30 хв, потім промивали стерильною водою і висівали в субстрат. Після сходів у кожній посудині залишали по 15 рослин. У фазі бутонізації-цвітіння рослини зрізали. Визначали масу сирі та сухої речовини надземної частини рослин та коренів. Повторність дослідів була 8-кратною. Результати аналізу обробляли статистично за методом SUPERANOVA.

Результати та їх обговорення. Дані табл. 1 свідчать про те, що відібрані для дослідів зразки ґрунту мали неоднаковий рівень забруднення ВМ та арсеном. Загальний вміст цинку, кадмію, свинцю, арсену та міді був найвищим у ґрунті 2, де становив (у мг/кг повітряно-сухого ґрунту): 2338; 5,7; 989; 519 та 274, відповідно. Результати аналізу продемонстрували нижчий рівень забруднення ґрунту 4 порівняно з ґрунтом 2, де валовий вміст цинку, свинцю та арсену був менший приблизно втричі, а міді та кадмію – у 1,5 раза. Набагато чистішими порівняно з ними виявилися ґрунти 1 і 3. Вони містили у 6-9 разів менше цинку, приблизно у 2,5 – кадмію, у 3,5-4,5 – міді, у 3,5-5 – свинцю, приблизно у 4,5-6,5 раза менше – арсену, ніж ґрунт 2. За ступенем зменшення загального вмісту цинку, кадмію, свинцю та міді ґрунти можна розмістити у такій послідовності: ґрунт 2 > ґрунт 4 > ґрунт 1 > ґрунт 3, за винятком свинцю, вміст якого в ґрунті 3 вищий, ніж у ґрунті 1.

Вміст доступних форм цих ВМ знижується в такому порядку: ґрунт 2 > ґрунт 4 > ґрунт 1 > ґрунт 3, лише вміст свинцю у ґрунті 4

вищий, ніж у ґрунті 2 (табл. 2).

Таблиця 1. Загальний вміст важких металів та арсену в ґрунтах, мг/кг повітряно-сухого ґрунту

Ґрунт	Zn	Cd	Cu	As	Pb
1	395 ab	2,3 a	81b	79 a	200 a
2	2338 c	5,7 c	274 d	519 c	989 d
3	249 a	2,1 a	61 a	119 ab	279 b
4	816 b	4,2 b	190 c	168 b	371 c

Примітка: тут і далі дані, позначені різними буквами, статистично достовірно відрізняються між собою ($p \leq 5 \%$).

Таблиця 2. Вміст доступних форм важких металів у ґрунтах, мг/кг повітряно-сухого ґрунту

Ґрунт	Zn	Cd	Cu	Pb
1	69,8 b	1,15 b	23,8 b	28,2 b
2	317,0 d	3,03 d	61,4 d	37,5 c
3	48,9 a	0,83 a	12,4 a	22,0 a
4	160,0 c	1,94 c	58,2 c	76,2 d

У результаті проведених експериментів встановлено, що ріст рослин залежить від ступеня забрудненості ґрунту. Найгіршим він був на ґрунті 2, де в контролі вижила лише невелика кількість рослин, а найкращим – на ґрунті 3 (табл. 3).

На всіх ґрунтах, які використовувались нами в експерименті, інокуляція рослин грибом-мікоризоутворювачем *G. mosseae* суттєво поліпшувала ріст рослин в умовах забруднення ВМ й арсеном. Маса сирої речовини надземних органів люцерни під впливом інокуляції статистично достовірно збільшувалась порівняно з контролем. Найістотнішим був вплив мікоризації на ріст рослин на фоні найбільш забрудненого ґрунту 2. Дія АМ грибів проявлялась також і на менш забруднених ґрунтах, де приріст надземної маси порівняно з показниками контролю складав 84 і 77 % на ґрунтах 1 і 4, відповідно. Для ґрунту 3 (найменш забрудненого) під впливом інокуляції *G. mosseae* також спостерігали статистично достовірне зростання маси надземних органів рослин (на 20 %).

Таблиця 3. Вплив інокуляції *G. mosseae* на динаміку накопичення маси сирієї речовини у надземних органах рослин люцерни, вирощених на ґрунтах з різним ступенем забруднення важкими металами, з на посудину

Варіант	Перше зрізування	Друге зрізування	Третє зрізування	Четверте зрізування	П'яте зрізування	Загальна маса
Ґрунт 1						
Контроль	4,73 а	3,99 а	4,02 а	4,52 а	7,34 б	24,60 а
<i>G.mosseae</i> BEG119	7,31 б	9,66 б	7,40 б	8,64 б	12,15 б	45,21 б
Ґрунт 2						
Контроль	0,10 а	0,07 а	0,19 а	0,22 а	–	0,58 а
<i>G.mosseae</i> BEG119	5,11 б	5,08 б	11,79 б	10,20 б	–	31,39 б
Ґрунт 3						
Контроль	8,93 а	7,99 а	7,71 а	7,91 а	11,90 а	44,45 а
<i>G.mosseae</i> BEG119	10,16 б	9,57 б	9,84 б	9,91 б	13,79 б	53,27 б
Ґрунт 4						
Контроль	2,36 а	8,44 а	8,74 а	–	–	19,54 а
<i>G.mosseae</i> BEG119	6,71 б	13,80 б	14,13 б	–	–	34,64 б

Аналіз динаміки накопичення сухої речовини рослин під впливом інокуляції арбускулярним мікоризним грибом показав, що цей показник в цілому змінюється так само, як і вміст сирієї речовини. Мікоризація рослин *G. mosseae* BEG 119 на всіх ґрунтах, незалежно від рівня забруднення ВМ, зумовлювала достовірне збільшення накопичення сухої речовини надземної маси.

Як свідчать результати проведених нами досліджень, інокуляція *G. mosseae* значно покращує ріст рослин люцерни на ґрунтах з різним ступенем забруднення ВМ, що проявляється у суттєвому збільшенні накопичення маси сирієї речовини надземної частини рослин.

Протекторна дія АМ грибів на рослини в умовах забруднення важкими металами може бути зумовлена поліпшенням фосфорного

живлення рослин, у зв'язку з чим посилюється їх ріст. Мікоризна інфекція може впливати на інші мікроорганізми, змінюючи окислювально-відновний потенціал ґрунту і доступність для рослин деяких елементів. Мікоризи можуть також обмежувати надходження в рослини важких металів унаслідок їхньої іммобілізації в гіфах гриба. Крім того, є ймовірним їх вплив на прояв фізіологічних реакцій у відповідь на стрес, викликаний важкими металами. Наприклад, встановлено, що в умовах кадмієвого забруднення мікоризація стимулює фенольну систему захисту в симбіотичному комплексі *Paxillus-Pinus* [12].

Таким чином, отримані дані свідчать, що мікоризація арбускулярним мікоризним грибом *Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.) Gerd. et Trappe позитивно впливає на ріст рослин люцери в умовах забруднення рядом важких металів (Pb, Zn, Cu, Cd) й арсеном та значно збільшує можливість їх виживання, що важливо для фітореMediaції забруднених важкими металами ґрунтів, зокрема, для їх фітостабілізації.

1. Гуральчук Ж.З. Роль арбускулярных микориз в питании растений и устойчивости к тяжелым металлам // Физиол. и биохим. культ. раст. – 2004. – Т. 36, № 3. – С. 217-228.

2. Узбек І.Х. Розвиток кореневих систем та значення видів *Medicago L.* та *Onobrychis Adans.* (*Fabaceae*) для техногенних ландшафтів // Укр. ботан. журн. – 1995. – Т.52, № 5. – С. 610-615.

3. Arnold P.T., Kaputcka L.A. VA mycorrhizal colonization and spore populations in abandoned agricultural field after five years of sludge addition // Ohio J. Sc. – 1987. – Vol.87. – P. 112-114.

4. Barahona E.F. Determinaciones analiticas en suelos. Normalizacion de metodos (Grupo de Trabajo de Normalizacion de Metodos Analiticos) // Actas del 1er Congreso Nacional de Ciencia del Suelo. – Madrid, 1984. – T.1 – P. 53-69.

5. Barea J.M., Jeffries P. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil-plant systems // Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology / Eds. A. Varma, B. Hock. – Heidelberg: Springer-Verlag, 1995. – P. 521-559.

6. Birch L.D., Bachofen R. Effects of microorganisms on the environmental mobility of radionuclides // Soil biochemistry / Eds. Bollang J.M., Stozky G. – New York: Marcel Dekker, 1990. – Vol 6. – P. 483-527.

7. Del Val C., Barea J.M., Azcon-Aguilar C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy metal-contaminated soils // Appl. and

Environ. Microbiol. – 1999. – Vol.65, N 2. – P. 718-723.

8. Gildon A., Tinker P.B. Interactions of vesicular arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas // New phytol. – 1983. – Vol. 95. – P. 247-261.

9. Leyval C., Weisseinhorn I. Tolerance to metals of arbuscular mycorrhizal fungi from heavy metal polluted soils // Mycorrhizae in integrated systems: from genes to plant development / Eds. Azcon-Aguilar C., Barea J.M. – Brussels, Belgium: European Commission, 1996. – P. 452-454.

10. MAPA. Metodos oficiales de analisis. Madrid: Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion, 1986. – T. 3. – 536 p.

11. Peralta-Videa J.P., Gardea-Torresday J.L., Gomez E. et al. Potential of alfalfa plant to phytoremediate individually contaminated montmorillonite-soils with cadmium (II), chromium (VI), copper (II), nickel (II) and zinc (II) // Bull. Environ. Contam. Toxicol. – 2002. – Vol. 69. – P. 74-81.

12. Schutzendubel A., Polle A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization // J. Exp. Bot. – 2002. – Vol.53, N 372. – P. 1351-1365.

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ АРБУСКУЛЯРНЫМИ МИКОРИЗНЫМИ ГРИБАМИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ЛЮЦЕРНЫ К ДЕЙСТВИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И МЫШЬЯКА

**¹Гуральчук Ж.З., ²Дель Валь К., ²Бареа Х.М.,
²Аскон-Агилар К.**

¹ Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, г. Киев

² Экспериментальная станция Саидин Высшего совета научных исследований, г. Гренада

*Изучали влияние инокуляции растений арбускулярным микоризным грибом *Glomus mosseae* (Nicol. et Gerd.) Gerd. et Trappe на рост растений люцерны на почвах, в разной степени загрязненных тяжелыми металлами (Zn, Pb, Cd, Cu) и мышьяком. Установлено значительное ускорение роста и увеличение накопления массы сырого и сухого вещества надземных органов у микоризованных растений. Положительное влияние микоризации на рост растений люцерны сильнее проявлялось на почвах с более высокой степенью загрязнения тяжелыми металлами и мышьяком.*

Ключевые слова: тяжелые металлы, цинк, свинец, кадмий, медь, мышьяк, микориза, *Glomus mosseae*, люцерна.

THE INFLUENCE OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI ON ALFALFA RESISTANCE AGAINST POLLUTION WITH HEAVY METALS AND ARSENICUM

**¹Guralchuk Zh.Z., ²del Val C., ²Barea J.M.,
²Azcon-Aguilar C.**

¹Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv

²Experimental Station of Zaidin, SCSR, Granada, Spain

The influence of the mycorrhizal infection by G. mosseae (Nicol. et Gerd.) Gerd et Trappe on the growth of Medicago sativa L. plants under different level of soil pollution with heavy metals (Zn, Pb, Cd, Cu) and arsenicum was studied. It was established the strongly increase of the growth and shoot biomass of mycorrhizal plants. The positive effect of mycorrhization on the growth of alfalfa plants was greater in the soils with the higher level of soil pollution with heavy metals and arsenicum.

Key words: heavy metals, zinc, lead, cadmium, copper, arsenicum, mycorrhiza, Glomus mosseae, alfalfa.