

АРБУСКУЛЯРНЫЕ МИКОРИЗНЫЕ ГРИБЫ ИЗ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧАЭС И ИХ ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В ПОСТУПЛЕНИИ РАДИОНУКЛИДОВ В РАСТЕНИЯ**А. В. Крипка, А. Н. Кучма, Б. В. Сорочинский***Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев*

Проанализировано более 30 видов растений из зоны отчуждения ЧАЭС и отобраны образцы растений с высоким уровнем колонизации арбускулярными микоризными (АМ) грибами. Из ризосферы растений с наибольшими показателями накопления радионуклидов и высоким уровнем колонизации микоризными грибами выделены споры АМ грибов, которые использовали для получения инокулята штаммов грибов, пригодных для целей фиторемедиации.

В последнее время большое внимания уделяется растительным технологиям для решения задач ремедиации окружающей среды от загрязнений, обусловленных тяжелыми металлами, радионуклидами и другими поллютантами. Эффективность использования технологий фиторемедиации в значительной степени сводится к решению вопроса об увеличении доступности поллютантов для растений. *A priori* можно предложить следующие основные подходы для решения вопроса увеличения биодоступности радионуклидов и тяжелых металлов:

воздействие на почву разнообразными химическими агентами с целью увеличения мобильной (потенциально биодоступной для растений) части загрязнителей в почвенном комплексе;

получение трансгенных растений-аккумуляторов тяжелых металлов;

воздействие на ризосферу растений путем использования биодобавок, содержащих почвенные микроорганизмы, с целью увеличения поглощающей способности корневой системы растений.

Подход с использованием биопрепаратов на основе почвенных грибов и бактерий нам представляется одним из наиболее эффективных направлений в фиторемедиации радионуклидных загрязнений. Известно, что корневая система растений образует сложный симбиоз со многими почвенными грибами и бактериями, причем микроорганизмы являются равноправными участниками такого симбиоза. Почвенные микроорганизмы могут серьезным образом влиять на круговорот радионуклидов в окружающей среде, поскольку включают их как в процессы собственного метаболизма, так и модифицируют количество нуклидов, поглощаемых растениями [1]. К примеру, АМ увеличивают в 7 - 8 раз площадь, с которой осуществляется поглощение микроэлементов растениями [2], а также способствуют переходу прочнофиксированных соединений в мобильные формы, доступные для растений [3]. Более 80 % видов растений образуют в нативных условиях симбиоз с АМ [4], поэтому предпосевная инокуляция семян препаратами, полученными на основе АМ грибов, может быть простым, доступным и эффективным приемом модификации накопительных способностей растений.

Препараты АМ грибов уже используют в практике фиторемедиации тяжелых металлов [5]. В лабораторных условиях была показана также принципиальная возможность использовать АМ грибы для модификации накопления радионуклидов растениями [6]. Следует отметить, что использование АМ грибов не всегда эффективно, поскольку не все ранее выделенные штаммы грибов обладают свойствами, необходимыми для решения задач фиторемедиации. В связи с этим была предпринята попытка выделить штаммы АМ грибов из корневой системы растений, которые растут в условиях зоны отчуждения ЧАЭС, характеризуются высоким уровнем колонизации АМ грибами и имеют при этом высокие уровни накопления радиоцезия и радиостронция.

Были проанализированы представители более 30 видов растений, растущих в разных частях Чернобыльской зоны отчуждения (табл. 1) и определены растения с высоким

уровнем колонизации микоризными грибами. Визуализацию АМ грибов проводили с помощью окрашивания корней растений лактофенолом голубым. С помощью микроскопа подсчитывали количество колонизированных корней, внешнего и внутреннего мицелия, везикул, арбускул, спор [4].

Таблица 1. Колонизация АМ грибами разных видов растений из Чернобыльской зоны отчуждения

Вид растения	Место и условия произрастания, мР/ч	Описание колонизации микоризными грибами
<i>Hypericum perforatum</i>	Рыжий лес, 9	Единичный внутренний и внешний мицелий
<i>Clamogrostis epigeios</i>	Рыжий лес, 6	Внешний и внутренний мицелий, везикулы
<i>Poa sp.</i>	Рыжий лес, 6	-
<i>Viola tricolor</i>	Рыжий лес, 5	Единичный внутренний мицелий, арбускулы
<i>Rumex sp.</i>	Рыжий лес, 6	Внешний мицелий
<i>Calluna vulgaris</i>	Рыжий лес, 10	Другие грибы
<i>Veronica sp.</i>	Рыжий лес, 5,6	Другие грибы
<i>Nardus stricta</i>	Рыжий лес, 8,9	Единичный внутренний и внешний мицелий, везикулы, арбускулы
<i>Scabiosa ochroleuca</i>	Рыжий лес, 5,6	Внешний мицелий
<i>Betula alba</i>	Рыжий лес, 5,6	Другие грибы
<i>Juncus sp.</i>	Рыжий лес, 8,9	Внешний мицелий, другие грибы
<i>Crepis tectorum</i>	Рыжий лес, 8,9	Внешний и внутренний мицелий, арбускулы
<i>Erigon canadensis</i>	Рыжий лес, 8,9	Внешний и внутренний мицелий, маленькие везикулы, арбускулы
<i>Verbascum thapsus</i>	Рыжий лес, 5,6	Внутренний мицелий, везикулы, арбускулы
<i>Chamaeneinix angustifolium</i>	Рыжий лес, 5,6	-
<i>Tagets patulus</i>	ЧАЭС, 0,075	-
<i>Tagets patulus</i>	ЧАЭС, 0,120	Единичный внутренний и внешний мицелий
<i>Viola tricolor</i>	Копачи, 0,160	Высокая колонизация АМ грибами 90,0 %
<i>Oenothera sp.</i>	Копачи, 0,160	Другие грибы
<i>Erigon canadensis</i>	Копачи, 0,160	Единичный внешний мицелий
<i>Crepis tectorum</i>	Копачи, 0,160	Высокая колонизация АМ грибами 83,3 %
<i>Poa sp.</i>	Копачи, 0,160	-
<i>Elytrigia repens</i>	Копачи, 0,160	Другие грибы
<i>Hypericum perforatum</i>	Копачи, 0,160	Высокая колонизация АМ грибами 83,5 %
<i>Artemisia vulgaris</i>	Копачи, 0,160	Другие грибы
<i>Mentha sp.</i>	Копачи, 0,160	-
<i>Plantago major</i>	Копачи, 0,160	Высокая колонизация АМ грибами 91 %
<i>Plantago lanceolata</i>	Копачи, 0,160	Высокая колонизация АМ грибами 88,6 %
<i>Trifolium repens</i>	Копачи, 0,160	Колонизация АМ грибами 30 %
<i>Viola tricolor</i>	КП "Дитятки", 0,020	Колонизация АМ грибами 34,6 %
<i>Crepis tectorum</i>	КП "Дитятки", 0,020	Колонизация АМ грибами 54,6 %
<i>Trifolium repens</i>	КП "Дитятки", 0,020	Колонизация АМ грибами 91,6 %
<i>Plantago major</i>	КП "Дитятки", 0,020	Колонизация АМ грибами 96,6 %
<i>Hypericum perforatum</i>	КП "Дитятки", 0,020	Колонизация АМ грибами 75,0 %
<i>Hypericum perforatum</i>	Чернобыль, 0,050	Колонизация АМ грибами 87,3 %
<i>Plantago major</i>	Чернобыль, 0,050	Колонизация АМ грибами 98,7 %

Отметим, что АМ грибы встречались в корневой системе не у всех отобранных растений; уровень колонизации АМ грибами для проанализированных растений находился в пределах от 0 до 98,7 %. В частности, АМ грибы практически не встречались в ризосфере

растений, которые были отобраны в Рыжем лесу. По-видимому, показатель колонизации АМ грибами зависит от рН почвы и ее физико-химического состава. К растениям с высоким уровнем колонизации можно отнести подорожник, *Plantago major* (уровень колонизации от 68,3 до 98,7 %); зверобой, *Hypericum perforatum* (уровень колонизации от 32,0 до 87,3 %); клевер, *Trifolium repens* (уровень колонизации от 6,0 до 91,6 %) и скерду, *Crepis tectorum* (уровень колонизации от 46,6 до 86,0 %). В табл. 2 - 5 приведена информация об уровне АМ грибов в ризосфере упомянутых растений в течение разных сроков их вегетации. Из таблиц видно, что растения одного вида, растущие в разных частях зоны отчуждения ЧАЭС, отличаются по уровню колонизации АМ грибами, а количество АМ грибов в корневой системе большинства растений уменьшается к концу вегетационного сезона.

Таблица 2. Колонизация АМ грибами растений подорожника (*Plantago sp.*) из Чернобыльской зоны

Вид растения	Место отбора проб	Дата отбора 2001 г.	Уровень колонизации, %	Удельная радиоактивность*, Бк/кг				Коэффициент накопления	
				¹³⁷ Cs		⁹⁰ Sr		³⁷ Cs	⁹⁰ Sr
				Корни	Стебли	Корни	Стебли		
<i>Plantago major</i>	Копачи	04.07	91,0		3000±120		3800±120	0,84	0,74
		29.08	68,3	3200±130	1500±110	20000±350	3200 ± 90	0,42	1,14
<i>Plantago lanceolata</i>	Копачи	04.07	88,6		1600±90		35000±210	0,46	12,4
		29.08	90,0	2500±20	2800±210	24000±190	25000±220	0,78	8,91
<i>Plantago major</i>	КП "Дитятки"	11.07	96,6	600±24	400±26	3700±210	1600±90	0,59	11,4
		29.08	90,0	15000±230	620±30	4900±270	4300±130	0,91	30,7
<i>Plantago major</i>	Чернобыль	11.07	98,7	13000±120	360±23	3600±150	5400±200	0,33	15
		29.08	93,3	460±25	250±21	3600±170	2900±140	0,23	8,1

*(M± m, n = 3 - 4).

Таблица 3. Колонизация АМ грибами растений клевера (*Trifolium repens*) из Чернобыльской зоны

Место отбора проб	Дата отбора 2001 г.	Уровень колонизации, %	Удельная радиоактивность*, Бк/кг				Коэффициент накопления	
			¹³⁷ Cs		⁹⁰ Sr		¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr
			Корни	Стебли	Корни	Стебли		
Копачи	04.07	30,0		2000 ± 120		35000 ± 210	0,56	12,4
	29.08	13,3	3400 ± 120	1900 ± 110	17000 ± 330	27000 ± 230	0,53	9,6
КП "Дитятки"	04.07	91,6	1000 ± 110	480 ± 35	3500 ± 210	2800 ± 120	1,1	18,7
	29.08	38,0	250 ± 43	650 ± 46	2700 ± 160	3000 ± 110	1,5	20,0
Чернобыль	11.07	80,0	530 ± 56	390 ± 37	3500 ± 160	4200 ± 120	0,52	12,0
	29.08	6,0	680 ± 61	970 ± 28	3300 ± 110	2400 ± 90	1,29	6,9

*(M± m, n = 3 - 4).

Для всех образцов растений определили коэффициенты накопления ¹³⁷Cs и ⁹⁰Sr, исходя из того, что коэффициент накопления (Кн) является отношением удельной радиоактивности радионуклида в растении к удельной радиоактивности в почве. Радиоактивность образцов растений и почвы определяли стандартными методами спектрометрии и радиационной химии.

Высокие показатели коэффициентов накопления ¹³⁷Cs установлены для некоторых из образцов растений зверобоя (Кн = 5,2, см. табл. 4), а по отношению к ⁹⁰Sr для подорожника (Кн = 30,7, см. табл. 2), клевера (Кн = 20,0, см. табл. 3) и скерды (Кн = 93,8, см. табл. 5). Как уже упоминалось выше, мы предполагаем, что высокий уровень накопления радионуклидов

отдельными растениями может быть обусловлен активностью АМ грибов, несмотря на то, что не всегда можно наблюдать прямую зависимость между количеством радионуклидов в тканях растений и уровнем их колонизации. По-видимому, увеличение накопительной способности растений в их симбиозе с АМ грибами достигается прежде всего за счет внешних гиф, а не за счет внутренних структур АМ грибов, которые и учитываются при анализе уровня колонизации. В случае извлечения корневой системы растений из почвы для их дальнейшего анализа внешние гифы грибов остаются, как правило, в почве и не могут быть визуализированы и учтены.

Таблица 4. Колонизация АМ грибами растений зверобоя (*Hypericum perforatum*) из Чернобыльской зоны

Место отбора проб	Дата отбора 2001 г.	Уровень колонизации, %	Удельная радиоактивность*, Бк/кг				Коэффициент накопления	
			¹³⁷ Cs		⁹⁰ Sr		¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr
			Корни	Стебли	Корни	Стебли		
Копачи	04.07	83,5	61000±2100	420 ± 46	47000 ± 970	24000 ± 750	0,09	1,2
	29.08		1100 ± 90	480 ± 52	35000 ± 210	44000 ± 210	0,1	2,3
КП "Дитятки"	11.07	75,0	1400 ± 110	160 ± 17	460 ± 57	3800 ± 90	0,3	10,2
5 км от КП	11.07	72,3	1000 ± 85	3900 ± 110	2700 ± 310	2100 ± 110	5,2	7
	29.08	32,0	970 ± 36	3800 ± 130	2300 ± 130	3500 ± 120	5,0	11,6
Чернобыль	11.07	87,3	250 ± 27	79 ± 8	740 ± 58	560 ± 78	0,158	4,3
	29.08	50,0	79 ± 8	140 ± 32	560 ± 61	2600 ± 220	0,28	20

*($M \pm m$, $n = 3 - 4$).

Таблица 5. Колонизация АМ грибами растений скерды (*Crepis tectorum*) из Чернобыльской зоны

Место отбора проб	Дата отбора 2001 г.	Уровень колонизации, %	Удельная радиоактивность*, Бк/кг				Коэффициент накопления	
			¹³⁷ Cs		⁹⁰ Sr		¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr
			Корни	Стебли	Корни	Стебли		
Копачи	04.07	83,3		12000 ± 340		45000 ± 210	2,6	2,3
	29.08	46,6	4700 ± 140	1400 ± 110	57000 ± 850	110000 ± 1200	0,3	5,7
КП "Дитятки"	11.07	54,6	480 ± 57	140 ± 13	2400 ± 80	3200 ± 230	0,6	49,2
	29.08	86,0	120 ± 23	100 ± 9	2700 ± 170	6100 ± 270	0,4	93,8

*($M \pm m$, $n = 3 - 4$).

Из ризосферы растений с большими показателями коэффициентов накопления нами были выделены споры АМ грибов. Выделение и обогащение спор, после отмывания навески грунта через сита разного диаметра, проводили методом флотации в растворе сахарозы [7]. Выделенные споры анализировали с помощью бинокля, при этом различали споры лимонного, желтого и белого цвета, диаметр спор составлял 50 – 120 мкм. По морфологическим признакам (размер, окраска, форма) спор, характерных для АМ, выделенные споры можно отнести к роду *Glomus*. Споры использовали для получения инокулята штаммов АМ грибов-аккумуляторов радионуклидов с целью его дальнейшего применения в фиторемедиации загрязненных почв.

Работа выполнена при поддержке программы FW 5, проект QLK3-СТ-1999-00097 (MYCOREM).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРЫ

1. *Gadd G.M.* Influence of microorganisms on the environmental fate of radionuclides // *Endeavour*. - 1996. - Vol. 20, No. 4. - P. 150 - 156.
2. *Carling D.E., Brown M.F.* Anatomy and physiology of vesicular-arbuscular and nonmycorrhizal roots // *Phytopathology*. - 1982. - No. 72. - P. 1108 - 1114.
3. *Del Val C., Barea J.M.* Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus population in heavy- metal-contaminated soil // *Applied and Environmental Microbiology*. - 1999. - No. 2. - P. 718 - 723.
4. *Harrison M.J.* Development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis // *Current Option in Plant Biology*. - 1998. - N1. - P. 360 - 365.
5. *Leyval C., Turnau K., Hazelwandter K.* Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects // *Mycorrhiza*. - 1997. - No. 7. - P. 139 - 153.
6. *Berreck M., Hazelwandter K.* Effect of the arbuscular mycorrhizal symbiosis upon uptake of cesium and other cations by plants // *Mycorrhiza*. - 2001. - No. 10. - P. 275 - 280.
7. *Brundrett M.* Mycorrhizas in natural ecosystems // *Adv. Ecol. Res.* - 1994. - No. 21. - P. 171 - 262.

**АРБУСКУЛЯРНІ МІКОРИЗНІ ГРИБИ ІЗ ЗОНИ ВІДЧУЖЕННЯ ЧАЕС ТА ЇХ
МОЖЛИВИЙ ВПЛИВ НА НАКОПИЧЕННЯ РАДІОНУКЛІДІВ РОСЛИНАМИ**

Г. В. Крипка, О. М. Кучма, Б. В. Сорочинський

Проаналізовано понад 30 видів рослин із зони відчуження ЧАЕС та відібрано рослини з високим рівнем колонізації арбускулярними мікоризними (АМ) грибами. З ризосфери рослин із найбільшими показниками накопичення радіонуклідів та високим рівнем колонізації мікоризними грибами виділено спори АМ грибів, які використовували для отримання інкуляту штамів грибів, придатних для фітореMediaції.

**ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI FROM THE CHERNOBYL EXCLUSION ZONE
AND THEIR POSSIBLE INFLUENCE TO THE ACCUMULATION OF
RADIONUCLIDES BY PLANTS**

A. V.Kripka, A. M. Kuchma, B. V. Sorochynsky

More than 30 plants species from the Chernobyl exclusion zone have been analyzed and plant samples with high level of arbuscular mycorrhizal fungi (AM) colonization were selected. Spores of AM fungi have isolated from the rhizosphere of those plants, which had high accumulation abilities related to the radionuclides and were high AM colonized as well. These AM spores are used to produce inocula in order of it's forthcoming application in the phytoremediation activity.

Поступила в редакцію 20.02.02,
после доработки – 17.09.02.