

УДК 576.535.2: 581.144.3: 631.8

ВЛИЯНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *VISCHERIA PUNCTATA* И *SCENEDESMUS SP.* НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ГОРОХА ПОСЕВНОГО

А.В. Фунтикова, Т.А. Кузнецова

*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого
Санкт-Петербург, РФ*

Культивирование микроводорослей проводили в лабораторном биореакторе до фазы замедленного роста в течение шести суток. Концентрация клеток *Scenedesmus sp.* в суспензии достигала $57,5 \times 10^6$ клеток на мл, в *Vischeria punctata* – $41,4 \times 10^6$ клеток на мл. Для полива суспензию микроводорослей разбавляли водой до концентрации $5,1 \times 10^6$ клеток на мл суспензии. При проращивании семян гороха посевного сорта 'МАДРАС' на почвогрунте в лабораторных условиях было определено увеличение всхожести семян при поливе суспензией *Vischeria punctata* на 15,0%, при поливе суспензией *Scenedesmus sp.* на 16,7%. Полив суспензией микроводорослей оказывает стимулирующий эффект на рост побегов, способствует увеличению числа междоузлий побега. Полученная суммарная биомасса в варианте с применением *Vischeria punctata* превышала контроль на 41,0%, с применением *Scenedesmus sp.* на 55,3%. Таким образом, полив суспензией микроводорослей *Vischeria punctata* и *Scenedesmus sp.* в концентрации $5,1 \times 10^6$ клеток на мл, способствует повышению продуктивности гороха посевного.

Ключевые слова: альголизация почв, микроводоросли, *Vischeria punctata*, *Scenedesmus sp.*, *Pisum sativum*.

INFLUENCE OF MICROALGAE *VISCHERIA PUNCTATA* AND *SCENEDESMUS SP.* FOR THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF PEAS

A.V. Funtikova, T.A. Kuznetsova

*Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University,
St. Petersburg, Russian Federation*

Cultivation of microalgae was carried out in a laboratory bioreactor until the slow growth phase for six days. Cell concentration of *Scenedesmus sp.* in suspension reached 57.5×10^6 cells per ml, in *Vischeria punctata* – 41×10^6 cells per ml. When germinating pea seeds of the 'MADRAS' variety on soil under laboratory conditions, an increase in seed germination when irrigated with a suspension of *Vischeria punctata* was determined by 15.0%, when irrigated with a suspension of *Scenedesmus sp.* by 16.7%. Watering with a suspension of microalgae has a stimulating effect on shoot growth and helps to increase the number of shoot internodes. The resulting total biomass in the variant with the use of *Vischeria punctata* exceeded the control by 41.0%, with the use of *Scenedesmus sp.* by 55.3%. Thus, irrigation with a suspension of microalgae *Vischeria punctata* and *Scenedesmus sp.* in a concentration of 5.1 million cells. per ml, helps to increase the productivity of peas.

Keywords: soil algolization, microalgae, *Vischeria punctata*, *Scenedesmus sp.*, *Pisum sativum*.

Введение.

В настоящее время актуальной проблемой остается обеспечение продовольственной безопасности населения. Одним из путей повышения плодородия почв связывают с ее альголизацией. Микроводоросли улучшают физико-химические показатели почвы,

способствуют накоплению органических веществ в ней, стимулируют микробиологическую активность [1]. Водорослевая биомасса обогащает почву азотом, фосфором, калием, йодом и значительным количеством микроэлементов [1, 2]. Микроводоросли вырабатывают значительное количество биологически активных соединений, которые могут быть использованы как регуляторы роста растений. К ним относятся фенольные и индольные соединения, стероиды, гиббереллиноподобные вещества, а также соединения с цитокининовой активностью [1, 3, 4]. Особенно интенсивное образование биологически активных соединений происходит на начальных этапах нарастания биомассы микроводорослей при их культивировании [3].

Актуальными вопросами сельскохозяйственной биотехнологии являются поиск наиболее продуктивных штаммов микроводорослей, разработка способов их культивирования, поиск технологий применения полученной биомассы микроводорослей для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур. Для альголизации почвы чаще всего применяют зеленые микроводоросли из родов хлорелла (*Chlorella*) [4, 5], сценедесмус (*Scenedesmus*) [4, 5, 6], а также способные к фиксации атмосферного азота нетоксичные цианобактерии [2].

Ростостимулирующий эффект описан при замачивании семян огурца [6,7], зерновых [8, 9] и зернобобовых культур в суспензии микроводорослей [4]. При этом увеличивается энергия прорастания и всхожесть семян. Повышение всхожести семян огурца, кресс-салата было достигнуто в опытах с применением суспензии микроводорослей, после ферментативного гидролиза для замачивания семян [6]. Положительный эффект на продуктивность озимой пшеницы описан в опыте с применением культуральной жидкости микроводорослей для полива растений в различные фазы вегетации [8].

Vischeria punctata – почвенная микроводоросль [10], штаммы ее мало изучены. Она способна интенсивно расти в стрессовых условиях [11]. Содержание в биомассе *Vischeria punctata* ценных компонентов [11] делает ее перспективным объектом для промышленного культивирования и использования в сельском хозяйстве [12]. Настоящее исследование направлено на изучение влияния разбавленной водой суспензии микроводорослей *Scenedesmus sp.* и *Vischeria punctata* на рост гороха посевного сорта ‘МАДРАС’ на почвогрунте в лабораторных условиях. *Pisum sativum* является важнейшей сельскохозяйственной культурой, широко используемой в пищевой и кормовой промышленности.

Материалы и методы.

Образцы микроводорослей *Scenedesmus sp.* (штамм IPPAS С-44) и *Vischeria punctata* (штамм IPPAS Н-242) были получены из коллекции водорослей Балтийского федерального университета им. Иммануила Канта. Маркировка Коллекции микроводорослей и цианобактерий IPPAS Н-242 (ИФР им. К.А. Тимирязева РАН) [12]. Маточную культуру хранили в холодильнике при температуре от 4 до 6 °С.

Культивирование микроводорослей проводили в лабораторном биореакторе на 500 мл. Для наращивания биомассы использовали рекомендованные в литературе питательные среды: среда Болда – *Vischeria punctata* [12], среда Тамия – *Scenedesmus sp.* [10]. Культивирование полупериодическое, после отбора аликвоты (10 мл) каждые сутки для определения концентрации клеток в суспензии добавляли питательную среду до 500 мл. Температура культивирования находилась в диапазоне от 18 до 20 °С. Перемешивание суспензии осуществлялось барботированием воздухом с помощью компрессора с регулятором SERA AIR 550R, пропускающего до 1,5 л воздуха в час. Освещение осуществлялось с помощью светодиодных ламп дневного света (ФАР), в режиме день – 16 часов, ночь – 8 часов. Интенсивность освещенности – 22 кЛк.

В качестве объекта исследования были выбраны семена гороха посевного сорта ‘МАДРАС’, урожай 2023 года (июль). Масса 1000 штук семян – 227,79 г.

Посев семян осуществляли в контейнеры для проращивания по 25 семян в каждый на расстоянии 2 см друг от друга, глубина посева – 1 см, использовали почвогрунт Terra Vita. Выращивание осуществляли 11 суток при освещенности 12 кЛк, температуре от 17 до 22 °С. Режим освещенности: световой день – 8 часов, ночь – 16 часов до стадии полегания.

Суспензию микроводорослей, полученную при культивировании до стадии замедленного роста, разбавляли водопроводной водой до концентрации $5,1 \times 10^6$ клеток на мл суспензии. Полив осуществляли один раз (по 60 мл на контейнер) за 48 часов. Контрольный вариант поливали водой, первый вариант – суспензией *Vischeria punctata*, второй вариант – суспензией *Scenedesmus sp.* Каждый вариант включал три контейнера (в сумме 75 семян на вариант). Определяли число проросших семян, производили измерение длины побега, подсчитывали количество сформированных междоузлий.

Результаты и обсуждение.

1. Получение суспензии микроводорослей.

Культивирование микроводорослей осуществляли до фазы замедленного роста, в течение 6 суток. Популяция *Scenedesmus sp.* достигает концентрации $57,5 \times 10^6$ клеток на мл, популяция *Vischeria punctata* – $41,4 \times 10^6$ клеток на мл.

Кривая культивирования *Scenedesmus sp.* отличалась выраженной лаг-фазой, которая длилась в течение суток. Фаза экспоненциального роста продолжалась до пятых суток культивирования, далее отмечали фазу замедленного роста. Кривая культивирования *Vischeria punctata* отличается невыраженной лаг-фазой, экспоненциальная фаза роста длилась до 5-6 суток культивирования. Популяция *Scenedesmus sp.* отличается более интенсивными темпами роста в фазу экспоненциального роста в отличие от *Vischeria punctata*. Таким образом, была получена суспензия микроводоросли, которая использовалась для дальнейшей работы.

2. Влияние суспензии микроводоросли *Vischeria punctata* и *Scenedesmus sp.* на рост и развитие гороха посевного.

Суспензия микроводорослей в высокой концентрации (более $41,0 \times 10^6$ клеток на мл) обладает некоторым ингибирующим эффектом на проращивание семян гороха, поэтому суспензию микроводоросли *Vischeria punctata* мы разбавляли водопроводной водой до концентрации $5,1 \times 10^6$ клеток на мл.

На одиннадцатые сутки роста гороха посевного наблюдалось прикорневое полегание растений, которое характеризуется изгибом растения у основания корня. Активное полегание может снизить эффективность фотосинтеза и затруднить доступ света к междоузльям, повысить вероятность поражения патогенной средой.

Полив суспензией микроводорослей способствует увеличению всхожести семян (табл. 1). Увеличение доли проросших семян происходит до 11 суток выращивания гороха посевного и в вариантах с поливом суспензией микроводорослей превышала контроль на 15,0% (*Vischeria punctata*) и 16,7% (*Scenedesmus sp.*).

Таблица 1

Влияние суспензии микроводорослей *Vischeria punctata* и *Scenedesmus sp.* на проращивание семян гороха посевного (%)

Сутки проращивания	Контроль	<i>Vischeria punctata</i>	<i>Scenedesmus sp.</i>
1	37,3±2,6	61,3±4,3	56,0±3,9
4	65,3±4,6	85,3±5,9	89,3±6,3
6	69,3±4,9	88,0±6,2	90,7±6,3
8	76,0±5,3	92,0±6,4	90,7±6,4
11	80,0±5,6	92,0±6,4	93,3±6,5

Максимальные значения доли проросших семян ($92,0 \pm 6,4\%$) достигаются в варианте с внесением *Vischeria punctata* на восьмые сутки проращивания, а в варианте с *Scenedesmus sp.*

(93,33±6,53%) на одиннадцатые сутки. В контрольном варианте возрастание доли проросших семян идет до одиннадцатых суток и достигает 80,0±5,6%.

Анализ особенностей роста и развития побегов гороха посевного включал измерение длины побега, подсчет количества сформированных междоузлий. В течение всего периода проращивания гороха посевного наблюдается нарастание разницы между длиной побега в вариантах: применение суспензии микроводорослей для полива способствует увеличению длины побега (табл. 2). К восьмым суткам прорастания различия достоверные, в варианте с применением *Vischeria punctata* длина побегов больше, чем в контроле на 30,3%, с применением *Scenedesmus sp.* на 30,2%.

Таблица 2

Влияние суспензии микроводорослей *Vischeria punctata* и *Scenedesmus sp.* на формирование проростков гороха посевного

Сутки прорастания	Количество междоузлий, шт.			Длина побега, см		
	Контроль	<i>V. punctata</i>	<i>Scenedesmus</i>	Контроль	<i>V. punctata</i>	<i>Scenedesmus</i>
1	1,04±0,21	1,11±0,01	1,0±0,02	2,43±0,32	2,71±0,261	2,88±0,25
4	2,51±0,18	2,55±0,02	2,36±0,17	10,61±0,756	11,04±0,73	10,75±1,05
6	2,27±0,20	3,03±0,13*	2,72±0,15	12,41±1,04	15,60±0,70	15,36±0,80
8	2,42±0,17	3,12±0,13*	2,99±0,11*	14,09±1,07	18,36±0,732*	18,34±0,64*

Примечание: * – достоверные отличия средних по критерию Стьюдента.

Было определено достоверное увеличение количества междоузлий в вариантах с применением для полива суспензии микроводорослей *Vischeria punctata* и *Scenedesmus sp.* (табл. 2). В варианте с поливом суспензией *Vischeria punctata* разница достоверная на шестые, восьмые сутки культивирования, в варианте с поливом суспензией *Scenedesmus sp.* различия достоверные на восьмые сутки культивирования. На междоузлиях формируются листья, в которых в основном и происходит фотосинтез, поэтому количество междоузлий на растениях имеет большое значение для характеристики продуктивности растений.

На одиннадцатые сутки культивирования производили отделение побегов от корней. Побеги взвешивались на аналитических весах непосредственно после отделения. Масса одного растения достоверно выше в вариантах с применением для полива суспензии микроводорослей. В контроле средняя масса побега – 0,529±0,034 г, а в варианте с *Scenedesmus sp.* – 0,704±0,026 г, в варианте с *Vischeria punctata* – 0,648±0,027 г, различия достоверны. Полученная суммарная биомасса в вариантах превышала контроль на 41% в варианте с применением *Vischeria punctata* и на 55,3% в варианте с применением *Scenedesmus sp.*, что подтверждает существенный ростостимулирующий эффект микроводорослей на растения гороха посевного.

Выводы.

Таким образом, суспензия микроводоросли *Vischeria punctata*, также как и *Scenedesmus sp.*, способна оказывать положительный стимулирующий эффект на процент прорастания семян, на длину побегов, количество сформированных междоузлий в них, а также на массу полученных побегов.

Использование *Vischeria punctata* и *Scenedesmus sp.* для повышения продуктивности сельскохозяйственных культур перспективно, если принимать во внимание быстрые темпы роста популяций микроводорослей в лабораторном биореакторе. Разбавление полученной при культивировании биомассы позволяет получить большие объемы суспензии микроводорослей.

Библиографический список

1. Лукьянов, В. А. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе / В. А. Лукьянов, А. И. Стифеев. – Курск: Издательство Курской государственной сельскохозяйственной академии, 2014. – 181с.

2. Alvarez A.L. Microalgae, Soil and Plants: A Critical Review of Microalgae as Renewable Resources for Agriculture / A. L. Alvarez, S. L. Weyers, H. M. Goemann, et al. // *Algal Research*. – 2021. – 54. – Article 102200.
3. Шалыго Н. В. Микроводоросли и цианобактерии как биоудобрение / Н. В. Шалыго // *Наука и инновации*. – 2019. – №. 3 (193). – С. 10-12.
4. Parmar P. Microalgae as next generation plant growth additives: Functions, applications, challenges and circular bioeconomy based solutions / P. Parmar, R. Kumar, Y. Neha and V. Srivatsan // *Front. Plant Sci*. – 2023. – 14:1073546.
5. Применение некоторых видов альгофлоры в растениеводстве / О. В. Сторожева, С. В. Дорохин, О. В. Мячина [и др.] // *Ресурсосберегающие технологии в агропромышленном комплексе России: Материалы IV международной научной конференции, Красноярск, 23–24 ноября 2023 г.* – Красноярск: Красноярский государственный аграрный университет, 2024. – С. 275-278.
6. Navarro-López E. Extraction of phytostimulant molecules from *Scenedesmus almeriensis* using different extractor systems / E. Navarro-López, J. Gallardo-Rodríguez, M. Cerón-García, et al. // *Journal of Applied Phycology*. – 2023. – № 2. – P. 701-711.
7. Вильданова Г.И. Использование суспензии водоросли *Chlorella vulgaris* при выращивании огурца посевного методом гидропоники / Г.И. Вильданова и др. // *Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы*. – 2020. – №. S1 (54). – С. 20–24.
8. Лукьянов В. А. Рост и развитие озимой пшеницы с применением культуральной среды от микроводорослей / В. А. Лукьянов, С. Ю. Горбунова, А. И. Стифеев // *Инновации в АПК: проблемы и перспективы*. – 2018. – № 3(19). – С. 98-104.
9. Макарова Е. И. Прикладные аспекты применения микроводорослей-обитателей водных экосистем / Е.И. Макарова, И.П. Отурина, А.П. Сидякин // *Экосистемы*. – 2009. – №. 1 (20). – С. 120-133.
10. CCAAP 887/3 *Vischeria punctata* // Culture Collection of Algae and Protozoa [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ccap.ac.uk/catalogue/strain-887-3> (Дата обращения: 07.03.2024)
11. Babich, O. Study of the Polysaccharide Production by the Microalga *Vischeria punctata* in Relation to Cultivation Conditions / O. Babich, E. Budenkova, E. Kashirskikh, et al. // *Life*. – 2022. – 12. – 1614.
12. Коллекция микроводорослей и цианобактерий IPPAS ИФР РАН (УНУ КМЦ IPPAS ИФР РАН) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://ippras.ru/nauka/unikalnye-nauchnye-ustanovki-unu-kollektsii/kollektsiya-mikrovodorosley-i-tsianobakteriy-ippas-ifr-ran-unu-kmts-ippas-ifr-ran/> (Дата обращения: 07.03.2024).