

ИН ВИТРО ТЕСТ ЗА УСТАНОВЯВАНЕ ЕФЕКТА НА *Chlorella vulgaris* ПРИ ЗАРАЗЯВАНЕ НА ЛОЗА С *Xiphinema index*

Светла Янчева, Татяна Билева
Аграрен университет, Пловдив

Резюме

Янчева С., Т. Билева, 2006. *Ин витро тест за установяване ефекта на Chlorella vulgaris при заразяване на лоза с Xiphinema index.*

Настоящият ин витро тест установи ефективността на *Chlorella vulgaris* при заразяване на лоза с *Xiphinema index*. Най-добри показатели на растежа бяха отчетени при вариантите с 0.01 g *Chlorella vulgaris*. Получените резултати показват, че при тази концентрация (0.01 g) синьо-зеленото водорасло хлорела подтиска развитието на ектопаразита *Xiphinema index* и в същото време стимулира растежа на микрорастенията. Това проучване открива възможност за използване на *Chlorella vulgaris* като нов биостимулант на растенията и инхибитор на патогени за целите на биологичното земеделие.

Abstract

Yancheva S., T. Bileva, 2006. *In vitro test for establishing of Chlorella vulgaris effect on grape infested with Xiphinema index.*

This *in vitro* test established the efficiency of *Chlorella vulgaris* in grapes infested with *Xiphinema index*. The best growth characteristics were registered in the treatments with 0.01 g *Chlorella vulgaris*. The obtained results showed that at this concentration (0.01 g) the blue-green algae chlorella suppressed the development of the ectoparasite *Xiphinema index* and at the same time stimulated the growth of the *in vitro* plants. This study opened a possibility for utilization of *Chlorella vulgaris* as a new plant biostimulator, as well as a pathogen inhibitor for the aims of biological agriculture.

УВОД

Микроводораслите са първата и най-древна форма на живот на планетата Земя. Заедно с макроводораслите, те са източник на 80 % от естествената храна на планетата и подsigуряват 90 % от кислорода на Земята. Микроводораслите са богати на пълноценни и лесноусвояеми белтъчини (60 %), всички заменими и незаменими аминокиселини, уникално близки по съотношение до тези на човека. Синьо-зеленото водорасло хлорела (*Chlorella vulgaris*) спада към групата на мощните фитопротектори. Хлорелата съдържа пигменти с доказан мощен антиоксидантен ефект като хлорофил (3 до 5%), фикоцианин, в-каротин (провитамин А), пълната гама жизненоважни минерали и витамини в лесноусвояема органична форма, витамин В12, ненаситени мастни киселини, особено Щ-3 и Щ-6. Поради високото си съдържание на протеини,

включително незаменими аминокиселини, антиоксиданти, микроелементи и др. прилагането на хлорелата има доказан положителен ефект при тежки заболявания като: диабет, множествена склероза, Алцхаймер, Паркинсон, карциноми, за възстановяване след сърдечен инфаркт и химио- и лъчетерапия (Драпо, 2005). Досега няма проучвания, свързани с изследване влиянието на хлорела върху растения. Данни за взаимоотношенията на хлорела с някои широко прилагани в практиката пестициди са представени от Радославова (1989).

Целта на това наше проучване бе да изпитаме ефекта на *Chlorella vulgaris* при изкуствено заразени с нематодата *Xiphinema index* микрорезници от лоза при ин витро условия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Хлорела. Използван е сух екстракт от *Chlorella vulgaris* от района на Рупите (ЕТ “Златна ябълка” – Пламен Бараков).

Нематода. Популацията на *Xiphinema index* е изолирана от района на Поморие и се поддържа в саксия със смокиня, толерантна към този вид. Тази популация се характеризира с изключителна агресивност. Нематодите са изолирани от почвата по метода на отдекантирането по Cobb (1913), след което получената смивка се залага за 48 ч. на Берманова фуния. Нематодите бяха промити със стерилна вода и внесени в хранителната среда по два екземпляра в епруветка при праг на вредност за вида в България 4-6 броя/100 cm³ почва.

Растителен материал. Използвани са микрорезници от лоза - сорт Сира отглеждани като единични растения в епруветка с 10 ml безхормонална хранителна среда MS (Murashige & Scoog, 1962).

Проучените вариантите са заложени в три повторения и представени в таблица 1.

Таблица 1. Варианти за проучване ефекта на хлорела при заразяване с *Xiphinema index*.

Вариант	<i>Xiphinema index</i>	<i>Chlorella vulgaris</i> (g)
1	+	-
2	+	0.01
3	+	0.025
4	-	0.01
5	-	0.025
6	-	-

Резултатите са отчетени след 60 дни. Анализът на данните включва височина на растенията, дължина на корените, свежо и сухо тегло на цяло растение.

РЕЗУЛТАТИ

Проведените експерименти включват установяване при ин витро тест на ефекта на хлорелата върху степента на заразяване на опитните растения с паразитната нематода *Xiphinema index*, техния хабитус и отчитане на ефекта на този продукт върху растежа и развитието на здрави контролни растения.

При вариант 1 (заразена контрола) се наблюдава изоставане в растежа на микрорастенията, които се характеризират с по-слабо развита вегетативна част и типична начална некроза на корена, причинена от патогена *Xiphinema index* (фиг. 1).

Силен стимулиращ ефект на *Chlorella vulgaris* върху растежа и развитието на опитните растения в сравнение с двете контроли – варианти 1 и 6 беше установен при варианти 2 и 4 (фиг. 1).



Фигура 1. Сравнително представяне на ефекта на *Chlorella vulgaris* върху хабитуса на опитните растения

Таблица 2. Растежни характеристики на ин витро растения в опит с *Chlorella vulgaris*

Варианти	Средна височина на растенията в см.	Средна дължина на корена в см.	Тегло на опитните растения		Съотношение (%)
			Свежо тегло в mg	Сухо тегло в mg	
1	14.2	3.1	200	39.2	19.6
2	18.4	7.3	150	25.4	16.93
3	10.2	2.1	120	19.8	16.5
4	20.3	8.2	160	32.9	20.56
5	8.1	1.5	96	16.4	17.08
6	16.2	4.1	200	48.9	24.45



Фигура 2. Различия в хабитуса на растенията от вариант 2 в сравнение със заразената контрола (1)

Това се потвърждава и от установените резултати представени в таблица 2. Представените данни показват че растенията от вариант 2 са по-добре развити в сравнение със заразената (1) и свободна контрола (6). Най-добре развита надземна част и корен са наблюдавани при вариант 4, което предполага, че в малки дози (0.01 g) *Chlorella vulgaris* има стимулиращ ефект, който се изразява в издължаване на растенията.

Ясни различия в хабитуса на растенията бяха установени между растенията от вариант 2, които се характеризират с по-добро развитие на корена в сравнение със заразената контрола (1) (фиг. 2).

В хода на експеримента обаче, при варианти 3 и 5 с по-високата концентрация на хлорела (0.025 g), бе отчетен подтискащ ефект на *Chlorella vulgaris* върху растежа и развитието на микрорастенията,

в сравнение с по-ниската концентрация (0.01 g) при вариант 4 и свободната контрола (6) (фиг.3).



Фигура 3. Инхибиращ ефект на *Chlorella vulgaris* при растенията от варианти 3 и 5 в сравнение с вариант 4 и здравата контрола (6)

В същото време по-ниската концентрация на хлорела (вариант 2) има силен подтискащ ефект върху *Xiphinema index* и в същото време силен стимулиращ върху развитието на лозовите микрорастения в сравнение с по-високата концентрация на хлорела (варианти 3 и 5).

ОБСЪЖДАНЕ

Проведеният ин витро тест установи че, най-добри показатели на растежа бяха отчетени при вариантите 2 и 4 (0.01 g *Chlorella vulgaris*). Макар и първоначални, получените резултати ни дават основание да предположим, че при по-ниската концентрация (0.01 g) хлорелата подтиска развитието на ектопаразита *Xiphinema index* и в същото време стимулира растежа на микрорастенията. Независимо от широката популярност на *Chlorella vulgaris* и известните ѝ лечебни ефекти в хуманната медицина, липсват литературни данни за проведени биотестове с хлорела при растенията, както и за използването при земеделски култури.

Нашите експерименти със синьо-зеленото водорасло *Chlorella vulgaris* (уникален екологичен български продукт) предполагат провеждането на допълнителни лабораторни и полски изследвания за установяване на положителен ефект при други чувствителни на *Xiphinema index* видове като лоза, овощни култури и подложки за тях. Настоящото проучване открива възможност за използване на *Chlorella vulgaris* като нов биостимулант на растенията и инхибитор на патогени за целите на биологичното земеделие.

ЛИТЕРАТУРА

- Драпо, К., 2005. „Извечна храна“; Златната ябълка”
Радославова, Е., 1989. Дисертационен труд.
Чолева, Б., 2000. Курс по растителна нематология, Биологически факултет, София.
Cobb, N.A., 1918. Estimating the nema population of soil. USDA Agric. Technol. Circ.II, 40.
Murashige, T. and F. Scoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.