

УДК 631.4; 579.6

О ПРИРОДЕ ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ АКТИНОБАКТЕРИЙ НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В ПОЧВАХ

© 2021 г. Член-корреспондент РАН С. А. Шоба¹, Т. А. Грачева^{1,*},
А. Л. Степанов¹, Г. Н. Федотов¹, И. В. Горепекин¹

Поступило 27.01.2021 г.
После доработки 08.02.2021 г.
Принято к публикации 10.02.2021 г.

Изучено влияние предпосевной обработки семян яровой пшеницы суспензиями различных штаммов актиномицетов. Установлено, что 4 из 18 изученных штаммов оказывали стимулирующее влияние на прорастание семян в почвах и развитие из них растений. Показано, что стимуляция семян этими штаммами не наблюдается при проращивании семян в песке. Было выдвинуто предположение, что механизм ускорения развития семян актиномицетами может быть основан не только на выделении стимулирующих биологически активных веществ, но и на потреблении ими аллелотоксинов. Проведенная проверка по изучению возможности роста актиномицетов на среде, содержащей один из наиболее распространенных аллелотоксинов – кумарин, показала, что способствующие прорастанию семян актиномицеты развивались на этой среде интенсивнее по сравнению со штаммами, которые не оказывали влияния или угнетали прорастание семян яровой пшеницы. Это подтвердило выдвинутое предположение о способности актиномицетов стимулировать прорастание семян за счет потребления почвенных аллелотоксинов.

Ключевые слова: аллелотоксичность, стимуляция семян, предпосевная обработка семян, актиномицеты, кумарин

DOI: 10.31857/S2686738921030136

Накоплен большой материал [1–4] по мониторингу почвенных микроорганизмов, влияющих на урожайность, стимулирование роста и развитие растений, а также на повышение их адаптационных способностей.

Считается, что во многих случаях это связано с образованием значительной частью микроорганизмов многочисленных физиологически активных веществ (ауксинов, гиббереллинов, цитокининов и т.д.), которые поступают в корни растений, стимулируя их рост и повышая качество урожая [5].

В частности, есть данные [6], что с воздушных корней эпифитных оранжерейных орхидей *Dendrobium moschatum* выделены культивируемые бактерии из филума Actinobacteria, которые образовывали ауксины. Некоторые наиболее активные продуценты увеличивали всхожесть семян и стимулировали прорастание и развитие проростков

не только *D. moschatum*, но и других видов растений.

Однако это не единственный возможный механизм стимуляции прорастания семян и развития растений микроорганизмами.

Хорошо известно явление аллелотоксического почвоутомления, которое обусловлено накоплением в почве аллелотоксинов из-за ее высокой сорбционной способности [7–11]. Они выделяются растениями для борьбы с конкурентами, а также в качестве сигнальных веществ для предупреждения о возникшей экологической опасности или для торможения своих биохимических процессов, чтобы возникшие негативные экологические факторы нанесли растениям минимальный урон [7, 9, 10]. Установлено, что действие любых негативных факторов, возникающих в процессе вегетации, приводит к усилению выработки растениями аллелотоксинов, выделению их в окружающую среду и повышению аллелотоксичности почв [9]. Наряду с этим также отмечено, что аллелотоксины способны выполнять функции сигнальных молекул [12]. Токсичные вещества вырабатываются микроорганизмами при борьбе с конкурентами за ресурсы, в качестве по-

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
*e-mail: tanyadunaeva12@mail.ru

бочных продуктов метаболизма или фитопатогенами для ослабления иммунитета растений [7, 9, 11]. Кроме того, аллелотоксины выделяются из самих растительных остатков при их разложении в почвах [7–10].

Эти вещества угнетают развитие растений особенно на начальных этапах роста. Выдвигалось предположение о том, что почвенные микроорганизмы могут использовать аллелотоксины в качестве источников углерода и снижение численности микроорганизмов приводит к замедлению освобождения почвы от аллелотоксинов [13]. В частности, было показано, что стерилизация почвы сильно замедляет ее освобождение от аллелотоксинов [13]. Это свидетельствует о том, что наряду с изменением активности аллелотоксинов из-за их закрепления в почвах, возможно разложение аллелотоксинов микроорганизмами почв. Такой механизм стимуляции развития растений может быть альтернативой ускорению их роста веществами-стимуляторами.

Целью нашей работы являлось изучение природы влияния бактериализации семян пшеницы водной суспензией мицелиальных актинобактерий.

Исследования проводили на семенах яровой пшеницы (*Triticum*) урожая 2018 г. сорта “Лиза”.

Проращивали семена в образцах дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы из окрестностей поймы р. Яхрома, Московская область, и в отмытом речном песке с частицами 0.5–0.8 мм.

Предпосевную обработку семян суспензией актиномицетов проводили полусухим способом при расходе 40 л суспензии на тонну семян.

В работе использовали чистые культуры мицелиальных актинобактерий рода *Streptomyces*, которые были выделены из различных местообитаний: из ассоциаций с почвенными беспозвоночными животными (навозного червя *Eisenia fetida* и многоножек – серого кивсяка *Cilindroiulus caeruleocinctus* и крымского кивсяка *Pachyiulus flavipes*); тропических почв заповедных зон Вьетнама; сапропеля и почвы, загрязненной нефтью. Актинобактерии поддерживали на среде Гаузе I (минеральный агар I) (г/л) [14]: K_2HPO_4 – 0.5; $MgSO_4$ – 0.5; KNO_3 – 1; $NaCl$ – 0.5; $FeSO_4$ – следы; крахмал – 20; pH 7.2–7.4.

Для получения моноспоровой суспензии культуры засеивали газон на чашки Петри, инкубировали при 28°C в течение 10 сут. После этого в стерильных условиях скальпелем собирали материал с поверхности агара в колбу со стерильной дистиллированной водой. Полученную взвесь одиночных спор, споровых конгломератов и обрывков вегетативного мицелия обрабатывали на низкочастотном ультразвуковом диспергаторе УЗДН – 1 (30–60 сек 22 кГц 0.44 А). Затем эту суспензию фильтровали через слой стерильной хирургической ваты в стерильную колбу и отмывали

от среды стерильной дистиллированной водой центрифугированием (5000 об/мин 10 мин 5 раз). Микроскопический контроль за распределением спор в суспензии проводили в камере Горяева. Семена пшеницы обрабатывали суспензией, содержащей 10^7 – 10^8 клеток в 1 мл.

Для повышения воспроизводимости получаемых данных изучали изменение интегральной длины проростков 7.5 г семян (~200 шт), которую определяли, используя экспресс-метод, основанный на существовании линейной зависимости между насыпным объемом проросших семян в воде и длиной их проростков [15].

Опыт проводили в шестикратной повторности с последующей статистической обработкой результатов. В связи с использованием в одном опыте 1000–1200 семян удавалось минимизировать ошибку, связанную с разнокачественностью семян до 7%.

На начальном этапе работы было проведено изучение влияния обработки семян пшеницы суспензией актиномицетов на скорость прорастания и развития растений в почвах. Установлено (табл. 1), что из 18 проверенных, 4 штамма (а 3, ер/28, ер/21, L/28) заметно увеличивали скорость прорастания семян пшеницы и развития из них растений.

Для выяснения возможности влияния на развитие семян микробных веществ-стимуляторов был проведен посев обработанных семян в песок. При выделении актиномицетами биологически-активных веществ на песке должна была наблюдаться стимуляция прорастания семян и развития их проростков, сопоставимая с той, что наблюдалась для почв. Однако ускорения прорастания семян не наблюдалось. Это свидетельствует о том, что механизм положительного влияния исследованных штаммов актиномицетов (штаммы а 3, ер/28, ер/21, L/28) основан не на выделении биологически-активных веществ, стимулирующих прорастание семян, а на использовании аллелотоксинов в качестве источников углерода.

Для дополнительной проверки способности изученных видов актиномицетов ускорять развитие семян пшеницы за счет снижения концентрации в почве аллелотоксинов были проведены эксперименты по изучению способности роста актиномицетов на среде с кумарином – одним из наиболее распространенных аллелотоксинов [6].

Исследуемые штаммы актиномицетов проверяли на способность к росту на среде с кумарином, добавленного в среду, в качестве основного источника питания.

Было установлено, что актиномицеты, стимулирующие развитие семян пшеницы в почвах, хорошо растут на кумарине, в отличие от штаммов, не оказывающих на развитие семян значимого влияния. В качестве примера на фотографиях

Таблица 1. Влияние суспензии актиномицетов на прорастание семян пшеницы

Номер опыта	Номер штамма ¹	Воздействие на развитие семян, %	Место выделения штамма	Примечания
1	5/15	0	Сапрпель	—
2	a 1	+7	Тропические почвы	—
3	a 2	+7	Тропические почвы	—
4	51	–9	Почва, загрязненная нефтью	—
5	53	–5	Почва, загрязненная нефтью 160 г/кг	—
6	KCl 12	0	Кишечная жидкость	<i>Cilindroiulus caeruleocinctus</i>
7	a 3	+9	Тропические почвы	—
8	a 4	–1	Тропические почвы	—
9	KCl 15	–5	Кишечная жидкость	<i>Pachyiulus flavipes</i>
10	KCl 17	+1	Кишечная жидкость	<i>Eisenia fetida</i>
11	2/15	+8	Сапрпель	—
12	ep/21	+18	Подвешенная почва эпифитов из корзинок	Заповедник Пу Хоат, Вьетнам, лес в долине реки
13	ep/10	–3	Подвешенная почва эпифитов из корзинок	—
14	S 20/14	+7	Аллювиальная почва, 20 см	—
15	L/28	+23	Опад	—
16	ep/28	+17	Подвешенная почва эпифитов из корзинок	—
17	S 20/21	+4	Аллювиальная почва, 20 см	—
18	ep/27	+6	Подвешенная почва эпифитов из корзинок	—

¹ Номера штаммов приведены по внутренней классификации кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова.

(рис. 1) приведены результаты активного роста штамма актиномицета L/28 (рис. 1б), стимулирующего прорастание семян пшеницы, и отсутствие роста на среде с кумарином у штамма 51 (рис. 1а).

Таким образом, проведенные эксперименты позволяют сделать вывод, что штаммы актиномицетов, которые стимулируют развитие семян в почвах и хорошо развиваются на аллелотоксинах (кумарине), по-видимому, способны снижать



Рис. 1. Рост штаммов актиномицетов рода *Streptomyces* 51 (а) и L/28 (б) на среде с кумарином.

влияние этих соединений на начальную стадию развития растений.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ, часть 2 (тема № 117031410017-4) по Программе Развития МГУ при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Звягинцев Д.Г., Добровольская Т.Г., Чернов И.Ю. Принципы мониторинга микробного разнообразия экосистем. Мониторинг биоразнообразия. М.: Наука. 1997. С. 203–207.
2. Axenov-Gribanov D.V., Kostka D.V., Protasov E.S., Emshanova V.A., Vereshchagina K.P., Krasnova M.E., Gorbenco I.V., Lubyaga Y.A., Voycehovskaya I.V., Timofeyev M.A. Culturable actinobacteria associated with baikal algae: diversity and antimicrobial activity // Journal of stress Physiology & Biochemistry. 2018. V. 14 (2) P. 19–25.
3. Широких И.Г., Широких А.А. Биосинтетический потенциал актиномицетов бурой лесной почвы Восточного побережья Эгейского моря // Почвоведение. 2017. № 11. С. 1355–1361.
4. Блинков Е.А., Цавкелова Е.А., Селицкая О.В. Образование ауксина штаммом *Klebsiella planticola* ТСХА-91 и его влияние на развитие семян огурца посевного (*Cucumis sativus* L.) // Микробиология. 2014. 83 (5). С. 543–551.
5. Bottini R., Cassán F., Piccoli P. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase // Applied microbiology and biotechnology. 2004. V. 65. № 5. P. 497–503.
6. Teixeira da Silva J.A., Tsavkelova E.A., Zeng S., Ng T.B., Parthibhan S., Dobránszki J., Cardoso J.C., Rao M.V. Symbiotic in vitro seed propagation of Dendrobium: fungal and bacterial partners and their influence on plant growth and development // Planta. 2015. V. 242 (1). P. 1–22.
7. Гродзинский А.М., Богдан Г.П., Головкин Э.А., Дзюбенко Н.Н., Мороз П.А., Прутенская Н.И. Аллелопатическое почвоутомление. Киев: Наук. Думка. 1979. 248 с.
8. Лобков В.Т. Использование почвенно-биологического фактора в земледелии: монография // Лобков В.Т. — Орел: Изд-во ФГБОУ ВО Орловский ГАУ. 2017. 166 с.
9. Allelopathy. A Physiological Process with Ecological Implications // Ed. M.J. Reigosa, N. Pedrol, L. Gonzalez. Springer. 2006. 637 p.
10. Rice E.L. Allelopathy. New York–London: Academic Press. 1984. 422 p.
11. McCalla T.M., Haskins F.A. Phytotoxic Substances from Soil Microorganisms and Crop Residues // Bacteriological Reviews. 1964. V. 28. № 2. P. 181–207.
12. Tomilov A., Tomilova N., Shin D.H., Jamison D., Torres M., Reagan R., McGray H., Horning T., Truong R., Nava Aj., Nava A., Yoder J.I. Chemical signalling between plants // Chemical Ecology: From Gene to Ecosystem. The Netherlands: 2006. Springer. P. 55–69.
13. Jilani G., Mahmood S., Chaudhry A. N., Hassan I., Akram M. Allelochemicals: sources, toxicity and microbial transformation in soil – a review // Annals of Microbiology. 2008. V. 58 (3). P. 351–357.
14. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. 1983. М.: Наука. 245 с.
15. Федотов Г.Н., Шоба С.А., Федотова М.Ф., Горепекин И.В. Влияние аллелотоксичности почв на прорастание семян зерновых культур // Почвоведение. 2019. № 4. С. 489–496.

ON THE NATURE OF THE INFLUENCE OF SOME MYCELIAL ACTINOBACTERIA ON THE SPRING WHEAT SEEDS GERMINATION IN SOILS

Corresponding Member of the RAS S. A. Shoba^a, T. A. Gracheva^{a,#}, A. L. Stepanov^a, G. N. Fedotov^a, and I. V. Gorepekin^a

^a Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

[#]e-mail: tanyadunaeva12@mail.ru

The effect of pre-sowing treatment of spring wheat seeds with suspensions of various actinomycete strains has been studied. It was found that 4 of the 18 studied strains had a stimulating effect on the seed germination in soils and the development of plants from them. It is shown that seed stimulation by these strains is not observed during seed germination in sand. It was suggested that the mechanism of accelerating seed development by actinomycetes may be based not only on the release of stimulating biologically active substances, but also on the consumption of allelotoxins by them. A test conducted to study the possibility of actinomycete growth on a medium containing one of the most common allelotoxins, coumarin, showed that actinomycetes promoting seed germination developed on this medium more intensively compared to strains that did not affect or inhibit the germination of spring wheat seeds. This confirmed the hypothesis put forward about the ability of actinomycetes to stimulate seed germination through the consumption of soil allelotoxins.

Keywords: allelotoxins, seed stimulation, pre-sowing treatment of seeds, actinomycetes, coumarin