

Защита растений

УДК 633.854.54:631.531.172:577.114

DOI:10.31857/S2500-2627-2020-2-21-12

ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ СЛИЗЕОБРАЗУЮЩИХ ПОЛИСАХАРИДОВ ЛЬНА ОБЫКНОВЕННОГО *Linum usitatissimum* L.

В.М. Лукомец, академик РАН, **С.В. Зеленцов**, член-корреспондент РАН,
Г.М. Саенко, **Е.В. Мошненко**, **В.С. Зеленцов**, кандидаты биологических наук

*Федеральный научный центр Всероссийский научно-исследовательский
институт масличных культур имени В.С. Пустовойта,
350038, Краснодар, ул. Филатова, 17
E-mail: soya@vniimk.ru*

*Семена целого ряда видов цветковых растений при увлажнении быстро ослизняются, что указывает на определенные адаптивные преимущества этого признака в условиях естественного отбора. Семенные слизи могут вступать в различные реакции с почвенной, в том числе патогенной микрофлорой. Целью исследований было установление фунгицидной активности семенных слизей льна в отношении почвенных грибных патогенов. Объектами исследований были семена льна обыкновенного *Linum usitatissimum* и патогенный почвенный гриб *Fusarium oxysporum*. Наблюдения показали, что уже через 2-3 ч после увлажнения семян льна в чашках Петри с мицелием *F. oxysporum* образовавшиеся слизи начинают угнетать гифы гриба. Через сутки вокруг ослизненных семян образовывались стерильные зоны диаметром $9,46 \pm 0,34$ мм. Установлено, что вытяжка льняных слизей также обладает фунгицидными свойствами. Средняя зона лизиса при точечном нанесении на мицелий гриба *F. oxysporum* семенных слизей льна объемом 0,05 мл составляла $9,65 \pm 0,22$ мм. Выявлена ранее не описанная фунгицидная активность полисахаридных слизей семян льна в отношении гриба *F. oxysporum*, которая может быть использована при селекции сортов льна обыкновенного как новый признак естественной фунгицидной защиты прорастающих семян.*

FUNGICIDAL ACTIVITY OF MUCILAGE DEVELOPMENT POLYSACCHARIDES OF COMMON FLAX *Linum usitatissimum* L.

**Lukomets V.M., Zelentsov S.V., Saenko G.M.,
Moshnenko E.V., Zelentsov V.S.**

*Federal scientific center Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops,
1350038, Krasnodar, ul. Filatova, 17
E-mail: soya@vniimk.ru*

*Seeds of a number of flowering plants species, when moistened, quickly mucilage, which indicates certain adaptive advantages of this trait in conditions of natural selection. Seminal mucus can enter into various reactions with soil, including pathogenic mycoflora. The aim of the investigation was to establish the response of fungicidal activity of seminal mucus in relation to soil fungal pathogens. The objects of study were the seeds of common flax *Linum usitatissimum*, and pathogenic soil fungus *Fusarium oxysporum*. Observations showed that already 2-3 hours after moistening flax seeds in Petri dishes with *F. oxysporum* mycelium, the formed mucus begins to inhibit fungal hyphae. After a day, sterile zones with a diameter of 9.4 ± 0.34 mm are formed around the mucous seeds. The extract of flax mucus also has fungicidal properties. The average diameter of the sterile zones after spot application of 0.05 ml flaxseed mucus to the mycelium of the fungus *F. oxysporum* was 9.65 ± 0.22 mm. Studies have revealed the phenomenon of a previously undescribed fungicidal activity of polysaccharide flaxseed mucus in relation to the fungus *F. oxysporum*. The revealed non-specific fungicidal activity of seminal mucus can be used in the breeding of common flax varieties, as a new trait of the natural protection of germinating seeds.*

Ключевые слова: лен обыкновенный, семена льна, слизеобразующие полисахариды, льняные слизи, фунгицидная активность, почвенная микрофлора, фузариозная корневая гниль

Key words: common flax, flax seeds, mucilage development polysaccharides, flax-seed mucilage, fungicidal activity, soil mycoflora, *Fusarium* root rot

Семена некоторых видов цветковых растений в тканях содержат специфические высокомолекулярные компоненты, которые при увлажнении быстро переходят в слизевидную форму. Эта особенность известна у представителей родов *Linum* L. (Лен), *Salvia* L. (Шалфей), *Camelina* L. (Рыжик), *Arabidopsis* Heynh. (Резуховидка), *Ocimum* L. (Базилик), *Sydonia* Mill. (Айва), *Plantago* L. (Подорожник) и ряда других [1-4] (рис. 1).

Явление ослизнения семян известно давно, но широкого внимания ученых не привлекало. Чаще всего в литературе упоминаются фармакологические свойства слизей, иногда отмечается их гипотетический вклад в закрепление семян на поверхности почвы и в улучшение водного режима на начальной стадии прорастания [3-6]. При этом биологическая и эволюционная роль слизеобразующих полисахаридов семян, в том числе взаимоотношения семенных слизей с почвенной микробиотой, изучены очень слабо. Однако тот

факт, что у целого ряда родственных видов цветковых растений в процессе филогенетической эволюции закрепились формы с быстро ослизняющимися семенами, может указывать на адаптивные преимущества этого признака. В частности, неоднократно отмечалось, что таксоны с ослизняющимися семенами произрастают в аридных условиях [4, 7, 8]. Наличие многочисленных гомологов по этому признаку среди представителей филогенетически неродственных семейств цветковых растений (Linaceae, Brassicaceae, Lamiaceae, Rosaceae, Plantaginaceae, Malvaceae и др.) позволяет предположить более общие эволюционные преимущества слизеобразования у семян [3, 7].

К одним из наиболее изученных представителей сельскохозяйственных растений с ослизняющимися семенами относятся виды рода *Linum* L., включая возделываемый на волокно и масло вид льна обыкновенного *L. usitatissimum* L. Массовая доля слизей у этого

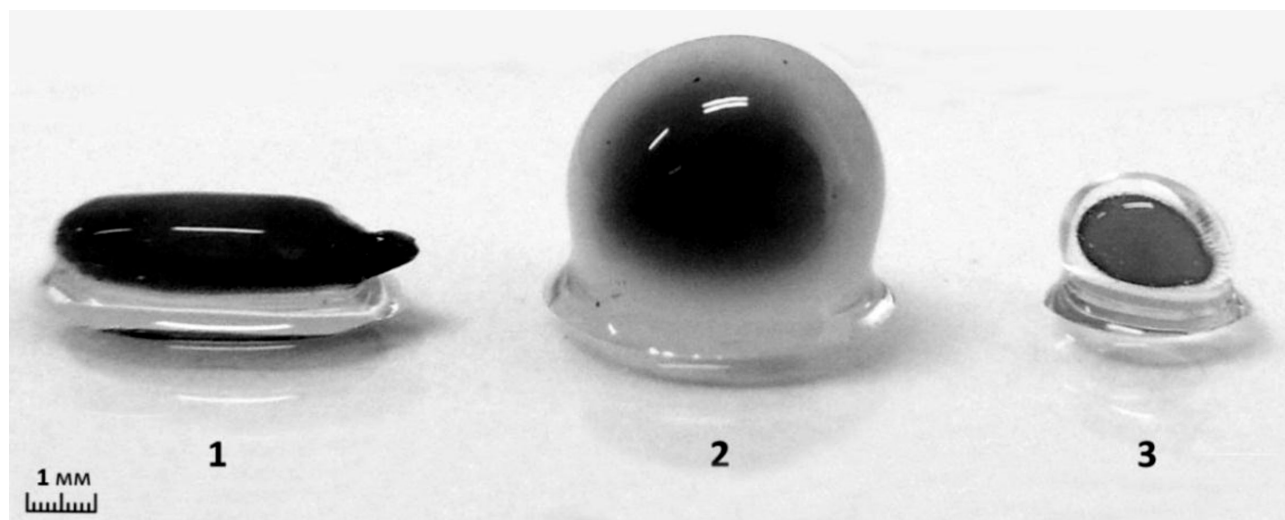


Рис. 1. Ослизнение семян некоторых видов цветковых растений после 3-минутной экспозиции в воде:
 1 – лен обыкновенный (*Linum usitatissimum* L., сем. *Linaceae* DC ex Perleb);
 2 – шалфей мускатный (*Salvia sclarea* L., сем. *Lamiaceae* Mart.);
 3 – рыжик посевной (*Camelina sativa* (L.) Crantz., сем. *Brassicaceae* Burn.).

вида составляет не менее 2% от общей массы семени [9]. Из литературы известно, что эпидерма семенной оболочки льна содержит три группы высокомолекулярных полисахаридов, при увлажнении переходящих в слизевидную коллоидную форму. Наиболее вязкий нейтральный полисахарид с молярной массой $1,2 \times 10^6$ г/моль, составляющий 75–80% от общей доли, – это смесь арабиноксилана (56%) и галактоглобулана (44%). Минорный компонент слизи (до 20%) представляет собой гетерогенную группу галактуронанов, основную долю которых составляют два кислых полисахарида: AF1 с молярной массой $6,5 \times 10^5$ г/моль и AF2 с молярной массой $1,7 \times 10^4$ г/моль. Внутривидовое варьирование общего содержания семенных слизи у льна обыкновенного составляет 4–6–7% [10–14]. Все фракции слизиобразующих полисахаридов имеют период гидратации от 5 мин до 20–24 ч [15].

Благодаря наличию низкомолекулярных фракций полисахаридов в эпидерме оболочки, уже через 1–2 с после увлажнения поверхность семени льна ослизняется. Через 15–20 ч завершается гидратация наиболее высокомолекулярных и вязких фракций слизиобразующих полисахаридов, в том числе расположенных в нижележащих тканях оболочки [15]. В этой фазе над поверхностью семян формируются состоящие, как минимум, из трех фракций слизи желеобразные капсулы, в естественных полевых условиях обволакивающие прилегающие к семени частицы почвенного субстрата с почвенной микробиотой.

Микрофлора разных типов почв представлена широким спектром бактерий, актиномицетов, грибов, водорослей и вирусов [16–18]. Одним из типичных представителей грибного комплекса почвенной микробиоты являются виды рода *Fusarium* Link. сем. *Nectriaceae* Tul. & C. Tul. Они негативно влияют на жизнеспособность семян и развитие растений большинства цветковых, вплоть до полной их гибели. При промышленном выращивании сельскохозяйственных растений представители рода *Fusarium* наносят серьезный экономический ущерб [19, 20].

Методика. Исследования проводили в лаборатории отдела Федерального научного центра Всероссийский

научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта – ФНЦ ВНИИМК (Краснодар) в 2017–2018 гг. В качестве модельного объекта для изучения фунгицидной активности слизи был взят сорт масличного льна ВНИИМК 620 вида лен обыкновенный (*L. usitatissimum*). Для моделирования реакции патогенной почвенной микрофлоры на контакты с семенными слизями льна использовали изоляты гриба *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Snyder & Hansen. Чистую культуру патогена культивировали на чашках Петри с агаризованной питательной средой Чапека в течение 3–6 сут. Выращенный инокулом в виде блоков культуры гриба площадью 0,60–0,65 см² в стерильных условиях переносили в центр чашки Петри с такой же питательной средой Чапека, свободной от патогена.

Эксперимент включал 2 варианта в 4-кратной повторности. В первом варианте по внешнему периметру каждой чашки Петри с 3-дневным мицелием гриба равномерно раскладывали по 8 сухих семян. Затем для полной гидратации слизиобразующих полисахаридов в семенных оболочках каждое семя точно увлажняли дистиллированной водой объемом 0,05 мл. Во втором варианте для исключения возможного ингибирующего влияния на мицелий гриба *F. oxysporum* эндогенных антигрибных токсинов, синтез которых мог начаться в прорастающих семенах, добавляли вытяжку льняной слизи. Льняную слизь получали путем суточного замачивания 1 г семян в 10 мл воды и последующего ее отделения от семян. Полученную вытяжку льняной слизи 0,05 мл наносили микропипеткой в 6 точках по внешнему периметру каждой чашки Петри с 6-дневным мицелием гриба. Затем их инкубировали в термостате при температуре 24 °С в течение 20 сут, ежедневно наблюдали за динамикой и характером роста мицелия *F. oxysporum* в зонах локализации льняных слизи. Всего было проведено 3 однотипных цикла наблюдений. Оценку фунгицидной активности льняных слизи проводили по размерам зон лизиса мицелия гриба в чашках Петри.

Результаты и обсуждение. Уже через 2–3 ч после увлажнения семян образовавшиеся на их поверхности слизи начинали угнетать гифы гриба. Через сутки

Табл. 1. Средний диаметр (мм) зон лизиса мицелия *F. oxysporum* вокруг ослизненных семян льна при $n=32$ в каждом цикле

Цикл наблюдений	Время экспозиции, сут								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	9,48	9,49	9,48	9,48	9,48	9,38	9,37	9,35	9,32
2	9,55	9,56	9,56	9,56	9,55	9,52	9,49	9,46	9,42
3	9,48	9,51	9,51	9,49	9,49	9,45	9,42	9,37	9,31

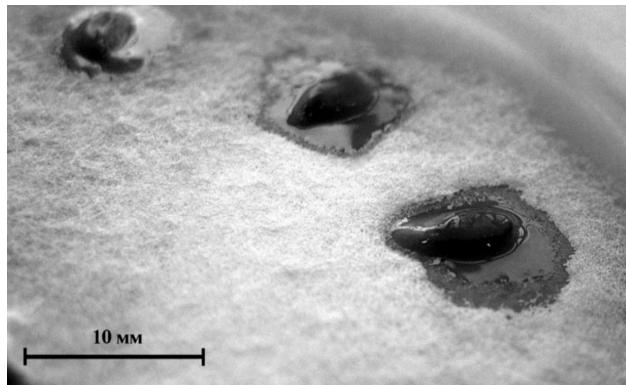


Рис. 2. Ингибирование роста мицелия гриба *F. oxysporum* семенными слизями льна на 7-е сутки после их увлажнения.

Табл. 2. Средний диаметр (мм) зон лизиса мицелия *F. oxysporum* в точках нанесения вытяжек льняных слизей при $n=32$ в каждом цикле

Цикл наблюдений	Время экспозиции, сут								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	9,85	9,87	9,87	9,87	9,87	9,85	9,84	9,56	9,12
2	9,72	9,72	9,72	9,71	9,71	9,63	9,61	9,53	9,23
3	9,78	9,78	9,78	9,78	9,78	9,71	9,43	9,26	9,01

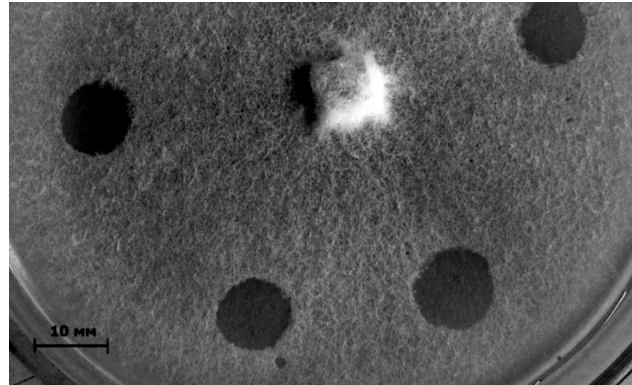


Рис. 3. Ингибирование роста гриба *F. oxysporum* вытяжкой семенных слизей льна через сутки после ее нанесения.

вокруг семян образовывалась свободная от гриба стерильная зона, совпадающая с зоной распространения слизей (рис. 2). Усредненный диаметр зон лизиса вокруг семян льна с типичной слизеобразующей способностью, включая их поверхность, в течение первых 9 суток в среднем составлял 9,46 мм (табл. 1).

Через 5 сут после начала эксперимента наблюдали незначительное снижение зоны лизиса за счет вторичного зарастания периферии мицелием. В целом фунгицидный эффект семенных слизей сохранялся до прорастания семян с пролонгацией до 9 сут. В естественных полевых условиях этого периода обычно достаточно для появления всходов льна над поверхностью почвы.

Эксперименты показали, что обособленная вытяжка льняных слизей также обладает фунгицидными свойствами (рис. 3). Как и в предыдущем опыте, только через 5 сут после его начала было отмечено незначительное вторичное зарастание мицелием периферии зон лизиса (табл. 2). Средний диаметр зон лизиса мицелия гриба в точках нанесения капель вытяжек семенной слизи льна в течение первых 9 сут составлял 9,65 мм, что оказалось практически идентичным размерам стерильных зон вокруг ослизненных семян льна.

Наши исследования выявили феномен ранее не описанной фунгицидной активности высокомолекулярных полисахаридных слизей семян льна в отношении почвенного гриба *F. oxysporum*. Можно предположить, что в процессе эволюции ряда семейств цветковых растений появился признак слизеобразования у семян, и за счет неспецифических фунгицидных свойств слизей обеспечиваются повышенная защита и выживаемость

таких форм при контактах с агрессивной почвенной микофлорой на стадии прорастания семян и выхода проростков на поверхность почвы. Однако на последующих этапах онтогенеза эффективность антигрибной активности семенных слизей, очевидно, станет снижаться вследствие микробиологической и биохимической деградации молекулярной структуры слизей [21]. Еще одним фактором снижения фунгицидного эффекта семенных слизей на более поздних этапах онтогенеза растений будут пересыхание верхнего слоя почвы в засушливых условиях на глубине заделки семян и дегидратация слизеобразующих полисахаридов.

Выявленная неспецифическая фунгицидная активность семенных слизей может быть использована при селекции масличных и долгуночных сортов льна обыкновенного как новый хозяйственно-полезный признак естественной защиты прорастающих семян от патогенной почвенной микофлоры. При этом селекция может быть направлена на выделение как исходного материала льна с повышенной слизеобразующей способностью семян, так и форм льна с повышенной фунгицидной активностью слизей к возбудителю корневой гнили – *F. oxysporum*.

Литература

1. Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. Систематика, география, цитогенетика, иммунитет, экология, происхождение, использование. – Л.: Колос, 1971. – 752 с.
2. Вехов В.Н., Губанов И.А., Лебедева Г.Ф. Культурные растения СССР. – М.: Мысль, 1978. – 336 с.
3. Yang X., Baskin J., Baskin C., Huang Z. More than just a

- coating: ecological importance, taxonomic occurrence and phylogenetic relationships of seed coat mucilage // *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. – 2012. – Vol. 14. – P. 434–442.
4. North H.M., Berger A., Saez-Aguayo S., Ralet M.-C. Understanding polysaccharide production and properties using seed coat mutants: future perspectives for the exploitation of natural variants // *Annals of Botany*. – 2014. – Vol. 114. – P. 1251–1263.
 5. Сауткина Т.А., Поликсенова В.Д. Морфология растений: Курс лекций в 2 ч., Ч. 1. – Минск: БГУ, 2004. – 115 с.
 6. Коноплева М.М. Фармакогнозия: природные биологически активные вещества. – Витебск: ВГМУ, 2010. – 234 с.
 7. Kreitschitz A. Mucilage formation in selected taxa of the genus *Artemisia* L. (Asteraceae, Anthemideae) // *Seed Science Research*. – 2012. – Vol. 22. – P. 177–189.
 8. Yang X., Baskin C.C., Baskin J.M., Liu G., Huang Z. Seed Mucilage Im-proves Seedling Emergence of a Sand Desert Shrub // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – Issue 4. e34597 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034597>
 9. Naran R., Chen G., Carpita N.C. Novel rhamnogalacturonan I and arabinoxylan polysaccharides of flax seed mucilage // *Plant Physiolog*. – 2008. – Vol. 148. – P. 132–141.
 10. Fedeniuk R.W., Biliaderis C.B. Composition and physicochemical properties of linseed (*Linum usitatissimum* L.) mucilage. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 1994. – Vol. 42. – P. 240–247.
 11. Cui S.W. Polysaccharide gums from agricultural products: Processing, structures & functionality. – Technomic Publishing, Lancaster, 2001. – 269 p.
 12. Warrand J., Michaud P., Picton L., Muller G., Courtois B., Ralainirina R., Courtois J. Structural investigation of the neutral polysaccharide of *Linum usitatissimum* L. seed mucilage // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2005. – Vol. 35. – № 3–4. – P. 121–125.
 13. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Исследование процесса экстракции полисахаридов семян льна (*Linum usitatissimum* L.) // *Химия растительного сырья*. – 2007. – № 4. – С. 79–83.
 14. Duguid S.D. Flax / In: *Oil Crops, Handbook of Plant Breeding 4* / Ed. by J. Vollmann and I. Rajcan. – London-New York, Springer, 2009. – P. 233–255.
 15. Зеленцов С.В., Мошненко Е.В. Количественная и качественная оценка слизей семян масличных сортов льна *L. usitatissimum* L. // *Масличные культуры*. – 2012. – Вып. 2 (151–152). – С. 95–102.
 16. Почвенная микробиология. / Ed. by N. Walker. Butterworths, London & Boston, 1975. / Пер. с англ. В.В. Новикова; Под ред. Д.И. Никитина – М.: Колос, 1979. – 316 с.
 17. Mendes R., Garbeva P., Raaijmakers Jos M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2013. – Vol. 37, Issue 5. – P. 634–663.
 18. Larsen J., Jaramillo-López P., Nájera-Rincon M., González-Esquivel C.E. Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics // *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. – 2015. – Vol. 15. – Issue 2. – P. 449–463.
 19. Gerlach W., Nirenberg H. The genus *Fusarium*. A Pictorial Atlas – Berlin, 1982. – 407 p.
 20. Fracchia S., Garcia-Romera I., Godeas A., Ocampo J.A. Effect of the sapro-phytic fungus *Fusarium oxysporum* on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of plants in greenhouse and field trials // *Plant Soil*. – 2000. – Vol. 223. – P.175–184
 21. Yang X., Baskin C.C., Baskin J.M., Zhang W., Huang Z. Degradation of seed mucilage by soil microflora promotes early seedling growth of a desert sand dune plant // *Plant Cell and Environment*. – 2012. – Vol. 35. – P. 872–883.

Поступила в редакцию 10.11.19
 После доработки 04.12.19
 Принята к публикации 09.12.19