

Влияние микроорганизмов из многолетнемерзлых пород на морфофизиологические показатели яровой пшеницы

А.М. Субботин¹, М.В. Нарушко¹✉, Н.А. Боме², С.А. Петров¹, В.А. Мальчевский^{1, 2}, М.А. Габдуллин¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Тюмень, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный университет», Тюмень, Россия

Для повышения урожайности зерновых культур в условиях северных регионов ведется поиск биологически активных препаратов на основе высокоэффективных штаммов бактерий из рода *Bacillus*. На сегодняшний день существует ряд подобных биопрепаратов (Фитоспорин-М, Бактофит, Гамаир, Интеграл и др.), однако их эффективность в северных регионах может быть снижена, так как активность интродуцированных микроорганизмов связана с их приживаемостью в ризосфере и ризоплане. Описано влияние бактерий рода *Bacillus* из многолетнемерзлых пород на морфофизиологические показатели проростков мягкой яровой пшеницы сорта Иргина (энергию прорастания, лабораторную всхожесть семян, длину и сырую массу корней и побегов проростков), а также на длину coleoptilia и количество хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов в вытяжке пигментов растительного материала. Показано, что всхожесть и морфометрические показатели под влиянием штаммов рода *Bacillus* из многолетнемерзлых пород были значительно выше по сравнению с действующим штаммом биопрепарата «Фитоспорин-М». Очевидно, что бактерии рода *Bacillus* в процессе набухания семян (во время их предпосевной обработки) вместе с водой попадают в зерновку и достаточно активно начинают расщеплять запасные питательные вещества, делая их более доступными для усвоения проростком. Высказано предположение, что повышение морфофизиологических показателей яровой пшеницы сорта Иргина является также следствием стимуляции системы фотосинтеза и, соответственно, увеличения эффективности поглощения световой энергии. Учитывая особенность влияния различных штаммов бактерий, выделенных из многолетнемерзлых пород, на морфофизиологические и биохимические параметры растений, можно разработать на их основе биопрепараты направленного или комплексного действия, используя для этого комбинации штаммов.

Ключевые слова: бактерии; многолетнемерзлые породы; мягкая яровая пшеница сорта Иргина; морфометрия; спектрофотометрия; стимуляция фотосинтеза; скорость роста; биопрепараты.

Influence of permafrost microorganisms on morphophysiological indicators of spring wheat

A.M. Subbotin¹, M.V. Narushko¹✉, N.A. Bome², S.A. Petrov¹, V.A. Malchevskiy^{1, 2}, M.A. Gabdullin¹

¹ Tyumen Scientific Center, SB RAS, Tyumen, Russia

² Tyumen State University, Tyumen, Russia

Biologically active compounds on the basis of highly efficient strains of bacteria of the genus *Bacillus* are currently being sought for to increase the yield of grain crops in the North. There is a number of biological products available, including those based on bacteria in the genus *Bacillus* (Phytopsporin-M, Bactofit, Gamair, Integral, and other). However, the effectiveness of these drugs in the northern regions may be reduced, because the activity of introduced microorganisms depends on their adaptability in the rhizosphere and rhizoplane. This article describes the effect of bacteria of the genus *Bacillus* in permafrost on the morphological and physiological indicators of seedlings of soft spring wheat variety Irgina. These indicators are germination energy, laboratory seed germination, length and wet weight of roots and shoots of seedlings, as well as the length of coleoptile and number of chlorophylls *a*, *b* and carotenoid in the pigment extract from the plant material. It has been demonstrated that germination and morphometric parameters were significantly higher following exposure to *Bacillus* strains in permafrost than following treatment with the current strain of Phytopsporin-M. It is likely that in the process of swelling of seeds (during their preplant treatment) *Bacillus* bacteria reach the caryopsis with water and begin to cleave spare nutrients actively, making them easier accessible for assimilation by seedlings. It is proposed that the increase in morphophysiological indicators of spring wheat variety Irgina is also a consequence of stimulation of the photosynthesis system and, consequently, an increased efficiency of absorption of light energy. Considering how differently different strains of bacteria isolated from permafrost influence

the morphological and physiological and biochemical parameters of the plant, it appears that these strains or their combinations can be used for the development of biologics ensuring a comprehensive effect.

Key words: bacteria; permafrost; soft spring wheat variety Irgina; morphometry; spectrophotometry; stimulation of photosynthesis; growth rate; biologics.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Субботин А.М., Нарушко М.В., Боме Н.А., Петров С.А., Мальчевский В.А., Габдуллин М.А. Влияние микроорганизмов из многолетнемерзлых пород на морфофизиологические показатели яровой пшеницы. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(5):666-672. DOI 10.18699/VJ16.119

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Subbotin A.M., Narushko M.V., Bome N.A., Petrov S.A., Malchevskiy V.A., Gabdullin M.A. Influence of permafrost microorganisms on morphophysiological indicators of spring wheat. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(5):666-672. DOI 10.18699/VJ16.119

Один из основных способов повышения урожайности зерновых культур – использование минеральных удобрений и химических средств защиты растений. Однако чрезмерное их применение увеличивает опасность загрязнения окружающей среды. В связи с этим актуален поиск путей увеличения продуктивности и адаптационного потенциала растений в зонах рискованного земледелия и меняющихся климатических условий. Работы в этом направлении ведутся с помощью методов селекции, геномики и генетики (Генетические основы..., 2008; Костин, Ерофеева, 2010; Крупнов, 2011; Юдина и др., 2014).

Обозначенная проблема может быть решена и посредством применения биологически активных препаратов – как химических (Богданова и др., 2012) так и биологических, например с использованием высокоэффективных штаммов бактерий (Ляличкин, 2011). В настоящее время существует ряд биопрепаратов, в том числе на основе бактерий из рода *Bacillus* (Фитоспорин-М, Бактофит, Гамаир, Интеграл и др.), и идет поиск новых перспективных штаммов. Однако эффективность применения подобных препаратов в условиях северных регионов может снижаться, так как активность интродуцированных микроорганизмов (МО) связана с их приживаемостью в ризосфере и ризоплане (Сидоренко, Войно, 1999).

Выходом из данной проблемы может стать создание фитостимуляторов на основе бактерий, выделенных из многолетнемерзлых пород (ММП). Микроорганизмы, сохранившие жизнеспособность в течение длительного времени в условиях низких температур и замедленного метаболизма и вынужденные адаптироваться к неблагоприятным факторам среды, могут обладать высокой приспособляемостью к почвенно-климатическим условиям Западной Сибири. В то же время биологическое влияние бактерий из ММП как на растения, так и на другие современные организмы практически не изучено. Этот вопрос рассматривается лишь в отдельных работах (Калёнова и др., 2011; Brushkov et al., 2011; Субботин и др., 2011, 2012), свидетельствующих об изменении адаптивного потенциала лабораторных животных и гидробионтов.

Цель исследования – оценить влияние некоторых штаммов рода *Bacillus*, выделенных из ММП, на морфофизиологические параметры мягкой яровой пшеницы сорта Иргина.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование проведено в 2012 г. на семенах яровой мягкой пшеницы сорта Иргина (*Triticum aestivum* L.) тюменской репродукции 2011 г., районированного в Тюменской области. В работе использовали штаммы микроорганизмов рода *Bacillus*, выделенные из ММП и идентифицированные на основании анализа последовательностей 16S рРНК: В1М – *B. cereus*, В2Т – *B. megaterium*, В1СН – *Citrobacter youngae*, В2СН – *Serratia fonticola*. Полученные последовательности сравнивали с базой данных GenBank с помощью программы BLAST (Altschul et al., 1997). Редактирование последовательностей проводили при помощи программы BioEdit (Saitou, Nei, 1987; Tamura et al., 2007).

В качестве контроля сравнения использовали штамм *Bacillus subtilis* 26Д, выделенный из коммерческого бактериального препарата «Фитоспорин-М». Препарат «Фитоспорин-М» обогащен ионами металлов, микроэлементами и гуматами (Менликиев и др., 1996).

Культивирование штаммов бактерий осуществлялось по описанной ниже методике. Штаммы бактерий высевали в пять пробирок на скошенный питательный агар (ГРМ-агар, ГУ 9398-020-78095326-2006, г. Оболонск) и культивировали в термостате 24 ч при температуре 26 °С. Затем производили смыв микроорганизмов из каждой пробирки 5 мл дистиллированной воды. Концентрацию микроорганизмов устанавливали культуральным методом серийных разведений по количеству КОЕ на агаризованной питательной среде в чашках Петри (Герхард, 1984). После определения количества клеток бактерий в исходной суспензии плотность культур доводили до рабочей концентрации 1×10^7 микробных клеток в 1 мл дистиллированной воды (м.к./мл).

Семена пшеницы ($n = 100$) помещали в 50 мл бактериальной суспензии на 2 ч. Для увеличения адгезии МО в раствор для обработки семян добавляли сахарозу из расчета 50 г на 1 л дистиллированной воды. Посевы проводились в песок, двукратно прокаленный при 250 °С в течение 1 ч. В отдельные вегетационные сосуды объемом 0,5 л высевали по 25 семян и однократно поливали 50 мл бактериальной суспензии, повторность опыта четырехкратная. Семена проращивали в лабораторных условиях при температуре $22 \pm 1,5$ °С. На 3-и сутки эксперимента определяли энергию прорастания, на 7-е сутки – лабо-

рагаторную всхожесть семян, на 20-е сутки производили измерения показателей длины и сырой массы корней и побегов проростков, а также длины колеоптиля (Боме и др., 2007).

Количество хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом. Навеску растительного материала растирали с Na_2SO_4 и 96 % этиловым спиртом. Полученный гомогенат фильтровали и количественно переносили в мерную колбу. Для расчета концентраций хлорофиллов *a* и *b* и каротиноидов в вытяжке пигментов определяли ее оптическую плотность на спектрофотометре ПЭ-5400УФ при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения определяемых пигментов в данном растворителе: $\lambda = 662, 644$ и 440 нм. Контроль – чистый растворитель (96 % спирт), $l_{\text{кюв}} = 2$ см. Концентрацию пигментов в вытяжке рассчитывали по следующим формулам (Шульгин, Ничипорович, 1974): $C_a = 9,78D_{662} - 0,99D_{664}$, $C_b = 21,43D_{664} - 4,65D_{662}$, $C_k = 4,7D_{440} - (1,38D_{662} - 5,48D_{644})$, где D – оптическая плотность при данной длине волны, C – концентрация хлорофиллов *a* и *b* или каротиноидов.

Статистическая обработка полученных данных (среднее значение, дисперсия средних, параметрическое сравнение по *t*-критерию Стьюдента, частотный анализ) проводилась с помощью программы SPSS ver. 11.5 for Windows.

Результаты и обсуждение

Известно, что семенной материал должен полностью соответствовать ГОСТам в отношении не только сортовых, но и посевных качеств. Последние характеризуются такими важными показателями, как энергия прорастания и всхожесть. Семена с высокой энергией прорастания дают дружные и полноценные всходы, которые меньше угнетаются сорняками, более устойчивы к внешним неблагоприятным условиям. При плохой всхожести получают изреженные посевы, что в значительной мере влияет на величину урожая сельскохозяйственных культур (Асатурова и др., 2013).

Анализ семенного материала яровой пшеницы сорта Иргина при обработке штаммами микроорганизмов из ММП показал, что энергия прорастания и лабораторная всхожесть варьируют в зависимости от варианта опыта (табл. 1). Энергия прорастания в интактном контроле составила $29,00 \pm 4,54$ %, в варианте с препаратом «Фитоспорин-М» – $76,00 \pm 4,27$ %, со штаммом *B. subtilis* 26Д – $24,00 \pm 4,27$ %. При этом энергия прорастания в вариантах со штаммами В1М и В1СН была достоверно выше, чем в интактном контроле ($p < 0,05$), а также относительно контроля сравнения: В1СН ($p < 0,05$) и В1М ($p < 0,01$). Лабораторная всхожесть в интактном контроле составила $83,00 \pm 3,75$ %, в варианте с Фитоспорином-М – $97,00 \pm 1,70$ %, со штаммом *B. subtilis* 26Д – $52,00 \pm 5,09$ %.

В варианте со штаммом В1СН этот показатель был достоверно выше интактного контроля ($p < 0,05$) и имел максимальное значение среди всех опытных вариантов – $95,00 \pm 2,18$ %. Относительно контроля сравнения лабораторная всхожесть семян яровой пшеницы сорта Иргина во всех опытных вариантах была намного выше ($p < 0,01$). Отмечена значительная задержка прорастания

семян при обработке их штаммом *B. subtilis* 26Д, что нашло отражение в показателе всхожести ($p < 0,01$).

Поскольку в состав Фитоспорина-М, помимо бактерий штамма *B. subtilis* 26Д, входят дополнительные компоненты, можно предположить, что именно добавки в большей мере стимулируют ростовые процессы в семенах.

Таким образом, установлено, что штаммы В1СН и В1М оказали выраженный стимулирующий эффект на энергию прорастания семян растений. Штамм В1СН также существенно повышал всхожесть семян. Штамм *B. subtilis* 26Д не оказал явного влияния на посевные качества семенного материала.

При оценке влияния исследуемых штаммов бактерий на процесс роста и развития проростков были обнаружены следующие морфометрические изменения относительно интактного контроля: увеличение длины побега на величину до 19,2 %, длины корня – до 16,1 %, длины колеоптиля – до 25,3 % (табл. 2).

При оценке развития надземной части проростков отмечено максимальное увеличение длины побега среди изучаемых штаммов в варианте со штаммом В1М: на 19,2 % относительно интактного контроля и на 34,2 % относительно контроля сравнения. В вариантах со штаммами В2СН и В1СН величина данного показателя достоверно снизилась ($p < 0,05$). Для варианта В2Т достоверных различий не выявлено. При этом установлено достоверное снижение массы побега под влиянием штаммов В2СН, В1СН и В2Т относительно интактного контроля ($p < 0,01$) и контроля сравнения ($p < 0,01$). Снижение значений данного показателя относительно контроля сравнения наблюдалось и в остальных опытных вариантах ($p < 0,05$).

Другим показателем интенсивности роста и развития проростков являются длина и масса корней. В варианте, обработанном штаммом В1М, наблюдалось увеличение, а в варианте со штаммом В2СН, напротив, уменьшение длины корней относительно интактного контроля ($p < 0,01$). Следует отметить, что во всех опытных вариантах, за исключением В2СН, длина корней значительно возросла по отношению к контролю сравнения ($p < 0,01$). Масса корней во всех опытных вариантах значительно меньше, чем в интактном контроле ($p < 0,01$), однако относительно контроля сравнения в двух опытных вариантах данный показатель был достоверно выше ($p < 0,05$). В вариантах со штаммами В1СН и В2СН достоверных различий по отношению к контролю сравнения не обнаружено.

Известно, что при прорастании семян сначала на поверхности почвы в виде шильца появляется стеблевой побег. Он покрыт прозрачным листом (колеоптилем), который предохраняет стебель и первый лист от механических повреждений во время его роста в почве. Как только лист достигает нормального размера, колеоптиль отмирает. Учитывая, что длина колеоптиля является одним из важнейших признаков, от которого в значительной степени зависит полевая всхожесть семян, нами была произведена оценка влияния микроорганизмов из ММП на данный показатель. Установлено, что у проростков, обработанных штаммами В1СН, В2СН, длина колеоптиля достоверно увеличивается относительно интактного контроля ($p < 0,01$) и контроля сравнения ($p < 0,01$). В варианте

Таблица 1. Энергия прорастания и лабораторная всхожесть семян яровой пшеницы сорта Иргина, %

Вариант	Энергия прорастания	Лабораторная всхожесть
Интактный контроль	29,00 ± 4,54	83,00 ± 3,75 ^{##}
Фитоспорин-М	76,00 ± 4,27 ^{** ##}	97,00 ± 1,70 ^{* ##}
Контроль сравнения (<i>B. subtilis</i> 26Д)	24,00 ± 4,27	52,00 ± 5,09 [*]
V1M	61,00 ± 4,88 ^{* ##}	89,00 ± 3,13 ^{##}
V1CH	40,00 ± 4,90 ^{* #}	95,00 ± 2,18 ^{* ##}
V2T	33,00 ± 4,70	85,00 ± 3,57 ^{##}
V2CH	27,00 ± 4,44	85,00 ± 3,57 ^{##}

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ – достоверность различия опыта с интактным контролем; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$ – достоверность различия опыта с контролем сравнения.

Таблица 2. Влияние штаммов бактерий из ММП на морфометрические параметры проростков яровой пшеницы

Вариант	Побег		Корень		Длина колеоптиля, см
	Длина, см	Масса, г	Длина, см	Масса, г	
Интактный контроль	24,11 ± 1,04	0,135 ± 0,006	10,22 ± 0,30 ^{##}	0,158 ± 0,009 ^{##}	3,05 ± 0,10 ^{##}
Фитоспорин-М	32,16 ± 0,50 ^{** ##}	0,191 ± 0,008 ^{** #}	14,48 ± 0,20 ^{** ##}	0,065 ± 0,009 ^{**}	3,49 ± 0,11 ^{* ##}
Контроль сравнения (<i>B. subtilis</i> 26Д)	21,41 ± 2,46	0,152 ± 0,011	4,44 ± 0,20 ^{**}	0,078 ± 0,013 ^{**}	1,66 ± 0,11 ^{**}
V1M	28,74 ± 0,56 ^{** #}	0,123 ± 0,005 [#]	11,86 ± 0,16 ^{** ##}	0,103 ± 0,004 ^{** #}	3,09 ± 0,09 ^{##}
V1CH	22,20 ± 0,33 [*]	0,109 ± 0,004 ^{** ##}	9,90 ± 0,31 ^{##}	0,088 ± 0,004 ^{**}	3,82 ± 0,05 ^{** ##}
V2T	24,35 ± 0,53	0,123 ± 0,003 ^{** ##}	9,48 ± 0,28 ^{##}	0,119 ± 0,003 ^{** #}	2,70 ± 0,05 ^{* ##}
V2CH	20,82 ± 0,43 [*]	0,101 ± 0,003 ^{** ##}	4,83 ± 0,20 ^{**}	0,095 ± 0,023 ^{**}	3,80 ± 0,04 ^{** ##}

со штаммом V2T этот показатель снижается ($p < 0,05$), а в варианте со штаммом V1M достоверных отличий выявлено не было. В опыте с Фитоспорином-М отмечалось достоверное увеличение всех морфометрических показателей по сравнению с контрольными значениями, кроме массы корней. Данный показатель оказался ниже значения интактного контроля на 58,9 %. Достоверных различий по массе корней относительно контроля сравнения не выявлено.

Таким образом, нами установлено, что штамм V1M оказывает значимое положительное влияние на морфометрические показатели проростков яровой пшеницы. При обработке семян препаратом «Фитоспорин-М», содержащим штамм *B. subtilis* 26Д, наблюдалось повышение всех исследуемых показателей относительно контрольных случаев, за исключением массы корней – этот показатель был снижен по сравнению с интактным контролем ($p < 0,01$). Однако полученные данные позволяют констатировать, что сам по себе штамм *B. subtilis* 26Д не только не оказывает значимого стимулирующего влияния на рост и развитие проростков яровой пшеницы, но и по ряду морфометрических показателей вызывает задержку развития корневой системы и интенсивности прорастания семян.

Решающую роль в процессе фотосинтеза и в конечном итоге в продуктивности растений в целом играют

пигменты – хлорофиллы *a* и *b*, каротиноиды (Каташов, 2014). В ходе опыта установлено, что замачивание семян в бактериальной суспензии перед их посевом приводило к изменению содержания пигментов в проростках пшеницы. Из результатов, представленных в табл. 3, видно, что между опытными штаммами отмечаются достоверные различия по содержанию хлорофиллов *a* и *b*.

При обработке растений штаммом V2CH содержание хлорофилла *a* повышалось на 4,2 % по сравнению с интактным контролем и на 43,2 % относительно контроля сравнения. Под влиянием штамма V1CH наблюдалось снижение содержания пигмента по отношению к контролю. В варианте со штаммом V1M концентрация хлорофилла *a* снижалась на 5,7 % относительно интактного контроля, однако была выше на 30,7 % относительно контроля сравнения. Между вариантом V2T и интактным контролем достоверных различий по содержанию пигмента выявлено не было, но относительно контроля сравнения концентрация хлорофилла *a* повышалась на 36,6 %. При этом установлено, что препарат «Фитоспорин-М» не оказывает влияния на содержание хлорофиллов *a* и *b*, а при обработке штаммом *B. subtilis* 26Д их концентрация снижается относительно интактного контроля ($p < 0,01$).

Содержание хлорофилла *b* было увеличено относительно контролей во всех случаях использования штаммов МО из ММП ($p < 0,01$). Максимальное значение наблюдалось

Таблица 3. Содержание пигментов фотосинтеза в проростках пшеницы (мг/г сырого веса)

Вариант	Хлорофиллы		Сумма хлорофиллов	Каротиноиды	Отношения	
	<i>a</i>	<i>b</i>			<i>a/b</i>	(<i>a + b</i>)/ каротиноиды
Интактный контроль	0,944 ± 0,003 ^{##}	0,827 ± 0,018 ^{##}	1,771 ± 0,011 ^{##}	0,659 ± 0,005	1,142	2,686 ^{##}
Фитоспорин-М	0,939 ± 0,003 ^{##}	0,862 ± 0,016 ^{##}	1,801 ± 0,009 ^{* ##}	0,662 ± 0,004	1,090	2,719 ^{##}
Контроль сравнения (<i>B. subtilis</i> 26Д)	0,687 ± 0,002 ^{**}	0,627 ± 0,004 ^{**}	1,308 ± 0,003 ^{**}	0,661 ± 0,002	1,087	1,98 ^{**}
V1M	0,891 ± 0,002 ^{** ##}	1,001 ± 0,005 ^{** ##}	1,899 ± 0,004 ^{** ##}	0,681 ± 0,001 ^{** #}	0,883 ^{* #}	2,79 ^{* ##}
V1CH	0,670 ± 0,001 ^{** #}	0,948 ± 0,002 ^{** ##}	1,618 ± 0,001 ^{** ##}	0,565 ± 0,001 ^{** ##}	0,707 ^{* #}	2,866 ^{* ##}
V2T	0,931 ± 0,001 ^{##}	1,118 ± 0,002 ^{** ##}	2,049 ± 0,001 ^{** ##}	0,728 ± 0,001 ^{** ##}	0,833 ^{* #}	2,815 ^{* ##}
V2CH	0,983 ± 0,001 ^{* ##}	1,816 ± 0,003 ^{** ##}	2,799 ± 0,002 ^{** ##}	0,935 ± 0,001 ^{** ##}	0,542 ^{** ##}	2,994 ^{* ##}

в варианте со штаммом V2CH – содержание хлорофилла *b* превысило уровень интактного контроля в 2,2 раза, а уровень контроля сравнения почти в 3 раза. Полученные данные могут свидетельствовать об активации системы фотосинтеза под влиянием штаммов МО из ММП, в то время как в варианте со штаммом *B. subtilis* 26Д этот показатель достоверно снижен ($p < 0,01$) относительно интактного контроля.

Как известно, в пигмент-белковые комплексы реакционных центров входит хлорофилл *a*, а в светособирающий комплекс – хлорофиллы *a* и *b*. При этом содержание хлорофилла *a* в светособирающем комплексе превышает содержание хлорофилла *b* (Lichtenthaler, 1987; Рубин и др., 1988). Постольку хлорофилл *b* практически полностью содержится в светособирающем комплексе, увеличение хлорофилла *a* приводит не только к изменению соотношения *a/b*, но и к относительному увеличению количества реакционных центров и уменьшению относительного числа светособирающих комплексов.

В ходе эксперимента установлено, что отношение хлорофиллов *a/b* в вариантах с использованием микроорганизмов из ММП достоверно снижалось относительно интактного контроля и контроля сравнения ($p < 0,05$) за счет значительного увеличения содержания хлорофилла *b*. Особенно это заметно в варианте с обработкой семян штаммом V2CH, где, как говорилось выше, содержание хлорофилла *b* превышает значения в интактном контроле в 2,2 раза, а в контроле сравнения в 2,9 раза. В случае применения Фитоспорина-М достоверных отличий от контролей не обнаружено. При этом общее содержание хлорофиллов возрастало во всех опытных вариантах, за исключением V1CH.

Другим компонентом пигментной системы являются каротиноиды. Они переносят электроны в возбужденном состоянии к фотохимическим реакционным центрам, поглощая свет в той области спектра, в которой не способен поглощать хлорофилл (Зотикова и др., 2001; MacFarlena, 2002), и защищают пигменты и ненасыщенные жирные кислоты липидов от окислительного повреждения, устраняя избыток активных форм кислорода (Lai, McKersie, 1993; Седых, Игнатъев, 2001). Увеличенное относительно хлорофиллов содержание каротиноидов может свиде-

тельствовать о повышении уровня стрессоустойчивости растений.

В данном исследовании установлено, что количественное содержание каротиноидов в проростках семян, обработанных штаммами МО ММП (за исключением штамма V1CH), увеличено относительно интактного контроля, контроля сравнения, а также случая с препаратом «Фитоспорин-М» ($p < 0,01$ в вариантах V2CH и V2T; $p < 0,01$ в варианте V1M). После обработки семян штаммом V1CH содержание каротиноидов в проростках снижается на 14,4 % относительно интактного контроля и на 14,7 % относительно контроля сравнения.

Еще один показатель, характеризующий процесс фотосинтеза, – это соотношение суммы хлорофиллов (*a + b*) и каротиноидов. Во всех опытных вариантах наблюдалось достоверное увеличение этого отношения относительно интактного контроля ($p < 0,05$), относительно контроля сравнения этот показатель был выше приблизительно в 1,5 раза.

Таким образом, в опытных вариантах V1M, V2T и V2CH отмечено повышение общего содержания хлорофиллов и каротиноидов и увеличение отношения суммы хлорофиллов к каротиноидам.

Полученные результаты свидетельствуют об общей активации фотосинтетической системы и защитных функций растений при предпосевной обработке семян пшеницы штаммами бактерий рода *Bacillus*, выделенными нами из ММП, что, очевидно, имеет существенное положительное значение на ранних этапах их развития.

Заключение

Обобщая результаты эксперимента, можно заключить, что различные штаммы *Bacillus* из ММП по-разному воздействуют на биологические свойства семян, рост и развитие проростков пшеницы. Наиболее существенное влияние на исследованные параметры растений оказывает штамм V1M. Он оказал положительное влияние на 9 из 13 анализируемых показателей, в том числе на энергию прорастания и всхожесть семян, фотосинтетическую систему растений и их защитные функции. Далее, в порядке убывания влияния на количество показателей морфофизиологических параметров растений, следуют штаммы

В2СН, В1СН и В2Т. Штамм В2СН положительно воздействует на рост coleoptily и содержание каротиноидов, что может способствовать увеличению защитных функций растительного организма. При этом штамм В2СН в основном оказывает положительное влияние на систему фотосинтеза, в наименьшей степени затрагивая защитные функции растений. Штамм В1СН в большей степени влияет на всхожесть и энергию прорастания семян, не оказывая выраженного влияния на фотосинтетический аппарат растений. Необходимо отметить, что, за исключением штамма В1СН, все остальные исследованные штаммы бактерий, выделенных из ММП, при обработке ими посевного материала приводят к активации системы фотосинтеза растений. Стимуляция этой системы, в свою очередь, ведет к большей эффективности поглощения световой энергии в лабораторных условиях и, как следствие, способствует повышению продуктивности растений.

Вероятно, различия между исследуемыми штаммами по воздействию на морфофизиологические параметры растений объясняются разными механизмами действия этих штаммов. Можно предположить, что бактерии, выделенные из многолетнемерзлых пород, в процессе набухания семян во время их предпосевной обработки вместе с водой попадают в зерновку и достаточно активно начинают расщеплять запасные питательные вещества, делая их более доступными для усвоения проростком. Очевидно, это может оказывать прямое влияние на энергию прорастания и всхожесть, что и наблюдается при использовании штаммов В1М и В1СН. Повышение биодоступности запасных питательных веществ в последующем развитии растения может обуславливать более высокую скорость роста побега и coleoptily.

Известно, что почвенные микроорганизмы способны синтезировать очень большое количество различных биологически активных веществ, в том числе цитокининов, гиббереллинов, микробных фитогормонов (Merriman et al., 1974; Green, 1980; Holland, 1997; Joo et al., 2004). Вполне ожидаемо, что бактерии-продуценты подобных веществ могут оказывать влияние как на морфофизиологические, так и на биохимические показатели растений, в том числе на активацию системы фотосинтеза и повышение защитных функций за счет увеличения выработки каротиноидов, азотистых, диеновых конъюгатов. Не исключено, что отобранные нами штаммы бактерий оказывают влияние на концентрацию этих веществ у растений, что предполагается исследовать при продолжении данной работы. Учитывая особенности влияния выделенных из ММП штаммов бактерий на морфофизиологические и биохимические параметры растений, возможно разработать на их основе биопрепараты направленного или комплексного действия, используя для этого комбинации штаммов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Асатурова А.М., Надькта В.Д., Исмаилов В.Я., Дубяга В.М., Томашевич Н.С., Жарникова М.Д., Жевнова Н.А., Хомяк А.И. Изучение влияния бактериализации семян на рост и развитие озимой

пшеницы. Политемат. сетевой электрон. науч. журн. Кубан. гос. аграр. ун-та. 2013;85:43-56.

Богданова Е.Д., Левитес Е.В., Махмудова К.Х. Маркерные признаки изменчивости, индуцированной никотиновой кислотой, у *Triticum aestivum* L. Генетика. 2009;45(3):354-359.

Боме Н.А., Белозерова А.А., Боме А.Я. Биологические свойства семян и фенотипический анализ культурных растений: учебно-методическое пособие. Тюмень, 2007.

Генетические основы селекции растений. В 4 т. Т. 1. Общая генетика растений. Науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. Минск: Белорус. наука, 2008.

Герхардт Ф. Методы общей бактериологии. Т. 3. М.: Мир, 1984.

Зотикова А.П., Воробьева Н.А., Соболевская Ю.С. Динамика содержания и роль каротиноидов хвои кедрового в высокогорье. Вестн. Башк. ун-та. 2001;2:67-69.

Калёнова Л.Ф., Суховой Ю.Г., Брушков А.В., Мельников В.П., Фишер Т.А., Беседин И.М., Новикова М.А., Ефимова Ю.А., Субботин А.М. Влияние микроорганизмов вечной мерзлоты на морфофункциональную активность иммунной системы в эксперименте. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2011;151(2): 164-167.

Каташов Д.А., Хрянин В.Н. Влияние фитогормонов и селената натрия на содержание пигментов и продуктивность растений рапса сорта «Ратник» (*Brassica napus*). Изв. вузов. Поволж. регион. Естеств. науки. 2014;1(5):25-34.

Костин В.И., Ерофеева Е.Н. Адаптация популяции озимой пшеницы к абиотическим факторам среды в осенне-зимне-весенний период под действием природных регуляторов роста. Вестн. Алт. гос. аграр. ун-та. 2010;6(68):9-13.

Крупнов В.А. Засуха и селекция пшеницы: системный подход. Сельскохозяйственная биология. 2011;1:12-23.

Ляличкин О.А. Влияние биопрепаратов и удобрений на урожайность и качество зерна ячменя. Достижения науки и техники АПК. 2011;8:29-31.

Менликиев М.Я., Недорезков В.Д., Ваньянц Г.М., Минеев М.И. Фитоспорин. Уфа: ГУП «Иммунопрепарат», 1996.

Рубин А.Б., Венедиктов П.С., Кренделева Т.Е., Пашенко В.З. Регуляция первичных стадий фотосинтеза при изменении физиологического состояния растений. Фотосинтез и продукционный процесс: Сб. статей междунар. науч.-практ. конф. М., 1988; 29-39.

Седых В.Н., Игнатьев Л.А. Реакция культур кедрового и пихты на воздействие отходов бурения нефтяных скважин. Дальние последствия. Сиб. экол. журн. 2001;3:355-360.

Сидоренко О.Д., Войно Л.И. Использование микроорганизмов ризосферы в качестве перспективного биопрепарата для возделывания сельскохозяйственных культур. Вестн. ТГУ. 1999;4(1): 87-91.

Субботин А.М., Гнатченко Л.Н., Петухова Г.А. Исследование физиологических параметров культуры инфузорий *Paramecium caudatum* при воздействии фильтратов бактериальной культуры рода *Acinetobacter*. Вестн. Оренб. гос. ун-та. 2011;12:149-150.

Субботин А.М., Калёнова Л.Ф., Бажин А.С. Влияние некоторых штаммов бактерий, выделенных из многолетнемерзлых пород, на иммунофизиологические показатели мышей. Вестн. Урал. мед. акад. науки. 2012;4:164.

Шульгин И.А., Ничипорович А.А. Расчет содержания пигментов с помощью номограмм. Хлорофилл. Сб. статей междунар. науч.-практ. конф. Минск, 1974;127-136.

Юдина Р.С., Леонова И.Н., Салина Е.А., Хлесткина Е.К. Влияние чужеродных интрогрессий в геноме пшеницы на ее устойчивость к осмотическому стрессу. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2014;18(4/1):643-649.

Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res. 1997;25(17):3389-3402.

- Brouchkov A.V., Melnikov V.P., Sukhovei Yu.G., Griva G.I., Repin V.E., Kalenova L.F., Brenner E.V., Subbotin A.M., Trofimova Y.B., Tanaka M., Katayama T., Utsumi M. Relict microorganisms of cryolithozone as possible objects of gerontology. *Advances Gerontol.* 2011;1(1):39-44.
- Green E. Cytokinin production by microorganisms. *Bot. Rev.* 1980; 46(1):25-74.
- Holland M.A. Are cytokinins produced by plant? *Plant Physiol.* 1997;115:865-868.
- Joo G.J., Kim Y.M., Lee I.J., Song K.-S., Rhee I.-K. Growth promotion of red pepper plug seedlings and the production of gibberellins by *Bacillus cereus*, *Bacillus macroides* and *Bacillus pumilis*. *Biotechnol. Lett.* 2004;26(6):487-491.
- Lai F.-M., McKersie B.D. Effect of nutrition of maturation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) somatic embryos. *Plant Science.* 1993; 91(1):87-95.
- Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymolog.* 1987;148: 350-382.
- MacFarlena G.R. Leaf biochemical parameters in *Avicennia marina* (Forsk) Vierh as potential biomarkers of heavy metal stress in estuarine ecosystems. *Mar. Pollut. Bull.* 2002;3:244-256.
- Merriman P.R., Price R.D., Kollmorgen J.F., Piggot T., Ridge E.H. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. *Austral. J. Agr. Res.* 1974;25(2):219-226.
- Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evolution.* 1987;4(4): 406-425.
- Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evolution.* 2007;24:1596-1599.