10.28983/asj.y2020i11pp67-70 "PLAMIC2020" УДК 57.042

ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ БАКТЕРИЙ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ ФИТОГОРМОНЫ, И ГЕРБИЦИДА «ЧИСТАЛАН» НА ФИЗИОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

ФЕОКТИСТОВА Арина Владимировна, *Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук*

ТИМЕРГАЛИН Максим Данилович, *Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук*

РАМЕЕВ Тимур Вилевич, *Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук*

ЧЕТВЕРИКОВ Сергей Павлович, *Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук*

В работе представлены результаты влияния обработки растений пшеницы бактериями, продуцирующими фитогормоны и устойчивыми к гербицидам, на физиолого-морфологические параметры культуры при одновременном воздействии гербицидом «Чисталан». Штаммы бактерий Pseudomonas sp. ДА1.2 и P. koreensis ИБ-4 предотвращали подавление роста растений пшеницы, вызывали перераспределение ауксинов в пользу побега и снижение содержания АБК в корнях на фоне действия гербицида «Чисталан». Бактерии оказывали положительное влияние на фотосинтетический аппарат и снижали развитие окислительного стресса, вызванного гербицидом. Показано нивелирование гербицидного стресса под действием бактерий.

Введение. Использование гербицидов для борьбы с сорной растительностью является неотъемлемой частью современной системы интенсивного ведения сельского хозяйства. При этом гербициды помимо загрязнения почвенных ресурсов часто оказывают негативное воздействие на сельскохозяйственные культуры, изменяя их физиологическое состояние, вызывая гербицидный стресс. На биохимическом и физиологическом уровнях гербицидный стресс проявляется в изменении баланса фитогормонов и в подавлении фотосинтетических процессов [1].

В совокупности с другими неблагоприятными факторами окружающей среды это приводит к снижению урожайности до 50 % [1, 3]. Хорошие результаты дает применение гербицидов совместно с антистрессовыми регуляторами роста [3, 5]. В качестве наиболее перспективных могут быть использованы ризосферные бактерии, стимулирующие рост растений (PGPB – Plant Growth Promoting Bacteria). Их применение позволяет нивелировать последствия гербицидного стресса и способствует повышению урожайности [5]. Положительное воздействие бактерий объясняется их способностью к активному синтезу фитогормонов (ауксинов и др.) [10].

Цель исследования состояла в оценке влияния перспективного ауксинпродуцирующего штамма бактерий на рост, гормональный статус и показатели стресса растений пшеницы (общее содержание хлорофилла, антоцианов и уровень накопления МДА) на фоне действия гербицида «Чисталан».

Методика исследований. Объектом исследования были растения мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Кинельская юбилейная. В работе использовали ауксинпродуцирующий штамм бактерий *Pseudomonas sp.* ДА1.2, устойчивый к рабочим концентрациям гербицидов, применяемых для обработки пшеницы («Октапон», «Флоракс», «Чисталан» и «Наномет»), без потери жизнеспособности [4]. Действие нового изолята сравнивали с *Pseudomonas koreensis* ИБ-4 (основа коммерческого биопрепарата «Азолен»), который является продуцентом ауксинов и цитокининов [2]. Оба штамма хранятся в коллекции микроорганизмов УИБ УФИЦ РАН.

В качестве гербицида использовали комплексный препарат избирательного действия (против двудольных) на основе ауксинподобных действующих веществ 2,4-Д (2-этилгексиловый эфир)

и дикамбы (натриевая соль) – «Чисталан Экстра» (производитель ООО «АХК-АГРО»).

Семена пшеницы, стерилизованные в течение 20 мин раствором перманганата калия, проращивали в течение 3 суток. Проростки высаживали в сосуды объемом 0,5 л, заполненные почвой с 10%-м содержанием песка. Растения выращивали на светоплощадке при плотности потока фотонов ФАР 190 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$ при 14-часовом фотопериоде и температуре 22–26 °С. Влажность почвы поддерживали на уровне 60–80 % от полной влагоемкости.

Через 7 дней после проращивания семян растения опрыскивали 1 мл водного раствора препарата «Чисталан» (рабочая концентрация гербицида с учетом норм внесения согласно регламенту применения препарата составила 0,5 мл/л). В баковую смесь гербицида вносили суспензию бактерий, выращенных в жидкой питательной среде Кинг Б, доведенных до титра 10^8 КОЕ/мл.

Через сутки после обработки растений определяли уровень содержания фитогормона ИУК, на 3-и сутки – абсцизовой кислоты (АБК). Определение содержания гормонов проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Побеги и корни гомогенизировали и экстрагировали 80%-м этиловым спиртом. Спиртовой экстракт упаривали до водного остатка, после центрифугирования последнего отбирали аликвоты супернатанта для анализа. Очистку и концентрирование АБК и ИУК проводили по модифицированной схеме с уменьшением объема [15]. Твердофазный ИФА проводили согласно описанию [11].

На 3-й день после обработки растений определяли суммарное содержание хлорофилла *a* и *b* и антоцианов в листьях. Для определения пигментов использовали анализатор параметров биологических объектов растительного происхождения модели DUALEX SCIENTIFIC+ (Forse-A, Франция). На 4-й день определяли содержание МДА в листьях по методу Costa [7]. Метод основан на образовании окрашенного комплекса между МДА и тиобарбитуровой кислотой при нагревании. Массу растений определяли через 14 дней после обработок.

Результаты исследований. Обработка растений гербицидом «Чисталан» приводила к снижению массы побега. При этом добавление в баковую смесь гербицида бактериальных препаратов привело к увеличению массы побега относительно контроля (рис. 1). Во всех вариантах обработки наблюдали накопление массы корня, таким образом проявлялся эффект действия гербицидов и ауксинпродуцирующих бактерий.

Через сутки после воздействия мы обнаружили более высокое содержание ИУК в побеге

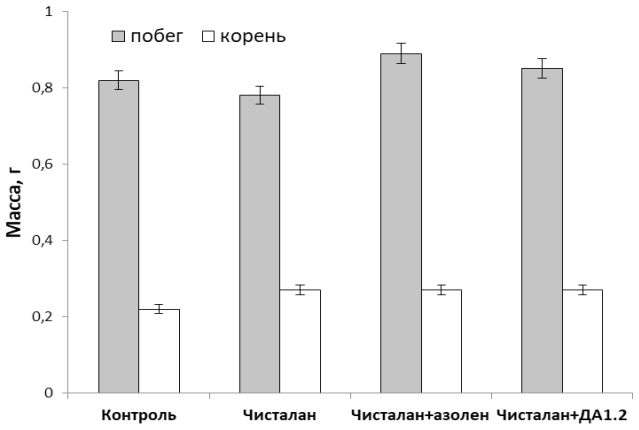

Рис. 1. Масса побега и корня растений пшеницы в вариантах без обработки, с обработкой гербицидом «Чисталан» и его баковой смесью с бактериями. Указаны ошибки среднего; n = 6

и корне растений пшеницы во всех вариантах по сравнению с контролем (рис. 2). Накопление ИУК могло быть связано с действием 2,4-Д в составе гербицида «Чисталан» на метаболизм ауксинов [13].

Следует отметить, что внесение бактерий приводило к перераспределению ауксинов из корня в побег. Таким образом, можно предположить, что накопление сырой массы растениями пшеницы при одновременной обработке «Чисталаном» и бактериями связано с перераспределением ИУК.

В условиях стресса накопление АБК в растениях является адаптивной реакцией. Кроме того, действие гербицидов на основе 2,4-Д связано с его способностью стимулировать накопление АБК [8]. Обработка гербицидом приводила к двукратному увеличению содержания абсцизовой кислоты в корнях, уровень которой при добавлении бактерий снижался (рис. 3). Причиной накопления абсцизовой кислоты могло быть повышение в корнях уровня ауксинов, так как они способствуют активации синтеза АБК [14].

Под действием «Чисталана» в листьях растений снижалось суммарное содержание хлорофилла, и накапливались антоцианы (см. таблицу). Анто-

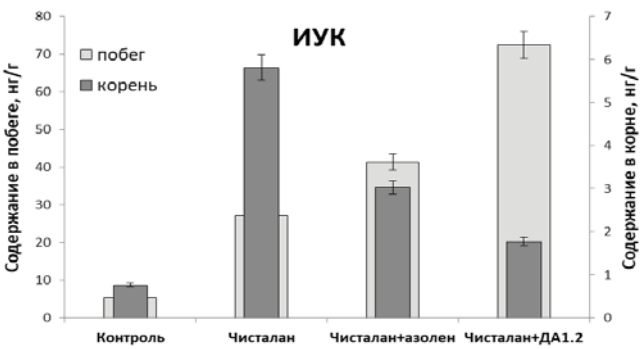

Рис. 2. Содержание ИУК в побегах и корнях растений пшеницы в вариантах без обработки, с обработкой гербицидом «Чисталан» и его баковой смесью с бактериями. Указаны ошибки среднего; n = 6

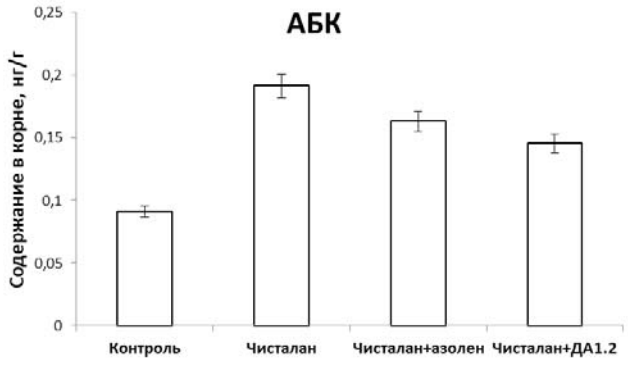

Рис. 3. Содержание АБК в корнях растений пшеницы в вариантах без обработки, с обработкой гербицидом «Чисталан» и его баковой смесью с бактериями. Указаны ошибки среднего; n = 6

цианы выполняют фотопротекторные и антиокислительные функции, накапливаются под влиянием стрессовых факторов окружающей среды [9].

Также важным показателем наличия стресса у растений является изменение уровня содержания малонового диальдегида (МДА), являющегося продуктом перекисного окисления липидов [6]. Увеличение содержания МДА при обработке гербицидом свидетельствует о повреждении клеточных мембран в результате окислительного стресса [12].

Инокуляция бактериальными препаратами приводила к повышению суммарного содержания хлорофилла, снижению уровня антоцианов и МДА на фоне действия гербицидного стресса.

Заключение. В наших экспериментах ауксинпродуцирующие штаммы бактерий *Pseudomonas sp*. ДА1.2 и *P. koreensis* ИБ-4 предотвращали подавление роста растений, вызывали перераспределение ауксинов между побегом и корнем и снижение содержания АБК в корнях растений пшеницы на фоне действия гербицида «Чисталан».

Бактерии оказывали положительное влияние на фотосинтетический аппарат, что выражалось в увеличении суммарного содержание хлорофилла *a* и *b* и уменьшении накопления антоцианов.

Действие бактериальных препаратов снижало развитие окислительного стресса, вызванного гербицидом, в результате чего снижалось содержание МДА.

Таким образом, рассмотренные штаммы ауксинпродуцирующих бактерий проявляли свойства антидотов гербицида «Чисталан» и при совместном использовании снижали его негативное воздействие на растения пшеницы.

Исследование выполнено в рамках ГЗ Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А19-119021390081-1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Злотников А.К., Злотников К.М.* Борьба с пестицидным стрессом – важный резерв повышения продуктивности пшеницы // Земледелие. – 2009. – № 4. – С. 30–31.

2. Новый штамм бактерий Pseudomonas koreensis ИБ-4 как перспективный агент биологического контроля фитопатогенов / Г.Ф. Рафикова [и др.] // Микробиология. – 2016. – Т. 85. – № 3. – С. 317–326.

3. Роль полифункциональных регуляторов роста растений в преодолении гербицидного стресса / М.М. Наумов [и др.] // Агрохимия. – 2019. – Т. 5. – С. 21–28.

4. *Четвериков С.П.* Отбор антистрессовых бактериальных агентов для защиты сельскохозяйственных растений // Естественные и технические науки. – 2019. – № 11 (137). – С. 81–84.

5. *Ahemad M., Khan M.S.* Ameliorative effects of Mesorhizobium sp. MRC4 on chickpea yield and yield components under different doses of herbicide stress // Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010, No. 98, P. 183–190.

6. *Buege J.A., Aust S.D.* Microsomal Lipid Peroxidation // Methods in Enzymology, 1978, Vol. 52, P. 302–310.

7. *Costa H., Gallego S.M., Tomaro M.L.* Effect of UV-B Radiation on Antioxidant Defense System in Sunflower Cotyledons // Plant Science, 2002, Vol. 162, P. 939–945.

8. *Christoffoleti P.J., Figueiredo M.R.A, Peres L.E.P., Nissen S., Gaines T.* Auxinic herbicides, mechanisms of action, and weed resistance: A look into recent plant science advances // Scientia Agricola, 2015, Vol. 72, P. 356–362.

9. *Chalker-Scott L.* Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses // Photochem. Photobiol., 1999, Vol. 70, P. 1–9.

10. *Dodd I.C., Zinovkina N.Y., Safronova V.I., Belimov A.A.* Rhizobacterial mediation of plant hormone status // Ann. Appl. Biol., 2010, Vol. 157, P. 361–379.

11. Effect of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria on mobility of soil phosphorus, growth rate, and P acquisition by wheat plants / *G.R. Kudoyarova et al.* // Acta Physiologiae Plantarum, 2017, No. 39, P. 253.

Суммарное содержание хлорофилла и антоцианов (*n* = 50), содержание малонового диальдегида (*n* = 3) в листьях растений пшеницы по вариантам (указаны ошибки среднего)

Вариант	Суммарное содержание, мг/см^2		Содержание МДА, 10^{-5} нмоль/г
	хлорофилл *a* и *b*	антоцианы	
Контроль	20,45±0,74	0,16±0,01	6,43±0,31
«Чисталан»	13,48±0,82	0,19±0,01	8,52±0,11
«Чисталан» + «Азолен»	16,96±0,91	0,15±0,01	7,20±0,26
«Чисталан» + ДА1,2	18,06±0,84	0,16±0,01	7,05±0,39

12. *Posmyk M.M., Bailly C., Szafranska K.* Antioxidant enzymes and isoflavonoids in chilled soybean (Glycine max (L.) Merr.) seedlings // J. Plant Physiol., 2005, Vol. 162 (4), P. 403–412.

13. *Sung Z.R.* Relationship of indole-3-acetic acid and tryptophan concentrations in normal and 5-methyltryptophan-resistant cell lines of wild carrots // Planta, 1979, No. 145 (4), P. 339–345.

14. *Shuai H., Meng Y., Luo X. et al.* Exogenous auxin represses soybean seed germination through decreasing the gibberellin/abscisic acid (GA/ABA) ratio // Sci Rep., 2017, Vol. 7 (1), P. 12620.

15. *Veselov S. U. Kudoyarova G.R., Egutkin N.L., Guili-Zade V.Z., Mustafina A.R., Kof E.M.* Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole 3-acetic acid // Physiologia Plantarum, 1992, Vol. 86, P. 93–96.

Феоктистова Арина Владимировна, *канд. биол. наук, научный сотрудник, Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук. Россия.*

Тимергалин Максим Данилович, *канд. биол. наук, научный сотрудник, Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук. Россия.*

Рамеев Тимур Вилевич, *младший научный сотрудник, Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук. Россия.*

Четвериков Сергей Павлович, *д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук. Россия.*

450054, г. Уфа, просп. Октября, 69.

Тел.: (347) 235-53-62.

Ключевые слова: *гормоны растений; хлорофилл; антоцианы; малоновый диальдегид; гербицидный стресс; пшеница; ризосферные бактерии.*

EFFECT OF THE COMBINED USE OF PHYTOHORMONE-PRODUCING BACTERIA AND CHISTALAN HERBICIDE ON THE PHYSIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF WHEAT PLANTS

Feoktistova Arina Vladimirovna, *Candidate of Biological Sciences, Researcher, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa Institute of biology, Russia.*

Timergalin Maxim Danilovich, *Candidate of Biological Sciences, Researcher, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa Institute of biology, Russia.*

Rameev Timur Vilevich, *Junior Researcher, Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa Institute of biology, Russia.*

Chetverikov Sergei Pavlovich, *Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Ufa Fed-eral Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa Institute of biology, Russia.*

Keywords: *plant hormones; chlorophyll; anthocyanins; malondialdehyde; herbicide stress; wheat; rhizospheric bacteria.*

Results of the treatment with bacteria producing phytohormones, and herbicide-tolerant on physiological and morphological parameters of wheat plants with simultaneous exposure to Chistalan herbicide are presented. Strains of Pseudomonas sp. DA1.2 and P. koraiensis IB-4 prevented the suppression of plant growth, caused the redistribution of auxins between in favor of escape and a decrease in the content of ABA in the roots of wheat plants against the action of the herbicide Chistalan. The bacteria had a positive effect on the photosynthetic apparatus and reduced the development of oxidative stress caused by the herbicide. It is shown that herbicide stress is reduced under the influence of bacteria.