

УДК 631.811;631.417.1

ПОЧВЕННЫЕ ДРОЖЖИ И ИХ РОЛЬ В ПРОРАСТАНИИ СЕМЯН

© 2017 г. Г. Н. Федотов*, С. А. Шоба, М. Ф. Федотова, А. Л. Степанов, Р. А. Стрелецкий

МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы

*e-mail: gennadiy.fedotov@gmail.com

Поступила в редакцию 12.05.2016 г.

Работа проводилась с коллекцией почвенных дрожжей, выделенных из разных типов почв европейской части России (дерново-подзолистой, серой лесной, чернозема). Установлено, что почвенные дрожжи ускоряют развитие семян распространенных сельскохозяйственных культур (пшеницы, ячменя, ржи). Показано, что культуры дрожжей разной таксономической принадлежности (представители родов *Rhodotorula*, *Cystofilobasidium*, *Sporobolomyces*, *Metschnikowia*, *Saccharomyces*, *Aureobasidium*, *Debaryomyces*, *Cryptococcus*) оказывают стимулирующее влияние на прорастание семян. Механизм действия почвенных дрожжей (и препаратов, созданных на их основе) на процесс прорастания семян определяется их проникновением в семенной эндосперм (эндофитная микрофлора) с последующим выделением амилолитических ферментов и физиологически-активных веществ, что стимулирует процесс прорастания семян. Показано, что способ обработки семян препаратами оказывает большое влияние на направленность действия этих препаратов — при замачивании семян в растворах с препаратом происходит развитие микроорганизмов на поверхности семян, а при обработке полусухим способом начинается развитие самих семян и эндофитных микроорганизмов в них. Проведенная работа — одно из новых направлений почвенной микробиологии, связанное с исследованием участия почвенных микроорганизмов в формировании эндофитных сообществ и их роли в прорастании семян сосудистых растений.

Ключевые слова: автолизаты дрожжей, методы обработки семян стимуляторами, микробный комплекс семян

DOI: 10.7868/S0032180X17050057

ВВЕДЕНИЕ

Изучение эндофитных дрожжей семян, являющихся типичными обитателями почв — одно из новых направлений почвенной микробиологии. Присутствие эндофитных дрожжей было обнаружено в завязях плодовых деревьев, созревающих фруктах и семенах многих сельскохозяйственных растений. Наиболее значимый рост численности эндофитных микроорганизмов наблюдается после попадания семян в почву [4, 5]. Предполагается, что этот эффект достигается за счет увлажнения и воздействия гуминовых веществ, присутствующих в почве. В этих условиях эндофитные микроорганизмы семян за счет внеклеточного выделения амилаз позволяют быстро разлагать запас крахмала в семенах, что значительно увеличивает скорость их прорастания.

Это направление получило развитие в ряде работ [14, 15], в которых приводится применение достаточно простой и высокопроизводительной методики, позволяющей по дыханию семян оценивать их качество и проверять эффективность использования стимуляторов прорастания семян с ошибкой, не превышающей 5%.

Целью работы являлось изучение культур почвенных дрожжей в качестве стимуляторов про-

растания семян, а также анализ возможных причин, обуславливающих широкий спектр биологической активности препаратов на основе культур дрожжей.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали почвенные дрожжи из коллекции кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова: *Rhodotorula mucilaginosa* штамм “бали 4-17”, *Cystofilobasidium capitatum* штамм “25в”, *Sporobolomyces roseus* штамм “402-1в”, *Metschnikowia pulcherrima* штамм “Д41”, *Saccharomyces cerevisiae* штамм “1059”, *Saccharomyces cerevisiae* штамм “181”, *Aureobasidium pullulans* штамм “249-1в”, *Debaryomyces hansenii* штамм “834”, *Sporobolomyces roseus* штамм “91 вус”, *Cryptococcus victoriae* штамм “23в”, *Cryptococcus magnus* штамм “38в”, *Cryptococcus podzolicus* штамм “2-15”, *Sporobolomyces roseus* штамм “328в”, *Debaryomyces hansenii* штамм “КБП Y-4869”, *Debaryomyces hansenii* штамм “2в”, *Cryptococcus terricola* штамм “1513”, *Aureobasidium pullulans* штамм “271в” и *Metschnikowia pulcherrima* штамм “Д21”. Автолизат дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* — Bacto™ Yeast

Extract и автолизата пивных дрожжей, выпускаемого для использования в качестве добавки к корму скота (ООО “Биотех плюс”, Россия).

Для получения биомассы клеток почвенных дрожжей их выращивали на стандартном глюкозо-пептоно-дрожжевом агаре в течение 14-ти дней при температуре 20°C.

Действие дрожжей проверяли на семенах с неглубоким покоем [7] — яровых пшениц сортов “Эстер”, “Злата”, “Любава”, “Новосибирская 29”, “МИС”, “Юбилейная 80”, “Оренбургская 10”, озимых пшениц сортов “Галина”, “Немчиновская 24”, “Московская 39”, “Московская 56”, “Л-15 № 222” — экспериментальный образец озимой пшеницы ФГБНУ ВНИИ агрохимии им. Д.Н. Прянишникова (Экспериментальная), озимой ржи сорта “Валдай”, озимых тритикале сортов “Гермес” и “Немчиновский 56”, ярового ячменя сорта “Владимир”. Оценку стимуляции прорастания семян почвенными дрожжами проводили в сравнении с известным препаратом — “Альбит” [1, 11]. Эффективность стимуляции определяли по выделению углекислоты [14, 15]. Для этого семена (5 г) помещали в стаканчики объемом 100 мл, засыпали 20 г отмытого сухого песка и добавляли по 5 мл испытуемых препаратов или стерильной воды (вариант контроля). После этого стаканчики помещали в герметично закрытые емкости объемом 3 л и инкубировали при температуре 25°C в течение 24 ч. Выделившееся за это время количество CO₂ рассчитывали на одну зерновку. Опыты проводили в семикратной повторности. Ошибка не превышала 5%. Концентрацию CO₂ определяли с помощью газоанализатора “Testo 535” в диапазоне 0—9999 ppm. Выбранная методика позволяет одновременно исследовать от 1000 до 1500 семян, что сокращает величину ошибки, связанную с разнокачественностью семян. Параллельно определяли количество и размер проростков семян.

Обработку семян препаратами почвенных дрожжей осуществляли путем замачивания (способ 1) и обработкой семян полусухим способом при расходе растворов 20 л на тонну семян (способ 2).

Количество живых клеток в препаратах почвенных дрожжей определяли при помощи оптического микроскопа [6]. Для этого на предметное стекло наносили по одной капле дрожжевой суспензии и раствор метиленового синего (1 : 5000). Каплю накрывали покровным стеклом и через 2 мин подсчитывали количество окрашенных и неокрашенных дрожжевых клеток в пяти полях зрения.

Обработку суспензий дрожжей проводили на ультразвуковом диспергаторе МЭФ 91.1 (ООО “МЭЛФИЗ — ультразвук”). Амплитуда колебаний — 55 мкм. Интенсивность ультразвукового воз-

действия — 250 Вт/см². Рабочая частота — 22 кГц. Количество живых дрожжевых клеток в суспензии до и после ультразвуковой обработки оценивали по интенсивности выделения углекислоты после добавления глюкозы (20%) [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из данных о том, что почвенные дрожжи являются продуцентами различных физиологически активных веществ, способных стимулировать прорастание семян, на первом этапе работы было изучено действие автолизата дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) на прорастание семян озимой пшеницы сорта “Экспериментальная”. Предварительные результаты исследования показали, что при достижении концентрации автолизата 1.5 г/л интенсивность дыхания семян перестает возрастать. При этом оптимальные дозы автолизата, влияющие на прорастание семян разных сортов, оказались близкими, вне зависимости от его применения — путем замачивания или полусухим способом. Поэтому при проведении дальнейших экспериментов обработку семян полусухим способом проводили раствором с концентрацией автолизата 75 г/л при расходе раствора 20 л/т. В результате проведения испытаний было установлено, что автолизат *Saccharomyces cerevisiae* обладал в 1.5—2 раза большей эффективностью, чем известный препарат “Альбит”, используемый для сравнения (табл. 1).

Сравнение эффективности способов обработки семян показало, что обработка полусухим способом оказывала значительно большее влияние на интенсивность выделения CO₂ по сравнению с замачиванием семян в растворе автолизата (рис. 1 и табл. 1). Подобное казалось парадоксальным, так как при замачивании контакт семян с раствором препарата более продолжителен и должен был бы сильнее стимулировать их прорастание. Обращало также на себя внимание, что абсолютное количество углекислоты, выделяемое на единицу веса семян любой культуры при их замачивании остается примерно постоянным (рис. 1). Результаты эти хорошо объяснялись стимуляцией дрожжевым автолизатом не только семян, но и микробного сообщества, которое связано с зерновками.

Данный вывод не противоречил ранее полученным данным. Так как было показано [13], что уже в период молочной спелости большое количество микроорганизмов находится на зерновке, а фузариозная инфекция проникает в формирующуюся зерновку в период от цветения до уборки. Сапрофитные же грибы и бактерии проникают в зерно пшеницы почти одновременно с образованием завязи и растут вместе с ней. Полевая зараженность семян пшеницы свежесобранного уро-

Таблица 1. Интенсивность выделения CO_2 при прорастании семян зерновых культур, обработанных препаратом “Альбит” и раствором автолизата дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в оптимальной концентрации

Культура, сорт	Количество CO_2 , мг $\times 10^3$ на одну зерновку		
	контроль (вода)	альбит	автолизат
Яровая пшеница, сорт “Любава”	282 $\pm$ 12	311 $\pm$ 14 (10.3%)	331 $\pm$ 13 (17.4%)
Яровая пшеница, сорт “Эстер”	282 $\pm$ 12	293 $\pm$ 13 (3.9%)	314 $\pm$ 14 (11.2%)
Яровая пшеница, сорт “Злата”	290 $\pm$ 11	303 $\pm$ 13 (4.5%)	325 $\pm$ 12 (11.9%)
Яровая пшеница, сорт “Оренбургская 10”	350 $\pm$ 14	352 $\pm$ 15 (0%)	382 $\pm$ 16 (9.1%)
Яровая пшеница, сорт “Новосибирская 29”	250 $\pm$ 10	271 $\pm$ 12 (8.6%)	294 $\pm$ 13 (17.4%)
Озимая пшеница, сорт “Московская 39”	219 $\pm$ 8	246 $\pm$ 11 (12.5%)	271 $\pm$ 10 (23.9%)
Озимый тритикале, сорт “Гермес”	369 $\pm$ 12	421 $\pm$ 17 (14.1%)	452 $\pm$ 20 (22.4%)
Озимая рожь, сорт “Валдай”	356 $\pm$ 13	379 $\pm$ 15 (6.4%)	411 $\pm$ 16 (15.5%)
Яровой ячмень, сорт “Владимир”	522 $\pm$ 18	558 $\pm$ 21 (6.9%)	569 $\pm$ 19 (9.0%)

жая составляет на юге Украины 99–100%; из них представители родов *Alternaria* – 80–90%; *Helminthosporium* – 1–5%, *Fusarium* и *Mycelia sterilia* – 10–15% и в небольшом количестве *Verticillium*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* [13].

На некоторых семенах зерновых культур было обнаружено, что рост концентрации автолизата при замачивании семян приводит не только к насыщению, которое наблюдали для озимой пшеницы сорта “Экспериментальная”, но и к практически линейному росту выделения углекислоты. Установлено, что при высоких концентрациях автолизата (4–5 г/л) и большом количестве выделяющейся углекислоты число проросших семян за время эксперимента значительно уменьшалось. Например, у семян яровой пшеницы сорта “Любава”, в контроле (с водой) длина проростков в ряде случаев была сравнима с размером зерновок, в то время как семена, находящиеся в растворе автолизата (1.5 г/л), едва проклюнулись. Следовательно, высокие концентрации автолизата дрожжей, могут приводить и к замедлению прорастания семян.

Попытаемся объяснить причину наблюдаемого явления. В связи с тем, что часть микроорганизмов располагается на поверхности семян, в случае активного потребления эпифитными микроорганизмами веществ автолизата концентрация этих веществ на поверхности семени должна уменьшаться, и внутрь семян (к эндофитным микроорганизмам и в сами семена) эти вещества поступать практически не будут. Причем это касается любого стимулятора, с избытком раствора которого контактируют зерновки при замачивании семян.

Однако при проведении обработки семян общепринятым в сельском хозяйстве полусухим способом (расход раствора 10–20 л/т семян) количество раствора, с которым взаимодействуют се-

мена, оказывается в 50 раз меньшим. В результате большая часть раствора должна входить внутрь семян через поры (трещины) в оболочке, практически не оказывая влияния на развитие эпифитных, как правило, патогенных микроорганизмов. Следовательно, изменение способа обработки семян

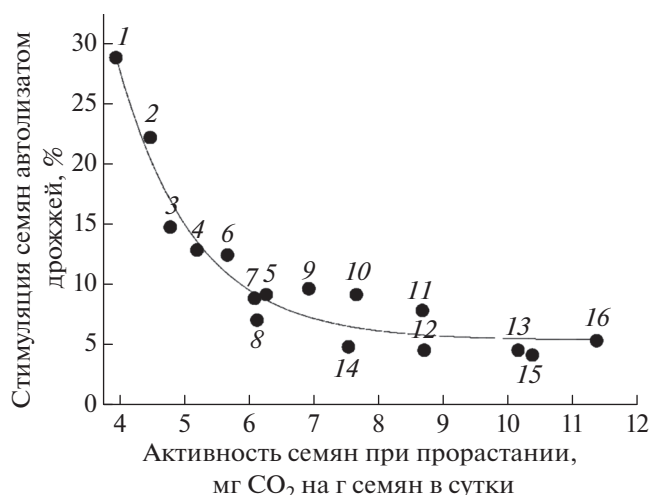


Рис. 1. Зависимость эффекта увеличения активности биохимических процессов, протекающих при прорастании семян, автолизатом дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* от качества зерна, определенного по интенсивности выделения CO_2 за сутки при прорастании зерна при 25°C: 1 – озимая пшеница сорт “Галина”; 2 – озимая пшеница сорт “Экспериментальная”; 3 – озимая пшеница сорт “Немчиновская 24”; 4 – озимая пшеница сорт “Московская 39”; 5 – озимая пшеница сорт “Московская 56”; 6 – яровая пшеница сорт “Новосибирская 29”; 7 – яровая пшеница сорт “Злата”; 8 – яровая пшеница сорт “МИС”; 9 – яровая пшеница сорт “Юбилейная 80”; 10 – яровая пшеница сорт “Оренбургская 10”; 11 – яровая пшеница сорт “Эстер”; 12 – яровая пшеница сорт “Любава”; 13 – озимая рожь сорт “Валдай”; 14 – озимый тритикале сорт “Гермес”; 15 – озимый тритикале сорт “Немчиновский 56”; 16 – яровой ячмень сорт “Владимир”.

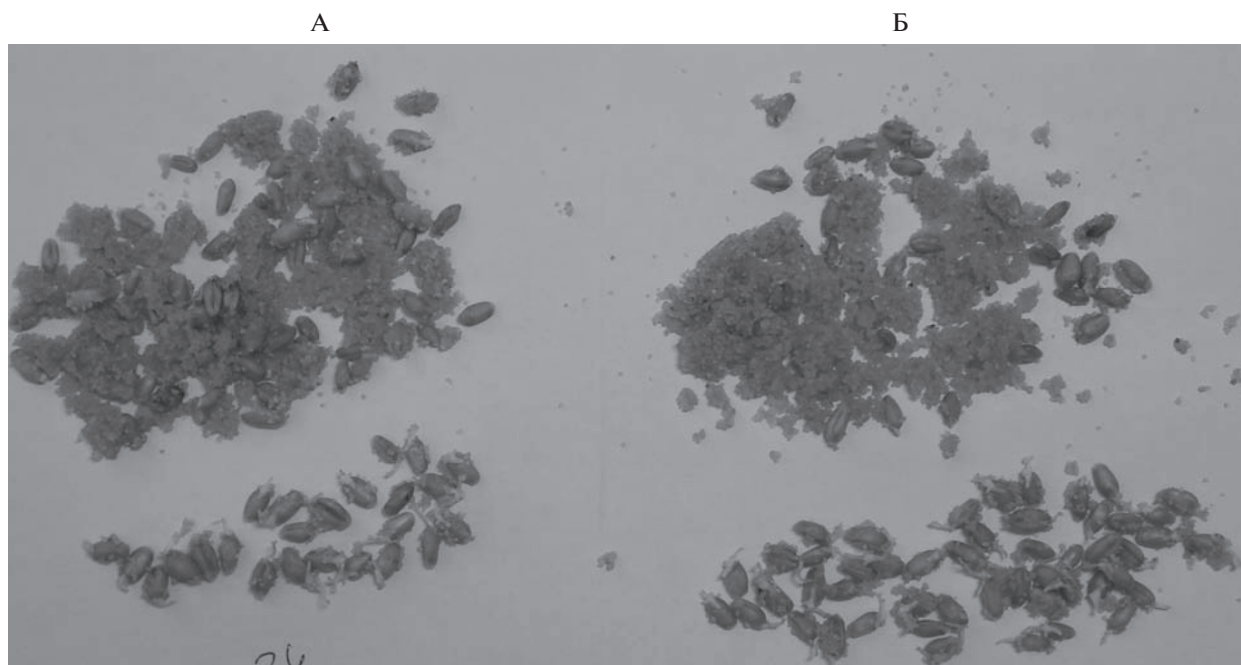


Рис. 2. Фотографии семян яровой пшеницы сорта “Любава”, не обработанных (А) и обработанных раствором автолизата концентрацией 75 г/л при расходе раствора 20 л/т (Б), после проращивания в течение суток при 25°C в воде.

может приводить к перераспределению поглощения биологически активных веществ поверхностными микроорганизмами семян, самими семенами и их эндофитными микроорганизмами.

Эксперименты с яровой пшеницей сортов “Любава”, “Эстер” и “Злата” подтвердили это предположение. В качестве примера приведена фотография семян яровой пшеницы сорта “Любава” (рис. 2), обработанных раствором автолизата в концентрации 75 г/л при расходе раствора 20 л/т. У не обработанных автолизатом семян (рис. 2, А) количество проросших зерновок составило 24 штуки, а у обработанных — 49 штук (рис. 2, Б).

Таким образом установлено, что при длительном замачивании семян в растворе автолизата дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) отмечается угнетение прорастания семян при общем усилении выделения углекислоты. То есть наблюдается активное развитие поверхностных микроорганизмов, блокирующих развитие самих семян. При обработке семян полусухим способом (20 л раствора на тонну семян) тем же препаратом, наоборот, наблюдается заметная активизация прорастания семян. Подобное различие связано с быстрым поступлением автолизата внутрь семян через дефекты их покровов, при минимальном поглощении микроорганизмами, находящимися на поверхности семян.

Эти данные позволили сделать вывод о том, что способ обработки семян меняет направленность действия стимулятора с влияния на поверх-

ностные микроорганизмы (метод замачивания) на влияние на эндофитные микроорганизмы и сами семена (полусухая обработка).

Для практического внедрения положительных результатов по использованию почвенных дрожжей (и их автолизатов) в качестве стимуляторов прорастания семян было необходимо найти замену дорогому импортному автолизату дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Bacto™ Yeast Extract). Поэтому для проведения дальнейших испытаний был выбран автолизат дрожжей, выпускаемый ООО “Биотех плюс” (Россия). Предполагалось, что из-за недостаточной очистки препарата от клеточных стенок дрожжей придется несколько увеличить его концентрацию в растворе для достижения того же эффекта.

Однако проведенные испытания дали совершенно неожиданные результаты (табл. 2, рис. 3) — использование неочищенного автолизата значительно увеличило эффективность его применения для обработки семян.

По-видимому, причиной проявления высокой активности в отношении прорастания семян оказалось присутствие в неочищенном автолизате живых клеток дрожжей, которые, попадая внутрь семян через дефекты оболочек, увеличивают численность эндофитных микроорганизмов, стимулирующих скорость прорастания семян.

Таким образом, возникло предположение о том, что механизм стимуляции прорастания семян имеет не двухступенчатый характер — про-

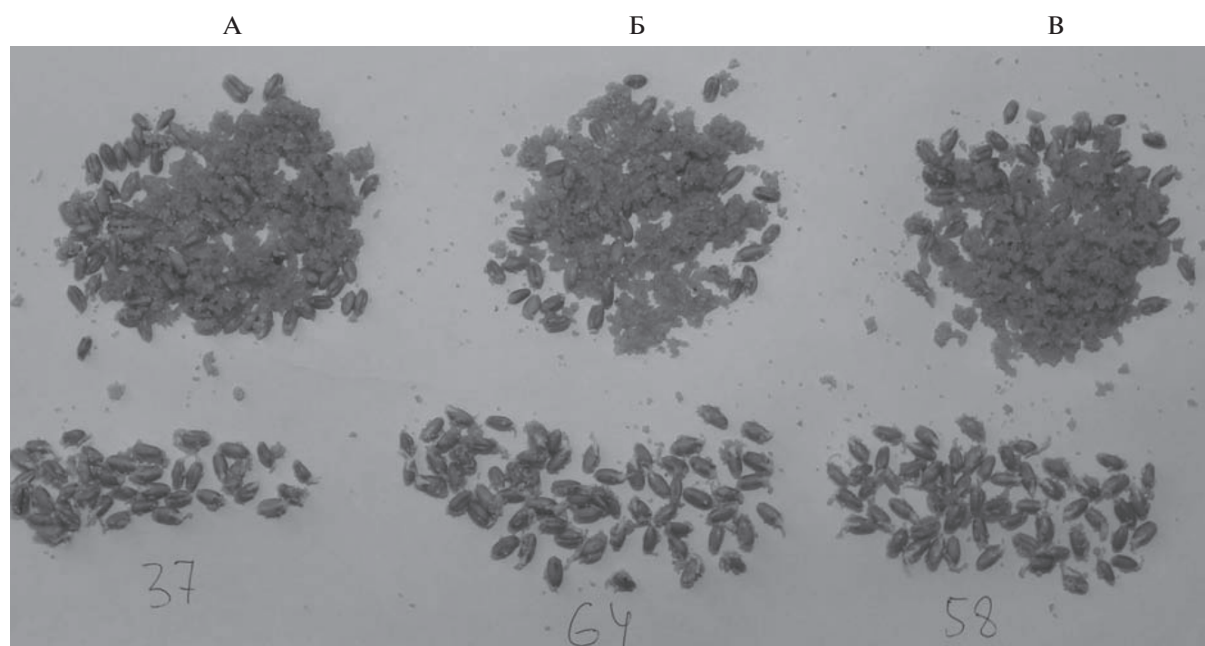


Рис. 3. Фотографии семян яровой пшеницы сорта “Эстер”, не обработанных (А) и обработанных раствором промышленного автолизата концентраций 75 г/л (Б) и 100 г/л (В) при расходе раствора 20 л/т, после проращивания в течение суток при 25°C в воде. Внизу отмечено количество проросших семян.

никновение препаратов стимуляторов в семена и воздействие на них, а трехступенчатый — проникновение препаратов стимуляторов в семена, их воздействие на эндофитные микроорганизмы (активация их размножения), запуск эндофитными микроорганизмами (продуктами их метаболизма) процесса развития семян.

Подобная постановка вопроса не является принципиально новой, так как положительное влияние эндофитных микроорганизмов на растения рассматривалось достаточно давно [3], включая влияние на семена [2, 4, 5]. Более того,

в ряде работ [4, 5] отмечается, что прорастанию семян предшествует активное развитие в семенах эндофитных дрожжей.

Фактически речь идет о применении к данной системе активно разрабатываемой в настоящее время концепции суперорганизма (аутоценоза, компликатобионта, хологенома) [8–10, 12, 16–18] — облигатности симбиоза, согласно которому жизнедеятельность и эволюция всех многоклеточных и многих одноклеточных живых существ происходит только на основе взаимовыгод-

Таблица 2. Интенсивность выделения CO₂ при прорастании семян яровой пшеницы сорта “Эстер”, обработанной растворами, содержащими автолизат пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия) в различной концентрации

Концентрация автолизата, г/л	Количество CO ₂ , мг × 10 ³ на одну зерновку	Рост активности, %
Без обработки	282 ± 12	—
25	334 ± 15	18.5
50	340 ± 14	20.6
75	358 ± 17	27.1
100	373 ± 16	32.2
125	362 ± 13	28.3
150	364 ± 15	29.1
Автолизат <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bacto™ Yeast Extract), 75 г/л	314 ± 14	11.2

Таблица 3. Активность биохимических процессов при прорастании семян яровой пшеницы сорта “Эстер”, обработанной растворами, содержащими автолизат дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* или автолизат пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия) с различными добавками

Концентрация промышленного автолизата, г/л	Количество CO ₂ , мг × 10 ³ на одну зерновку	Увеличение активности биохимических процессов, %
Без обработки	282 ± 12	—
Автолизат пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия), 75 г/л	358 ± 17	27.1
УЗ 5 мин	328 ± 15	16.2
100 г/л	373 ± 16	32.2
Автолизат <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bacto™ Yeast Extract), 75 г/л	314 ± 14	11.2
Автолизат пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия), 75 г/л		
Автолизат <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bacto™ Yeast Extract), 75 г/л:		
+ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (2 × 10 ¹⁰ клеток/л)	360 ± 18	27.8
+ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (4 × 10 ¹⁰ клеток/л)	362 ± 13	28.3
+ <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> штамм “bali 4-17”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	353 ± 16	25.1
+ <i>Cystofilobasidium capitatum</i> штамм “25b” 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	347 ± 15	22.9
+ <i>Sporobolomyces roseus</i> штамм “402-1в” 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	345 ± 16	22.5
+ <i>Metschnikowia pulcherrima</i> штамм “Д41” 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	354 ± 17	25.7
+ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> штамм “1059”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	347 ± 15	22.9
+ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> штамм “181”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	342 ± 16	21.2
+ <i>Aureobasidium pullulans</i> штамм “249-1в”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	331 ± 14	17.5
+ <i>Debaryomyces hansenii</i> штамм “834”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	320 ± 16	13.4
+ <i>Sporobolomyces roseus</i> штамм “91 вус” 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	352 ± 17	24.9
+ <i>Cryptococcus victoria</i> штамм “23в”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	371 ± 18	31.4
+ <i>Cryptococcus magnus</i> штамм “38в”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	351 ± 15	24.3
+ <i>Cryptococcus podzolicus</i> штамм “2-15”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	336 ± 16	19.2
+ <i>Sporobolomyces roseus</i> штамм “328в”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	359 ± 17	27.3
+ <i>Debaryomyces hansenii</i> штамм “КБП Y-4869” 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	364 ± 18	29.1
+ <i>Debaryomyces hansenii</i> штамм “2в”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	336 ± 15	19.0
+ <i>Cryptococcus terricola</i> штамм “1513” 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток /л)	325 ± 14	15.2

Таблица 3. Окончание

Концентрация промышленного автолизата, г/л	Количество CO ₂ , мг × 10 ³ на одну зерновку	Увеличение активности биохимических процессов, %
+ <i>Aureobasidium pullulans</i> штамм “2716”, 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток/л)	355 ± 17	25.9
+ <i>Metschnikowia pulcherrima</i> штамм “Д21” 4 г/л (4 × 10 ¹⁰ клеток/л)	345 ± 16	22.5
Автолизат пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия), 100 г/л:	353 ± 17	25.0
+ Тебу 60 (рек. конц.)		
+ РУ (рек. конц.)	328 ± 14	16.2

Примечание. РУ — Раксил ультра; рек. конц. — рекомендуемая для обработки семян концентрация фунгицида.

ной интеграции с другими живыми существами (преимущественно микроорганизмами).

Полученные результаты позволяют предположить, что активация прорастания семян дрожжевыми автолизатами обусловлена развитием эндофитных дрожжей. По-видимому, численность эндофитных дрожжевых клеток в семенах может быть достаточно мала и внесение дополнительных клеток дрожжей, находящихся в неочищенном автолизате, значительно увеличивает их численность и ускоряет процесс развития семени. Общее количество дрожжевых клеток в промышленном автолизате составляло около 2 × 10¹⁰ кл/мл, из них около 0.5% — живые дрожжевые клетки (не окрашивались метиленовым голубым).

Для проверки правомерности наших предположений о роли дрожжей в стимуляции развития семян нужно было экспериментально получить положительные ответы на следующие вопросы:

1. Уменьшение количества живых дрожжевых клеток в автолизате пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия) снижает стимулирующую активность при использовании данного автолизата.

2. Увеличение количества живых дрожжевых клеток в автолизате дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* увеличивает стимулирующую активность при использовании данного автолизата.

3. Применение фунгицидов, подавляющих развитие дрожжей, совместно с автолизатом пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия) снижает стимулирующую активность при использовании данного автолизата.

Для ответа на первый вопрос использовали обработку суспензии автолизата пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия) ультразвуком. После обработки количество живых клеток в суспензии, определяемое по скорости роста дрожжей, уменьшилось примерно на порядок. В результате при УЗ-обработке суспензии автолизата эффективность стимуляции развития семян зна-

чительно уменьшилась — примерно с 27 до 16% (табл. 3).

Для ответа на второй вопрос в раствор автолизата дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* добавили клетки живых дрожжей. В результате эффект стимуляции вырос более чем в 2–2.5 раза (для разных видов дрожжей) — примерно с 11 до 22–28% (табл. 3), достигнув величины эффекта от применения автолизата пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия). Создание искусственных ассоциаций почвенных дрожжей путем введения в испытуемый препарат живых клеток, относящихся к разным таксономическим группам дрожжей (*Cryptococcus podzolicus*, *Cryptococcus victoria*, *Cryptococcus magnus*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus*, *Cystofilobasidium capitatum*, *Aureobasidium pullulans*, *Debaryomyces hansenii* и др.) также усилило эффект стимуляции (при использовании некоторых видов дрожжей) более чем в 2–2.5 раза — примерно с 11 до 31%.

Добавление в суспензию автолизата пивных дрожжей ООО “Биотех плюс” (Россия) фунгицидов, снижало стимулирующий эффект. Причем для фунгицида лучшего качества — “Раксил ультра” этот эффект выражен заметно сильнее, чем для “Тебу 60”.

Проведенная экспериментальная проверка подтвердила предполагаемый механизм стимуляции прорастания семян. Для этого необходимо обеспечить пребывание в семени эндофитных микроорганизмов и благоприятных условий для их развития (наличие питательных веществ и влаги). Фактически зерновка, на которую оказывается воздействие, представляет собой биотехнологический реактор, часть компонентов в котором уже находится. Задача состоит в увеличении эффективности работы этого реактора путем введения дополнительных компонентов. Задача не является самой простой, но понимание происходя-

сих процессов вселяет надежду на возможность ее решения.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что использование дрожжей (и их автолизатов) в качестве стимулятора для ускорения развития семян приводит к активации процессов развития как самих семян, так и их микробного комплекса.

2. Показано, что способ обработки семян препаратами дрожжей оказывает большое влияние на направленность действия этих препаратов — они могут стимулировать развитие поверхностных микроорганизмов (при замачивании семян в суспензии препарата) или развитие самих семян и эндофитных микроорганизмов при обработке семян полусухим способом.

3. Предполагаемый механизм действия дрожжевых препаратов состоит в их проникновении внутрь семян через дефекты оболочки, увеличивая численность эндофитных микроорганизмов, которые начинают активно развиваться при наличии влаги и питательных веществ, насыщая зерновки амилолитическими ферментами и физиологически-активными веществами, стимулируя таким образом скорость прорастания семян.

4. Показано, что почвенные дрожжи разных таксонов (представители родов: *Rhodotorula*, *Cystofilobasidium*, *Sporobolomyces*, *Metschnikowia*, *Saccharomyces*, *Aureobasidium*, *Debaryomyces*, *Cryptococcus*) могут оказывать стимулирующее действие на прорастания семян культурных растений.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России, проект № 37.2486.2014/К.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алехин В.Т., Сергеев В.Р., Злотников А.К., Попов Ю.В., Рябчинская Т.А., Рукин В.Ф. Альбит на зерновых культурах и сахарной свекле // Защита и карантин растений. 2006. № 6. С. 26–27.
2. Благовещенская Е.Ю. Эндофитные грибы злаков. Автореф. дис. канд. биол. н. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2006. 26 с.
3. Гельцер Ф.Ю. Симбиоз с микроорганизмами — основа жизни растений. М.: Изд-во МСХА, 1990. 134 с.
4. Исаева О.В., Глушакова А.М., Гарбуз С.А., Качалкин А.В., Чернов Ю.И. Эндофитные дрожжевые грибы в запасующих тканях растений // Изв. РАН. Сер. биол. 2010. № 1. С. 34–43.
5. Исаева О.В., Глушакова А.М., Юрков А.М., Чернов Ю.И. Дрожжи *Candida railenensis* в плодах дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) // Микробиология. 2009. Т. 78. № 3. С. 399–403.
6. Меледина Т.В., Давыденко С.Г., Васильева Л.М. Физиологическое состояние дрожжей. Уч. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХ и БТ, 2013. 48 с.
7. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л.: Наука, 1985. 347 с.
8. Проворов Н.А. Генетико-эволюционные основы учения о симбиозе // Журн. общ. биологии. 2001. Т. 62. № 6. С. 472–495.
9. Проворов Н.А. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум // Журн. общ. биологии. 2009. Т. 70. № 1. С. 10–34.
10. Проворов Н.А., Долгих Е.А. Метаболическая интеграция организмов в системах симбиоза // Журн. общ. биологии. 2006. Т. 67. № 6. С. 403–422.
11. Рябчинская Т.А., Харченко Г.Л., Саранцева Н.А., Бобришова И.Ю., Злотников А.К. Полифункциональное действие препарата Альбит при предпосевной обработке семян яровой пшеницы // Агрохимия. 2009. № 10. С. 39–47.
12. Савинов А.Б. Аутоценоз и деоценоз как симбиотические системы и биологические категории // Журн. общей биологии. 2012. Т. 73. № 4. С. 284–301.
13. Сечняк Л.К., Киндрук Н.А., Слюсаренко О.К., Иващенко В.Г., Кузнецов Е.Д. Экология семян пшеницы. М.: Колос, 1983. 349 с.
14. Федотов Г.Н., Федотова М.Ф. Методика оценки посевных качеств семян // Роль почв в биосфере. Тр. Ин-та экологического почвоведения Моск. гос. ун-та им. М.В. Ломоносова. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2015. Вып. 15. С. 23–42.
15. Федотов Г.Н., Федотова М.Ф., Шалаев В.С., Батырев Ю.П. К вопросу о стимуляции прорастания семян с неглубоким покоем // Лесной вестник. 2016. № 1. С. 147–157.
16. Rosenberg E., Sharon G., Zilber-Rosenberg I. The hologenome theory of evolution contains Lamarckian aspects within a Darwinian framework // Environ. Microbiol. 2009. V. 11. № 12. P. 2959–2962.
17. Rosenberg E., Zilber-Rosenberg I. From bacterial bleaching to the hologenome theory of evolution // Proc. 11-th Int. Coral Reef Sympos. Ft. Lauderdale, Florida, 2008. № 9. P. 269–273.
18. Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution // FEMS Microbiol. Rev. 2008. V. 32. P. 723–735.