

## ПРОДОВОЛЬСТВЕННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

УДК 631.811; 631.417.1

### РАЗРАБОТКА СТИМУЛЯТОРА ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПОСЕВНЫХ КАЧЕСТВ СЕМЯН НА ОСНОВЕ АВТОЛИЗАТА ДРОЖЖЕЙ\*

Г.Н. Федотов, С.А. Шоба, М.Ф. Федотова

Использование автолизата дрожжей в качестве стимулятора ускорения прорастания семян приводит к активации развития как самих семян, так и эпифитных и эндофитных микроорганизмов. Способ обработки семян оказывает большое влияние на направленность действия препаратов. Препарат на основе автолизата пивных дрожжей (АПД), содержащий 0,5–1% живых дрожжевых клеток, представляется перспективным стимулятором развития в период предпосевной обработки семян.

Разработан комплексный препарат на основе АПД, включающий в свой состав гиббереллины и гуматы, суспензии его имеют хорошие эксплуатационные свойства и стабильную эффективность при применении.

*Ключевые слова:* микробные удобрения, автолизат дрожжей.

#### Введение

Улучшение посевных качеств семян является одним из основных факторов повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Среди наиболее перспективных методов для достижения этой цели следует выделить стимулирующую обработку семян физическими воздействиями [5, 10, 12, 28] или биологически активными препаратами [3, 4, 6, 7, 9, 15, 17, 21, 26, 28, 33, 35–37, 40].

При предпосевной обработке начальные процессы прорастания семян протекают интенсивнее. Особенно это сказывается на развитии корневой системы. Зародышевые корни быстро входят в контакт с фронтом почвенной влаги и по мере роста растений не отрываются от него. У необработанных семян прорастание задерживается и протекает недружно. Это приводит к тому, что корни, растущие медленно, могут оторваться от фронта влаги и потерять возможность нормально обеспечивать растения водой [12].

Кажущаяся простота и дешевизна получения хороших результатов подобным способом привлекла многих исследователей, но добиться таковых, значимых и воспроизводимых, до настоящего времени не удалось. Это, в частности, связано с отсутствием высокопроизводительной и достаточно простой методики, позволяющей получать статистически значимые данные в типичной ситуации с уровнем эффекта не выше 10–15% [12].

В течение длительного времени оценку проводили по конечному результату: урожайности [4, 6, 9, 16, 17, 26, 33], изменению размеров и массы вегетативных органов растений [6, 26], всхожести (энергия прорастания) [3, 15, 33] или по физиологическим показателям (активность ферментов, содержание биологически активных веществ и т.д.) [6, 15, 16, 33]. Но эти исследования достаточно трудоемки и длительны и требуют от недели (по всхожести) до месяцев (по урожайности) временных затрат.

Однако в ряде работ [12, 22, 28] отмечено, что посевные качества семян должны коррелировать со скоростью биохимических процессов на стадии их прорастания и, соответственно, с дыханием. Это направление получило развитие, и в работах [31, 32] предложена достаточно простая и высокопроизводительная методика, позволяющая по дыханию семян оценивать их качество и проверять эффективность использования стимуляторов прорастания с ошибкой, не превышающей 5%. При применении новой методики получен большой объем данных [32], позволивший изучить ряд физиологически активных веществ и их смесей и сделать вывод о том, что использование отдельных компонентов биохимических реакций с целью поиска триггера стимуляции прорастания семян может быть бесперспективным, так как для ускорения процесса необходимо повышение концентрации не нескольких компонентов, а всего комплекса веществ<sup>1</sup>.

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

<sup>1</sup> Количество этих веществ чрезвычайно велико. Например, показано, что при развитии *Escherichia coli* — кишечной палочки (2 мкм длиной и 0,8 мкм шириной) безостановочно образуется 5–6 тыс. различных химических соединений, непрерывно синтезируются ~3 тыс. типов белков и ~1 тыс. нуклеиновых кислот [20].

Этот комплекс образуется при автолизе микроорганизмов, поэтому цель нашей работы — изучение возможности применения автолизатов дрожжей в качестве препаратов-стимуляторов прорастания семян и разработка потенциального коммерческого препарата-стимулятора на их основе.

Из поставленной цели возникли следующие задачи:

- понять природу действия автолизатов дрожжей, чтобы применить их в качестве основы для препаратов, повышающих посевные качества семян;

- создать препарат-стимулятор, в состав которого входят относительно дешевые, уже выпускаемые промышленностью компоненты;

- обеспечить возможность использования препарата-стимулятора в сельскохозяйственном производстве без введения дополнительных стадий и усложнения технологического процесса;

- создать препарат-стимулятор, значимо не теряющий своей эффективности при совместном применении с фунгицидами;

- обеспечить стабильность эффекта применения препарата-стимулятора вне зависимости от жесткости и рН используемой воды;

- создать препарат-стимулятор, растворы (суспензии) которого обладают удовлетворительными эксплуатационными свойствами, позволяющими применять стандартное оборудование.

### Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали семена с неглубоким покоем [21]: яровой пшеницы сортов Эстер, Злата, Любава, Новосибирская 29, МИС, Юбилейная 80, Оренбургская 10; озимой пшеницы сортов Галина, Немчиновская 24, Московская 39, Московская 56, Л-15 № 222 (последний — экспериментальный образец озимой пшеницы ФГБНУ ВНИИ агрохимии им. Д.Н. Прянишникова — сорт Экспериментальная); озимой ржи сортов Валдай, Татьяна; озимой тритикале сортов Нина, Гермес, Немчиновский 56; ярового ячменя сортов Владимир, Эльф, Нур.

Изучали действие автолизата дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* — Vasto™ Yeast Extract (АД) и автолизата пивных дрожжей (АПД), выпускаемого промышленностью для использования в качестве добавки к корму скота (ООО «Биотех плюс», Россия), а также введение в растворы автолизатов дополнительных компонентов. Оценку эффектив-

ности применения этих препаратов для обработки семян проводили путем их сравнения с известным препаратом «Альбит» [4, 26]. Качество стимулирующей обработки определяли по интенсивности выделения углекислоты при контакте семян с водой [31, 32].

В ходе эксперимента 5 г семян помещали в два стаканчика объемом 100 мл, засыпая их 20 г отмытого сухого песка и добавляя 5 г воды (или растворы). Стаканчики ставили в емкость объемом 3 л, герметично закрывали и термостатировали при температуре 25°. Через 24 ч измеряли концентрацию выделившейся углекислоты в емкостях и пересчитывали ее количество на одну зерновку. Опыты проводили в 7-кратной повторности. Ошибка не превышала 5%.

Концентрацию углекислоты измеряли при помощи прибора Testo 535, который позволяет определять количество углекислого газа в газовой смеси при содержании 0—9999 ppm. Данная методика обладает высокой производительностью, позволяя исследовать в одном опыте от 1000 до 1500 семян, что резко уменьшает ошибку экспериментов, связанную с их разнокачественностью<sup>2</sup>.

Для дополнительной проверки влияния стимуляторов на прорастание визуально изучали количество и размер проростков у семян, извлеченных из одного из 14 стаканчиков, находящихся в емкостях (по два стаканчика в каждой при 7-кратной повторности). При этом выбирали емкость, в которой измеренные значения по концентрации углекислоты близки к средним по семи емкостям. Однако в связи с небольшим числом семян в стаканчике (70—100 шт.) этот метод скорее полукорреляционный.

Чтобы изучить влияние обработки семян препаратами-стимуляторами на эффективность их применения, использовали два способа. Способ 1: применяемое в лабораториях при оценке биологической активности веществ (их влияния на прорастание) замачивание в растворах, содержащих исследуемый стимулятор; способ 2: обработка семян полусухим способом<sup>3</sup> при расходе раствора 20 л/т.

В связи с тем, что наиболее эффективные концентрации препаратов известны не были, снимали концентрационные зависимости, используя при анализе результатов данные, полученные для оптимальных концентраций.

<sup>2</sup> Разнокачественность семян бывает нескольких видов. Матриакальная связана, во-первых, с неоднородностью по качеству семян в колосьях. В центральной части колоса располагаются более сильные семена по сравнению с верхней и нижней частями. Во-вторых, у зерновых культур имеются колосья 1-, 2-го и более высоких порядков. Наиболее сильные семена находятся в колосьях 1-го порядка. На это накладывается разнокачественность, связанная с неоднородностью почвенного покрова поля. В бункере комбайна семена перемешиваются только частично, поэтому работа с малым их количеством ведет к большим ошибкам.

<sup>3</sup> Реальная технологическая операция, применяемая в сельском хозяйстве для протравливания при расходе раствора 10—20 л/т семян.

В целях проверки влияния эпифитных микроорганизмов на выделение углекислоты делали смывы путем встряхивания 75 г семян в 100 г воды на качалке в течение 30 мин, предполагая, что существенная часть микробных клеток с поверхности семян перейдет в эти смывы. В полученный смыв, содержащий микрофлору семян, вводили АД (разные количества) и этот раствор вносили в стаканчик с песком для определения углекислоты в соответствии с описанной выше методикой.

Число живых дрожжевых клеток в препаратах определяли методом подсчета таковых, неокрашенных метиленовым голубым, при помощи оптического микроскопа [18]. При изучении влияния ультразвука на живые дрожжевые клетки суспензии обрабатывали на диспергаторе МЭФ 91.1 (ООО «МЭЛФИЗ — ультразвук»). Амплитуда обработки — 55 мкм, интенсивность ультразвукового воздействия — 250 Вт/см<sup>2</sup>, рабочая частота — 22 кГц. Варьирование их числа после обработки оценивали по изменению жизненной силы дрожжевой суспензии [18]. Имитацию жесткости воды проводили растворами нитрата кальция. Устойчивость суспензий оценивали по времени расслоения в мерном цилиндре объемом 50 мл.

В качестве дополнительных компонентов в разрабатываемый препарат вводили: различные ПАВ (полиэтиленгликоль, Tween 20, Tween 60, Tween 80, Span 20, Span 80); лецитины из сои и подсолнечника; препарат «Бутон» (ООО «ПСК Техноэкспорт», Россия), содержащий натриевые соли гиббереллиновых кислот в количестве 20 г/кг; гетероауксин (ООО «Ортон», Россия); пара-аминобензойную кислоту; гуamat калия (натрия), произведенный из бурого угля (ООО НВЦ «Агротехнологии», Россия).

### Результаты и их обсуждение

На первом этапе изучали влияние концентрации автолизата дрожжей *S. cerevisiae* (АД) в растворе, в который вместо воды помещали семена (способ 1), на повышение активности биохимических процессов, протекающих при их прорастании (озимая пшеница сорта Экспериментальная).

Полученные результаты (рис. 1, А) свидетельствуют, что при достижении концентрации АД в растворе 1500 мг/л активность биохимических процессов перестает возрастать и выходит на насыщение. При данной концентрации АД проведены испытания этим способом и на других зерновых культурах (рис. 1, Б). Установлено, что при повышении качества семян эффект стимуляции уменьшается, а зависимость описывается отрицательной экспонентой с коэффициентом корреляции > 0,94.

Проведена проверка эффективности использования раствора АД при обработке семян полусухим способом с последующим помещением их в воду в соответствии с методикой определения интенсивности протекания биохимических процессов при прорастании (способ 2). Предварительно выяснили оптимальную концентрацию автолизата в растворе для семян яровой пшеницы сорта Любава (табл. 1) и, используя для других культур и сортов выбранную концентрацию (75 г/л), оценили его эффективность при обработке семян, проведя сравнение с известным препаратом «Альбит» (табл. 2). Из представленных данных видно, что оптимальные дозы АД вне зависимости от способа применения оказались одинаковыми, а также, что он обладает в 1,5–2 раза большей эффективностью по сравнению с препаратом «Альбит».

Обращает на себя внимание, что применение АД при обработке семян полусухим способом ока-

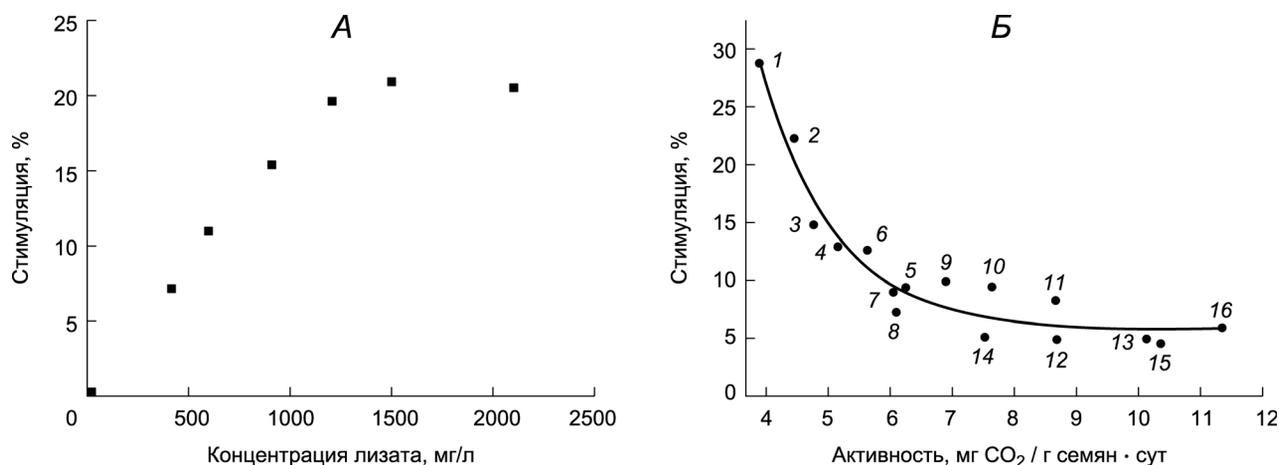


Рис. 1. Зависимость эффекта повышения активности биохимических процессов, протекающих при прорастании семян, под действием автолизата дрожжей *S. cerevisiae* (на примере озимой пшеницы сорта Экспериментальная) от его концентрации в растворе (А) и от вида и сорта зерна (Б): озимая пшеница сортов Галина (1), Экспериментальная (2), Немчиновская 24 (3), Московская 39 (4), Московская 56 (5); яровая пшеница сортов Новосибирская 29 (6), Злата (7), МИС (8), Юбилейная 80 (9), Оренбургская 10 (10), Эстер (11), Любава (12); озимая рожь сорта Валдай (13); озимые тритикале сортов Гермес (14), Немчиновский 56 (15); яровой ячмень сорта Владимир (16)

Таблица 1

Активность биохимических процессов при прорастании семян яровой пшеницы сорта Любава, обработанных раствором АД разных концентраций полусухими способом при расходе 20 л/т

Концентрация раствора (г/л)/ доза автолизата (г/т)	Количество CO <sub>2</sub> , м · 10 <sup>3</sup> на одну зерновку
0 (вода)	282 ± 12
25/500	313 ± 14 (10,9%)
50/1000	322 ± 15 (14,2%)
75/1500	331 ± 13 (17,4%)
200/4000	332 ± 14 (17,8%)

зывает значительно большее влияние на активизацию биохимических процессов (по выделению углекислоты) при прорастании, чем помещение семян в его раствор (рис. 1, Б, табл. 2), а зависимость от качества семян, наблюдаемая при замачивании, в этом случае практически не прослеживается. Подобные результаты не вполне понятны, так как контакт семян с раствором препарата в течение суток, казалось бы, должен сильнее стимулировать их прорастание.

Из физического смысла отрицательной экспоненциальной зависимости следует, что эффект повышения активности биохимических процессов, протекающих при прорастании семян, уменьшается прямо пропорционально их качеству, т.е. количеству углекислоты, выделяемой при прорастании необработанных семян разных культур. Другими словами, абсолютное количество углекислоты, выделяемой на единицу массы семян любой культуры, остается примерно постоянной. Исключение — две наиболее чувствительные к стимуляции культуры: озимая пшеница сортов Галина и Экспериментальная, для которых указанный показатель заметно выше. Эти данные позволяют предположить, что увеличение выделения углекислоты при помещении семян в раствор АД может быть связано не с влиянием веществ, содержащихся в растворе, на стимуляцию прорастания, а с повышением активности каких-то других биохимических процессов, возможно, стимулируемых веществами АД.

Поэтому необходимо рассмотреть целиком систему, в которую в качестве подсистем входят сами семена, эпифитные микроорганизмы на их поверхности и эндофитные микроорганизмы [8]. При таком походе представляет интерес возможность стимуляции раствором АД не только семян, но и микроорганизмов, которые связаны с зерновками.

Ранее было показано [28], 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

Таблица 2

Активность биохимических процессов при прорастании семян зерновых культур, обработанных препаратом «Альбит» и раствором АД оптимальных концентраций

Культура, сорт	Количество CO <sub>2</sub> , мг · 10 <sup>3</sup> на одну зерновку		
	контроль (вода)	«Альбит»	автолизат
Яровая пшеница Любава	282 ± 12	311 ± 14 (10,3%)	331 ± 13 (17,4%)
Эстер	204 ± 7	212 ± 8 (3,9%)	227 ± 7 (11,2%)
Злата	290 ± 11	303 ± 13 (4,5%)	325 ± 12 (11,9%)
Оренбургская 10	350 ± 14	352 ± 15 (0%)	382 ± 16 (9,1%)
Новосибирская 29	250 ± 10	271 ± 12 (8,6%)	294 ± 13 (17,4%)
Озимая пшеница Московская 39	219 ± 8	246 ± 11 (12,5%)	271 ± 10 (23,9%)
Озимый тритикале Гермес	369 ± 12	421 ± 17 (14,1%)	452 ± 20 (22,4%)
Озимая рожь Валдай	356 ± 13	379 ± 15 (6,4%)	411 ± 16 (15,5%)
Яровой ячмень Владимир	522 ± 18	558 ± 21 (6,9%)	569 ± 19 (9,0%)

грибы и бактерии проникают в зерно пшеницы почти одновременно с образованием завязи и растут вместе с ней. Полевая зараженность семян пшеницы свежееубранного урожая составляет на юге Украины 99—100%; из них *Alternaria* — 80—90, *Helminthosporium* — 1—5, *Fusarium* и *Mycelia sterilia* — 10—15%; в небольшом количестве *Verticillium*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* [28].

Для проверки влияния поверхностной микрофлоры семян на выделение углекислоты были сделаны смывы с семян; предполагалось, что эпифитная микрофлора с них перейдет в эти смывы. В полученную вытяжку, содержащую в том числе и микрофлору семян, вводили АД (разное количество) для определения выделяющейся за сутки углекислоты. Эксперименты проведены на озимой пшенице сорта Галина и яровой пшенице сорта Любава. Во всех случаях смывы с семян при взаимодействии с АД выделяют даже несколько больше углекислоты по сравнению с приростом при проращивании самих семян в растворах АД относительно проращивания в воде.

Эти результаты позволили сделать однозначный вывод: при количественном определении ин-

тенсивности дыхания семян мы учитываем результат всех биохимических превращений в зерновой массе, вызываемых собственными ферментами зерна и связанной с ним микрофлорой. Использование АД, по-видимому, активизирует оба процесса — и прорастание семян и развитие микроорганизмов. В результате задача подбора стимуляторов прорастания осложняется возможным влиянием развивающейся на семенах и внутри них микроорганизмов [28], так как заранее невозможно предсказать направление влияния микробных метаболитов на развитие самих семян.

С целью проверки этого влияния провели эксперименты с использованием растворов АД различных концентраций для измерения не только количества выделяющейся углекислоты, но и для визуального определения количества и размера проростков у семян, извлеченных из одного стаканчика из 14, находящихся в емкостях. Второй метод, как мы уже отмечали, скорее полуколичественный из-за малого числа семян (70—100) в эксперименте, но он позволяет избежать грубых ошибок.

Как отмечалось, рост концентрации АД при помещении семян в его раствор (способ 1) на ряде зерновых культур приводит не только к насыщению (озимая пшеница сорта Экспериментальная), но и практически к линейному росту выделения углекислоты. Однако при концентрациях АД в растворе 4000—5000 мг/л прорастание семян по сравнению с контролем заметно замедляется — число проросших семян за время эксперимента значительно уменьшается. Например, у необработанных семян яровой пшеницы сорта Любава, контактирующих с водой (контроль), длина проростков в ряде случаев сравнима с размером зерновок, а семена, контактирующие с раствором АД, едва проклевываются. Следовательно, активация развития микробных популяций семян под влиянием АД может приводить к заметному замедлению прорастания.

Попытаемся понять причину преимущественного развития микроорганизмов семян, а не самих семян, рассмотрев для этого предположительный механизм поглощения веществ АД из раствора.

В соответствии с описанной выше методикой мы поместили слой семян на дно стаканчика, засыпали песком и добавили раствор АД. При подобной постановке эксперимента АД (содержащиеся в нем вещества) равномерно распределяется по всему раствору и должен поступать к семенам в основном путем диффузии. Лишь на самой первой стадии взаимодействия сухих семян с раствором небольшое количество раствора войдет внутрь семян через дефекты в мембранах [28].

Эпифитная микробная биопленка способна существенно перехватывать и использовать веще-

ства АД с созданием концентрационного градиента, что препятствует поступлению этих веществ внутрь семян (в клетки семян и к эндофитной микрофлоре). Такая ситуация характерна для любого изучаемого стимулятора, с избытком раствора которого контактируют зерновки при замачивании семян.

Ситуация должна кардинально изменяться, если обработку семян проводить общепринятым в сельском хозяйстве полусухим способом при расходе растворов 10—20 л/т семян (способ 2). В этом случае при той же дозе концентрация АД в растворе примерно в 50 раз выше, а раствора, с которым взаимодействуют семена, соответственно, в 50 раз меньше. В результате большая часть раствора должна входить внутрь семян, практически не запуская развитие эпифитной микрофлоры. Следовательно, изменение способа обработки семян препаратом-стимулятором должно менять соотношение биологически активных веществ, потребляемых эпифитной микрофлорой семян, самими семенами и их эндофитной микрофлорой.

Проведенные эксперименты на яровой пшенице сортов Любава, Эстер и Злата подтвердили это предположение. Например, для семян сорта Любава, необработанных и обработанных раствором АД с концентрацией 75 г/л при расходе раствора 20 л/т, подсчитали число зерновое, величина проростков у которых была более 2—3 мм. У семян, необработанных АД, оно составило 24, а у обработанных — 49 шт.

Таким образом, эксперименты показали, что при прорастивании семян в контакте с раствором, содержащим АД, наблюдается угнетение процесса при общем росте выделения углекислоты. Эпифитные микроорганизмы активно развиваются при поступлении питательных веществ к поверхности семян путем диффузии и блокируют их развитие. При обработке семян полусухим способом (20 л раствора, содержащего АД, на тонну семян) наблюдается заметная активизация прорастания. По-видимому, различие связано с тем, что основное количество поступающей жидкости (раствор АД) попадает внутрь клеток через дефекты клеточных мембран при минимальном ее поглощении эпифитными микроорганизмами, находящимися на поверхности семян. Эти данные позволяют сделать вывод, что изменение способа обработки семян меняет направленность действия препарата.

Для практического внедрения положительных результатов по использованию раствора АД в качестве стимулятора прорастания семян нужно было найти замену дорогому импортному препарату — автолизату дрожжей *S. cerevisiae* (Vacto™ Yeast Extract). Поэтому для проведения испытаний выбрали дешевый промышленно выпускаемый ООО «Биотех плюс» (Россия) автолизат пивных дрожжей (АПД). Предполагалось, что из-за недостаточной

Таблица 3

Активность биохимических процессов при прорастании семян яровой пшеницы сорта Эстер, обработанных растворами, содержащими АПД, разной концентрации

Концентрация АПД, г/л	Количество CO <sub>2</sub> , мг · 10 <sup>3</sup> на одну зерновку	Увеличение активности биохимических процессов, %
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> (Vacto™ Yeast Extract), 75 г/л	314 ± 14	11,2

очистки АПД от клеточных мембран для достижения того же эффекта придется несколько увеличить его концентрацию в растворе.

Однако проведенные испытания дали совершенно неожиданные результаты: отечественный АПД оказался значительно эффективнее (табл. 3, 4). Причем результаты по выделению углекислоты подтвердились и числом проросших семян: 37 и 60 шт. соответственно.

Объяснений этому может быть два: во-первых, АПД из данного штамма дрожжей содержит набор биологически активных веществ, оказывающих сильное воздействие на прорастание семян; во-вторых, в АПД содержатся живые клетки, которые, попадая внутрь семян, увеличивают количество эндофитной микрофлоры, по-видимому, стимулирующей прорастание семян.

Фактически возникло предположение о том, что механизм стимуляции прорастания семян имеет не двухступенчатый характер — проникновение препарата-стимулятора внутрь семени и воздействие на него, а трехступенчатый — при проникновении он действует на эндофитные микроорганизмы (активация размножения), на запуск этих микроорганизмами (продукты их метаболизма) процесса развития семян.

Подобная постановка вопроса не является принципиально новой, так как положительное влияние эндофитных микробных популяций на растения рассматривалось достаточно давно [11], включая влияние на семена [8, 13, 14]. Более того, в ряде работ [13, 14] отмечается, что прорастанию предшествует активное развитие в семенах эндофитных дрожжей. Фактически речь идет о применении к данной системе активно разрабатыва-

Таблица 4

Активность биохимических процессов при прорастании семян яровой пшеницы сорта Эстер, обработанных растворами, содержащими АД или АПД, с разными добавками

Концентрация автолизата, г/л	Количество CO <sub>2</sub> , мг · 10 <sup>3</sup> на одну зерновку	Увеличение активности биохимических процессов, %
Без обработки	282 ± 12	—
АПД, 75 г/л	358 ± 17	27,1
АПД, 100 г/л	373 ± 16	32,2
АД, 75 г/л	314 ± 14	11,2
АПД, 75 г/л, УЗ 5 мин	328 ± 15	16,2
АД, 75 г/л + пекарские дрожжи, 2 г/л (2 · 10 <sup>10</sup> кл/л)	360 ± 18	27,8
АД, 75 г/л + 4 г/л пекарские дрожжи (4 · 10 <sup>10</sup> кл/л)	362 ± 13	28,3
АПД, 100 г/л + Тебу 60 (рекомендуемая концентрация)	353 ± 17	25,0
АПД, 100 г/л + РУ (рекомендуемая концентрация)	328 ± 14	16,2

емой в настоящее время концепции суперорганизма (аутоценоз, компликаобионт, хологеном) — облигантности симбиоза, согласно которому жизнедеятельность и эволюция всех многоклеточных и многих одноклеточных живых существ происходит только на основе взаимовыгодной интеграции с другими живыми существами (преимущественно микроорганизмами) [23—25, 27, 38, 39, 41].

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что активация прорастания семян АД обусловлена питанием эндофитных дрожжей, скорость развития которых при этом возрастает. Однако, по-видимому, эндофитных дрожжевых клеток в семенах недостаточно, и внесение дополнительных живых клеток дрожжей, находящихся в АПД, ускоряет процесс развития семян. Эксперименты показали, что общее число клеток дрожжей в АПД — около 2 · 10<sup>10</sup> /г АПД; из них около 0,5% — живые, которые не окрашиваются метиленовым голубым.

Для проверки правомерности наших предположений о роли дрожжей в стимуляции развития семян нужно было экспериментально получить положительные ответы на следующие вопросы: снижает ли стимулирующую активность АПД уменьшение в нем числа живых дрожжевых клеток; увеличивает ли стимулирующую активность АД увеличение в нем числа живых дрожжевых клеток; снижает ли стимулирующую активность примене-

ние фунгицидов, подавляющих развитие дрожжей, совместно с АПД.

Для ответа на первый вопрос суспензию АПД обрабатывали ультразвуком. После этой процедуры число живых клеток, оцениваемое по изменению ее жизненной силы, уменьшалось примерно на порядок. В результате эффективность стимуляции развития семян значительно снижалась — примерно с 27 до 16% (табл. 4).

Для ответа на второй вопрос в раствор АД добавляли клетки живых пекарских дрожжей: эффект стимуляции выросал более чем в два раза — примерно с 11 до 28% (табл. 4), достигая величины эффекта от применения АПД.

Добавление в суспензию АПД фунгицидов снижало стимулирующий эффект (табл. 4). Причем для фунгицида лучшего качества (Раксил ультра) он выражен заметно сильнее, чем для Тебу 60.

Таким образом, предполагаемый механизм стимуляции прорастания семян состоит из следующих стадий: поглощение семенем воды, обуславливающее увеличение подвижности его макромолекул и пробуждение эндофитов; развитие и увеличение численности эндофитных дрожжей и развитие других эндофитов — продуцентов метаболизма, запускающих и стимулирующих прорастание семян; развитие семян.

Проведенная экспериментальная проверка подтвердила эффективность применения АПД для повышения посевных качеств семян различных культур (табл. 5), при этом она (эффективность) неодинаковая для разных культур и сортов. По-видимому, это связано с тем, что семена имеют разную

популяционную плотность эпифитов и эндофитов, а также дефекты на поверхности, позволяющие стимулирующему составу входить внутрь семян, и количество питательных веществ, необходимых для развития семян и эндофитных микроорганизмов.

В связи с тем, что АПД является отходом пивоваренной промышленности, а его ежегодное производство в России составляет 1000—1300 млн т при незначительном использовании в сельском хозяйстве в качестве добавки в корм животных и птиц [19, 30, 34], полученные результаты позволяют перейти ко второй стадии исследования — разработке препарата-стимулятора, отвечающего приведенным выше (Введение) требованиям.

Основные недостатки АПД в качестве препарата-стимулятора для предпосевной обработки семян — его небольшая эффективность, заметное снижение стимуляции при совместном применении с фунгицидами (табл. 4), низкие эксплуатационные характеристики суспензии АПД (ее быстрое расслоение).

На основании литературных данных о действии индивидуальных веществ [1, 3, 17, 21, 33] попытались повысить эффективность действия суспензии АПД на развитие семян, вводя в нее гормоны растений (гиббереллин и гетероауксин), пара-аминобензойную кислоту (ПАБК), гуматы, различные ПАВ (полиэтиленгликоль, Tween 20, Tween 60, Tween 80, Span 20 и Span 80), а также живые дрожжевые клетки пекарских дрожжей и сахара (глюкоза, сахароза, фруктоза). В результате обнаружено, что эффект от использования гиббереллина в некоторых случаях сравним с таковым при обработке суспензией АПД, а добавление его к суспензии АПД приводит к частичному суммированию стимулирующих эффектов (табл. 6). Использование суспензии АПД совместно с другими веществами не оказывало значимого положительного влияния на прорастание семян. Таким образом, был найден дополнительный компонент препарата-стимулятора на основе АПД — гиббереллин, входящий в состав препарата «Бутон» и позволяющий за-

Таблица 5

**Увеличение активности биохимических процессов при прорастании семян различных культур, обработанных полусухим способом раствором, содержащим АПД (100 г/л), по сравнению с необработанными семенами**

Культура	Увеличение активности биохимических процессов, %
Яровая пшеница сортов:	
Любава	13,4
Эстер	29,8
МИС	17,4
Злата	23,4
Оренбургская 10	14,1
Новосибирская 29	11,5
Озимая пшеница сорта Московская 39	10,5
Озимый тритикале сорта Нина	14,1
Озимая рожь сорта Валдай	15,1
Яровой ячмень сорта Эльф	11,0
Яровой ячмень сорта Владимир	6,3

Таблица 6

**Увеличение активности биохимических процессов (%) при прорастании семян различных сортов яровой пшеницы, обработанных полусухим способом (20 л/т) растворами, содержащими гиббереллин (препарат «Бутон», 16 г/л), АПД (100 г/л) и гумат (5 г/л), по сравнению с необработанными семенами**

Сорт	«Бутон»	АПД	АПД + «Бутон»	АПД + «Бутон» + гумат
Любава	21,0	13,4	27,6	30,4
Эстер	20,3	29,8	42,1	43,0
МИС	24,8	17,4	27,8	27,8
Злата	16,0	23,4	32,1	34,5

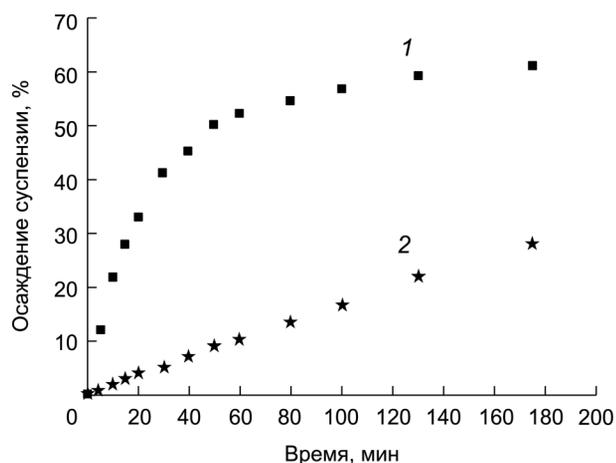


Рис. 2. Влияние добавления гумата (5 г/л) к промышленному автолизату (100 г/л) на расслоение суспензий: 1 — раствор промышленного автолизата, не содержащий гумат, 2 — раствор промышленного автолизата с гуматом

метно повысить эффективность применения суспензии АПД.

Для улучшения технологических характеристик суспензии препарата-стимулятора попытались использовать различные ПАВ и лецитины, рекомендуемые для стабилизации суспензий лекарственных [2]. Однако замедлить расслоение суспензий не удалось. Более того, применение лецитинов привело к их коагуляции суспензий и заметно снизило эффект стимуляции.

В работе [29] показано, что гумат натрия значительно повышает устойчивость водно-угольных суспензий. Попытка использования гумата калия (натрия), произведенного ООО НВЦ «Агротехнологии» (Россия) из бурого угля, для стабилизации суспензий АПД показала, что их устойчивость в течение первых 30 мин после прекращения перемешивания повышается примерно на порядок (рис. 2). Это дает возможность практического применения препарата-стимулятора на основе АПД на существующем оборудовании. Причем введение гумата не оказало негативного влияния на эффективность действия препарата-стимулятора (табл. 6).

Проверка, проведенная на других зерновых культурах, показала достаточно высокую эффективность применения разработанного комплексного препарата на основе АПД (табл. 7).

Изучение влияния жесткости воды, используемой для приготовления суспензии препарата (в интервале от дистиллированной до очень жесткой), и ее рН (в интервале 4,5–8), а также совместного применения комплексного препарата с фунгицидами «Раксил ультра» и «Тебу 60» показало, что они не приводят к значимому снижению эффективности стимуляции развития семян.

Отсутствие негативного влияния фунгицидов на комплексный препарат позволяет предположить большую роль гиббереллинов, вырабатыва-

Таблица 7

Увеличение активности биохимических процессов при прорастании семян различных культур, обработанных растворами, содержащими гиббереллин (препарат «Бутон» — 16 г/л), АПД (100 г/л) и гумат (5 г/л), по сравнению с необработанными семенами

Культура	Увеличение активности биохимических процессов, %
Яровая пшеница сортов: Оренбургская 10 Новосибирская 29	20,2 17,7
Озимая пшеница сорта Московская 39	25,7
Озимый тритикале сортов: Нина Гермес Немчиновский 56	21,2 18,5 26,2
Озимая рожь сортов: Валдай Татьяна	30,6 16,7
Яровой ячмень сортов: Эльф Нур	17,8 12,1

емых эндофитными микроорганизмами, в активации процесса прорастания семян. Введение больших количеств гиббереллина с препаратом «Бутон» в комплексный препарат, по-видимому, делает малозначимым изменение синтеза гиббереллина эндофитными микробными популяциями, на которые могут воздействовать фунгициды.

Таким образом, изучение действия автолизатов дрожжей дает возможность разработать достаточно эффективный комплексный препарат-стимулятор прорастания семян.

## Выводы

- Установлено, что использование автолизата дрожжей в качестве стимулятора ускорения развития семян приводит к активации процессов развития как самих семян, так и их микроорганизмов.

- Показано, что оценку скорости биохимических процессов при прорастании семян по выделению углекислоты необходимо дублировать путем контроля за числом прорастающих семян в связи с учетом ее выделения микроорганизмами.

- Установлено, что способ обработки семян препаратами-стимуляторами оказывает большое влияние на направленность их действия: они могут или стимулировать развитие поверхностной микрофлоры семян при замачивании или развитие самих семян и эндофитных микроорганизмов при обработке семян полусухим способом.

- Проведенные эксперименты позволили выдвинуть предположение о том, что механизм действия препаратов-стимуляторов на процесс прорас-

тания семян состоит не из двух стадий (проникновение препарата внутрь семян и прямое воздействие на них), а из трех: проникновение внутрь семян, воздействие на развитие и увеличение численности эндофитных дрожжей, а затем на сам процесс прорастания семян.

• Установлено, что применение в качестве препарата-стимулятора автолизата дрожжей, содержащего живые дрожжевые клетки, позволяет значительно повысить посевные качества семян и ускорить процесс их прорастания.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аврамчук Н.Г., Бигун Ю.И., Дорожук В.А., Дошкоевич П.П. Эффективность использования ПАБК для предпосевной обработки семян ярового ячменя // Химические мутагены и пара-аминобензойная кислота в повышении урожайности сельскохозяйственных культур. М., 1989.
2. Ажгихин И.С. Технология лекарств. М., 1980.
3. Аксенова Л.А., Зак Е.А., Бочарова М.А., Клячко Н.Л. Влияние предпосевной обработки семян пшеницы поверхностно-активными веществами на их прорастание при неблагоприятных условиях // Физиол. раст. 1990. Т. 37, № 5.
4. Алехин В.Т., Сергеев В.Р., Злотников А.К. и др. Альбит на зерновых культурах и сахарной свекле // Защита и карантин раст. 2006. № 6.
5. Алтухов И.В., Федотов В.А. Взаимодействие ИК-излучения различных длин волн на семена пшеницы // Ползунов. вестн. 2011. № 2/1.
6. Андрианова Ю.Е., Сафина Н.И., Максимова Н.Н., Кадошникова И.Г. Влияние янтарной кислоты на урожай и качество сельскохозяйственных культур // Агрохимия. 1996. № 8—9.
7. Безуглова О.С. Гуминовые вещества в биосфере: Учеб. пос. Ростов-на-Дону, 2009.
8. Благовещенская Е.Ю. Эндофитные грибы злаков: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2006.
9. Бурмистрова Т.И., Удинцев С.Н., Терещенко Н.Н. и др. Влияние комплексного препарата гуминовых кислот и микроэлементов на урожайность и устойчивость к болезням яровой пшеницы // Агрохимия. 2011. № 9.
10. Веселова Т.В. Изменение состояния семян при хранении, проращивании и под воздействием внешних факторов (ионизирующего излучения в малых дозах и других слабых воздействий), определяемое методом замедленной люминесценции: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2008.
11. Гельцер Ф.Ю. Симбиоз с микроорганизмами — основа жизни растений. М., 1990.
12. Дмитриев А.М., Страцкевич Л.К. Стимуляция роста растений / Под ред. Н.Ф. Батыгина. Минск, 1986.
13. Исаева О.В., Глушакова А.М., Гарбуз С.А. и др. Эндофитные дрожжевые грибы в запасующих тканях растений // Изв. РАН. Сер. Биол. 2010. № 1.
14. Исаева О.В., Глушакова А.М., Юрков А.М., Чернов И.Ю. Дрожжи *Candida railenensis* в плодах дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) // Микробиология. 2009. Т. 78, № 3.
15. Кабузенко С.Н., Блохин В.Г., Копылов Н.И. Влияние биологически активных веществ на прорастание семян и рост проростков культурных растений на фоне засоления // Регуляторы роста растений. Л., 1989.
16. Кожухарь Т.В., Кириченко Е.В., Кохан С.С. Влияние минеральных удобрений и предпосевной обработки семян биологическими препаратами на содержание хлорофилла в листьях озимой пшеницы // Агрохимия. 2010. № 1.
17. Кравец А.В., Бобровская Д.Л., Касимова Л.В., Зотикова А.П. Предпосевная обработка семян яровой пшеницы гуминовым препаратом из торфа // Вестн. Алтайск. гос. аграр. ун-та. 2011. № 4(78).
18. Меледина Т.В., Давыденко С.Г., Васильева Л.М. Физиологическое состояние дрожжей: Учеб. пос. СПб., 2013.
19. Мударисов Т.М. Эффективность использования автолизата пивных дрожжей в комбикормах для дорациваемых и откармливаемых свиней: Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Дубровицы. 2012.
20. Нейман Б.Я. Индустрия микробов. М., 1983.
21. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л., 1985.
22. Обручева Н.В., Антипова О.В. Физиология инициации прорастания семян // Физиол. раст. 1997. Т. 44, № 2.
23. Проворов Н.А. Генетико-эволюционные основы учения о симбиозе // Журн. общ. биол. 2001. Т. 62, № 6.
24. Проворов Н.А. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум // Журн. общ. биол. 2009. Т. 70, № 1.
25. Проворов Н.А., Долгих Е.А. Метаболическая интеграция организмов в системах симбиоза // Журн. общ. биол. 2006. Т. 67. № 6.
26. Рябчинская Т.А., Харченко Г.Л., Саранцева Н.А. и др. Полифункциональное действие препарата Альбит при предпосевной обработке семян яровой пшеницы // Агрохимия. 2009. № 10.
27. Савинов А.Б. Аутоценоз и демоценоз как симбиотические системы и биологические категории // Журн. общ. биол. 2012. Т. 73. № 4.
28. Сечняк Л.К., Киндрок Н.А., Слюсаренко О.К. и др. Экология семян пшеницы. М., 1983.
29. Солодов Г.А., Заостровский А.Н., Папин А.В., Папина Т.А. Стабилизация водоугольных суспензий органическими реагентами // Вестн. Кузбас. гос. техн. ун-та. Кемерово. 2003. № 2.

30. Федосова А.А. Автолизат пивных дрожжей в кормлении цыплят-бройлеров кросса Конкурент-3: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2009.
31. Федотов Г.Н., Федотова М.Ф. Методика оценки посевных качеств семян // Роль почв в биосфере / Тр. ин-та экол. почвовед. МГУ им. М.В. Ломоносова. Вып. 15. М., 2015.
32. Федотов Г.Н., Федотова М.Ф., Шалаев В.С., Батырев Ю.П. К вопросу о стимуляции прорастания семян с неглубоким покоем // Лесн. вестн. 2016. № 1.
33. Христева Л.А., Галушка А.М. Эффективность применения физиологически активных гумусовых веществ для предпосевной обработки семян // Теория и практика предпосевной обработки семян. Киев, 1984.
34. Чичина Т.В. Разработка технологии белковых ингредиентов на основе остаточных пивных дрожжей с использованием холодильной обработки: Дис. ... канд. техн. наук. СПб., 2014.
35. Laila K.M. Ali, Elbordiny M.M. Response of Wheat Plants to Potassium Humate Application // J. Appl. Sci. Res. 2009. Vol. 5(9).
36. Nardi S., Conchery G., Dell'Agnola G. Biological activity of humus // Humic substances in terrestrial ecosystem (A. Piccolo ed.). Amsterdam, 1996.
37. Piccolo A., Celano G., Pietramellara G. Effects of fractions of coal-derived humic substances on seed germination and growth of seedlings (*Lactuca sativa* and *Lycopersicum esculentum*) // Biol. Fertil. Soils. 1993. Vol. 16.
38. Rosenberg E., Sharon G., Zilber-Rosenberg I. The hologenome theory of evolution contains Lamarckian aspects within a Darwinian framework // Environ. Microbiol. 2009. Vol. 11, N 12.
39. Rosenberg E., Zilber-Rosenberg I. From bacterial bleaching to the hologenome theory of evolution // Proc. 11th Int. Coral Reef Sympos.: Ft. Lauderdale, Florida. 2008, N 9.
40. Szczepanek M., Wilczewski E. Effect of humic substances on germination of wheat and barley under laboratory conditions // Acta Sci. Pol., Agricult. 2011. Vol. 10(1).
41. Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution // FEMS Microbiol. Rev. 2008. Vol. 32.

Поступила в редакцию  
28.06.2016

#### CREATION OF THE STIMULATOR FOR INCREASE OF SOWING QUALITIES OF SEEDS ON THE BASIS OF THE AUTOLYSATE OF YEASTS

G.N. Fedotov, S.A. Shoba, M.F. Fedotova

Using yeast autolysate as a stimulant to accelerate the development of seeds leads to activation of the processes of development as the seeds themselves, and epiphytic and endophytic microorganisms. The method of seed treatment has a great influence on the direction of action of biofertilizer. The biofertilizer is based on autolyzed brewer's yeast is a promising seed stimulator for pre-processing.

*Key words:* biofertilizers, yeast autolysate.

#### Сведения об авторах

**Федотов Геннадий Николаевич**, докт. биол. наук, вед. науч. сотр. каф. географии почв ф-та почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова. *E-mail:* gennadiy.fedotov@gmail.com.  
**Шоба Сергей Алексеевич**, чл.-корр. РАН, зав. каф. географии почв, декан ф-та почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова. *E-mail:* soil.msu@mail.ru. **Федотова Магдалина Федоровна**, специалист ООО «Экотерра МГУ». *E-mail:* gennadiy.fedotov@gmail.com.