



# БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



## РОСТ РАСТЕНИЙ САЛАТА В ПРИСУТСТВИИ КОНКУРЕНТОВ И ВЛИЯНИЕ ВНЕСЕНИЯ В ИХ РИЗОСФЕРУ АУКСИН ПРОДУЦИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Высоцкая Л.Б., Архипова Т.Н., Кузьмина Л.Ю., Трекозова А.В., Галимзянова Н.Ф., Кудоярова Г.Р.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский институт биологии РАН,  
Уфа, проспект Октября, 69, тел/факс: +7(347) 235-53-62, e-mail: [vysotskaya@anrb.ru](mailto:vysotskaya@anrb.ru)

### Резюме

Изучено влияние внесения в ризосферу растений салата ауксин продуцирующих бактерий на динамику роста и содержание ауксинов в побегах и корнях при разной плотности посадки растений (одно и три растения в вегетационном сосуде). Быстрая ростовая реакция заключалась в увеличении отношения масс побег/корень как у растущих по три в горшке конкурирующих растений, так и у одиночно растущих растений, обработанных продуцирующими ауксины бактериями. Последние также характеризовались увеличением соотношения площади листьев к их массе. Через две недели после внесения в ризосферу бактерий наблюдали уменьшение массы побегов и корней у обработанных и необработанных бактериями конкурирующих растений. Накоплению массы одиночно растущих обработанных бактериями растений предшествовало накопление ауксинов в корнях. Обсуждается роль ауксинов в регуляции роста растений в условиях конкуренции.

**Ключевые слова:** салат, конкуренция, рост, ауксин продуцирующие бактерии

### Введение

В естественных фитоценозах конкуренция – один из наиболее важных биотических факторов, от которого зависит рост растений [Pierik et al., 2003]. Растения реагируют на появление потенциальных конкурентов еще до того, как в результате их присутствия снижается доступность ресурсов [Voccalandro et al., 2003]. Эти реакции обеспечивают опережающую адаптацию растений, но, вместе с тем, могут отрицательно сказаться на их росте. В агрофитоценозах повышение нормы высева, хотя и позволяет получить больший урожай с единицы площади, неизбежно снижает продуктивность отдельных растений. Быстрое закрытие устьиц у растений под влиянием увеличения плотности их посадки приводит к уменьшению устьичной проводимости [Vysotskaya et al., 2011], что неизбежно подавляет фотосинтез и скорость накопления биомассы. По данным литературы [Voccalandro et al., 2003] снижение устьичной проводимости было зарегистрировано в отсутствие дефицита ресурсов и зависело от сигнальных систем растений (АБК-сигналинга). На примере растений картофеля было показано, что снижение их способности реагировать на затенение повышает

урожайность. Однако сигнальные системы, обеспечивающие восприятие соседних растений, остаются слабо изученными. Ранее нами было показано снижение содержания цитокининов у конкурирующих растений салата [Arkhipova et al., 2015]. Внесение в их ризосферу бактерий, способных продуцировать цитокинины, снижало ристингибирующее действие повышенной плотности посадки [Архипова и др., 2014]. Полевые исследования показали, что обработка семян пшеницы этими бактериями увеличивала количество выживших растений, но, несмотря на возрастание плотности их стояния, урожайность отдельных растений не снижалась [Кудоярова и др., 2014]. Падение содержания ауксинов в корнях растений салата под влиянием конкуренции также было зарегистрировано одновременно со снижением массы корней [Высоцкая и др., 2016, в печати]. Необходимость ауксинов для развития корневой системы [Teale et al., 2005] дает основание предполагать, что ингибирование роста корней у конкурирующих растений могло быть следствием уменьшения содержания в них этих гормонов. Поскольку в коллекции Уфимского института биологии РАН были идентифицированы бактерии,

способные продуцировать ауксины [Кузьмина и др., 2015], представляло интерес выяснить, как их внесение в ризосферу скажется на росте растений и содержании ауксинов в побегах и корнях.

### Материалы и методы

Растения салата *Lactuca sativa* L. выращивали в климатической камере при освещенности  $240 \mu\text{моль м}^{-2} \text{с}^{-1}$ , 14-часовом световом периоде, относительной влажности воздуха 70%, температуре воздуха 25/19°C - день/ночь. Сначала проращивали семена в общем контейнере, а через неделю после всходов растения пересаживали в вегетационные сосуды (горшки) с песком объемом 200 мл по одному или 3 растения. Песок в горшках перед посадкой растений насыщали одинаковым объемом 100%-ного питательного раствора Хогланда-Арнона. Влажность поддерживали на уровне 60-80% от полной влагоемкости, поливая растения 2 раза в день. Утром растения поливали 100%-ным раствором Хогланда-Арнона в количестве, равном минимальному уровню эвапотранспирации за период времени между поливами. Растения, уровень транспирации которых превышал минимальный, дополнительно поливали дистиллированной водой. Таким образом, растения всех вариантов получали равное количество ионов и воды.

Через двое суток после пересадки растений в корневую среду вносили ауксин продуцирующие бактерии *Paenibacillus illinoisensis* IB 1087 из коллекции Уфимского института биологии РАН [Кузьмина и др., 2015]. Отмытую и отделенную центрифугированием бактериальную биомассу разводили стерильной водопроводной водой таким образом, чтобы при увлажнении песка добиться концентрации  $10^6$  КОЕ/г песка. Массу побегов и корней растений определяли на 4 и 12 сутки после пересадки по одному и по три растения в горшок, показатель специфической листовой поверхности (SLA) рассчитывали через 2 суток после внесения в корнеобитаемую среду клеток ауксин продуцирующих бактерий.

Определение содержания ИУК в тканях растений проводили с помощью иммуоферментного анализа [Vysotskaya et al., 2003]. Экстракцию ИУК проводили по модифицированной схеме с уменьшением объема [Veselov et al., 1992].

На графиках и рисунках представлены средние значения и ошибка средней ( $n=20$  при определении показателей роста растений и  $n=9$  при определении содержания гормонов).

### Результаты и обсуждение

Через 12 дней после пересадки масса побегов и корней одиночных растений была больше, чем у растений, которые сажали по три (конкурирующие) в вегетационный сосуд (рис. 1). Соотношение массы побега к массе корня при этом было одинаковым у одиночных и конкурирующих растений.

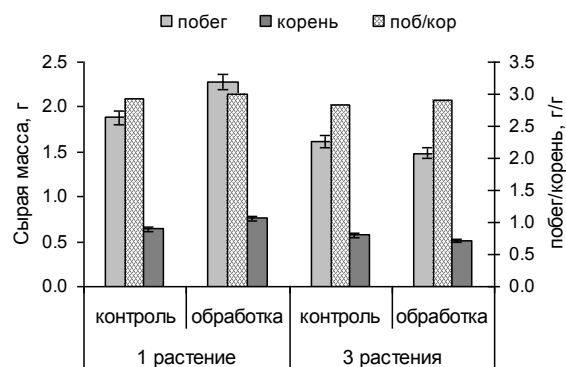


Рис. 1. Масса побегов и корней и соотношение масс побег/корень растений салата через 12 суток после пересадки по одному (1 растение) и по три (3 растения) в один вегетационный сосуд половина из которых в каждом варианте была обработана ауксин продуцирующими бактериями *P. illinoisensis* (обработка) через 2 суток после пересадки до концентрации  $10^6$  КОЕ/г песка.

Относительная активация роста корней (увеличение соотношения массы корня к массе побега) считается индикатором конкуренции растений за почвенные ресурсы, т.е. воду и элементы минерального питания (преобладание конкуренции под землей) [Roorter et al., 2012]. Обратный процесс, т.е. относительная активация роста побега по сравнению с корнями указывает на большее значение конкуренции за свет. Поэтому важно было оценить показатели роста в более ранние сроки, поскольку в начале эксперимента плотность листового покрытия была значительно больше у сгруппированных по три в одном горшке растений. А при более длительном выращивании одиночные растения, размещенные в расположенных рядом горшках, также начинали формировать более плотное листовое покрытие, что в дальнейшем нивелировало различия между одиночными и сгруппированными по три в горшке растениями [Архипова и др., 2015]. Через 4 дня после пересадки растений соотношение масс побег/корень было выше у конкурирующих растений, что свидетельствует о ростовой реакции при конкуренции за свет (рис. 2). Кроме того, у растений было обнаружено увеличение показателя SLA (specific leaf area),

который рассчитывают как отношение площади листьев к их массе, и который также характеризует ростовую реакцию на световой сигнал (рис. 3). Это согласуется с результатами наших экспериментов с аналогичной постановкой опытов [Высоцкая и др., 2016, в печати]. Отсутствие изменений соотношения массы побега и корня в более поздние сроки (12 суток конкурентных отношений) может свидетельствовать о последующем доминировании конкуренции за ресурсы под землей, в результате чего соотношение масс побег/корень менялось в пользу корней и нивелировало различия, обнаруженные через 4 дня.

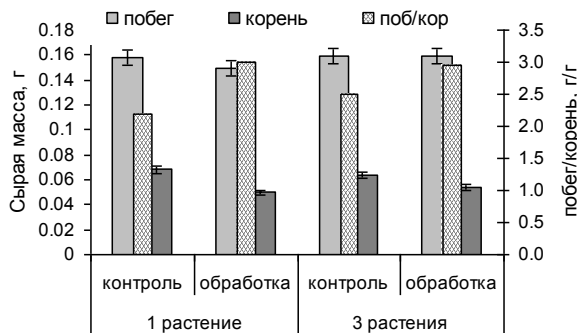


Рис. 2. Масса побегов и корней и соотношение масс побег/корень растений салата через 4 суток после пересадки по одному (1 растение) и по три (3 растения) в один вегетационный сосуд, половина из которых в каждом варианте была обработана ауксин продуцирующими бактериями *P. illinoisensis* (обработка) через 2 суток после пересадки до концентрации  $10^6$  КОЕ/г песка.

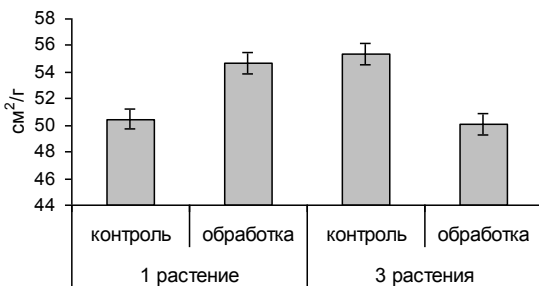


Рис. 3. Отношение площади листьев к их массе (SLA - specific leaf area) у растений салата, которые росли 4 суток после пересадки по одному (1 растение) и по три растения (3 растения) на один вегетационный сосуд, половина из которых в каждом варианте была обработана препаратом ауксин продуцирующих бактерий *P. illinoisensis* (обработка) через 2 суток после пересадки до концентрации  $10^6$  КОЕ/г песка.

Присутствие в горшках соседних конкурирующих растений через 4 суток снижало в них концентрацию ауксинов по сравнению с растениями, которые росли по одному (рис. 4). Ранее нами было показано, что уменьшение концентрации ауксинов в корнях конкурирующих растений через сутки после увеличения плотности посадки сопровождалось накоплением ауксинов в побеге [Высоцкая и др., 2016, в печати], что в этом случае позволяло объяснить падение уровня ауксинов в корнях торможением их оттока из побега. Такое предположение соответствует данным литературы о снижении скорости транспорта ауксинов под влиянием затенения [Salisbury et al., 2007].

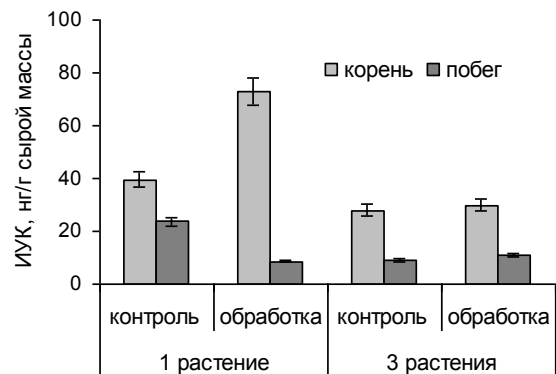


Рис. 4. Концентрация ауксинов в побегах и корнях растений салата, которые росли 4 суток после пересадки по одному (1 растение) и по три растения (3 растения) на один вегетационный сосуд, половина из которых в каждом варианте была обработана препаратом ауксин продуцирующих бактерий *P. illinoisensis* (обработка) через 2 суток после пересадки до концентрации  $10^6$  КОЕ/г песка.

В настоящих экспериментах содержание ауксинов снижалось под влиянием конкуренции, как в побегах, так и корнях, которое предшествовало уменьшению массы растения к 12-ым суткам конкуренции. Это свидетельствует о причастности ауксинов к регуляции роста растений при конкуренции не только при ответе на световой сигнал при разной плотности листового покрытия [Высоцкая и др., 2016, в печати].

Интересно то, что через двое суток после внесения в почву ауксин продуцирующих бактерий (к 4-тым суткам после пересадки растений по одному и по три на горшок) у одиночных растений наблюдали увеличение соотношения массы побега к массе корней (рис. 2), а показатель SLA достигал значения конкурирующих растений (рис. 3). Это говорит о том, что растения демонстрировали

ростовой ответ аналогичный реакции на затенение. Соответственно, эти наблюдения свидетельствуют в пользу того, что ауксины, поступающие из корней в результате внесения в почву бактерий продуцентов ауксинов, могут быть причастны к регуляции роста побега и листа при конкуренции за свет. Что касается гормонального баланса, то на четвертые сутки только эти растения отличались высокой концентрацией ауксина в корне, т.е. перераспределением этого гормона в пользу подземного органа (рис. 4). И только эти растения характеризовались увеличением массы и побега, и корня в конце эксперимента. Полученные данные согласуются с результатами, которые были получены при обработке выращиваемых в горшках с почвой растений пшеницы суспензией клеток этих же ауксин продуцирующих бактерий [Кудоярова и др. 2016, в печати]. Ростовому ответу растений пшеницы предшествовало накопление ауксинов в корнях. В данных экспериментах у конкурирующих обработанных и необработанных бактериями растений салата не было накопления ауксинов, напротив, наблюдалось снижение их концентрации и в побегах, и в корнях. Можно было ожидать, что введение в ризосферу конкурирующих растений бактерий, способных продуцировать ауксины, повысит их уровень в растениях и тем самым нивелирует ингибирующее влияние конкуренции на рост растений, обнаруженное нами как ранее [Высоцкая и др., 2016 в печати], так и в данных опытах (рис. 2). Но, как уже обсуждалось выше, обработка растений ауксин продуцирующими бактериями повышала накопление биомассы побегами и корнями не конкурирующих, а одиночных растений.

Снижение уровня любого соединения может быть следствием или ингибирования его синтеза, или активации распада. Если бы уменьшение концентрации ауксинов в результате конкуренции было только следствием ингибирования их синтеза, логично было бы ожидать прибавки этих гормонов после внесения бактерий. Отсутствие этого эффекта указывает на вероятное повышение скорости распада ауксинов под влиянием конкуренции (за счет конъюгации или окисления). Повышенной активностью процессов, направленных на снижение уровня активной формы ауксинов, можно объяснить отсутствие накопления этих гормонов у конкурирующих растений после внесения бактерий (в отличие от одиночных, у которых концентрация ауксинов в корнях под влиянием бактерий возрастала). Поступающие извне ауксины очевидно могли быть инактивированы в результате высокой интенсивности процесса их метаболизации у сгруппированных по три в горшке растений.

Таким образом, нам не удалось с помощью внесения ауксин продуцирующих бактерий в ризосферу растений салата снизить ростингибирующее действие конкуренции. В этом было отличие ауксин продуцирующих от изученных ранее цитокинин продуцирующих бактерий [Arkhipova et al., 2015]. Следовательно, можно предположить, что роль ауксинов более выражена при регуляции ростового ответа на световой сигнал о предстоящем затенении, в то время как цитокинины выходят на первый план при недостатке ресурсов, когда необходимо включение механизмов повышения эффективности использования ресурсов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, гранты: №14-04-97049, №14-04-00775.

#### Цитированная литература

1. Архипова Т.Н., Кудоярова Г.Р., Мартыненко Е.В., Высоцкая Л.Б. Влияние цитокининпродуцирующих бактерий на продуктивность загущенных посевов растений салата. Материалы Конференции с международным участием "Биотехнология — от науки к практике", 23-26 сентября 2014 г. С. 66-68.
2. Высоцкая Л.Б., Архипова Т.Н., Кудоярова Г.Р. Влияние конкуренции и обработки растений ингибитором рецепторов этилена на рост растений салата и содержание в них гормонов // Известия УНЦ РАН. 2016 (в печати).
3. Кудоярова Г.Р., Высоцкая Л.Б., Архипова Т.Н., Кузьмина Л.Ю., Сидорова Л.В., Габбасова Э.М., Мелентьев А.И. Повышение устойчивости растений к дефициту воды и фосфора с помощью гормонпродуцирующих ризосферных микроорганизмов // Биологические аспекты распространения, адаптации и устойчивости растений. Материалы Всероссийской (с международным участием) научной конференции. Саранск 2014 г., ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарёва», 20–22 ноября. С. 122-125.
4. Кудоярова Г.Р., Высоцкая Л.Б., Архипова Т.Н., Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Сидорова Л.В., Габбасова И.М., Мелентьев А.И. Влияние ауксин продуцирующих и фосфатмобилизирующих бактерий на подвижность почвенного фосфора, скорость роста растений пшеницы и усвоение ими фосфора // Агрехимия. 2016 (в печати).

5. Кузьмина Л.Ю., Высоцкая Л.Б., Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Рябова А.С., Мелентьев А.И. Новые штаммы фосфатмобилизующих бактерий, продуцирующих ауксин, перспективные для сельскохозяйственной биотехнологии // Известия УНЦ РАН. 2015, №1. С. 40-46.
6. Arkhipova T.N., Vysotskaya L.B., Martinenko E.V., Ivanov I.I., G. R. Kudoyarova G.R. Participation of cytokinins in plant response to competitors // Russ J. Plant Physiol. 2015. V. 62. P. 524–533.
7. Boccalandro H., Ploschuk E.L., Yanovsky M.J., Sanchez R.A., Gatz C., Casal J.J. Increased phytochrome B alleviates density effects on tuber yield of field potato crops // Plant Physiol. 2003. V. 133. P. 1539–1546.
8. Pierik R., Visser E.J.W., De Kroon H., Voesenek L.A.C.J. Ethylene is required in tobacco to successfully compete with proximate neighbours // Plant Cell Environ. 2003. V. 26. P. 1229–1234.
9. Poorter H., Niklas K.J., Reich P.B., Oleksyn J., Poot P., Mommer L. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control // New Phytologist. 2012. V. 193. P. 30–50.
10. Salisbury F.J., Hall A., Grierson C.S., Halliday K.J. Phytochrome coordinates Arabidopsis shoot and root development // Plant J. 2007. V. 50. P. 429–438.
11. Teale W.D., Paponov I.A., Ditengou F., Palme K. Auxin and the developing root of *Arabidopsis thaliana* // Physiol. Plantarum. 2005. V. 123. P. 130–138.
12. Veselov S.U., Kudoyarova G.R., Egutkin N.L., Gyuli-Zade V.G., Mustafina A.R., Kof E.K. Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole 3-acetic acid // Physiol. Plant. 1992. V. 86. P. 93–96.
13. Vysotskaya L., Wilkinson S., Davies W.J., Arkhipova T., Kudoyarova G. The effect of competition from neighbours on stomatal conductance in lettuce and tomato plants // Plant Cell Environ. 2011. V. 34. P. 729–737.
14. Vysotskaya L.B., Arkhipova T.N., Timergalina L.N., Kudoyarova G.R. Effect of partial root excision on shoot water relations, IAA content and leaf extension in wheat seedlings // J. Plant Physiol. 2003. V. 160. P. 1011-1015.

#### **GROWTH OF LETTUCE PLANTS IN THE PRESENCE OF COMPETITORS AND EFFECT OF ADDITION OF AUXIN PRODUCING MICROORGANISMS INTO THEIR RHIZOSPHERE**

Vysotskaya L.B., Arkhipova T.N., Kuzmina L.Yu., Trekozova A.V., Galimzianova N.F., Kudoyarova G.R.

Ufa Institute of Biology, Russian Academy of Sciences  
pr. Oktyabrya 69, 450054 Ufa, Russian Federation, phone/FAX:+7(347) 235-53-62

#### **Resume**

We have studied the effect of introducing auxin producing bacteria into the rhizosphere of lettuce plants on the dynamics of growth and auxin content in shoots and roots under different density of planting (one and three plants in the pot). Fast growth response was in the increase in mass shoot/root ratio in plants growing either in group or alone after the treatment with auxin producing bacteria. He later was also characterized by an increase in the ratio of leaf area to mass. Two weeks after introduction of bacteria into rhizosphere we detected a decline in the mass of shoots and root of competing plants either treated on untreated with bacteria. The increase in the mass of lonely growing plants was preceded by accumulation of auxins in the roots. The role of auxins in the control of plant growth under competition is discussed.

**Keywords** :lettuce, competition, growth, auxin producing bacteria