

ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НИКЕЛЯ В КОРНЯХ ПШЕНИЦЫ

Ю.В. Смирнова¹, З.М. Курамшина¹, Р.М. Хайруллин²

¹Стерлитамакский филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Башкирский государственный университет, Стерлитамак, Россия, kuramshina_zilya@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, krm62@mail.ru

Аннотация. Изучено влияние инокуляции семян пшеницы мягкой сорта Омская 35 на распределение никеля в корнях растений. С помощью гистохимического анализа поперечных срезов корней 30-ти дневных растений пшеницы показано, что обработка семян клетками эндофитного штамма *Bacillus subtilis* 11ВМ увеличивает поступление ионов никеля в растительные ткани.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, эндофиты, никель, тяжелые металлы

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1139-1142

Никель является одним из наиболее распространенных тяжелых металлов, загрязняющих окружающую среду. В низких концентрациях он является важным элементом, необходимым для нормального роста и развития многих видов растений. Этот металл легко поглощается корневой системой и может накапливаться в корнях и побегах [Gautama et al., 2017]. Высокие дозы никеля вызывают значительные отклонения в метаболизме растительных клеток, нарушая ход реакций фотосинтеза и дыхания, индуцируя окислительный стресс. Тяжелые металлы поступают в растения, в основном, через корневую систему. Поэтому именно корни являются главным барьером на пути поступления тяжелых металлов в растительные ткани. Известно, что зрелые ткани экзодермы и эндодермы ограничивают радиальный транспорт ионов некоторых металлов по апопласту корня, в частности кадмия и свинца [Серегин и др., 2003]. Однако данный механизм не является универсальным для всех тяжелых металлов. Поэтому изучение особенностей их поступления и распределения в клетках корней является одной из важных задач.

В последнее десятилетие значительно возрос интерес к возможности использования ризосферных и эндофитных ростстимулирующих бактерий не только для стимуляции роста растений на загрязненных тяжелыми металлами почвах, но и для регуляции их поступления в растительный организм [Белимов, 2011; Sessitsch et al., 2013]. Ряд особенностей ризосферных бактерии рода *Bacillus*, таких как синтез хелатирующих соединений, подкисление среды за счет выделения органических кислот, растворение фосфатов и других труднорастворимых солей, делает изучение этих микроорганизмов наиболее перспективным.

В связи с этим, целью настоящей работы явилось изучение влияния инокуляции семян эндофитным штаммом бактерий *B. subtilis* 11ВМ на распределение никеля в тканях корней пшеницы.

В качестве объекта исследования были выбраны растения пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) сорта Омская-35. Все опыты проводили в лабораторных условиях. Семена растений перед обработкой клетками бактерий промывали в мыльной воде, стерилизовали этиловым спиртом (96%-ым раствором) в течение 1 мин, ополаскивали в дистиллированной воде, подсушивали на воздухе. Для инокуляции семян использовали 20-часовую культуру бактерий *Bacillus subtilis* 11ВМ (ВНИИСХМ, № 519),

выращенную на мясо-пептонном агаре при +37 °С. Обработку бактериями проводили в стерильных условиях, в ламинар-боксе. Клетки эндофитов отмывали 0,001 М раствором КСl, затем концентрацию суспензии довели до 10⁶ кл/мл по оптической плотности. Расход препарата составил 20 мкл на 1 г семян. После обработки препаратом семена выдерживали в течение часа, затем использовали в экспериментах. Семена контрольных растений обрабатывали дистиллированной водой. Обработанные бактериями и контрольные семена выращивали в вегетационных сосудах, в качестве субстрата использовали чернозем выщелоченный. Загрязнение почвы имитировали, поливая её раствором соли Ni(NO₃)₂×4H₂O в следующих концентрациях: 10, 200 мг/кг почвы. В контроле почву в сосудах поливали дистиллированной водой.

Растения выращивали в течение 30 дней при температуре 18-20 °С при освещении 12 клк и 16-часовом фотопериоде. Пробы отбирали одновременно во всех вариантах опыта. Корни 30-ти суточных растений, выросших в почве с различной концентрацией никеля, аккуратно отмывали в водопроводной, затем в дистиллированной воде, делали поперечные срезы (не менее 30 с одного варианта опыта).

Метод гистохимического определения локализации никеля основан на способности металла образовывать с диметилглиоксимом окрашенный в малиновый цвет комплекс. Поперечные срезы корня на расстоянии 10–15 мм от апекса помещали на предметное стекло, затем наносили 3–4 капли свежеприготовленного раствора диметилглиоксима. Через 2 минуты срезы рассматривали под микроскопом при разных увеличениях, отмечая ткани, локализовавшие никель [Серёгин, Кожевникова, 2008]. Микрофотографии клеток получали с помощью системы визуализации к микроскопу ЛабoМед-3 (Россия).

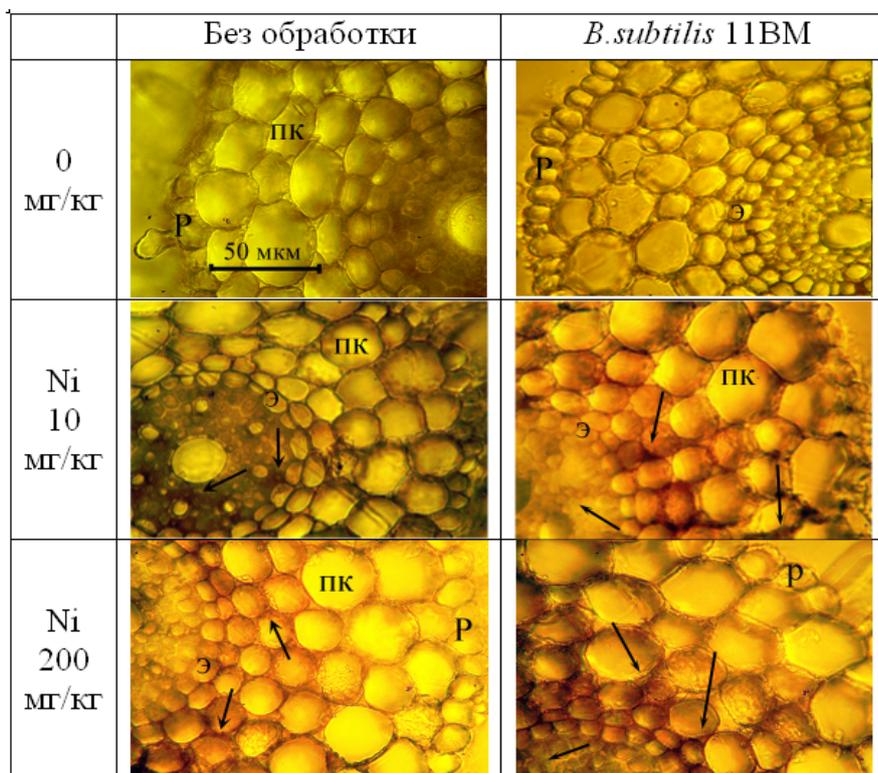


Рисунок. Локализация ионов никеля в клетках корней растений *Triticum aestivum* L., выращенных в условиях загрязнения почвы никелем: ПК – первичная кора, Р - ризодерма, Э – эндодерма. Стрелками указаны места локализации никеля.

В ходе экспериментов было выявлено, что количество никеля в тканях корней пшеницы повышалось с увеличением концентрации металла в почве. В корнях

необработанных бактериями растений металл откладывался преимущественно в клетках первичной коры и центрального цилиндра (рисунок).

В тканях корней растений, обработанных клетками эндофитных бактерий, растущих в почве с никелем (10 мг/кг), кристаллов никеля было больше по сравнению с необработанными растениями. Как и в клетках необработанных растений, металл выявлялся, главным образом, в первичной коре, и небольшая его часть проникала в клетки центрального цилиндра. С повышением концентрации никеля в почве (200 мг/кг), его содержание в корнях инокулированных растений пшеницы также увеличивалось, и визуальных отличий в локализации металла между обработанными и необработанными проростками не было обнаружено.

Ранее нами было показано уменьшение поступления кадмия в растения пшеницы, инокулированные клетками эндофитных штаммов *Bacillus subtilis*, за счет иммобилизации металла клетками бактерий [Курамшина и др., 2016]. Кроме того, известно, что ограничение поступления тяжелых металлов в растения может происходить за счет усиленной лигнификации клеточных стенок корня, которая препятствует передвижению металлов, в частности кадмия и свинца, по апопласту. В отличие от вышеназванных металлов, ионы никеля проникают в протопласты клеток корней [Серегин и др., 2003; Серегин, Кожевникова, 2008] и, следовательно, его транспорт может осуществляться как по апопласту, так и по симпласту. В таких условиях укрепление клеточной стенки за счет интенсивной лигнификации не будет ограничивать транспорт ионов никеля по растению, а повышение подвижных форм металла в ризосфере, вызванное продукцией бациллами органических кислот и других биологически активных веществ, напротив, будет способствовать более интенсивному поступлению никеля в растение.

Таким образом, инокуляция семян пшеницы клетками эндофитного штамма *B. subtilis* 11ВМ увеличивает поступление ионов никеля в растительные ткани, вследствие чего применение препаратов на основе данных штаммов бактерий при загрязнении почвы никелем требуется ограничить.

Литература

Белимов А.А., Кунакова А.М., Сафронова В.И., Кожемяков А.П., Степанок В.В., Юдкин Л.Ю., Алексеев Ю.В. Использование ассоциативных бактерий для инокуляции ячменя в условиях загрязнения почвы свинцом и кадмием // Микробиология. – 2004. – Т. 73. – С. 118–125.

Курамшина З.М., Смирнова Ю.В., Хайруллин Р.М. Повышение толерантности *Triticum aestivum* к кадмий-стрессу с помощью эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, № 5. – С. 1–9.

Серегин И.В., Кожевникова А.Д. Роль тканей корня и побега в транспорте и накоплении кадмия, свинца, никеля и стронция // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 1. – С. 3–26.

Серегин И.В., Кожевникова А.Д., Казюмина Е.М., Иванов В.Б. Токсическое действие и распределение никеля в корнях кукурузы // Физиология растений. – 2003. – Т. 50. – С. 793–800.

Gautama S., Rathoure A.K., Chhabra A., Pandey S.N. Effects of nickel and zinc on biochemical parameters in plants- a review // Octa Journal of Environmental Research Jan. – 2017. – V. 5 (1). – P. 014–021.

Sessitsch A., Kuffner M., Kidd P., Vangronsveld J., Wenzel W.W., Fallmann K., Puschenreiter M. The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils // Soil Biology & Biochemistry. – 2013. – V. 60. – P. 182–194.

INFLUENCE OF ENDOPHYTIC *BACILLUS SUBTILIS* ON THE NICKEL DISTRIBUTION IN WHEAT ROOTS

Yu.V. Smirnova¹, Z.M. Kuramshina¹, R.M. Khairullin²

¹The Sterlitamak Branch of the Bashkir State University, Sterlitamak, Russia,
kuramshina_zilya@mail.ru

²Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia,
krm62@mail.ru

Abstract. The influence of inoculation of wheat seeds (Omskaya 35) on the nickel distribution in plant roots was studied. With the histochemical analysis of transverse sections of the 30-day wheat plants roots, it was shown that seed treatment by cells of *Bacillus subtilis* 11BM increases the flow of nickel ions into plant tissues.

Keywords: *Bacillus subtilis*, endophytes, nickel, heavy metals