



# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



## ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ-ДЕСТРУКТОРОВ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ НА ПРОРАСТАНИЕ И РОСТ РАСТЕНИЙ

**Бакаева М.Д., Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф.,  
Четверикова Д.В., Столярова Е.А.,  
Мухаматдьярова С.Р., Кудоярова Г.Р.**

Уфимский институт биологии Уфимского федерального  
исследовательского центра РАН, Уфа  
E-mail: [biolab316@yandex.ru](mailto:biolab316@yandex.ru)

## THE INFLUENCE OF BACTERIA-DESTRUCTORS HYDROCARBONS OF PETROLEUM ON GERMINATION AND GROWTH OF PLANTS

**Bakaeva M.D., Kuzina E.V., Rafikova G.F.,  
Chetverikova D.V., Stolyarova E.A.,  
Muhamatd'yarova S.R., Kudoyarova G. R.**

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of  
the Russian Academy of Sciences, Ufa  
E-mail: [biolab316@yandex.ru](mailto:biolab316@yandex.ru)

Способность бактерий стимулировать рост растений может играть важную роль в осуществлении процесса фиторемедиации ассоциацией микроорганизмов и растений. Однако недостаточно внимания уделялось способности бактерий-деструкторов нефти влиять на рост растений. В данной работе изучено влияние бактериализации семян рядом штаммов бактерий-деструкторов нефти рода *Pseudomonas* (*P. extremaustralis* IB K2, *P. hunanensis* IB C7, *P. nitroreducens* IB ND1.1, *P. plecoglossicida* 2.4-D, *P. sihuiensis* IB P1, *P. turukhanskensis* IB-1.1) из коллекции Уфимского института биологии УФИЦ РАН на всхожесть семян и накопление биомассы проростками овса (*Avena sativa* L.), ячменя (*Hordeum vulgare* L.), суданской травы (*Sorghum × drummondii*), гороха посевного (*Pisum sativum* L.), коостра безостого (*Bromus inermis* Leyss), овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds) и клевера лугового (*Trifolium pratense* L.), относительно устойчивых к загрязнению нефтью. Выявлены особенности влияния бактериализации семян на их всхожесть и накопление биомассы проростками разных видов растений. Так, накопление биомассы проростками ячменя и овса отличалось высокой чувствительностью к бактериализации, и активность процесса возрастала под влиянием многих штаммов, в то время как гораздо меньшее количество штаммов бактерий было способно увеличить всхожесть семян у растений этих двух видов. У растений клевера, коостра безостого и гороха, напротив, более чувствительным к бактериализации оказался процесс прорастания семян по сравнению с процессом накопления биомассы проростков. Разведение жидкой культуры псевдомонад при бактериализации семян влияло на ростовую реакцию растений, что во многих случаях удалось связать с уровнем накопления ауксина в культуральной жидкости бактерий. Так, только максимальная концентрация клеток штамма *P. extremaustralis* IB K2 с низким уровнем продукции ауксина стимулировала накопление биомассы проростков отдельных видов растений. В тоже время, количество видов, у которых штамм *P. turukhanskensis* IB-1.1 с самым высоким уровнем продукции этого гормона стимулировал накопление биомассы, возрастало с разведением его жидкой культуры. Наиболее способным активировать рост большого количества видов растений оказался штамм *P. hunanensis* IB C7 со средним и, очевидно, самым эффективным уровнем продукции ауксина. В отличие от накопления биомассы проростков всхожесть семян возрастала под влиянием *P. turukhanskensis* IB-1.1 у наибольшего количества видов в случае максимальной концентрации его клеток в суспензии. Различия во влиянии этого штамма на прорастание и дальнейший рост растений можно объяснить способностью высоких концентраций ауксина стимулировать продукцию этилена, который ингибирует рост растений, но стимулирует прорастание семян.

**Ключевые слова:** бактерии-нефтедеструкторы, *Pseudomonas*, ауксины, бактериализация семян, всхожесть, биомасса проростков

Capacity of bacteria to stimulate plants growth may play an important role in the implementation of phytoremediation by association of microorganisms and plants. However not sufficient attention has been paid to ability of bacteria-destructors of petroleum to influence plants growth. In the present research, we studied the effects of seed bacterization with bacteria of *Pseudomonas* genus capable of destructing oil hydrocarbons (*P. extremaustralis* IB K2, *P. hunanensis* IB C7, *P. nitroreducens* IB ND 1.1, *P. plecoglossicida* 2.4-D, *P. sihuiensis* IB P1, *P. turukhanskensis* IB-1.1) from the collection of Ufa Institute of Biology UFRC on the seed germination and accumulation of the seedling biomass of oats (*Avena sativa* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.) Sudan grass (*Sorghum × drummondii*), pea (*Pisum sativum* L.), smooth brome (*Bromus inermis* Leyss.), meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.), and clover (*Trifolium pratense* L.) relatively resistant to oil contaminants. We revealed some peculiarities on the effects of seed bacterization on their germination and accumulation of seedling biomass of different plants species. Thus, the process of biomass accumulation by oats and barley was distinguished by high sensitivity to bacterization and activity of the process was increased by many bacterial strains, while much less number of bacterial strains was capable of increasing seed germination of these two plant species. On the contrary, germination in clover and smooth brome was more sensitive to bacterization than accumulation of biomass by their seedlings. Dilution of cultural media during seed bacterization influenced plant growth response and in many cases it was possible to relate it to the level of auxins in bacterial culture media. Thus only maximal concentration of cells of strain *P. extremaustralis* IB K2 characterized by low capacity of auxin production stimulated biomass accumulation by the seedlings of some distinct plant species. At the same time, the number of plants species, whose biomass accumulation was stimulated by *P. turukhanskensis* IB-1.1 strain with high level of auxin production, increased with the dilution of the bacterial culture media. *P. hunanensis* IB C7 stain with intermediate and likely most effective level of auxin production was capable of activating the growth of the greatest number of plants species. Unlike accumulation of seedling biomass, seed germination was increased by *P. turukhanskensis* IB-1.1 in greater number of species in the case of greater concentration of its cells in the suspension. The difference between the effect of this strain on germination and further seedling growth may be explained by capacity of high concentration of auxin to stimulate production of ethylene, i.e. the hormone inhibiting plant growth, but stimulating seed germination.

**Keywords:** bacteria-destructors of petroleum, *Pseudomonas*, auxins, bacterization of seeds, germination, biomass of seedlings

Поступила в редакцию: 28.05.2019

DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-2-175-183

## ВВЕДЕНИЕ

Очистка почв, загрязненных углеводородами нефти – серьезная проблема. В отличие от механических и физико-химических способов очистки, которые могут вызывать нарушения структуры и функций почвы, биоремедиация является экологически чистой технологией [Han et al., 2016]. Одним из наиболее эффективных методов биоремедиации является фиторемедиация, основанная на использовании ассоциации растений и бактерий-деструкторов углеводов. Взаимовыгодный симбиоз между ними основан на повышении эффективности процесса бактериальной деструкции углеводов под влиянием органических соединений и кислорода, продуцируемых и выделяемых растениями [Kamath et al., 2004]. В свою очередь, микроорганизмы способны стимулировать рост растений как за счет снижения токсичности для растений компонентов нефти в результате их деструкции [Khan et al., 2013], так и благодаря их непосредственному влиянию на рост растений с помощью продуцируемых бактериями регуляторов роста растений [Shi et al., 2017]. Хотя способность ризосферных бактерий стимулировать рост растений интенсивно изучается [Kudoyarova et al., 2015], сведения о влиянии на этот процесс бактерий-деструкторов нефти немногочисленны.

В задачу данной работы входило изучение влияния ряда штаммов бактерий из рода *Pseudomonas* на прорастание и накопление биомассы растениями суданской травы (*Sorghum × drummondii*), клевера лугового (*Trifolium pratense* L.), ячменя (*Hordeum vulgare* L.), гороха посевного (*Pisum sativum* L.), костра безостого (*Bromus inermis* Leyss), овса (*Avena sativa* L.) и овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds), которые по данным литературы отличаются относительной устойчивостью к действию углеводородов нефти [Xu, Johnson, 1997; Kamath et al., 2004; Dickinson, Rutherford, 2006; Muratova et al., 2008; Soleimani et al., 2010; Ertekin et al., 2011; Shtangeeva et al., 2018]. Поскольку известно, что продукция бактериями гормонов растений, в частности ауксинов, играет важную роль в их ростстимулирующем действии на растения [Sraepen, Vanderleyden, 2011], определялось содержание ауксина индолилуксусной кислоты (ИУК) в культуральной жидкости бактерий.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Влияние штаммов псевдомонад на растения изучали на проростках суданской травы сорта Чишминская ранняя, клевера лугового сорта Ранний 2, ячменя сорта Челябинский 99, гороха посевного сорта Чишминский 229, костра безостого сорта Чишминский 3, овса сорта Конкур и овсяницы луговой сорта Уфимка. Для бактериализации семян растений использовали штаммы микроорганизмов, обладающие способностью к деструкции нефти, выделенные авторами из образцов почвы и воды и хранящиеся в коллекции Уфимского Института биологии УФИЦ РАН: *Pseudomonas extremaustralis* IB K2 (выделен из почвы, загрязненной нефтью (Республика Башкортостан, РФ)), *P. hunanensis* IB C7 (из степной почвы (Соль-Илецкий район, Оренбургская область, РФ)), *P. nitroreducens* IB ND1.1 [Бакаева и др., 2014], *P. plecoglossicida* 2.4-D [Четвериков и др., 2017], *P. sihuiensis* IB P1 (выделен из льяльной воды транспортного судна), *P. turukhanskensis* IB-1.1 [Korshunova et al., 2016].

Бактерии культивировали в жидкой питательной среде Кинг Б (г/л воды): пептон – 20,0, глицерин – 10,0,  $K_2HPO_4$  – 1,5,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 1,5 [King et al., 1954]. Посев штаммов в питательную среду производили из суспензий бактериальных клеток в стерильной водопроводной воде так, чтобы их исходный титр в питательной среде составлял  $(1 \pm 0,5) \cdot 10^5$ -

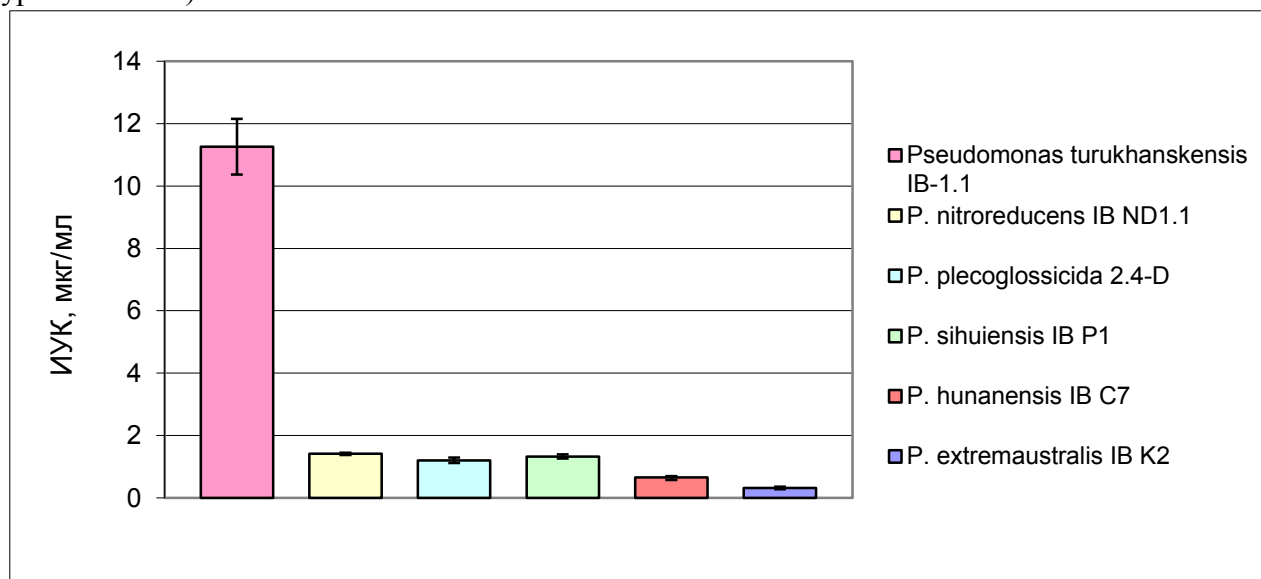
$10^6$  КОЕ/мл. Микроорганизмы культивировали в колбах Эрленмейера на термостатируемом шейкере (160 об/мин) при температуре 28°C в течение 96 часов.

Содержание ИУК в культуральной среде бактерий определяли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА). Перед экстракцией ИУК жидкую культуру бактерий центрифугировали при 10000 об/мин в течение 10 мин. Аликвоту супернатанта отбирали для экстракции ИУК диэтиловым эфиром, которую проводили по модифицированной схеме с уменьшением объема [Veselov et al., 1992]. Твердофазный иммуноферментный анализ проводили согласно описанию [Kudoyarova et al., 2017].

Инокуляцию семян осуществляли путем смачивания их поверхности жидкой культурой бактерий, таким образом, чтобы титр клеток составлял от  $10^3$  до  $10^6$  КОЕ/семя. Для этого готовили десятичные разведения из исходной культуры. Контрольные семена оставляли без обработки. Семена в шестикратной повторности раскладывали по 20-40 штук в чашки Петри на увлажненной фильтровальной бумаге и инкубировали на свету при температуре 20°C в течение 7 суток.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изученные штаммы бактерий различались по уровню накопления ИУК в культуральной жидкости (рис.). По концентрации этого ауксина лидером оказался штамм *P. turukhanskensis* IB-1.1 (концентрация ИУК – 11,3 мкг/мл), затем следовали штаммы *P. nitroreducens* IB ND 1.1, *P. sihuiensis* IB P1 и *P. plecoglossicida* 2.4-D (более 1 мкг/мл), *P. hunanensis* IB C7 (0,66 мкг/мл) и *P. extremaustralis* IB K2 (0,318 мкг/мл – самый низкий уровень ИУК).



**Рис. Продукция ИУК штаммами-нефтедеструкторами, культивируемыми на среде Кинг Б.**

Бактеризация семян растений по-разному влияла на их прорастание и накопление биомассы проростками. Наиболее ярко различия между действием бактерий на всхожесть семян и дальнейший рост проростков проявлялись у растений ячменя. Все изученные штаммы бактерий во всех концентрациях стимулировали накопление массы проростков ячменя (табл. 1). В то же время процесс прорастания семян ячменя был гораздо менее чувствительным к бактериальной инокуляции (табл. 2). При высокой концентрации бактерий ( $10^6$  КОЕ/семя) только один штамм из шести (*P. turukhanskensis* IB-1.1) стимулировал прорастание семян, а при промежуточной ( $10^5$  КОЕ/семя) и минимальной концентрации ( $10^4$  КОЕ/семя) – только два штамма.

Таблица 1. Влияние бактеризации на массу проростков растений

	Масса проростков, мг																			
	<i>Pseudomonas extremaustralis</i> IB K2	<i>P. humanensis</i> IB C7	<i>P. nitroreducens</i> IB ND 1.1	<i>P. plecoglossicida</i> 2.4-D	<i>P. sihuiensis</i> IB P1	<i>P. turukhanskensis</i> IB-1.1	<i>Pseudomonas extremaustralis</i> IB K2	<i>P. humanensis</i> IB C7	<i>P. nitroreducens</i> IB ND 1.1	<i>P. plecoglossicida</i> 2.4-D	<i>P. sihuiensis</i> IB P1	<i>P. turukhanskensis</i> IB-1.1	<i>Pseudomonas extremaustralis</i> IB K2	<i>P. humanensis</i> IB C7	<i>P. nitroreducens</i> IB ND 1.1	<i>P. plecoglossicida</i> 2.4-D	<i>P. sihuiensis</i> IB P1	<i>P. turukhanskensis</i> IB-1.1	Контроль	
<i>Sorghum</i> × <i>drummondii</i>	$10^{6*}$						$10^5$						$10^4$							
	30	<b>45</b>	31	38	28	40	28	40	37	<b>44</b>	39	41	32	<b>43</b>	35	36	32	39	34	
<i>Trifolium pratense</i> L.	$10^5$						$10^4$						$10^3$							
	2.67	<b>6.05</b>	<b>4.53</b>	2.54	2.84	2.76	2.46	<b>3.75</b>	<b>3.92</b>	2.32	2.93	2.21	2.19	2.74	2.90	2.52	2.28	2.71	2.60	
<i>Hordeum vulgare</i> L.	$10^6$						$10^5$						$10^4$							
	<b>147</b>	<b>156</b>	<b>143</b>	<b>142</b>	<b>162</b>	<b>166</b>	<b>150</b>	<b>172</b>	<b>160</b>	<b>156</b>	<b>179</b>	<b>179</b>	<b>151</b>	<b>160</b>	<b>154</b>	<b>178</b>	<b>149</b>	<b>164</b>	105	
<i>Pisum sativum</i> L.	$10^6$						$10^5$						$10^4$							
	581	<b>652</b>	615	<b>646</b>	<b>675</b>	628	626	<b>643</b>	<b>702</b>	591	<b>669</b>	602	603	608	606	606	587	578	598	
<i>Bromus inermis</i> Leyss	$10^5$						$10^4$						$10^3$							
	21.5	20.6	17.7	20.2	17.3	23.7	22.9	20.5	20.3	19.1	20.7	23.4	19.8	21.6	21.7	21.6	17.1	19.9	19.5	
<i>Avena sativa</i> L.	$10^5$						$10^4$						$10^3$							
	<b>86.0</b>	<b>112.4</b>	<b>80.5</b>	<b>99.3</b>	75.3	74.6	71.7	<b>82.0</b>	<b>82.5</b>	<b>78.8</b>	76.0	<b>101.3</b>	74.2	<b>106.0</b>	68.7	<b>103.4</b>	<b>90.2</b>	<b>96.0</b>	69.0	
<i>Festuca pratensis</i> Huds.	$10^6$						$10^5$						$10^4$							
	3.85	4.44	4.39	3.82	4.56	4.06	3.90	<b>4.88</b>	4.23	3.88	<b>4.72</b>	<b>4.84</b>	4.24	<b>4.98</b>	3.89	3.88	4.25	4.25	4.06	

\*- титр клеток, КОЕ/семя; полужирным шрифтом выделены значения, которые отличаются от контроля при  $p \leq 0,05$ , t-тест.

Таблица 2. Влияние бактеризации на прорастание семян растений

	Всхожесть семян, %																		
	<i>Pseudomonas extremaustralis</i> IB K2	<i>P. humanensis</i> IB C7	<i>P. nitroreducens</i> IB ND 1.1	<i>P. plecoglossicida</i> 2.4-D	<i>P. sihuiensis</i> IB P1	<i>P. turukhanskensis</i> IB-1.1	<i>Pseudomonas extremaustralis</i> IB K2	<i>P. humanensis</i> IB C7	<i>P. nitroreducens</i> IB ND 1.1	<i>P. plecoglossicida</i> 2.4-D	<i>P. sihuiensis</i> IB P1	<i>P. turukhanskensis</i> IB-1.1	<i>Pseudomonas extremaustralis</i> IB K2	<i>P. humanensis</i> IB C7	<i>P. nitroreducens</i> IB ND 1.1	<i>P. plecoglossicida</i> 2.4-D	<i>P. sihuiensis</i> IB P1	<i>P. turukhanskensis</i> IB-1.1	Контроль
<i>Sorghum</i> × <i>drummondii</i>	$10^6$ *						$10^5$						$10^4$						
	81.65	86.65	86.65	81.65	83.75	78.35	80.00	83.35	88.35	82.50	78.35	83.35	80.00	88.36	88.35	78.35	80.00	78.35	83.35
<i>Trifolium</i> <i>pratense</i> L.	$10^5$						$10^4$						$10^3$						
	39.18	<b>60.00</b>	<b>69.18</b>	<b>60.83</b>	36.88	<b>60.00</b>	43.33	<b>70.83</b>	<b>70.83</b>	<b>54.18</b>	36.88	40.83	30.83	<b>75.00</b>	<b>56.10</b>	<b>55.00</b>	38.13	35.83	35.00
<i>Hordeum vulgare</i> L.	$10^6$						$10^5$						$10^4$						
	95.00	96.65	91.25	96.65	96.65	<b>98.75</b>	96.65	96.65	96.65	91.65	<b>97.50</b>	<b>97.50</b>	<b>98.35</b>	<b>100.0</b>	96.65	93.35	96.65	92.50	91.65
<i>Pisum sativum</i> L.	$10^6$						$10^5$						$10^4$						
	93.35	<b>96.65</b>	<b>96.65</b>	<b>96.65</b>	<b>96.65</b>	<b>98.35</b>	95.00	<b>96.65</b>	90.00	<b>98.35</b>	<b>98.35</b>	95.00	<b>96.65</b>	<b>96.65</b>	93.35	<b>98.35</b>	<b>100.0</b>	<b>98.35</b>	91.10
<i>Bromus inermis</i> Leyss	$10^5$						$10^4$						$10^3$						
	57.90	<b>73.33</b>	66.05	<b>69.38</b>	56.65	59.38	55.00	<b>80.83</b>	66.45	<b>73.33</b>	64.38	65.50	57.50	57.50	49.18	67.50	66.68	<b>71.68</b>	59.18
<i>Avena sativa</i> L.	$10^5$						$10^4$						$10^3$						
	34.40	39.00	<b>56.10</b>	<b>52.50</b>	36.60	37.50	<b>51.25</b>	41.00	40.25	40.80	42.75	35.20	38.40	38.25	35.80	44.00	<b>57.50</b>	45.20	40.00
<i>Festuca pratensis</i> Huds.	$10^6$						$10^5$						$10^4$						
	47.50	37.50	37.00	44.38	38.13	37.50	40.62	44.38	37.00	39.38	43.75	40.63	39.38	37.50	37.50	41.88	49.38	38.13	43.13

\*- титр клеток, КОЕ/семя; полужирным шрифтом выделены значения, которые отличаются от контроля при  $p \leq 0,05$ , t-тест.

Наряду с ячменем высокую отзывчивость скорости накопления биомассы проростков под влиянием бактерий проявили растения овса. При всех трех концентрациях, четыре из шести испытанных штаммов стимулировали накопление массы проростков этого вида растений. *P. hunanensis* IB C7 и *P. plecoglossicida* 2.4-D были эффективными при всех концентрациях, у *P. extremaustralis* IB K2 стимулирующий эффект проявлялся только при максимальной концентрации, у *P. nitroreducens* IB ND1.1 – при максимальной и промежуточной, у *P. turukhanskensis* IB-1.1 – при промежуточной и минимальной. Чувствительность прорастания семян овса к бактериализации была гораздо меньше по сравнению с процессом дальнейшего накопления биомассы проростков (только один-два штамма бактерий увеличивали всхожесть семян при каждом разведении суспензии).

Более высокая чувствительность к бактериализации процессов накопления массы проростков по сравнению со всхожестью проявлялась также у растений суданской травы и овсяницы. Ни один из штаммов бактерий не влиял на всхожесть их семян, в то время как стимулирующее действие на накопление массы проростков было зарегистрировано при бактериализации семян обоих видов растений отдельными штаммами.

У растений клевера, костра безостого и гороха, напротив, более чувствительным к бактериализации оказался процесс прорастания семян по сравнению с процессом накопления биомассы проростков. У костра безостого ни один бактериальный штамм не стимулировал накопление биомассы проростков (табл. 1), а всхожесть возрастала при бактериализации несколькими штаммами (табл. 2). В то время как при максимальной концентрации бактерий только два штамма стимулировали накопление массы проростков клевера и три – проростков гороха, всхожесть возрастала при бактериализации семян гороха пятью штаммами из шести, и четырьмя штаммами - в случае клевера.

В количественном отношении увеличение всхожести семян было наиболее заметно у клевера: она возрастала почти в 2 раза по сравнению с контролем, что могло быть результатом низкой всхожести необработанных семян. Такое неоднозначное действие бактериализации на прорастание и дальнейший рост растений соответствует данным литературы [Kamath et al., 2004].

Для некоторых видов растений была характерна видовая специфичность их реакции на бактериализацию: они реагировали на одни штаммы бактерий и не реагировали на другие. Так у растений клевера накопление биомассы возрастало только под влиянием максимальной и промежуточной концентрации клеток *P. hunanensis* IB C7 и *P. nitroreducens* IB ND1.1. Растения, у которых стимулирующий эффект можно вызвать с помощью более широкого спектра штаммов бактерий, очевидно более удобны для осуществления процесса фиторемедиации. Однако и к другим видам растений можно подобрать штаммы бактерий-деструкторов нефти, которые будут эффективно стимулировать их рост.

Поскольку именно ауксины могут быть наиболее вероятным продуцируемым бактериями действующим веществом, важно было попытаться выявить связь между уровнем продукции ауксинов бактериями и их способностью стимулировать рост растений. Во многих случаях такую связь выявить удалось. Так бактерии штамма *P. extremaustralis* IB K2 (с самым низким уровнем накопления ИУК в культуральной жидкости), оказались способны стимулировать накопление биомассы только у растений овса и ячменя, которые отличались высокой отзывчивостью на бактериализацию и, вероятно, высокой чувствительностью к ауксинам. Только максимальная концентрация клеток *P. extremaustralis* IB K2 стимулировала накопление массы у овса, а с ее снижением стимулирующий эффект исчезал, что можно объяснить падением уровня ИУК до значений ниже действующей концентрации.

Разведение суспензии бактерий штамма *P. turukhanskensis* IB-1.1, отличавшегося высокой концентрацией ИУК (в 10 раз большей по сравнению со средним количеством у других штаммов), противоположным образом сказывалось на росте растений. Максимальная концентрация его клеток оказалась слабо эффективной и проявляла способность стимулировать накопление биомассы проростков только одного вида растений - ячменя. Напротив, с уменьшением концентрации клеток бактерий, *P. turukhanskensis* IB-1.1 стимулировал накопление биомассы проростков уже трех видов растений: ячменя, овса и овсяницы. Известно, что высокая концентрация ИУК способна подавлять рост растений за счет стимуляции продукции этилена [Glick et al., 2014]. Этим можно объяснить почти полное отсутствие стимулирующего эффекта на накопление биомассы при высокой концентрации клеток *P. turukhanskensis* IB-1.1 и появление более заметного стимулирующего эффекта при разбавлении суспензии клеток.

Наиболее эффективным, т.е. способным стимулировать накопление биомассы у наибольшего количества видов (пять из шести испытанных) оказался штамм *P. hunanensis* IB C7 с уровнем накопления ИУК 0,66 мкг/мл. Вероятно, этот уровень бактериальной продукции ИУК оказался оптимальным для данных видов растений. Вместе с тем, тест на разведение в случае этого штамма не сработал, и все разведения клеточной суспензии были почти в равной степени эффективны. Ранее нами было показано, что способность бактерий влиять на уровень ауксинов в растениях пшеницы, обеспечивая активацию их роста, зависит не только от уровня продукции ИУК бактериями, но и их способности колонизировать ризосферы растений [Kudoyarova et al., 2017]. Вероятно, бактерии *P. hunanensis* IB C7 быстро колонизировали корни растений, что могло нивелировать различия между действием разных концентраций бактерий, которые использовали при бактеризации семян.

Влияние разведения клеточной суспензии на всхожесть семян проявлялось менее явно, чем на накопление биомассы проростков. Снижение концентрации клеток, которую применяли для бактеризации семян, противоположным образом влияло на всхожесть семян по сравнению с его влиянием на накопление биомассы проростков. В то время как количество видов растений, у которых штамм *P. turukhanskensis* IB-1.1 стимулировал накопление биомассы, увеличивалось с разведением суспензии клеток, максимальное количество видов, у которых была зарегистрирована стимуляция прорастания под влиянием *P. turukhanskensis* IB-1.1, было выявлено на фоне их максимальной концентрации и снижалось при разведении суспензии клеток. Как уже упоминалось, данный штамм отличался высокой способностью к продукции ИУК, высокая концентрация которой стимулирует продукцию этилена растением. Известно также, что этилен может тормозить рост растений. Однако на прорастание этилен действует противоположным образом, стимулируя его [Corbineau et al., 2014]. Можно предположить, что в случае *P. turukhanskensis* IB-1.1 повышение всхожести семян могло быть следствием увеличения продукции этилена под влиянием высокой концентрации ИУК в культуральной жидкости.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, многие штаммы-деструкторы нефти оказались способны стимулировать прорастание семян и дальнейший рост проростков. Наиболее эффективно на накопление биомассы проростков влиял штамм *P. hunanensis* IB C7, вызвавший стимуляцию этого процесса у наибольшего количества видов растений, что может быть связано с оптимальным уровнем продукции ауксинов клетками этого штамма. Действие бактерий

зависело от вида растений и степени разведения суспензии. Одни виды растений были более отзывчивы на действие бактериализации, чем другие виды. Так у растений ячменя и овса накопление массы проростков возрастало под влиянием большего количества штаммов бактерий по сравнению с растениями других видов. Действие бактерий изменялось с разведением их жидкой культуры: у штамма с низкой способностью к продукции ИУК (*P. extremaustralis* IB K2) стимулирующее влияние на накопление биомассы проростков отдельных видов растений проявлялось только при максимальной концентрации клеток, а у штамма с высоким уровнем ауксинов (*P. turukhanskensis* IB-1.1) возрастало с увеличением степени разведения жидкой культуры. В отличие от накопления биомассы проростков, всхожесть семян увеличивалась под влиянием *P. turukhanskensis* IB-1.1 у наибольшего количества видов не при разведении, а в варианте с максимальной концентрации его клеток. Различия во влиянии этого штамма на прорастание и дальнейший рост растений можно объяснить способностью высоких концентраций ауксина стимулировать продукцию этилена, который ингибирует рост растений, но стимулирует прорастание семян. Полученные нами результаты свидетельствуют о перспективности использования бактерий-деструкторов углеводов нефти для стимуляции роста растений, что может быть полезно для повышения эффективности процесса фиторемедиации. Они также свидетельствуют о том, что стимулирующее действие бактерий редко бывает универсальным (единственное исключение – растения ячменя, у которых все изученные штаммы стимулировали накопление биомассы проростков). В остальных случаях необходим был подбор штаммов бактерий и их разведений для обеспечения стимулирующего эффекта.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 18-29-05025/18 с использованием оборудования ЦКП «БиоАналит» (Уфа, Россия)

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакаева М.Д., Смолова О.С., Логинов О.Н. Использование для биорекультивации микроорганизмов-деструкторов углеводов рода *Pseudomonas* с микостатической активностью // Биотехнология. 2014. №. 6. С. 62-72.
2. Четвериков С.П., Шарипов Д.А., Коршунова Т.Ю., Логинов О.Н. Разложение перфтороктансульфоната штаммом *Pseudomonas plecoglossicida* 2.4-d. Прикладная биохимия и микробиология. 2017. Т. 53(5). С. 477-483. DOI: [10.7868/S0555109917050026](https://doi.org/10.7868/S0555109917050026)
3. Corbineau F., Xia Q., Bailly C., El-Maarouf-Bouteau H. Ethylene, a key factor in the regulation of seed dormancy // *Frontiers in Plant Science*. 2014. V. 5. 539. DOI: [10.3389/fpls.2014.00539](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00539)
4. Dickinson S.J., Rutherford P.M. Utilization of biosolids during the phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soil // *Journal of Environmental Quality*. 2006. V. 35. No. 4. P. 982-991.
5. Ertekin O., Erol C., Unlu S., Yildizhan Y., Pelitli V., Yuksel B., Memon A. Aliphatic hydrocarbon fingerprints in *Trifolium* spp. // *Fresen Environ Bull*. 2011. V. 20. P. 367-371.
6. Glick B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world // *Microbiological Research*. 2014. V. 169. No. 1. P. 30-39.
7. Han G., Cui B. X., Zhang X.X., Li K. R. The effects of petroleum-contaminated soil on photosynthesis of *Amorpha fruticosa* seedlings // *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2016. V. 13. P. 2383-2392. DOI: [10.1007/s13762-016-1071-7](https://doi.org/10.1007/s13762-016-1071-7)



8. Kamath R., Rentz J.A., Schnoor J.L., Alvarez P.J.J. Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and applications // *Studies in Surface Science and Catalysis*. 2004. V. 151. P. 447-478.
9. Khan S., Afzal M., Iqbal S., Khan Q.M. Plant-bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils // *Chemosphere*. 2013. V. 90. No. 4. P. 1317-1332. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2012.09.045](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.045)
10. King E.O., Ward M.K., Raney D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein // *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1954. V. 44. P. 301-307.
11. Korshunova T.Y., Ramírez-Bahena M.-H., Chetverikov S.P., Igual J.M., Peix Á., Loginov O. *Pseudomonas turukhanskensis* sp. nov., isolated from oil-contaminated soils // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2016. V. 66. No. 11. P. 4657-4664. DOI: [10.1099/ijsem.0.001406](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001406)
12. Kudoyarova G.R., Arkhipova T.N., Melent'ev A.I. Role of bacterial phytohormones in plant growth regulation and their development // In: Maheshwari D. (eds) *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. Sustainable Development and Biodiversity*. 2015. V. 12. P. 69-86. DOI: [10.1007/978-3-319-24654-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24654-3_4)
13. Kudoyarova G.R., Vysotskaya L.B., Arkhipova T.N., Kuzmina L.Yu., Galimsyanova N.F., Sidorova L.V., Gabbasova I.M., Melentiev A.I., Veselov S.Yu. Effect of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria on mobility of soil phosphorus, growth rate, and P acquisition by wheat plants // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017. V. 39: 253. DOI: [10.1007/s11738-017-2556-9](https://doi.org/10.1007/s11738-017-2556-9)
14. Muratova A.Y., Dmitrieva T.V., Panchenko L.V., Turkovskaya O.V. Phytoremediation of oil-sludge-contaminated soil // *International Journal of Phytoremediation*. 2008. V. 10. No. 6. P. 486-502. DOI: [10.1080/15226510802114920](https://doi.org/10.1080/15226510802114920)
15. Shi T.-Q., Peng H., Zeng S.-Y., Ji R.-Y., Shi K., Huang H., Jia X.-J. Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges // *Bioengineered*. 2017. V. 8. No. 2. P. 124-128.
16. Shtangeeva I, Perämäki P, Niemelä M, Kurashov E, Krylova Y Potential of wheat (*Triticum aestivum* L.) and pea (*Pisum sativum*) for remediation of soils contaminated with bromides and PAHs // *International Journal of Phytoremediation*. 2018. V. 20. No. 6. P. 560-566. DOI: [10.1080/15226514.2017.1405375](https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1405375)
17. Soleimani M., Afyuni M., Hajabbasi M.A., Nourbakhsh F., Sabzalian M.R., Christensen J.H. Phytoremediation of an aged petroleum contaminated soil using endophyte infected and non-infected grasses // *Chemosphere*. 2010. V. 81. No. 9. P. 1084-1090. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2010.09.034](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.034)
18. Spaepen S., Vanderleyden J. Auxin and plant-microbe interactions // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2011. V. 3: a001438. DOI: [10.1101/cshperspect.a001438](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001438)
19. Veselov S.U., Kudoyarova G.R., Egutkin N.L., Guili-Zade V.Z., Mustafina A.R., Kof E.M. Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole 3- acetic acid // *Physiologia Plantarum*. 1992. V. 86. P. 93-96.
20. Xu, J.G., Johnson R.L. Nitrogen dynamics in soils with different hydrocarbon contents planted to barley and field pea // *Canadian Journal of Soil Science*. 1997. V. 77. P. 453-458.