

22. Yamamoto S. Gap dynamics in climax *Fagus crenata* forests // Botanical Magazine Tokyo. – 1989. – Vol. 102. – P. 93–114.



УДК 581.192.8+581.5

Е.З. Усубова, Л.С. Тирранен

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНА НА МИКРОБИОТУ ПРИКОРНЕВОЙ ЗОНЫ ФАСОЛИ СОРТА «САКСА БЕЗ ВОЛОКНА 615» (*PHASEOLUS VULGARIS L.*)*

Установлено влияние селена на микробиоту прикорневой зоны фасоли сорта «Сакса без волокна 615» при замачивании семян в водном растворе селенита натрия с концентрацией селена 0,001 %.

Ключевые слова: фасоль, селенит натрия, аккумуляция селена, возрастные изменения, микрофлора, микроорганизмы.

E.Z. Usubova, L.S. Tirranen

SELENIUM INFLUENCE ON MICROBIOTA OF THE “SAKSA WITHOUT FIBER 615” SORT BEAN ROOT ZONE (*PHASEOLUS VULGARIS L.*)

Selenium influence on microbiota of the “Saksa without fiber 615” sort bean root zone in the process of seed steeping in the sodium selenite water solution with selenium concentration of 0,001 % is determined.

Key words: bean, sodium selenite, selenium accumulation, age-related changes, microflora, microorganisms.

Введение. Исследования биологической роли селена позволили определить первостепенное значение для человеческого организма его соединений, синтезируемых растениями [1]. Цикл селена в биосфере осуществляется организмами, причем значительная роль принадлежит микроорганизмам [7]. Отмирая, растения дают почве разнообразные формы селена. Под влиянием климатических факторов и деятельности микроорганизмов происходит дальнейшая трансформация соединений селена. Имеются данные об окислении элементарного селена автотрофными тионовыми бактериями (*Tiobacillus thiooxidans*) до селеновой кислоты, аналогично окислению серы до серной кислоты [6]. Обладая высокой аккумулятивной способностью, микроорганизмы способны извлекать селен из горных пород, переводить его в раствор и хранить в клетках [8]. В неблагоприятных условиях и для освоения новых экологических ниш некоторые микроорганизмы в качестве стратегии выживания способны переводить соединения селена из более токсичных в менее, используя процессы ферментативного восстановления [9]. На рисунке 1 представлен биологический цикл селена с точки зрения превращений между несколькими окислительно-восстановительными состояниями [5].

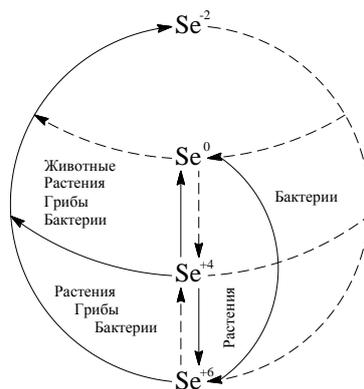


Рис. 1. Биологический цикл селена (Летукова, 1978): установленные пути обмена селена указаны сплошными линиями, нуждающиеся в дополнительном подтверждении – пунктирными

* Работа выполнена в Институте биофизики СО РАН.

Преобразование $Se^0 \rightarrow Se^{4+} \rightarrow Se^{6+}$ осуществляют микроорганизмы. Многие растения, грибы, бактерии и некоторые животные организмы трансформируют Se^{6+} и Se^{4+} до Se^{2-} [3]. Микроэлементы могут играть значительную роль в процессах взаимодействия в системе растение – микроорганизмы. Бобовые культуры обладают огромной пищевой ценностью и перспективны для оптимизации селенового статуса населения.

Цель: оценить влияние селена на количественный и качественный состав микрофлоры прикорневой зоны растений фасоли сорта «Сакса без волокна 615» (*Phaseolus vulgaris L.*).

Материалы и методы исследований. Объект исследования – микрофлора прикорневой зоны фасоли сорта «Сакса без волокна 615». Сорт раннеспелый, от всходов до сбора недозрелых бобов съемной спелости 45–50 дней. Растение кустовое, слабораскидистое, высотой 25–40 см. В работе использовали почву обыкновенный чернозем, легкий суглинок. Агробиохимические показатели почвы: содержание гумуса 7,3 %, pH_{KCl} 7,1. Содержание элементов в почве определяли на масс-спектрометре с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС) Agilent 7500a, предварительно вскрывая пробы в системе микроволнового вскрытия MWS-2 (Berghof, Германия) во фторопластовых автоклавах DAP-60 (объемом 60 мл) 30 мин. Концентрация элементов (мг/100 г почвы): фосфор – 114,8, калий – 464,1, кальций – 798,4, марганец – 36,75, никель – 2,1, медь – 2,1, цинк – 5,0, кадмий – 0,06, ванадий – 7,98, свинец – 1,15, селен – 0,26, сурьма – 0,03. Концентрация элементов в почве опытного участка не превышает ПДК [4]. Концентрацию гумуса учитывали по Тюрину. Эксперимент проводили в условиях мелкоделяночного опыта. Семена замачивали на 24 ч в воде и водном растворе селенита натрия с концентрацией Se 0,001 % и высевали в почву с глубиной заделки 5 см.

Микробиоту прикорневой зоны растений фасоли сорта «Сакса без волокна 615» исследовали в фазы проростков, цветения и плодоношения методом посева в чашки Петри на селективные питательные среды [10]. Для учета общего количества аэробных бактерий, усваивающих органический азот, использовали пептонный агар (ПА), споровые бактерии в стадии спор учитывали на сусло-споровом (смеси равных объемов пептонного агара и сусло-агара) после пастеризации суспензии при 80 °С в течение 10 мин. Микроорганизмы, использующие минеральные формы азота, учитывали на крахмало-аммиачном агаре (КАА), общее количество анаэробных азотфиксаторов – на среде Виноградского, денитрификаторы – на среде Гильтая, аэробные целлюлозоразрушающие микроорганизмы – на среде Гетчинсона, общее количество аэробных азотфиксаторов – на среде Эшби. Чашки инкубировали в термостате при температуре 28 °С. Бактерии группы кишечной палочки (БГКП) учитывали на среде Эндо при температуре 37°С. Микроскопические грибы выделяли на разбавленном сусло-агаре с антибиотиками (стрептомицин и пенициллин) при комнатной температуре. На 3–4 сутки проводили учет микроорганизмов. Для подсчета микроорганизмов на жидких средах использовали метод предельных разведений по таблице Мак-Креди [10]. Работа выполнена в 4 повторностях. Статистическая обработка данных проведена по Лакину (1990 г.).

Результаты и обсуждение. Предварительно исследовали микрофлору почвы опытного участка (рис. 2).

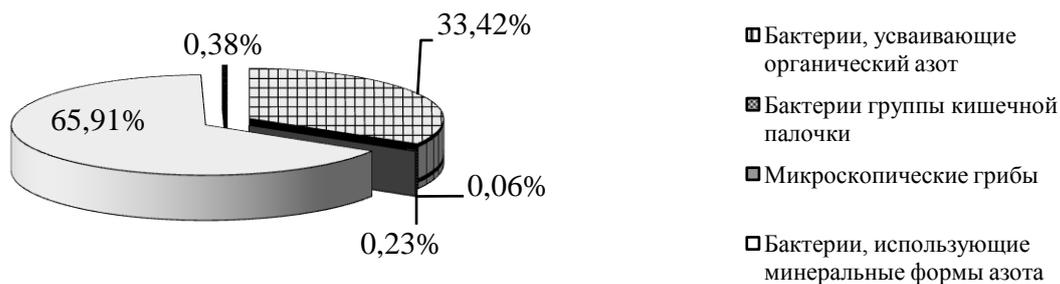


Рис. 2. Соотношение численности микроорганизмов почвы экспериментального участка перед высевом семян фасоли

Из диаграммы видно, что доля бактерий группы кишечной палочки, микроскопических грибов и спорных бактерий в стадии спор значительно меньше по сравнению с преобладающей численностью бактерий, использующих минеральные формы азота. После сбора урожая фасоли исследовали микрофлору почвы контрольного и опытного участков (рис. 3).

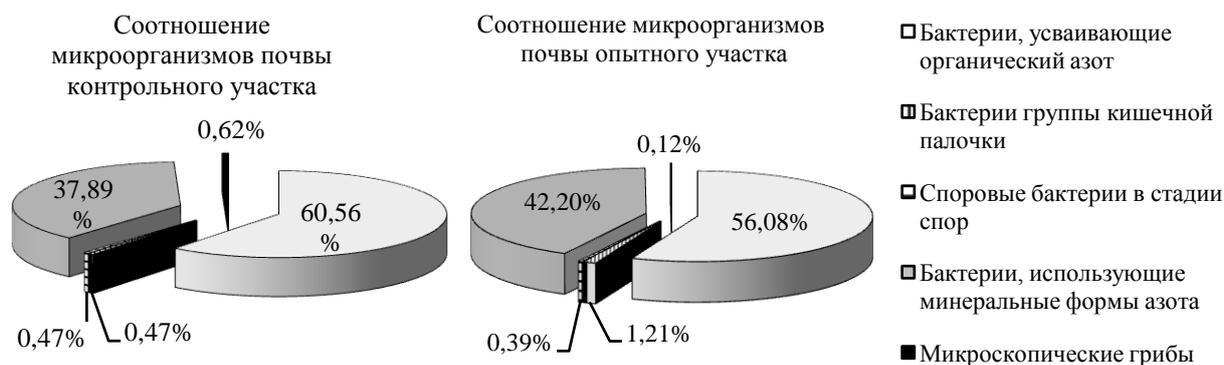


Рис. 3. Соотношение численности микроорганизмов почвы контрольного и опытного участка

Из диаграмм видно, что в почве опытного участка увеличилась доля бактерий группы кишечной палочки и бактерий, использующих минеральные формы азота, снизилась доля микроскопических грибов и споровых бактерий в стадии спор в сравнении с почвой контрольного участка. В фазу проростков установлено достоверное изменение численности микроорганизмов прикорневой зоны опытных растений фасоли (рис. 4).

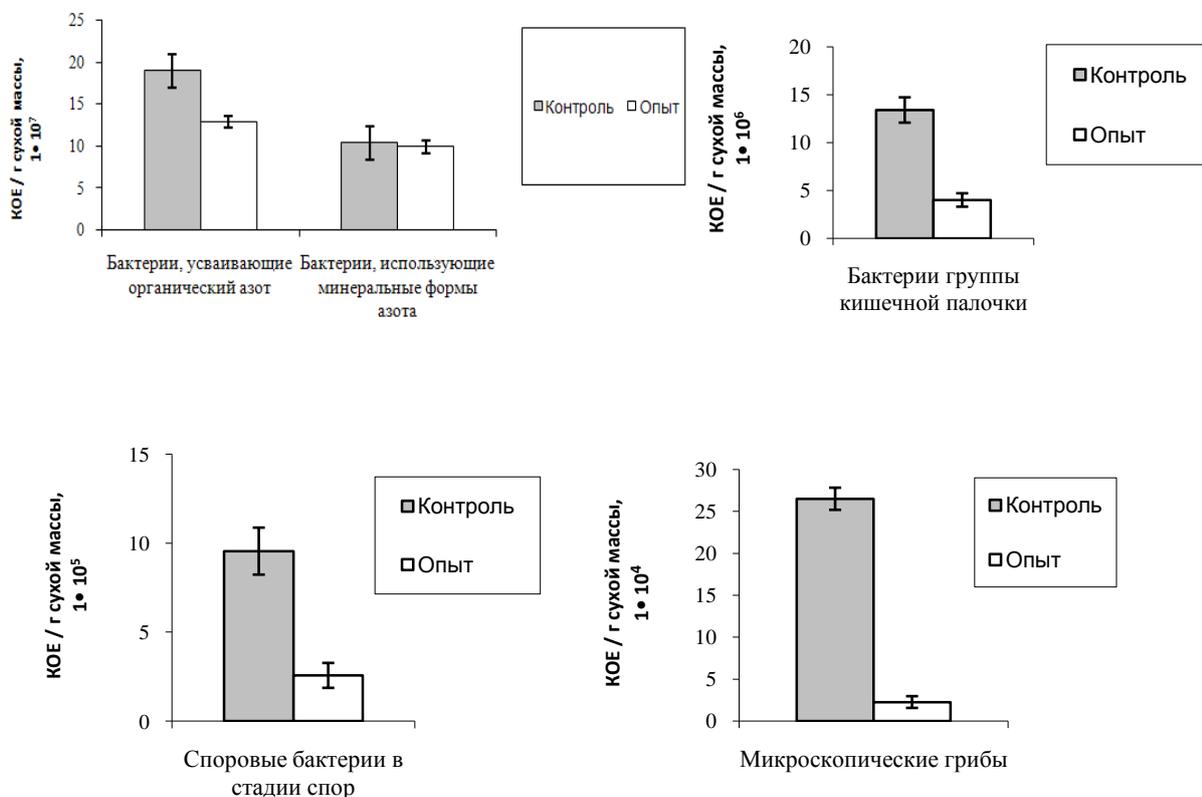


Рис. 4. Численность микроорганизмов в прикорневой зоне контрольных и опытных растений фасоли сорта в фазу проростков

Из диаграммы видно, что на прикорневой зоне опытных проростков фасоли численность бактерий, усваивающих органический азот, снижена на 32 %, численность бактерий группы кишечной палочки снижена на 70 %, что свидетельствует о том, что бактерии группы кишечной палочки очень чувствительны к присутствию селена. Снижение численности споровых бактерий в стадии спор в прикорневой зоне опытных проростков фасоли сорта «Сакса без волокна 615» происходит на 73 % в сравнении с контрольными проростками фасоли. Изменение численности бактерий, использующих минеральные формы азота, в прикорневой зоне опытных проростков фасоли сорта «Сакса без волокна 615» в сравнении с контрольными проростками не происходит, что показывает устойчивость этой группы бактерий к действию селена. Численность микроскопических грибов в прикорневой зоне опытных проростков фасоли сорта «Сакса без волокна 615» снижена на 92 %, что показывает ингибирующее действие селена на рост микроскопических грибов. Однако ярко выра-

женный в фазу проростков эффект действия селена на микробиоту прикорневой зоны в фазу цветения проявляется в меньшей степени. В фазу цветения растений фасоли показано достоверное снижение численности микроскопических грибов (рис. 5).

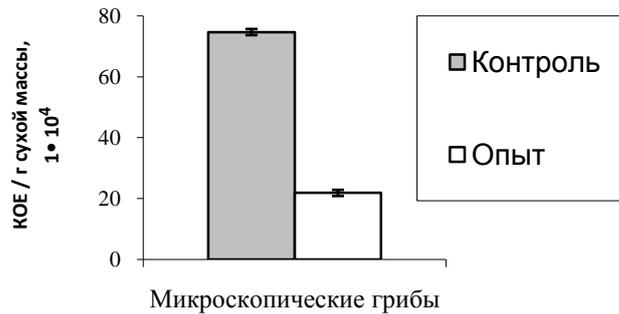


Рис. 5. Численность микроскопических грибов (КОЕ / г сухой массы) в прикорневой зоне контрольных и опытных растений фасоли сорта «Сакса без волокна 615» в фазу цветения

Из диаграммы видно, что численность микроскопических грибов в прикорневой зоне контрольных и опытных растений фасоли сорта «Сакса без волокна 615» в фазу цветения снижена на 71 % по сравнению с контрольными растениями фасоли. В фазу проростков этот показатель составляет 92 %, что показывает ослабление ингибирующего действия селена на микроскопические грибы. Изменение численности азотфиксаторов и денитрификаторов прикорневой зоны в разные фазы развития растений фасоли представлено на рисунке 6.

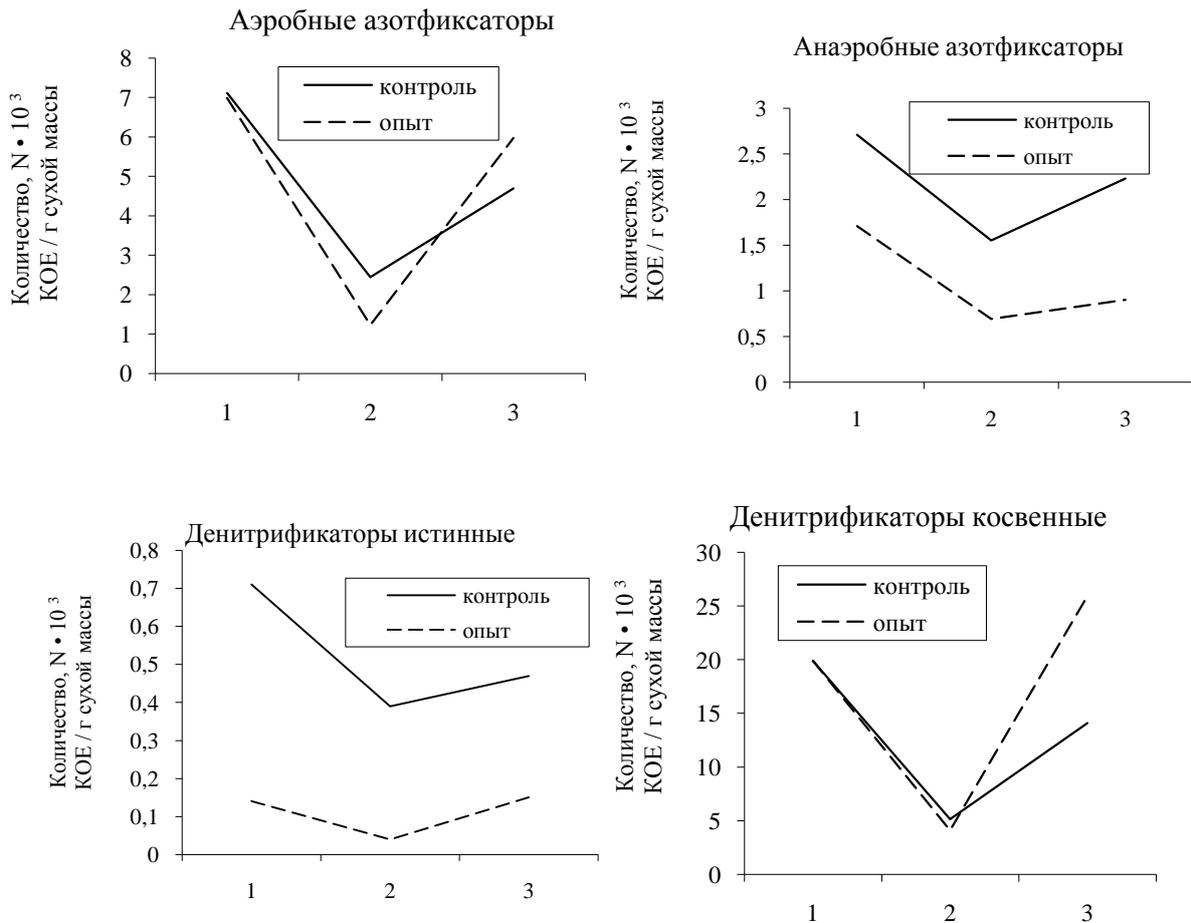


Рис. 6. Численный состав аэробных и анаэробных азотфиксаторов и косвенных и истинных денитрификаторов прикорневой зоны контрольных и опытных (обработанных селеном) растений фасоли в фазы: 1 – проростков, 2 – цветения, 3 – плодоношения

Из графиков видно, что численность анаэробных азотфиксаторов в прикорневой зоне опытных растений во все стадии развития растений фасоли ниже, чем в прикорневой зоне контрольных растений. Численность аэробных азотфиксаторов прикорневой зоны фасоли на начальных этапах развития растений фасоли снижена, а в фазу плодоношения преобладает численность аэробных азотфиксаторов в прикорневой зоне контрольных растений. Эти данные говорят о том, что по отношению к селену анаэробные азотфиксаторы более чувствительные, чем аэробные. По всей вероятности, аэробные азотфиксаторы адаптировались в условиях присутствия этого микроэлемента.

Численность истинных денитрификаторов прикорневой зоны опытных растений фасоли ниже, чем контрольных растений, что свидетельствует о бактериостатическом эффекте селена на эту группу бактерий. Косвенные денитрификаторы более толерантны к присутствию селена, при этом в фазу плодоношения в прикорневой зоне опытных растений численность косвенных денитрификаторов выше, чем в прикорневой зоне контрольных растений. Следовательно, селен оказывает стимулирующий эффект на численность косвенных денитрификаторов. Известно, что селен действует на синтез органических веществ в листьях и способствует оттоку органических соединений, в особенности к корням растений, что изменяет численность микроорганизмов [11].

Из вышесказанного следует, что селен оказывает сильное воздействие на процессы жизнедеятельности микроорганизмов, включаясь в обменные процессы растений фасоли.

Выводы

1. Найдено, что обработка семян фасоли селеном в концентрации 0,001 % в течение 24 ч оказывает ингибирующее действие на численность микроскопических грибов прикорневой зоны растений фасоли сорта «Сакса без волокна 615» в течение всей вегетации растений – от фазы проростков до плодоношения.
2. Выявлено достоверное бактериостатическое влияние селена на бактерии, усваивающие органический азот, бактерии группы кишечной палочки, споровые бактерии в стадии спор в фазу проростков растений фасоли.
3. Установлено бактериостатическое действие селена на численность анаэробных азотфиксаторов и истинных денитрификаторов прикорневой зоны растений фасоли сорта «Сакса без волокна 615» в течение всей вегетации растений – от фазы проростков до плодоношения.
4. Обнаружен стимулирующий эффект селена на численность аэробных азотфиксаторов и косвенных денитрификаторов прикорневой зоны растений фасоли сорта «Сакса без волокна 615» в фазу плодоношения.

Литература

1. Голубкина Н.А. Перспективы использования селена в растениеводстве // Вестн. РАСХН. – 2006. – № 1. – С. 49–50.
2. Дьрин В.А. Интенсивность минерализационных процессов в остаточном торфе низинной болотной экосистеме «Таган» в начале ее рекультивации // Вестн. Томского пед. ун-та. – 2003. – Вып. 4 (36). – С. 106–109.
3. Ермаков В.В., Ковальский В.В. Биологическое значение селена. – М.: Наука, 1974. – С. 82–83.
4. Котова Д.Л. Методы контроля качества почвы. – Воронеж, 2007. – С. 22–25.
5. Летукова С.В., Ковальский В.В. Геохимическая экология микроорганизмов. – М.: Наука, 1978. – С. 38–39.
6. Мехтиева Н.А., Рабкин Н.А., Раси-Заде Т.Т. Значение селена в развитии микроорганизмов // Селен в биологии: мат-лы науч. конф. – Баку: Элм, 1976. – С. 150–152.
7. Решетник Л.А., Парфенова Е.О. Селен и здоровье человека // Рос. педиатрический журн. – 2000. – № 2. – С. 41–42.
8. Селен. Совместное издание программы ООН по окружающей среде Международной организации труда и организации здравоохранения. – Женева, 1989. – С. 76–77.
9. Слободкина Г.Б., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин И.А. Восстановление хромата, селенита, теллурита и железа (III) умеренно термофильной бактерией *Bacillus tThermoamylovorans* SKC1 // Микробиология. – 2007. – Т 76. – №5. – С. 602–607.
10. Теплер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: Колос, 2004. – 175 с.
11. Шакури Б.К. Влияние солей селена на рост и развитие озимого ячменя на горно-каштановых почвах и интенсивность микробиологических процессов // Селен в биологии: мат-лы науч. конф. – Баку: Элм, 1976. – С. 100–105.