

Р. М. МАТРЕНИНА,
И. Д. ГРОДНИЦКАЯ

Институт леса и древесины
им. В. Н. Сукачева СО АН СССР

Роль экзометаболитов эпифитной микрофлоры лиственничной почковой галлицы в инициации аномального роста тканей лиственницы сибирской

Лиственничная почковая галлица *Dasyneura laricis* F. Loew (Diptera: Cécidomyidae) — комарик, наносящий вред лиственничным насаждениям. Взрослое насекомое откладывает яйца в вегетирующую почку брахибласта, вызывая ее патологическое разрастание и образование тератоморфы — галла. Аномальный рост тканей почки вызывается, вероятно, действием выделений личинки галлицы и (или) экзометаболитами сопутствующей микрофлоры [3, 4].

Предметом нашей работы было изучение состава микроорганизмов, обнаруженных на поверхности галла и почковой галлицы на различных стадиях ее жизненного цикла; определение способности выделенных штаммов микробов синте-

зировать ауксины — вещества, активирующие рост растительных клеток. При исследовании состава микрофлоры делали смывы с тканей галла, яйца, личинок разного возраста, куколки и имаго комарика. После серии разведений полученная суспензия высевалась на плотную питательную среду № 19. Всего выделено 129 штаммов микроорганизмов. Для исследования ростактивирующей способности выделенных штаммов семена лиственницы замачивались в культурной жидкости в течение 24 ч при температуре 26—28°С. При набухании семена поглощали содержащиеся в жидкости продукты жизнедеятельности изучаемых микроорганизмов; после прорастания семян измеряли длину корешков и вес проростков.

Исследование ауксинов, выделяемых эпифитными микроорганизмами лиственничной почковой галлицы, было проведено у отдельных штаммов. При отборе штаммов руководствовались их специфичностью, выражавшейся в присутствии данных микроорганизмов только на насекомом и (или) тератоморфной ткани. В эксперименте также использовали микроорганизмы, отмеченные на всех исследованных объектах. Разделение смеси микробных метаболитов проводили методом хроматографии на бумаге, после чего изучали ростактивирующие свойства выделенных фракций в биотестах на проростках пшеницы. Контролем в данном случае служили интактные пшеничные колеоптили.

Результаты исследований показали, что количество эпифитных микроорганизмов возрастает соответственно стадиям развития личинки насекомого (табл. 1). Микрофлора личинки I возраста состоит в основном из неспоровых форм бактерий, относящихся к роду *Pseudomonas*, грибов рода *Penicillium* и *Alternaria* и различных родов дрожжей. По мере роста личинки состав микрофлоры изменяется. У личинок II возраста преобладают споровые формы бактерий и грибы. Микрофлора куколки беднее; на этой фазе развития насекомого наблюдается преобладание грибов рода *Penicillium* и *Aspergillus*, встречаются дрожжеподобные грибы и неспоровые и споровые формы бактерий. Микрофлора места обитания личинки — тератоморфы — представлена широким набором грибов, неспоровых и споровых форм бактерий, дрожжей.

Опыты по изучению прорастания семян лиственницы, обработанных метаболитами некоторых штаммов эпифитных бактерий, дали положительные результаты. Были использо-

ваны штаммы, ранее идентифицированные Л. А. Густелевой [2]: № 104 (*Bacillus subcuticularis*) и № 105 (*Mycobacterium lacticolum*), выделенные из галла, № 147 (*Bacillus vitreus*) и № 150 (*Mycobacterium hyalinum*), обнаруженные на покровах личинки. Доля проросших семян и длина корешков проростков в опыте были в 1,5—2 раза выше, чем в контроле (табл. 2). Вес проростков из обработанных семян почти в 3 раза превысил вес контрольных проростков.

Все отобранные штаммы микроорганизмов были идентифицированы и исследованы на способность продуцирования ауксинов [2]. Основные виды микроорганизмов продуцируют индолевые соединения, проявляющие ростстимулирующие свойства в различных зонах хроматограммы. Биологическая активность их различна (табл. 3). Так, штаммы *Bac. subtilis* var. *aterrimus* №№ 75, 91, 99 характеризуются неодинаковой активностью стимуляторов роста: штамм № 91 продуцирует пять индолевых соединений с высокой физиологической активностью, а штаммы №№ 75 и 99, напротив, показывают их низкую активность. В то же время бактерии этого вида встречаются на всех исследованных объектах, за исключением яиц галлицы. То же можно сказать и о *Pseudomonas* sp. (штаммы №№ 20 и 123), хотя встречаемость их реже (галл, личинка, куколка).

Наибольший интерес представляли штаммы микроорганизмов, избирательно встречающиеся на том или ином объекте. К ним относятся *M. phlei*, *Bac. subcuticularis*, *Corynebacterium* sp., обнаруженные в галле, и *A. globiformis*, обитающая на личинке. В культурной жидкости этих микроорганизмов хроматографически обнаружено от четырех (*Corynebacterium* sp.) до восьми (*M. phlei*, *Bac. subcuticularis*) индолевых соединений с разными зонами Rf (расположение соединения на хроматограмме, равное отношению расстояния, пройденного пятном, к фронту растворителя). Все соединения проявляют ростстимулирующее действие.

Полученные экспериментальные данные подтверждают возможность эпифитной микрофлоры лиственницы, зараженной почковой галлицей, выступать в качестве продуцентов индолевых соединений. Эти результаты получены при изучении штаммов родов *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Mycobacterium*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Aureobasidium*. Биологическая активность микроорганизмов различна. Способность эпифитной микрофлоры продуцировать ростстимулирующие вещества

ства и активировать ростовые процессы растительной ткани не связана с их систематическим положением: штаммы одного и того же вида, например, *Vas. subtilis* var. *aeruginosus*, образуют индольные соединения низкой (штамм № 75) и высокой (штамм № 91) физиологической активности.

Таблица 1

Количественный состав эпифитной микрофлоры различных стадий развития лиственничной почковой галлицы, %

| Место обитания | Грибы | Бактерии | | Осталь- ные микро- организ- мы |
|----------------------|-------|-----------------|----------|--|
| | | неспо- ровые | споровые | |
| Личинка I возраста | 15 | 33 | 17 | 35 |
| Личинка II возраста | 28 | 10 | 29 | 33 |
| Личинка III возраста | 37 | 12 | 28 | 23 |
| Куколка | 25 | 16 | 28 | 31 |
| Галла | 48 | 8 | 14 | 30 |

Таблица 2

Процент всхожести (п. в.) и длина корешков лиственничных проростков в мм (д. к.) после обработки семян культурной жидкостью (к. ж.) микроорганизмов. Различия между опытом и контролем во всех случаях достоверны при уровне значимости 0.05

| № штамма | Конcenтра- ция к. ж. | Необработанные семена | | Обработанные семена | |
|-------------|----------------------------|--------------------------|----------|------------------------|----------|
| | | П. В. | Д. К. | П. В. | Д. К. |
| 104 | 100 | 22 | 37,0±2,5 | 30 | 43,0±2,6 |
| | 50 | | | 48 | 29,0±1,7 |
| | 25 | | | 43 | 40,0±2,6 |
| 105 | 100 | 22 | 37,0±2,5 | 51 | 39,0±2,0 |
| | 50 | | | 26 | 34,0±3,0 |
| | 25 | | | 41 | 30,0±1,7 |
| 147 | 100 | 22 | 37,0±2,5 | 47 | 33,0±1,6 |
| | 50 | | | 27 | 42,0±2,8 |
| | 25 | | | 39 | 29,0±3,9 |
| 150 | 100 | 22 | 37,0±2,5 | 50 | 45,0±2,6 |
| | 50 | | | 22 | 38,0±3,3 |
| | 25 | | | 25 | 34,0±2,8 |

Таблица 3

Активность индолевых соединений в клетках эпифитной микрорганической почковой галлы, % к контролю (Густепеева Л. А., Матренина Р. М., 1983)

| № | Источник | RF соединения | | | | | | | | | |
|-----|----------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 0,90—0,92 | 0,86—0,88 | 0,82—0,84 | 0,78—0,80 | 0,74—0,76 | 0,70—0,72 | 0,66—0,68 | 0,62—0,64 | 0,58—0,60 | 0,54—0,56 |
| 1 | 105,3 | 129,8 | 118,0 | 112,0 | 105,3 | 105,3 | 112,0 | 104,6 | 104,6 | 105,3 | 105,3 |
| 17 | 100,0 | 124,0 | 154,0 | 90,0 | 138,0 | 138,0 | 80,0 | 110,0 | 80,0 | 110,0 | 110,0 |
| 75 | 85,0 | 121,0 | 143,0 | 106,0 | 106,0 | 121,0 | 121,0 | 118,0 | 106,0 | 118,0 | 118,0 |
| 91 | 121,0 | 106,0 | 106,0 | 106,0 | 106,0 | 129,0 | 129,0 | 142,0 | 131,0 | 142,0 | 142,0 |
| 99 | 112,5 | 110,0 | 110,0 | 110,0 | 110,0 | 113,0 | 113,0 | 113,0 | 113,0 | 113,0 | 113,0 |
| 104 | 123,0 | 123,0 | 123,0 | 123,0 | 123,0 | 107,0 | 107,0 | 107,0 | 107,0 | 107,0 | 107,0 |
| 18 | 136,0 | 125,0 | 125,0 | 125,0 | 125,0 | 127,0 | 127,0 | 127,0 | 127,0 | 127,0 | 127,0 |
| 28 | 125,0 | 125,0 | 125,0 | 125,0 | 125,0 | 119,0 | 119,0 | 119,0 | 119,0 | 119,0 | 119,0 |
| 45 | 125,0 | 125,0 | 125,0 | 125,0 | 125,0 | 117,0 | 117,0 | 117,0 | 117,0 | 117,0 | 117,0 |
| 96 | 107,0 | 138,0 | 138,0 | 138,0 | 138,0 | 118,0 | 118,0 | 118,0 | 118,0 | 118,0 | 118,0 |
| 20 | 118,0 | 112,0 | 112,0 | 112,0 | 112,0 | 129,0 | 129,0 | 129,0 | 129,0 | 129,0 | 129,0 |
| 123 | 96,0 | 111,0 | 111,0 | 111,0 | 111,0 | 128,0 | 128,0 | 128,0 | 128,0 | 128,0 | 128,0 |

Ауксины могут вызывать патологическое разрастание в том случае, если их концентрация будет выше нормы концентрации ауксинов, обычно присутствующих в здоровом растении. Высокую концентрацию индолильных соединений удалось обнаружить у *Arthrobacter globiformis*, *Mycobacterium* и *Bac. subcuticularis*, выделенных с поверхности личинки и галла [2].

Биологическая активность трех видов — *Mycobacterium phlei*, *Bac. subcuticularis* и *Arthrobacter globiformis* — выше, чем у всех исследованных микроорганизмов. *A. globiformis*, обнаруженный на личинке, продуцирует 6 индолильных соединений с разной ростактивирующей способностью. Внимания заслуживают три соединения с зонами Ff 0,4—0,5, 0,63—0,70; 0,92—0,95, где прирост колеоптилей пшеницы по отношению к контролю составил соответственно 54, 62 и 38%. У двух других микроорганизмов — *M. phlei* и *Bac. subcuticularis* (штаммы №№ 105 и 104), выделенных из патологической ткани, обнаружено по 8 индолильных соединений с разными зонами Ff. Соединение с Rf 0,—0,5 встречается у обоих рассматриваемых штаммов и проявляет ростактивирующе действие (стимулирующий эффект 47—68%). Данное соединение идентифицировано по цветным реакциям, свечению в УФ-излучении, Rf-характеру действия на биотест как индолилуксусная кислота (ИУК). Остальные соединения нами не идентифицированы, но, судя по их биологическому действию, являются ауксинами.

Таким образом, эпифитная микрофлора почек здоровых и поврежденных деревьев, тератоморфной ткани, личинки почковой галлицы продуцирует ауксины, концентрация которых различна и зависит от штамма микроорганизма. Наилучшими продуcentами ауксинов выступают *M. phlei*, *Bac. subcuticularis*, *A. globiformis*, обнаруженные на поверхности личинки и галла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Возняковская Ю. М. Микрофлора растений и урожай. — М.: Колос, 1969.
2. Густелева Л. А., Матренина Р. М. Роль эпифитной микрофлоры лиственничной почковой галлицы в патологическом разрастании растительной ткани//Микробные ассоциации в лесных биогеоценозах. — Красноярск, 1983. — С. 18—26.
3. Коломиец Т. П., Меньшикова Е. А. Проблемы онкологии и тератологии растений. — М.: Наука, 1975.
4. Слепян Э. И. Патологические новообразования и их возбудители у растений. — Л.: Наука, 1973.