

«»

УДК: 631.527:633:574

***BACILLUS CEREUS* УСИЛИВАЕТ ПРОЦЕСС БИОСИНТЕЗА ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ПЛОДАХ ТОМАТОВ**

И.В. Князева¹, О.В. Вершинина¹, А.В. Титенков¹, Е.А. Джос²

¹Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ (Москва) и

²Федеральный научный центр овощеводства (Московская область), Россия

Эл. почта: Knyazeva.inna@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 24.0.2022; принята к печати 02.12.2022

Цель исследования – изучение влияния бактерий *Bacillus cereus* на развитие и накопление биологически активных веществ в растениях томатов, выращенных при светодиодном и натриевом освещении. Растения сорта ‘Восход ВНИИССОКА’ выращивались гидропонным способом по малообъемной технологии с капельным поливом в климатической камере производства ВИМ (Россия). При применении *B. cereus* происходит увеличение накопления фотосинтетических пигментов в биомассе томатов при сравнении с отсутствием бактерий. В листьях томатов, выращенных под Na- (контрольным) и LED-освещением с применением *B. cereus*, среднее содержание суммы хлорофиллов (a+b) в 1,5 выше, чем без *B. cereus*. Под действием *B. cereus* достоверно увеличивается индекс Brix при выращивании томатов как при Na- так и при LED- освещении. Максимальный индекс Brix был отмечен у плодов томатов полученных при LED-освещении с введением суспензии *B. cereus* – 2,9%. Бактериальная культура *B. cereus* способствует усилению биосинтеза органических кислот в плодах томатов изученного сорта. Достоверное увеличение концентрации щавелевой и янтарной кислот наблюдали при Na-освещении и янтарной, яблочной и лимонной кислот - при LED-освещении.

Ключевые слова: томаты, микроорганизмы, гидропоника, освещение, пигменты, органические кислоты.

BACILLUS CEREUS ENHANCES THE BIOSYNTHESIS OF ORGANIC ACIDS IN TOMATO FRUITS

I.V. Kniazeva¹, O.V. Vershinina¹, A.V. Titenkov¹, Ye.A. Dzhos²

¹Federal Agroengineering Resesarch Center VIM (Moscow) and ²Federal Research Center of Vegetable Growing (Moskovskaya Oblast), Russia

E-mail: Knyazeva.inna@yandex.ru

The purpose of the study was to evaluate the effect of *Bacillus cereus* bacteria on the development and accumulation of biologically active substances in tomato plants grown under LED and sodium illumination. Plants of the ‘Voskhod VNISSOKA’ variety were grown hydroponically using low-volume technology with drip irrigation in a climatic chamber manufactured by VIM (Russia). With *B. cereus*, there was an increase in the accumulation of photosynthetic pigments in tomato biomass compared to that without the bacteria. In the leaves of tomatoes grown under Na (control) or LED illumination with *B. cereus*, the average content of the total chlorophylls (a + b) was 1.5 times higher than that *B. cereus*. Under the influence of *B. cereus*, there was a significant increase in the Brix index when tomatoes were grown under both Na and LED illumination. The maximum Brix index was observed in tomato fruits obtained under LED illumination and treated with a 2.9% *B. cereus*. *B. cereus* culture contributes to the enhancement of the biosynthesis of organic acids in tomato fruits. Significant increases in the concentrations of oxalic and succinic acids was observed under Na illumination, and of succinic, malic and citric acids under LED illumination.

Key words: *Solanum lycopersicum* L., microorganisms, hydroponics, illuminations, organic acids.

В устойчивых системах земледелия биоудобрения являются альтернативой химическим удобрениям для повышения роста растений, урожайности и качества [1]. Микроорганизмы также имеют важное значение для содействия циркуляции питательных веществ в растениях, снижая высокий спрос на химические удобрения [2].

Ризосферными PGPR-бактерии (Plant Growth Promoting Rhizo bacteria), способствуют растений, улучшая развитие и качество растений посредством широкого спектра процессов, таких как солибилизация фосфатов, биологическая фиксация азота, производство сидерофоров, фитогормонов, индукция системной резистентности и стимулирование симбиоза растений и микроорганизмов [3, 4].

Большое число исследований показало, что эндофиты могут оказывать положительное влияние на рост и развитие растений. Одним из биологических методов является применение бактерий, стимулирующих рост растений, для уменьшения вредного воздействия стрессовых факторов [5]. При солевом стрессе *B. cereus* значительно увеличивали длину, количество боковых корней и содержание биологически активных соединений в проростках *Glycyrrhiza uralensis* [6].

Присутствие *B. cereus* значительно увеличивало метрические показатели проростков семян огурца: при концентрации кобальта 0,01 г/га – на 25% (надземная часть) и на 14% (подземная часть); при концентрации наночастиц кобальта 0,10 г/га – на 17% (подземная часть) и на 20% (надземная часть) [7]. Применение раствора PGPR повышает урожайность томатов и увеличивает доступность минеральных питательных веществ за счет улучшения роста корней [8].

Мы предположили, что *B. cereus* может стимулировать рост растений и увеличивать содержание органических кислот (щавелевой, янтарной, яблочной и лимонной кислот) в плодах томатов при разном освещении.

Цель исследований – изучение влияния бактерий *Bacillus cereus* на развитие и накопление биологически активных веществ в растениях томатов, выращенных при светодиодном или натриевом освещении.

Объектом исследований являлись растения *Solanum lycopersicum* (томаты) сорт ‘Восход ВНИИССОКА’ – среднеранний сорт томата российской селекции. Работа над получением сортом проведена в 2012-2015 годах в лаборатории селекции и семеноводства пасленовых культур ВНИИССОК. Сорт получен скрещиванием географически отдаленных родительских форм с последующим отбором. В качестве материнской линии использована линия среднепозднего урожайного сорта ‘Барон’ (плотные и лежкие плоды, относительно устойчив к фитофторозу), в качестве отцовской – линия раннеспелого компактного сорта ‘Арго’ (устойчивая к фитофторозу и растрескиваемости плодов) [9].

Ценность сорта: детерминантный. Куст полштамбовый, высотой 50-60 см, облиственность средняя, не требует подвязки. Листья короткие, зеленые. Соцветие простое. Плоды округлой формы, средней плотности, гладкие, массой 90-105 г. Содержание сухого вещества в плодах 5,5-6,0%; общий сахар 2,8%; аскорбиновая кислота 22,9%; общая кислотность 0,43%. От массовых всходов до созревания проходит 100-105 суток. Назначение: салатное, консервное и засолочное [10].

Биоудобрение на основе бактерий *B. cereus* применяли экзогенно один раз за вегетационный период томатов на ранних стадиях развития растений (формирования 3-4-х листьев). В прикорневую часть растений томатов вводили суспензию *Bacillus* в концентрации 10³ КОЕ. Контролем служили растения без добавления бактериальной культуры. Эксперимент включал 4 варианта, в каждом варианте по 8 растений:

Тип излучения	Применение бактерий <i>Bacillus</i> sp.
Натриевое (далее Na)	контроль (без введения бактериальной суспензии)
	бактерии (введение бактериальной суспензии)
Светодиодное (далее LED)	контроль (без введения бактериальной суспензии)
	бактерии (введение бактериальной суспензии)

Растения томатов выращивались гидропонным способом по малообъемной технологии с капельным поливом в климатической камере производства ВИМ (Россия).

При проведении эксперимента в камере выдерживались следующие условия: температурный режим днем поддерживали в пределах 22-24 °С, ночью – 14-16 °С при 16-часовом световом дне и относительной влажности воздуха 60-65 %.

Растения томатов выращивались в двух климатических камерах под разным освещением. Для проведения исследований использовали светодиодное освещение представленное на рис.1, с освещенностью на уровне растений, равной 13900 люкс, и суммарной ФАР –278,5 ммоль/м²с со спектром blue (47,9 ммоль/м²с), green (62,7 ммоль/м²с), red (119,6 ммоль/м²с), и far red (48,3 ммоль/м²с), в пропорции B:G:R:FR ~ 17:23:43:17.

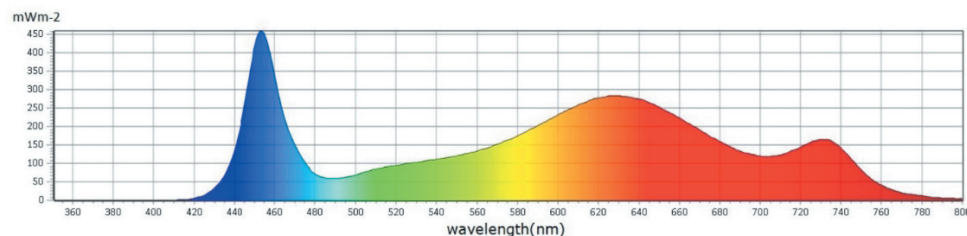


Рис. 1. Спектральный состав освещения в климатической камере при выращивании растений томатов.

В качестве контрольного источника освещения использовали две натриевые трубчатые лампы (ДНАТ-600, цвет – желтый), одна металлогалогенная лампа (ДРИ-600/4К, цвет – белый). Освещенность на уровне растений составила 13900 люкс, ФАР – 270 ммоль/м²с.

Измерения плотности потока фотонов и спектрального состава излучения проводили с помощью прибора MK350D Compact Spectrometer (UPRtek Corp. Miaoli County, Taiwan).

Содержание основных пигментов (хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов) в листьях томатов определяли на спектрофотометре Спекс ССП-705М (Россия). Концентрацию пигментов рассчитывали для 100% ацетона по уравнению Хольма-Веттштейна [11, 12].

Содержание органических кислот в плодах томатов проводили методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель-205» (Россия).

Определение индекса Brix (Брикс) в плодах томатов проводили на рефрактометре Atago Pal-1 (Japan).

Определение высоты растений томатов проводили через 38 суток после всходов, в фазе появления 4-6 настоящих листьев, в фазе цветения, массового налива и созревания плодов (рис. 2).

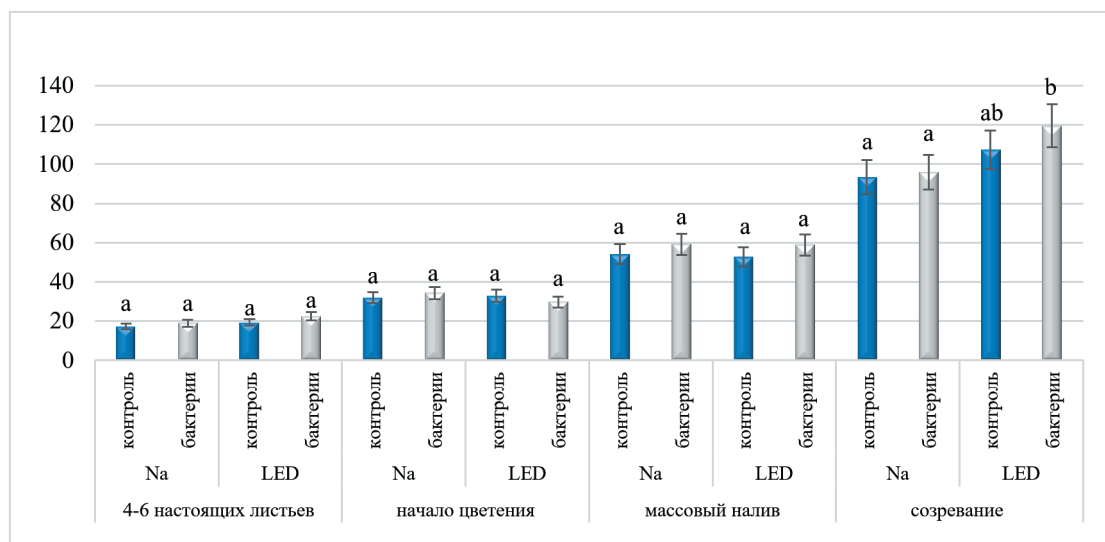


Рис. 2. Высота растений томатов сорта 'Восход ВНИИССОКА', выращенного в условиях закрытой агроэкологии, см.

В селекционных программах высота растений томатов входит в число основных морфометрических признаков с высокой наследуемостью и относительно слабой вариабельностью. В ходе морфометрического изучения высоты растений томатов в зависимости от факторов влияния освещения и бактерий достоверно значимые различия не наблюдались по фазам роста и развития растений, за исключением фазы созревания плодов.

Существенное увеличение высоты растений проявилось под действием бактерий *B. cereus* при разном типе освещения. При этом максимальная высота растений при Na-освещении составила 95,8 см, а при LED-освещении – 119,5 см.

Способность листьев синтезировать хлорофилл, также как и устойчивость пигмента, тесно связаны с общим физиологическим состоянием растений. Весьма важное значение для синтеза хлорофилла из протохлорофилла имеет качество освещения. Определяя содержание основных фотосинтетических пигментов в листовой биомассе томатов, мы установили зависимость накопления пигментов от разного типа освещения (табл. 1). Так, при Na-освещении (контроль) содержание пигментов ассимиляционного аппарата было незначительно ниже, чем при LED-освещении. Более заметно это проявилось в накоплении каротиноидов (1,07 мг/г при Na- и 1,35 мг/г при LED-освещении).

Табл. 1.

Содержание основных фотосинтетических пигментов в растениях томата сорта 'Восход ВНИИССОКА' в условиях закрытой агроэкологии, мг/г (сырой массы)

Тип освещения	Обработка	Хлорофилл <i>a</i>	Хлорофилл <i>b</i>	Хлорофилл (<i>a+b</i>)	Каротиноиды
Na	контроль	3,20±0,2	0,98±0,2	4,18±0,3	1,07±0,2
	бактерии	4,76±0,3	1,55±0,3	6,31±0,4	1,58±0,3
LED	контроль	3,37±0,3	1,08±0,2	4,45±0,4	1,35±0,3
	бактерии	4,99±0,4	1,76±0,3	6,75±0,5	1,55±0,3

Показательны в этом же отношении значения, характеризующие зависимость накопления пигментов от действия бактерий *B. cereus*. при разных источниках освещения.

Применение *B. cereus* способствовало увеличению концентрации хлорофиллов и каротиноидов при сравнении с контролем. Как видно из таблицы, в листьях томатов, выращенных под Na- (контрольным) и LED-освещением с применением *Bacillus* sp., средний показатель содержания суммы хлорофиллов (*a+b*) составило 6,31 мг/г и 6,75 мг/г соответственно, что в 1,5 превышает контрольный вариант.

Изучение накопления сухого вещества в плодах томатов показало, что действие бактерий не проявилось и оно было на одном уровне по отношению к контрольному варианту. Однако, выявлено влияние типа освещения на аккумуляцию сухого вещества: при Led освещении его доля в среднем была выше на 0,9% по сравнению с Na освещением, что обуславливается более высокой пищевой ценностью плодов рис.3.

Содержание сухих веществ в плодах, выращенных при Na-освещении, после применения бактерий составило 5,21%, при LED- освещении – 6,18%.

Исследование индекса *Vrix* одного из главных биохимических показателей томатов, который напрямую связан с качеством плодов, показало разные его вариации в зависимости от действия факторов (рис. 4). Выявлены достоверно значимые различия по индексу *Vrix* в зависимости от действия бактерий *B. cereus* при выращивании томатов как при Na-так и при LED-освещении.

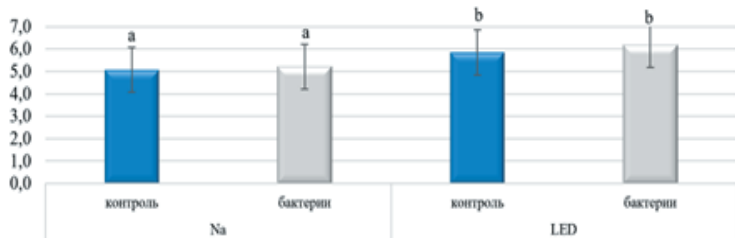


Рис. 3. Содержание сухих веществ в плодах томата сорта 'Восход ВНИИССОКА', %.

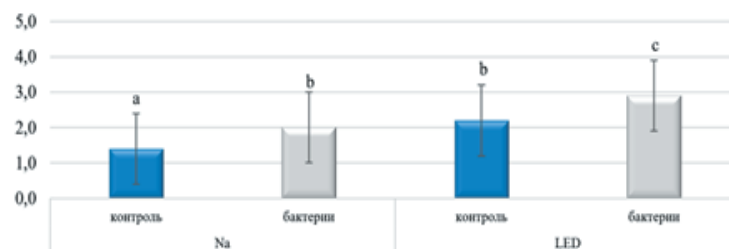


Рис. 4. Индекс *Vrix* в плодах томата сорта 'Восход ВНИИССОКА', %.

Значительно меньшими показателями отличались плоды томатов сформированные под Na-освещением в контрольном варианте без введения бактериальной суспензии *B. cereus* – 1,4%. Плоды томатов, полученные с применением *B. cereus*, обладали в среднем более высоким показателем *Vrix*. Индекс *Vrix* в плодах при Na-освещении с применением бактерий был почти на одном уровне с контрольным вариантом LED-освещения и составил в среднем 2,0-2,2%. Максимальный индекс *Vrix* был отмечен у плодов томатов полученных при LED-освещении с введением *B. cereus* – 2,9%.

Электрофоретический анализ плодов томатов позволил выявить существенное преимущество вариантов опыта с применением бактериальной культуры по накоплению органических кислот в сравнении с контрольными вариантами (рис. 5). В плодах томатов, выращенных при введении суспензии *B. cereus*, наблюдалось достоверное увеличение концентрации щавелевой и янтарной кислот при Na-освещении и янтарной, яблочной и лимонной кислот при LED-освещении.

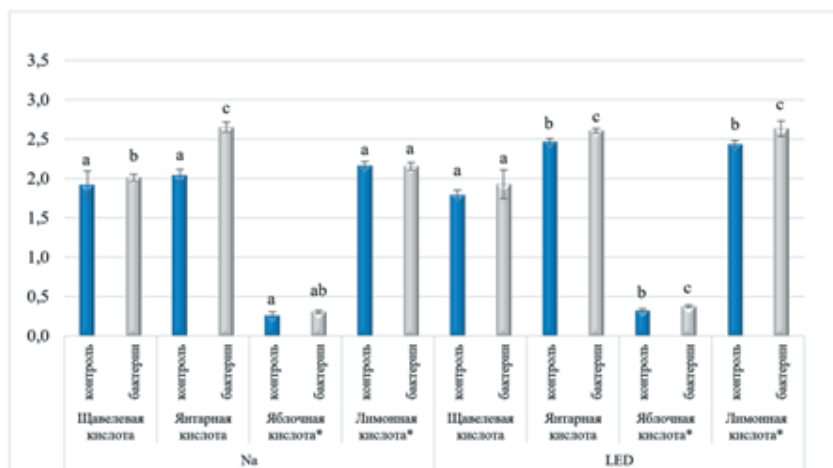


Рис. 5. Содержание органических кислот в плодах томата сорта 'Восход ВНИИССОКА', мг/100 г сырой массы (* г/кг сырой массы).

Установлена тенденция к увеличению биосинтеза органических кислот в плодах томатов - янтарной (2,47 мг/100 г), яблочной (0,33 г/кг) и лимонной (2,43 г/кг) – при LED освещении. Аналогичная тенденция проявляется и при Na-освещении, но при меньших уровнях проанализированных кислот.

Выводы

1. Под действием бактериальной культуры *B. cereus* наблюдали увеличение высоты растений томатов в фазе созревания плодов при разном типе освещения. При этом максимальная высота растений при Na-освещении составила 95,8 см, а при LED-освещении – 119,5 см.
2. При применении *B. cereus* происходит увеличение накопления фотосинтетических пигментов в биомассе томатов сорта 'Восход ВНИИССОКА' относительно контрольного варианта. В листьях томатов, выращенных под Na- (контрольным) или LED-освещением с применением *B. cereus* средний показатель содержания суммы хлорофиллов (a+b) в 1,5 превышает контрольный вариант без *B. cereus*.
3. Показано, что действие бактерий не повлияло на накопление сухого вещества в плодах томатов. Однако, выявлено влияние типа освещения на аккумуляцию сухого вещества как без применения бактерий, так и с их использованием при сравнении двух вариантов. Настения, выращенные под LED-освещением отличались повышенным накоплением сухого вещества в плодах томатов – 6,18% (с применением *B. cereus*).
4. Под действием *B. cereus* происходит достоверное увеличение индекса *Vrix* при выращивании томатов как при Na- так и при LED- освещении. Максимальный индекс *Vrix* был отмечен у плодов томатов полученных при LED-освещении с введением суспензии *B. cereus* - 2,9%.
5. Бактериальная культура *B. cereus* способствует усилению биосинтеза органических кислот в плодах томатов сорта 'Восход ВНИИССОКА'. Достоверное увеличение концентрации щавелевой и янтарной кислот наблюдали при Na-освещении и янтарной, яблочной и лимонной кислот - при LED-освещении.
6. В целях повышения качества плодов томатов, выращенных на гидропонике, рекомендуется использовать бактериальной культуры *B. cereus* путем однократного введения суспензии в прикорневую часть растений на ранних стадиях развития.

Литература

1. Ajmal M, Ali HI, Saeed R, Akhtar A, Tahir M, Mehboob MZ, Ayub A. Biofertilizer as an alternative for chemical fertilizers. J Agr Allied Sci. 2018;(7):1-7.
2. Javaid A, Mahmood N. Growth nodulation and yield response of soybean to biofertilizers and organic manures. J Bot. 2010;42:863-71

3. Bhattacharyya PN, Jha DK. Plant growth-promoting bacteria (PGPB): emergence in agriculture. *World J. Microbiol Biotechnol.* 2013;28:1327-50.
4. Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez JP. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant Soil.* 2014;378:1-33.
5. Trdan S, Vučajnk F, Bohinc T, Vidrih, M. The effect of a mixture of two plant growth-promoting bacteria from Argentina on the yield of potato, and occurrence of primary potato diseases and pest-short communication. *Acta Agric Scand Sect B Soil Plant Sci.* 2019;69:89-94. DOI: 10.1080/09064710.2018.1492628
6. Zhang Y, Lang D, Zhang W, Zhang X. *Bacillus cereus* enhanced medicinal ingredient biosynthesis in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. under different conditions based on the transcriptome and polymerase chain reaction analysis. *Front Plant Sci.* 2022;(13):858000. DOI: 10.3389/fpls.2022.858000
7. Чурилова ВВ, Полищук СД, Чурилов ДГ, Назарова АА. Влияние наночастиц кобальта на штамм *Bacillus cereus* для применения в овощеводстве. *Вестник РГАТУ.* 2017;2(34):130-3.
8. Le T, Pék Z, Takács S, Neményi A, Helyes L. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on yield, water use efficiency and Brix degree of processing tomato. *Plant Soil Environ.* 2018;64:523-9.
9. Электронный ресурс: <https://botsad.by/томат-восход-внииссока>.
10. Государственный реестр допущенных к использованию селекционных достижений 2020. URL: https://gossortrf.ru/wpcontent/uploads/2020/03/FIN_reestr_dop_12_03_2020.pdf.
11. Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Meth Enzymol.* 1987;148:350-82.
12. Третьяков Н. Практикум по физиологии растений. М.: Агропромиздат; 1990.

References

1. Ajmal M, Ali HI, Saeed R, Akhtar A, Tahir M, Mehboob MZ, Ayub A. Biofertilizer as an alternative for chemical fertilizers. *J Agr Allied Sci.* 2018;(7):1-7.
2. Javaid A, Mahmood N. Growth nodulation and yield response of soybean to biofertilizers and organic manures. *J Bot.* 2010;42:863-71
3. Bhattacharyya PN, Jha DK. Plant growth-promoting bacteria (PGPB): emergence in agriculture. *World J. Microbiol Biotechnol.* 2013;28:1327-50.
4. Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez JP. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant Soil.* 2014;378:1-33.
5. Trdan S, Vučajnk F, Bohinc T, Vidrih, M. The effect of a mixture of two plant growth-promoting bacteria from Argentina on the yield of potato, and occurrence of primary potato diseases and pest-short communication. *Acta Agric Scand Sect B Soil Plant Sci.* 2019;69:89-94. DOI: 10.1080/09064710.2018.1492628
6. Zhang Y, Lang D, Zhang W, Zhang X. *Bacillus cereus* enhanced medicinal ingredient biosynthesis in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. under different conditions based on the transcriptome and polymerase chain reaction analysis. *Front Plant Sci.* 2022;(13):858000. DOI: 10.3389/fpls.2022.858000
7. Churilova VV, Polishchuk SD, Churilov DG, Nazarova AA. [Influence of cobalt nanoparticles on the *Bacillus cereus* strain for vegetable growing]. *Vestnik RGATU.* 2017;2(34):130-3. (In Russ.)
8. Le T, Pék Z, Takács S, Neményi A, Helyes L. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on yield, water use efficiency and Brix degree of processing tomato. *Plant Soil Environ.* 2018;64:523-9.
9. Anonymous. URL: <https://botsad.by/томат-восход-внииссока>. (In Russ.)
10. Anonymous. [State Registry of Breeding Achievements Approved for Use 2020]. URL: https://gossortrf.ru/wpcontent/uploads/2020/03/FIN_reestr_dop_12_03_2020.pdf. (In Russ.)
11. Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Meth Enzymol.* 1987;148:350-82.
12. Tret'yakov N. *Praktikum po Fiziologii Rasteniy* [Workshop on Plant Physiology]. Moscow: Agropromizdat; 1990. (In Russ.)