

ОБЩЕЕ ЗЕМЛЕДЕЛИЕ И РАСТЕНИЕВОДСТВО/GENERAL AGRICULTURE AND CROP PRODUCTION

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.59.10>

АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СИМБИОНТОВ ЧЕРНЫХ ТРЮФЕЛЕВЫХ ГРИБОВ К РЕГУЛЯЦИИ РОСТА РАСТЕНИЙ

Научная статья

Малыгина Е.В.^{1,*}, Кулинич С.В.², Имидоева Н.А.³, Бельшенко А.Ю.⁴, Вавилина Т.Н.⁵, Дмитриева М.Е.⁶, Шелковникова В.Н.⁷, Моргунова М.М.⁸, Аксёнов-Грибанов Д.В.⁹¹ ORCID : 0000-0002-2673-0226;² ORCID : 0009-0004-0701-2175;³ ORCID : 0000-0002-6327-5517;⁶ ORCID : 0000-0002-9229-1954;⁷ ORCID : 0000-0002-4411-7521;⁸ ORCID : 0000-0002-7939-1432;⁹ ORCID : 0000-0003-2020-6084;^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9} Иркутский государственный университет, Иркутск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (cat.malygina[at]gmail.com)

Аннотация

Трюфели являются сумчатыми грибами, которые формируют плодовые тела в ассоциации с корнями растений и почвенными микроорганизмами, роль которых до конца не исследована. Известно, что многие из этих микроорганизмов способны изменять уровень фитогормонов, повышать доступность питательных веществ и подавлять патогены, что может положительно сказываться на росте растений и их устойчивости. Так, целью данного исследования являлась первичная оценка разнообразия бактерий, ассоциированных с черным трюфелем *Tuber macrosporum*, и их способности регулировать рост семян *Sinapis alba*. В рамках исследования были выбраны четыре рода бактерий-симбионтов трюфелей: *Paenibacillus* sp., *Peribacillus* sp., *Plantibacter* sp. и *Microbacterium* sp., которые были культивированы на различных питательных средах. Экстракты данных бактерий оценивались на предмет их воздействия на рост семян белой горчицы. Результаты показали, что исследуемые экстракты способны как стимулировать, так и ингибировать рост корней и побегов растительной тест-культуры в зависимости от используемой питательной среды. Полученные данные подчеркивают перспективность дальнейшего изучения бактерий, ассоциированных с черным трюфелем, и их экстрактов в контексте регуляции роста растений. Понимание механизмов взаимодействия между данными микроорганизмами и растениями может открыть новые возможности для агрономии.

Ключевые слова: трюфель, бактерии, экстракты, вторичные метаболиты, *Sinapis alba*.

ANALYSIS OF THE ABILITY OF BACTERIAL SYMBIONTS OF BLACK TRUFFLE FUNGI TO REGULATE PLANT GROWTH

Research article

Malygina E.V.^{1,*}, Kulnich S.V.², Imidoeva N.A.³, Belyshenko A.Y.⁴, Vavilina T.N.⁵, Dmitrieva M.E.⁶, Shelkovnikova V.N.⁷, Morgunova M.M.⁸, Axenov-Gribanov D.V.⁹¹ ORCID : 0000-0002-2673-0226;² ORCID : 0009-0004-0701-2175;³ ORCID : 0000-0002-6327-5517;⁶ ORCID : 0000-0002-9229-1954;⁷ ORCID : 0000-0002-4411-7521;⁸ ORCID : 0000-0002-7939-1432;⁹ ORCID : 0000-0003-2020-6084;^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9} Irkutsk state university, Irkutsk, Russian Federation

* Corresponding author (cat.malygina[at]gmail.com)

Abstract

Truffles are cup fungi that form fruiting bodies in association with plant roots and soil microorganisms, the role of which has not been fully explored. It is known that many of these microorganisms are able to modify phytohormone levels, increase nutrient availability and suppress pathogens, which may have positive effects on plant growth and resistance. Thus, the aim of this study was to initially evaluate the diversity of bacteria associated with black truffle *Tuber macrosporum* and their ability to regulate *Sinapis alba* seed growth. Four genera of truffle symbiont bacteria, *Paenibacillus* sp., *Peribacillus* sp., *Plantibacter* sp. and *Microbacterium* sp. were selected for the study and cultured on different nutrient media. The extracts of these bacteria were assessed for their effect on white mustard seed growth. The results showed that the tested extracts were able to both stimulate and inhibit the growth of roots and shoots of the plant test crop, depending on the nutrient medium used. The findings emphasise the promise of further study of black truffle associated bacteria and their extracts in the context of plant growth regulation. Understanding the mechanisms of interaction between these microorganisms and plants may open new opportunities for agronomy.

Keywords: truffle, bacteria, extracts, secondary metabolites, *Sinapis alba*.

Введение

Трюфели представляют собой уникальную группу подземных аскомицетов, которые формируют плодовые тела в тесном симбиозе с корнями растений. На всех этапах своего развития трюфели колонизированы разнообразными микроорганизмами, включая бактерии [1]. Бактерии, ассоциированные с плодовым телом трюфеля, могут участвовать в различных биологических процессах. Например, бактерии, ассоциированные с плодовым телом трюфеля, могут участвовать в установлении эктомикоризного симбиоза, регулировать коммуникации между другими симбиотическими микроорганизмами и способствовать поглощению или фиксации минеральных веществ, таких как азот [2]. Это позволяет предположить, что бактерии, населяющие плодовые тела трюфелей, могут выступать в роли фитостимуляторов, положительно влияя на рост и развитие растений.

Существует ряд исследований, которые подтверждают способность бактериальных симбионтов регулировать рост растений. Например, они могут модулировать уровень фитогормонов в корнях растений, повышать доступность питательных веществ и подавлять развитие патогенной микрофлоры. Это не только способствует увеличению урожайности, но и повышает устойчивость растений к стрессовым условиям, таким как засуха, засоление или воздействие вредителей.

Понимание экологической значимости бактериального сообщества трюфельных грибов может привести к разработке новых методов использования симбионтов трюфелей в сельском хозяйстве. Например, можно создать биопрепараты на основе бактериальных симбионтов трюфелей для повышения урожайности и качества сельскохозяйственных культур. Такие биопрепараты могут стать альтернативой химическим удобрениям и пестицидам, что будет способствовать развитию экологически чистого сельского хозяйства.

Целью данного исследования является первичная оценка разнообразия бактерий, ассоциированных с черным трюфелем *Tuber macrosporum*, и их способности регулировать рост семян *Sinapis alba*.

Методы и принципы исследования

Образцы плодовых тел черного трюфеля *Tuber macrosporum* были собраны в республике Адыгея и доставлены в г. Иркутск посредством авиасообщения в термостатируемых условиях — при температуре от +6 до +10 °С. Далее образцы были промыты, очищены и стерилизованы 70% спиртом. Затем грибы были надломлены, стерильным скальпелем была вырезана сердцевина плодового тела, измельчена и зафиксирована в 20% растворе стерильного глицерина.

Далее полученный водно-глицероловый экстракт был посеян газомом на твердые питательные среды. Для выделения бактерий-симбионтов трюфельных грибов были выбраны следующие среды: MS (соевая мука — 20 г/л, Д-маннит — 20 г/л, агар — 20 г/л, агар — 20 г/л), TSB (казеиновый пептон — 17 г/л, KH_2PO_4 — 2,5 г/л, глюкоза — 2,5 г/л, NaCl — 5 г/л, соевый пептон — 3 г/л, агар — 20 г/л) и Гаузе-2 (триптон — 2,5 г/л, пептон — 5 г/л, NaCl — 5 г/л, глюкоза — 10 г/л, агар — 20 г/л). Выделение микроорганизмов проводили в термостатируемых условиях при температуре +28 °С. Затем чистые культуры выделенных бактерий культивировали на питательной среде TSB. Идентификацию культур проводили посредством секвенирования, для чего ДНК выделяли калий-ацетатным методом [3]. Для проведения реакции ПЦР были использованы компоненты: универсальные эубактериальные праймеры 8F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') и 1492R (5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3'), смесь для ПЦР 5X ScreenMix-HS и DMSO. ПЦР проводили с применением автоматического амплификатора Biometra (Германия). Реакцию проводили по следующей программе: первичная денатурация — 2 мин при 95 °С. Затем — 24 цикла, включающих: денатурацию при 95 °С — 30 сек., отжиг при 52 °С — 30 сек., удлинение при 72 °С — 1 мин. Окончательное удлинение проводили при 72 °С в течение 5 мин. Очистку ПЦР-продуктов проводили с помощью набора для очистки ДНК «Cleanup» ЗАО «Евроген». Очищенные ПЦР-продукты отправляли на секвенирование в ЗАО «Евроген» (г. Москва). Нуклеотидные последовательности секвенировали методом Сэнгера. Контиги были собраны с применением программы BioEdit, а далее загружены в базу данных NCBI (под номерами: PV537302, PV537307-PV537311, PV537313-PV537318, PV537321-PV537324) для сравнения и идентификации.

Для проведения дальнейшего эксперимента выбирали 5 штаммов, принадлежащих к наиболее различающимся друг от друга родам. Затем проводили их глубинное культивирование на следующих питательных средах: TSB (казеиновый пептон — 17 г/л, KH_2PO_4 — 2,5 г/л, глюкоза — 2,5 г/л, NaCl — 5 г/л, соевый пептон — 3 г/л), MM (L-аспарагин — 0,5 г/л, K_2HPO_4 — 0,5 г/л, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,2 г/л, $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,01 г/л, глюкоза — 10 г/л), PDA (картофельный отвар — 1 л; декстроза — 20 г/л) при температуре +28 °С в течение 7 суток. Полученные пробы разделяли на биомассу и культуральную жидкость посредством центрифугирования при 3000 rpm, 20 мин. Для экстракции вторичных метаболитов из биомассы использовали смесь ацетона с метанолом в соотношении 1:1. Для экстракции внеклеточных метаболитов использовали этилацетат.

Помимо оценки воздействия симбиотических и бактериальных культур на прорастание семян, оценивали и воздействие плодовых тел грибов на рост растений. Для этого проводили экстракцию из плодовых тел трюфельных грибов. В рамках данного эксперимента было взято 3 типа плодовых тел: высушенные в регидрататоре и нарезанные 슬라이сами, свежие и плодовые тела, высушенные посредством заморозки. Для проведения экстракции каждый образец трюфеля измельчали в фарфоровой ступке с добавлением метанола в соотношении 1:1.

В качестве тест-объекта были выбраны семена белой горчицы (*Sinapis alba*), предварительно стерилизованные в растворе 5% гипохлорита натрия в течение 5 мин, затем в 70% растворе этилового спирта в течение 2 мин и 1 мин в стерильной дистиллированной воде. Далее в чашки Петри с внутренним диаметром 60 мм помещали диск фильтровальной бумаги, на котором равномерно размещали семена *S. alba* в количестве 2 шт. Каждый экстракт тестировали в трехкратной повторности. Чашки с семенами инкубировали в термостате при температуре +28 °С. Общее количество семян, участвовавших в эксперименте — 340 шт. В ходе эксперимента, у *S. alba* определяли длину корня и побега при концентрации экстракта 5 мг/мл. Продолжительность экспериментов составляла 7 суток. Контролем выступали растения, обработанные стерильной водой.

Обработку результатов проводили с использованием программы Microsoft Office Excel. Сравнение выборочных средних проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни. Предел погрешностей показан в виде отрезков на столбчатых диаграммах.

Основные результаты

В ходе исследования проведена первичная оценка разнообразия культивируемых бактерий, ассоциированных с черным трюфелем *T. macrosporum*. С помощью секвенирования фрагментов ДНК по гену 16S рРНК получены нуклеотидные последовательности, которые были выровнены с представителями других бактерий этих же родов в системе NCBI. В результате эксперимента было выделено более 40 чистых культур, из которых идентифицировано 18. Идентифицированные бактерии принадлежали таким родам, как *Bacillus* sp. (35%), *Microbacterium* sp. (35%), *Lactococcus* sp. (6%), *Enterococcus* sp. (6%), *Plantibacter* sp. (6%), *Paenibacillus* sp. (6%), *Peribacillus* sp. (6%) (Таблица 1).

Таблица 1 - Идентифицированные штаммы бактерий-симбионтов черного трюфеля *T. macrosporum*

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.59.10.1>

Штамм	Схожие микроорганизмы	Регистрационный номер родственного штамма в системе NCBI	Идентичность, %	Совпадение с последовательностью из системы NCBI, %
<i>Microbacterium</i> sp. LPB2023S21	<i>Microbacterium oxydans</i> штамм DSM 20578(T)	MH321609.1	99,93	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм FSd	OP314185.1	99,85	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм FT22	OP314189.1	99,85	100
<i>Microbacterium</i> sp. LPB2023S32	<i>Microbacterium</i> sp. штамм WSR56	MZ905269.1	99,78	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм WSP380	MZ905264.1	99,78	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм y2	KT426691.1	99,71	100
<i>Microbacterium</i> sp. LPB2023S43	<i>Microbacterium</i> sp. штамм WSR56	MZ905269.1	99,56	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм FQ911	OP314180.1	99,57	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм WSP380	MZ905264.1	99,56	100
<i>Microbacterium</i> sp. LPB2023S54	<i>Microbacterium</i> sp. штамм FQ911	OP314180.1	97,61	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм S08	FJ002589.1	97,55	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм B-1132	DQ347555.1	97,47	100
<i>Microbacterium</i> sp. LPB2023S7	<i>Microbacterium</i> sp. штамм FT31	OP314167.1	99,64	100
	<i>Microbacterium oxydans</i> штамм RS6J	MG547697.1	99,64	100
	<i>Microbacterium oxydans</i> штамм L0502	MT808738.1	99,64	100

Штамм	Схожие микроорганизмы	Регистрационный номер родственного штамма в системе NCBI	Идентичность, %	Совпадение с последовательностью из системы NCBI, %
<i>Microbacterium</i> sp. LPB2023S95	<i>Microbacterium</i> sp. штамм FT31	OP314167.1	99,15	100
	<i>Microbacterium maritopicum</i> штамм XNh4	PP874463.1	99,15	100
	<i>Microbacterium</i> sp. штамм InAD-055	MF401261.1	99,15	100
<i>Paenibacillus</i> sp. LPB2023S6	<i>Paenibacillus</i> sp. штамм BAB-3408	KF917139.1	99,89	100
	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> штамм PV3-16	MH472941.1	99,89	100
	<i>Paenibacillus dendritiformis</i> штамм IBGE-MAB1	OP648144.1	99,89	100
<i>Peribacillus</i> sp. LPB2023S23	<i>Peribacillus frigoritolerans</i> штамм V1202	OP434104.1	99,93	100
	<i>Peribacillus frigoritolerans</i> штамм MRC_ES1_79	OK605809.1	99,93	100
	<i>Peribacillus frigoritolerans</i> штамм V5767	PP257131.1	99,93	100
<i>Plantibacter</i> sp. LPB2023S16	<i>Plantibacter</i> sp. штамм BEG503	LT628097.1	87,13	74
	<i>Plantibacter</i> sp. штамм ICMP	MH392641.1	87,13	100
	<i>Plantibacter auratus</i> штамм NJ-YK-2-B	MW928747.1	87,13	100
<i>Bacillus</i> sp. LPB2023S1	<i>Bacillus weihenstephanensis</i> штамм WSBC 10204	CP009746.1	99,86	100
	<i>Bacillus mycoides</i> штамм WK46	ON799369.1	99,86	100
	<i>Bacillus mycoides</i> штамм rKer2	ON644442.1	99,86	100
<i>Bacillus</i> sp. LPB2023S8	<i>Bacillus albus</i> штамм GAU5	OM232457.1	90,96	100 100 100
	<i>Bacillus albus</i> штамм BLWW4	PQ160479.1	90,95	100
	<i>Bacillus anthracis</i> штамм T0-12	MN330086.1	89,82	100
<i>Bacillus</i> sp. LPB2023S10	<i>Bacillus</i> sp. штамм L	OL413468.1	97,62	100
	<i>Bacillus</i>	MN509082.1	97,56	100

Штамм	Схожие микроорганизмы	Регистрационный номер родственного штамма в системе NCBI	Идентичность, %	Совпадение с последовательностью из системы NCBI, %
	<i>thuringiensis</i> штамм NO.8			
	<i>Bacillus cereus</i> штамм CR2	OQ940650.1	97,62	100
<i>Bacillus sp.</i> LPB2023S11	<i>Bacillus albus</i> штамм GAU5	OM232457.1	91,89	99
	<i>Bacillus anthracis</i> штамм T0-12	PQ160479.1	91,87	99
	<i>Bacillus anthracis</i> штамм 1969	MN330086.1	91,08	100
<i>Bacillus sp.</i> LPB2023S14	<i>Bacillus albus</i> штамм GAU5	OM232457.1	91,70	99
	<i>Bacillus albus</i> штамм BLWW4	PQ160479.1	91,74	99
	<i>Bacillus cereus</i> штамм F45	MK559557.1	91,64	99
<i>Bacillus sp.</i> LPB2023S15	<i>Bacillus albus</i> штамм GAU5	OM232457.1	92,28	100
	<i>Bacillus albus</i> штамм BLWW4	PQ160479.1	92,26	100
	<i>Bacillus anthracis</i> штамм T0-12	MN330086.1	90,97	100
<i>Enterococcus sp.</i> LPB2023S71	<i>Enterococcus malodoratus</i> штамм AT5L204	MW468101.1	99,51	100
	<i>Enterococcus malodoratus</i> штамм JCM 8730	LC097068.1	99,51	100
	<i>Enterococcus malodoratus</i> штамм ATCC 43197	NR_114453.1	99,51	100
<i>Lactococcus sp.</i> LPB2023S91	<i>Lactococcus lactis</i> штамм N56	OQ405927.1	99,93	100
	<i>Lactococcus lactis</i> штамм YSF2	OR482623.1	99,93	100
	<i>Lactococcus lactis</i> штамм M3	OQ224981.1	99,93	100

Показано, что в контрольных условиях длина корней проростков семян *S. alba* составила, в среднем $35,33 \pm 20,03$ мм. При обработке семян экстрактом культуральной жидкости штамма *Peribacillus* sp., выращенного на среде MM, наблюдали статистически значимую индукцию роста корня. Длина корня при этом составляла, в среднем, $87,8 \pm 18,1$ мм. Также отмечено статистически значимое ингибирование роста корня проростков *S. alba* до отметки $23 \pm 11,8$ мм, в среднем, экстрактом внеклеточных метаболитов штамма *Microbacterium* sp., выращенного на питательной среде TSB. Для побегов семян *S. alba*, пророщенных в контрольных условиях, установлена средняя длина $15,7 \pm 5,6$ мм. При обработке семян экстрактом культуральной жидкости штамма *Paenibacillus* sp, выращенного на среде TSB, наблюдали выраженное ингибирование роста побегов до $2,3 \pm 1,3$ мм. В то же время экстракты этого же штамма, выращенного на среде PDA, способны статистически значимо увеличивать рост побегов до $22,9 \pm 10,4$ мм (рис. 1).

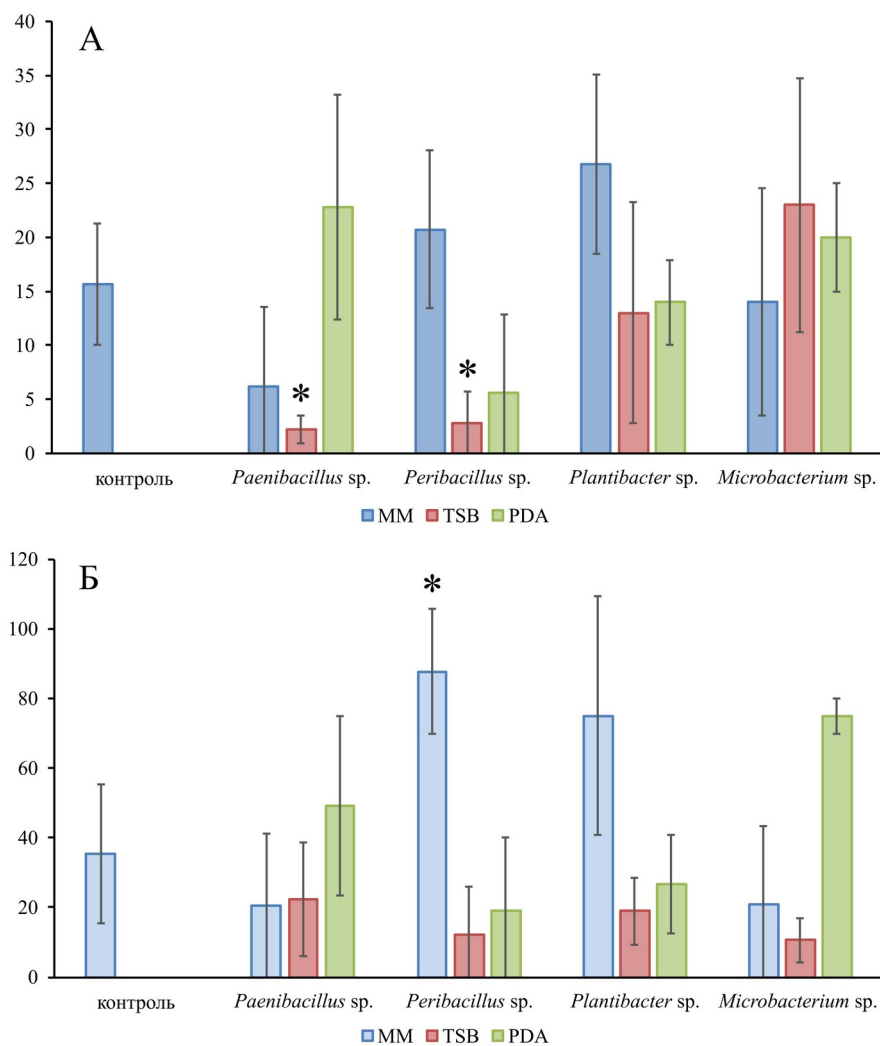


Рисунок 1 - Длина побега (А) и корня (Б) 7-суточных проростков семян *S. alba* при обработке экстрактами культуральной жидкости бактерий-симбионтов черного трюфеля
DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.59.10.2>

Примечание: символом «*» отмечены статистически отличные данные от контроля

При обработке семян белой горчицы экстрактами биомассы штамма *Plantibacter* sp., культивированного на питательной среде MM, отмечали статистически значимое увеличение длины корней до отметки $72,1 \pm 36,19$ мм. Внутриклеточные вторичные метаболиты бактерий-симбионтов трюфеля, культивированных на среде PDA, не оказывали статистически-значимых эффектов на длину корней 7-суточных проростков белой горчицы. Среди экстрактов, выделенных из биомассы всех исследуемых штаммов, только штамм рода *Microbacterium* sp. оказывал статистически значимый стимулирующий эффект, удлиняя побеги до $35,3 \pm 7,06$ мм. Обратный эффект на проростки семян *S. alba* оказали экстракты биомассы штамма *Plantibacter* sp., культивированного на питательной среде TSB. Данные экстракты статистически значимо ингибировали рост побегов тест-растений до отметки $2,33 \pm 1,9$ мм (рис. 2).

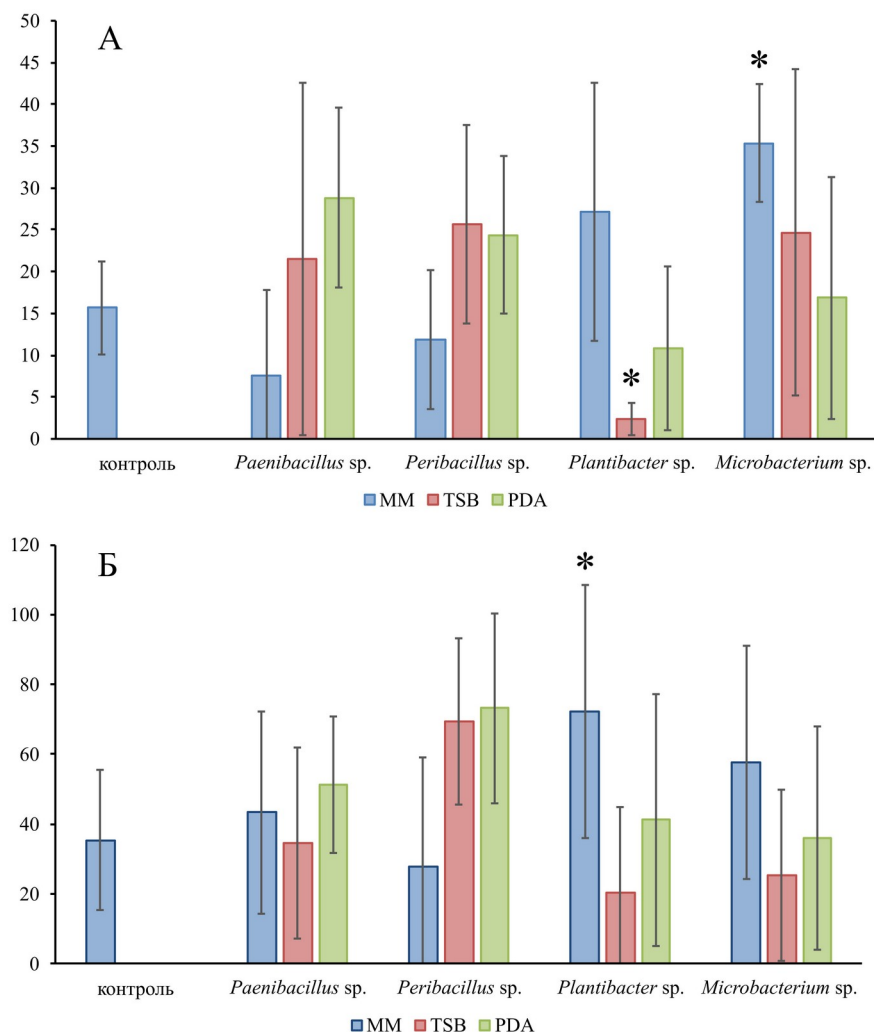


Рисунок 2 - Длина побега (А) и корня (Б) 7-суточных проростков семян *Sinapis alba* при обработке экстрактами биомассы бактерий-симбионтов черного трюфеля
DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.59.10.3>

Примечание: символом «*» отмечены статистически отличные данные от контроля

Экстракты черного трюфеля оказывали незначительное воздействие на прорастание семян *S. alba*. Наибольшее воздействие оказали экстракты регидрированных слайсов грибов. Длина корней таких растений в среднем составляла $50,45 \pm 24,9$ мм (рис. 3).

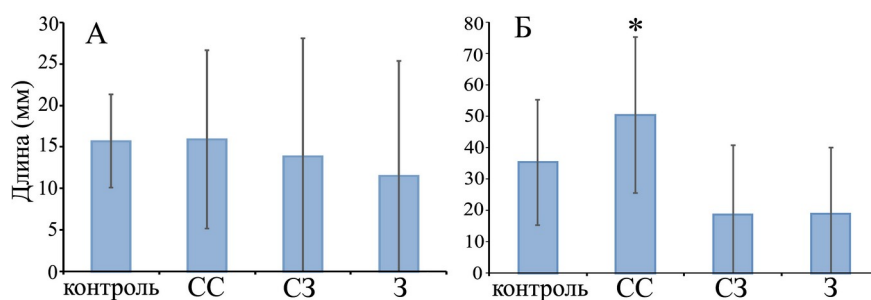


Рисунок 3 - Длина побега (А) и корня (Б) 7-суточных проростков семян *Sinapis alba* при обработке экстрактами черного трюфеля

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2025.59.10.4>

Примечание: символом «*» отмечены статистически отличные данные от контроля; CC – экстракты сушеных

слайсов плодовых тел черного трюфеля; СЗ – экстракты сушеных замороженных плодовых тел черного трюфеля; З – экстракты замороженных плодовых тел черного трюфеля

Обсуждение

В рамках проведённого исследования была выполнена первичная оценка разнообразия бактерий, ассоциированных с чёрным трюфелем. Для этого использовали метод секвенирования фрагментов ДНК по гену 16S рРНК. Анализ полученных данных показал, что среди культивируемых симбионтов чёрного трюфеля были обнаружены представители следующих родов бактерий: *Bacillus* sp., *Microbacterium* sp., *Lactococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Plantibacter* sp., *Paenibacillus* sp., *Peribacillus* sp. Эти бактерии широко распространены в окружающей среде и могут играть важную роль в экосистемах. Особое внимание привлекли бактерии родов *Microbacterium* sp., *Plantibacter* sp., *Paenibacillus* sp. и *Peribacillus* sp., так как они известны своей способностью регулировать рост растений. Именно эти штаммы были выбраны для дальнейшего изучения в рамках исследования. Кроме того, было отмечено, что бактерии рода *Bacillus* и *Lactococcus* способны проявлять антагонистическую активность в отношении множества патогенов растений. Это означает, что они могут подавлять рост и развитие вредных микроорганизмов, защищая растения от болезней. Бактерии рода *Bacillus* также известны своим положительным влиянием на рост и иммунитет сельскохозяйственных культур, что делает их перспективными кандидатами для использования в агротехнологиях [4], [5]. Также известно, что ризобактерии рода *Peribacillus* sp. и актинобактерии рода *Microbacterium* способны продуцировать вещества ауксиновой природы. Штаммы бактерий *Paenibacillus* sp. способствуют росту сельскохозяйственных культур посредством фиксации азота и производства фитогормона индол-3-уксусной кислоты [6], [7], [8].

Эксперименты с использованием метанольных экстрактов чёрного трюфеля и экстрактов, выделенных из биомассы и культуральной жидкости его бактерий-симбионтов, продемонстрировали заметное влияние на прорастающие семена *S. alba*. В частности, было обнаружено, что экстракт культуральной жидкости штамма *Peribacillus* sp. стимулирует увеличение длины корня. Это указывает на способность данного штамма выделять в окружающую среду фитогормоны, которые могут влиять на рост растений. Этот вывод подтверждается исследованием Rodríguez et al., 2022, в котором показано, что штамм *Peribacillus* sp. способствует росту томатов. Кроме того, у этого штамма обнаружены гены, ответственные за синтез веществ ауксиновой природы, что также указывает на его способность стимулировать рост растений [9].

С другой стороны, эксперименты с экстрактами, содержащими внеклеточные метаболиты штамма *Microbacterium* sp., культивированного на среде TSB, показали ингибирование роста корней проростков. Это указывает на возможное наличие в этих экстрактах соединений с антагонистическими свойствами, которые могут подавлять рост растений. Однако в ходе исследования также было обнаружено, что экстракты биомассы *Microbacterium* sp., выращенной на среде ММ, наоборот, способны стимулировать рост растений. Это подчёркивает значимость условий культивирования бактерий и состава используемых сред, которые могут существенно влиять на свойства получаемых экстрактов.

Литературные источники также содержат упоминания о способности экстрактов бактерий рода *Microbacterium* sp. стимулировать рост растений. Это подтверждает предположение о том, что бактерии этого рода могут вырабатывать вещества, положительно влияющие на развитие растений, хотя конкретные механизмы и действующие компоненты требуют дальнейшего изучения [10]. Исследование взаимодействия микроорганизмов-симбионтов трюфеля с растениями имеет большое значение для понимания их биологических эффектов. Возможно, соединения, которые синтезирует микроорганизм, играют ключевую роль в процессах микоризообразования и формирования плодового тела трюфеля. Детальное изучение этих взаимодействий может помочь выявить механизмы, с помощью которых микроорганизмы влияют на рост и развитие растений. Это, в свою очередь, может привести к разработке новых методов улучшения плодородия почвы и повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Кроме того, понимание роли микроорганизмов в формировании плодового тела трюфеля может способствовать развитию методов культивирования трюфелей в искусственных условиях. Это откроет новые возможности для промышленного производства этих ценных грибов и изучения их свойств.

Представляется значимым отметить, что экстракты биомассы штамма *Plantibacter* sp., культивированного на среде ММ, значительно увеличили длину корней у семян белой горчицы. В то же время экстракты того же штамма, выращенного на среде PDA, не оказали заметного влияния. Это наблюдение подчёркивает, как среда культивирования может влиять на метаболический профиль бактерий и, соответственно, на их взаимодействие с растениями. Результаты исследования фитостимулирующих эффектов экстрактов плодовых тел чёрных трюфелей показали, что сами по себе экстракты не оказывали значительного влияния на рост семян *S. alba*. Однако экстракты из сушёных слайсов трюфелей смогли стимулировать рост корней белой горчицы. Это указывает на то, что определённые соединения, входящие в состав чёрного трюфеля, сохраняют свои свойства даже после высушивания и длительного хранения. Полученные данные подчёркивают перспективность дальнейшего изучения бактерий, ассоциированных с чёрным трюфелем, и их экстрактов в контексте регуляции роста растений. Понимание механизмов взаимодействия между этими микроорганизмами и растениями может открыть новые возможности для агрономии. Например, использование этих бактерий может помочь повысить урожайность и устойчивость сельскохозяйственных культур к неблагоприятным условиям.

Заключение

Таким образом, проведенное исследование выявило несколько уникальных родов культивируемых симбиотических бактерий, включая роды *Bacillus* sp., *Microbacterium* sp., *Lactococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Plantibacter* sp., *Paenibacillus* sp. и *Peribacillus* sp. Особое внимание уделено таким штаммам, как *Microbacterium* sp., *Plantibacter* sp., *Paenibacillus* sp. и *Peribacillus* sp., благодаря их способности регулировать рост и развитие растений.

Эксперименты с экстрактами данных бактерий продемонстрировали как стимулирующие, так и ингибирующие эффекты на прорастающие семена белой горчицы (*S. alba*) в зависимости от выбора питательной среды для их культивации. Например, экстракт, содержащий внеклеточные метаболиты штамма *Microbacterium* sp., культивированного на среде TSB, показал ингибирование роста корней проростков, в то время как экстракт того же типа данного штамма при культивации на питательной среде ММ показывает увеличение роста побега проростков.

Кроме того, результаты показали, что экстракты плодовых тел черного трюфеля, несмотря на отсутствие значимого эффекта на семена *S. alba*, все же способны стимулировать рост корней у проростков белой горчицы. Об этом свидетельствует статистически значимое увеличение длины корня проростков *S. alba* при обработке семян экстрактами сушеных слайсов трюфельных грибов. Кроме того, данная особенность подтверждает сохранение биологически активных соединений даже после высушивания и длительного хранения.

Так, исследования взаимодействий микроорганизмов-симбионтов трюфеля с растениями имеют большое значение для понимания их биологических эффектов. Возможно, соединения, которые синтезируют микроорганизмы, играют ключевую роль в процессах микоризообразования и формирования плодового тела трюфеля. Детальное изучение этих взаимодействий может помочь выявить механизмы, с помощью которых микроорганизмы влияют на рост и развитие растений, что открывает новые горизонты для их использования в агрономии и биотехнологии.

Финансирование

Исследование проведено при финансовой поддержке проекта Российского научного Фонда № 22-76-10036.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

The research was conducted with the financial support from the Russian Science Foundation (RSF) project No. 22-76-10036.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Herrero de Aza C. Fungal and Bacterial Communities in *Tuber melanosporum* Plantations from Northern Spain / C. Herrero de Aza, S. Armenteros, J. McDermott [et al.] // *Forests*. — 2022. — № 3. DOI: 10.3390/f13030385
2. Frey-Klett P. The mycorrhiza helper bacteria revisited / P. Frey-Klett, J. Garbaye, M. Tarkka // *New Phytologist*. — 2007. — № 1. — P. 22–36. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2007.02112.x
3. Sidoruk K.V. A Method of DNA Extraction from a Wide Range of Objects via Treatment with Ammonium Salts / K.V. Sidoruk, E.I. Levitin, B.V. Sviridov [et al.] // *Applied Biochemistry and Microbiology*. — 2021. — № 57. — P. 899–906. DOI: 10.1134/S0003683821080050
4. Yang H. An overview and future prospects of recombinant protein production in *Bacillus subtilis* / H. Yang, J. Qu, W. Zou [et al.] // *Applied Microbiology and Biotechnology*. — 2021. — № 18. — P. 6607–6626. DOI: 10.1007/s00253-021-11556-5
5. Akinsemolu A.A. Exploring *Bacillus subtilis*: Ecology, biotechnological applications, and future prospects / A.A. Akinsemolu, H. Onyeaka, S. Odion [et al.] // *Journal of Basic Microbiology*. — 2024. — № 6. DOI: 10.1002/jobm.202300614
6. Bisht N. Synergistic eco-physiological response of biochar and *Paenibacillus lentimorbus* application on chickpea growth and soil under drought stress / N. Bisht, T. Singh, M.M. Ansari [et al.] // *Journal of Cleaner Production*. — 2024. — № 438. DOI: 10.1016/j.jclepro.2024.140822
7. Tsavkelova E.A. Plant-associated bacteria of *Syringa vulgaris* L. in an urban environment / E.A. Tsavkelova, O.A. Churikova, E.A. Volynchikova [et al.] // *Plant Soil*. — 2024. — № 497. DOI: 10.1007/s11104-023-06417-5
8. Liu X. *Paenibacillus* strains with nitrogen fixation and multiple beneficial properties for promoting plant growth / X. Liu, Q. Li, Y. Li [et al.] // *PeerJ*. — 2019. — № 7. DOI: 10.7717/peerj.7445
9. Rodríguez M. *Peribacillus castrilensis* sp. nov.: A Plant-Growth-Promoting and Biocontrol Species Isolated From a River Otter in Castril, Granada, Southern Spain / M. Rodríguez, J.C. Reina, I. Sampedro [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. — 2022. — № 13. DOI: 10.3389/fpls.2022.896728
10. Madhaiyan M. *Microbacterium azadirachta* sp. nov., a plant-growth-promoting actinobacterium isolated from the rhizoplane of neem seedlings / M. Madhaiyan, S. Poonguzhali, J.-S. Lee [et al.] // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. — 2010. — № 60. DOI: 10.1099/ijs.0.016128-0