

РОСТОСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ МУТАНТНОГО ШТАММА БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS MENDOCINA*

Indoleacetic acid plays a great role in a plant life. It is responsible for the apical dominance, stimulates proliferation and elongation of cells. We obtained a mutant strain *P. mendocina* 9-40 with an increased level of production of this substance. We investigated the effect of inoculation the seeds of some crops with this strain. The data obtained proves the considerable grows promotion of plant seedlings.

Ауксины, составляющие класс фитогормонов, играют важную роль в координации роста и развития растения. Индол-3-уксусная кислота (ИУК) - наиболее распространенный ауксин - отвечает за регуляцию разнообразных клеточных процессов, таких как деление и рост клеток, дифференциация сосудов, образование корней, верхушечное доминирование, тропизмы и т. д. Многие ризосферные и почвенные микроорганизмы характеризуются способностью к синтезу растительных гормонов, в частности ИУК [1, 2]. Это свойство в будущем может оказаться весьма полезным при создании микробных продуцентов фитогормонов, которые, в свою очередь, будут стимулировать рост культурных растений и в конечном итоге повышать их урожайность. Перспективными в этом отношении являются бактерии рода *Pseudomonas*. Установлено, что 80 % таких бактерий синтезируют ИУК во внешнюю среду. Эти микроорганизмы наиболее распространены в ризосфере растений, причем некоторые из них обладают способностью стимулировать их рост [3, 4]. В представленной работе изучено влияние мутантного штамма *Pseudomonas mendocina* 9-40, характеризующегося повышенным уровнем синтеза ИУК, на прорастание семян некоторых культурных растений.

Материал и методика

В работе использовали штамм *P. mendocina* ВКМВ1299 из коллекции НИЛ молекулярной генетики бактерий при кафедре микробиологии биологического факультета БГУ. Мутанты получали с помощью N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидина (НГ) (концентрация 100 мкг/мл, экспозиция 30 мин). Для накопления в культуральной жидкости ИУК бактерии выращивали с аэрацией в течение 36-48 ч в минимальной среде РС [5] либо в жидкой минимальной среде 4х. Количество ИУК в культуральной жидкости определяли с помощью реактива Сальковского [6].

В экспериментах использовали следующие семена: томата сорта «Шатл», огурца сорта «ТСХА-98», а также рапса сорта «Явар», которые перед замачиванием проверяли на полноценность в 1 %-м NaCl. После этого семена помещали в стерильные чашки Петри из расчета 50 штук на одну чашку на фильтры, заливали 10 мл стерильной дистиллированной воды и оставляли на сутки при комнатной температуре для набухания. Затем из чашек удаляли воду, семена обрабатывали суспензией исследуемых бактерий в концентрации 10^7 кл/мл. Обработанные семена выдерживали при комнатной температуре. Результаты учитывали через 5 сут, определяя длину и массу выросших проростков и корней, отделенных от семян. Контролем служили семена, замоченные в стерильной дистиллированной воде (контроль 1), ростовой среде (контроль 2) и обработанные суспензией бактерий дикого типа *P. mendocina* (контроль 3), продолжительность прорастания которых соответствовала опытной.

Результаты и их обсуждение

Продукция фитогормона ИУК широко распространена среди ризосферных и почвенных микроорганизмов, особенно среди бактерии *Pseudomonas*, что обеспечивает им ростостимулирующую активность в отношении ряда растительных культур [7].

Одним из путей повышения выхода ИУК является использование регуляторных мутантов, способных к сверхпродукции триптофана, а следовательно, и ИУК. Мутанты, дефектные по регуляторным механизмам синтеза триптофана, могут быть отобраны по резистентности к определенным его структурным аналогам [8].

Таблица 1

**Продукция ИУК регуляторными мутантами
*P. mendocina***

Штаммы	Продукция ИУК, мкг/мл
PM364	90±10,0
PM9-40	90±10,0
PM382	30±2,4
PM315	42±3,6
PM373	25±1,7
Дикий тип	5±2,0

Для получения регуляторных мутантов *P. mendocina* предварительно были найдены наиболее эффективные токсические аналоги триптофана. Для этих целей использовали: !Мьацетил-Обтриптофан, DL-5-фтор-триптофан, D-триптофан, L-триптофанметилловый эфир гидрохлорида, 5-метилтриптофан и α-метилтриптофан. Наиболее эффективным аналогом для отбора регуляторных мутантов оказался Ыл-ацетил-Обтриптофан. Полученные регуляторные мутанты были проверены на способность к синтезу ИУК (табл. 1). Наиболее продуктивным оказался штамм *P. mendocina* PM9-40, синтезирующий ИУК в количестве от 80 до 100 мкг/мл, что в 8-10 раз выше, чем в клетках дикого типа. Дальнейшие исследования были направлены на изучение влияния бактериальной ИУК на рост растений.

Результаты, представленные в табл. 2, показывают, что обработка семян огурца сорта «ТСХА-98» ИУК-продуцирующими бактериями вызвала увеличение длины корней проростков по сравнению с соответствующими вариантами в 2,3, 2,9 и 2,3 раза. При этом необходимо отметить, что проростки, полученные из семян, обработанных *P. mendocina* 9-40, отличались сильным развитием боковых и придаточных корней (рис. 1). Этот факт может свидетельствовать о повышении их способности поглощать воду и растворенные в ней минеральные вещества и обеспечивать закрепление в почве.

Таблица 2

Влияние суспензии клеток *P. mendocina* 9-40 на прорастание семян огурца сорта «ТСХА-98»

Вариант	Всхожесть семян, %	Длина корня проростка, см	Вес проростка, г
<i>P. mendocina</i> 9-40	99,5±0,5	5,7±1,2	3,18±0,32
Вода (контроль 1)	98,5±1,5	2,4±0,7	1,96±0,11
Среда (контроль 2)	99,5±0,5	1,95±0,9	1,49±0,12
<i>P. mendocina</i> (контроль 3)	99,0±1,0	2,5±0,7	1,96±0,11

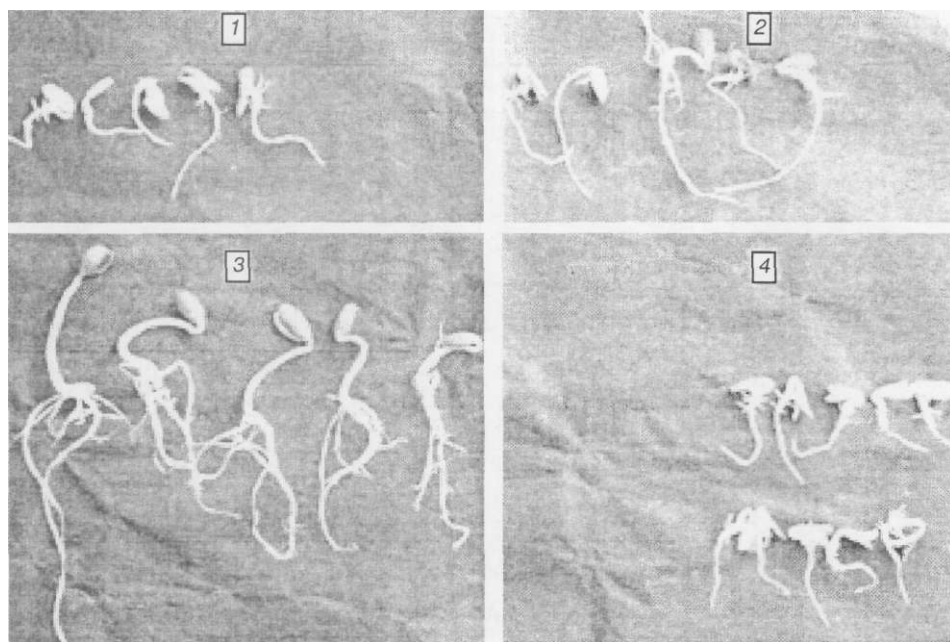


Рис. 1. Влияние бактерий на длину 5-суточных проростков огурца (сорт «ТСХА-98»):
1 - стерильная ростовая среда; 2 - стерильная вода; 3 - культура бактерий *P. mendocina* 9-40; 4 - культура бактерий *P. mendocina*

В ходе исследований отмечен стимулирующий эффект и для второго учитываемого показателя - массы 5-суточных проростков. При обработке семян бактериями *P. mendocina* 9-40 отмечено увеличение массы проростков в опыте по сравнению с контрольными вариантами в 1,6, 2,0 и 1,6 раза соответственно. Стимуляция роста происходит при концентрации клеток 10^7 кл/мл, разбавленная же в два раза суспензия фитостимулирующего эффекта не дает.

Под воздействием суспензии клеток *P. mendocina* 9-40 длина корней проростков томата увеличивается в 2,4 раза по сравнению с обработанными средой; в 3,7 раза - с контролем 1 и в 1,9 раза - с контролем 3 (табл. 3).

Таблица 3

Влияние суспензии клеток *P. mendocina* 9-40 на прорастание семян томатов сорта «Шатл»

Вариант	Всхожесть семян, %	Длина корня проростка, см	Вес проростка, г
<i>P. mendocina</i> 9-40	95,5±2,5	8,8±1,8	0,92±0,15
Вода (контроль 1)	95,5±2,5	2,4±0,7	0,53±0,11
Среда (контроль 2)	92,5±5,0	3,6±0,7	0,39±0,07
<i>P. mendocina</i> (контроль 3)	95,0±2,5	4,6±0,7	0,52±0,11

Масса проростков томата в варианте с обработкой семян мутантными бактериями *P. mendocina* 9-40 увеличивалась в 2,4 раза по сравнению с обработанными ростовой средой, в 1,7 раза - с контролем 1 и 3 (см. табл. 3). Стимуляция роста происходит при концентрации клеток 10^7 кл/мл. При разбавлении суспензии в два раза фитостимулирующий эффект отсутствует, как и в случае с семенами огурца.

Эти данные подтверждают фитостимулирующее влияние инокуляции семян не только огурца, но и томатов суспензией клеток *P. mendocina* 9-40.

Эффективным данный штамм оказался и в отношении прорастания семян рапса (табл. 4). Обработанные мутантными бактериями семена на 5 сут давали проростки, длина корней которых была в 1,6-2,6 раза больше, чем в контрольных вариантах (рис. 2).

Таблица 4

Влияние суспензии клеток *P. mendocina* 9-40 на прорастание семян рапса сорта «Явар»

Вариант	Всхожесть семян, %	Длина корня проростка, см	Вес проростка, г
<i>P. mendocina</i> 9-40	92,5±9	11,8±1,5	1,12±0,10
Вода (контроль 1)	91,0±8	4,4±0,7	0,43±0,11
Среда (контроль 2)	90,0±8	4,6±0,7	0,59±0,07
<i>P. mendocina</i> (контроль 3)	92,0±8	7,6±0,7	0,82±0,11

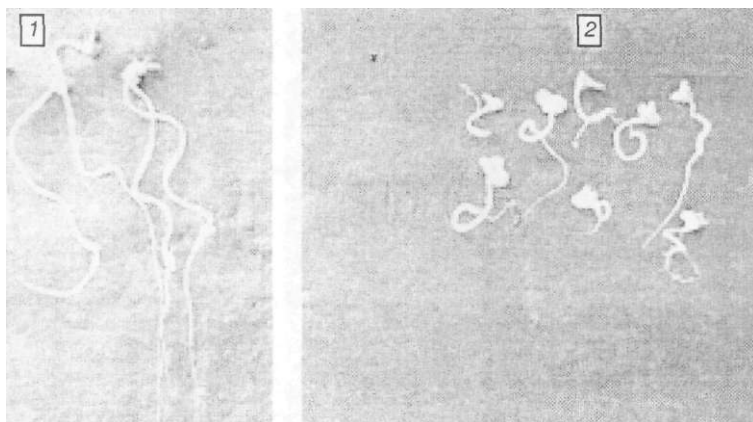


Рис. 2. Влияние бактерий *P. mendocina* 9-40 на длину 5-суточных проростков рапса (сорт «Явар»): 1 - культура бактерий *P. mendocina* 9-40; 2 - стерильная ростовая среда

Таким образом, в ходе экспериментальных исследований был получен мутантный вариант бактерий *P. mendocina* с повышенным уровнем синтеза ИУК.

Показано, что данный штамм стимулировал рост и развитие корней ряда культурных растений. Полученные результаты являются предпосылкой разработки штаммов-продуцентов ИУК с целью их практического использования в сельскохозяйственном производстве.

1. Prikryl Z., Vancuza V., Wurst M. // *Biologia plantarum*. 1985. Vol. 27. № 2-3. P. 159.
2. Patten C.L., Glick B.R. // *Can. J. Microbiol.* 1996. Vol. 42. P. 207.
3. Dubeikovsky A.N., Mordukhova E.A., Kochetkov V.V. et al. // *Soil Biol. Biochem.* 1993. Vol. 25. P. 1277.
4. Patten C.L., Glick B.R. // *Appl. and Envir. Microbiol.* 2002. Vol. 68. № 8. P. 3795.
5. Langley R.A., Kado C.I. // *Mutat. Res.* 1972. Vol. 14. P. 277.
6. Gordon S.A., Weber R.P. // *Plant Physiol.* 1951. Vol. 26. P. 192.
7. Федорова Е.Э., Жизневская Г.Я., Альжаппарова Ж.К., Измайлов С.Ф. // *Физиология и биохимия культурных растений*. 1991. Т. 23. № 5. С. 426.
8. Олехнович И.Н., Фомичев Ю. К. // *Генетика*. 1990. Т. 26. № 10. С. 1713.

Поступила в редакцию 25.04.05.

Сергей Станиславович Жардецкий - младший научный сотрудник кафедры генетики. Научный руководитель - доктор биологических наук, заведующий кафедрой генетики Н.П. Максимова.

Арина Ярославовна Путинская - студентка 4-го курса биологического факультета.

Елена Аркадиевна Храпцова, - кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики.

УДК 581.526.325 (282.247.41)

Т.М. МИХЕЕВА, Е.В. ЛУКЬЯНОВА

ФИТОПЛАНКТОН РЕКИ НЕМАН И ЕЕ ПРИТОКОВ

Species composition and quantitative development of the River Neman phytoplankton after 30 years since its first investigation (in 1975) and of the basic River's tributaries (Vilya, Berezina, Gavya, Zel'vyanka, Ditva, Schara, Lebeda, Kotra) was investigated in August 2003 and from May to October 2004. 183 species and intraspecies taxa of algae were identified in the whole, including 77 green and 68 species of diatom algae. For the most part of the study period, diatoms formed the biomass of phytoplankton both in the River Neman and in tributaries. The comparison of phytoplankton quantitative development in the River Neman in 1975 and 2003 shows that it stayed on the former level and testifies about the high trophic state of the river. Among all tributaries, the highest trophy was recorded in the River Vilya and River Zel'vyanka downstream the reservoir constructed on it.

Фитопланктон белорусского участка р. Неман исследовался нами в августе 1975 г. и в марте 1976 г. Сведения о видовом составе реки этого периода приведены в нашей монографии [1]. Притоки р. Неман в альгологическом отношении исследовались впервые.

Материал и методика

Фитопланктон р. Неман на участке от с. Морино до г. Гродно протяженностью 200 км на 7-9 створах был нами изучен через 30 лет в августе 2003 г. и с мая по октябрь 2004 г. в ходе экспедиционных комплексных гидробиологических исследований в рамках проекта «Обследование р. Неман. Формирование и дрейф метафитона: причины, механизмы, последствия» под руководством члена-корреспондента НАН Беларуси, доктора биологических наук А.П. Остапени. В 2004 г. параллельно по осадочным количественным пробам, отобраным в поверхностном горизонте и фиксированным 1 %-м формалином, исследовали видовой состав и количественное развитие фитопланктона основных притоков Немана - рек Вилия, Березина, Гавья, Зельвянка, Дитва, Щара, Лебеда, Котра недалеко от их впадения. Для уточнения видовой принадлежности центрических диатомовых водорослей использовали сканирующий электронный микроскоп СЭМ фирмы «JSM-25 S» Института биологии внутренних вод РАН (Борок), за что авторы выражают искреннюю благодарность сотруднику института доктору биологических наук С.И. Генкалу.

Результаты и их обсуждение

Общее число видов, обнаруженных в фитопланктоне р. Неман, осталось практически неизменным, выявлено, однако, большее число видов хлорококковых и в три раза меньшее - синезеленых водорослей (табл. 1). Второе место по богатству видов сохранилось за диатомовыми. Наибольшее число видов из всех исследованных притоков выявлено в р. Щара - 73, наименьшее - в р. Бе-