

Корнийчук М.С., Заярнюк Н.Л., Кричковская А.М., Федорова О.В., Новиков В.П.
Национальный университет «Львовская политехника», г. Львов, Украина;
volodymyr.p.novikov@lpnu.ua

КОМПОЗИЦИЯ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ РОДОВ *RHIZOBIUM* И *AZOTOBACTER* КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ РОСТСТИМУЛИРУЮЩИЙ БИОПРЕПАРАТ

Из прикорневой зоны салата Lactuca sativa были выделены бактерии родов Rhizobium и Azotobacter и проверено их ростстимулирующее действие в составе бактериальной композиции и монокультур. Стерилизованные семена Lactuca sativa были пророщены в стерильных и нестерильных условиях. Как контроль использовался биопрепарат-сравнения Азотофит - Р на основе Azotobacter chroococcum. Обработка стерильных семян бактериальной композицией из родов Rhizobium и Azotobacter положительно повлияла на их рост. Масса ростков, полученных из этих семян была больше, чем из семян, обработанных препаратом-сравнения.

From the root zone of the Lactuca sativa salad, the bacteria of the genera Rhizobium and Azotobacter were isolated and their growth-stimulating effect was tested in the composition of the bacterial composition and monocultures. Sterilized seeds of Lactuca sativa were germinated in sterile and non-sterile conditions. The biopreparation «Azotophyte-P» on the basis of Azotobacter chroococcum were used as a control. The seed treatment with a bacterial composition from the genera Rhizobium and Azotobacter positively influenced their growth. The mass of sprouts obtained from these seeds was more than from the seeds treated with the drug-comparison.

Ключевые слова: ризосфера; биопрепарат; биоинокулянт; биоудобрение; культивирование; ростстимулирующая активность; *Rhizobium*; *Azotobacter*; *Lactuca sativa*.

Keywords: rhizosphere; biopreparation; bioinoculant; biofertilizer; cultivation; growth-stimulating activity; *Rhizobium*; *Azotobacter*; *Lactuca sativa*.

Введение

Украина занимает 11 место в Европе по объему органических сельхозугодий, окупаемость инвестиций в которые составляет 300% [1]. Биопрепараты являются основой органического земледелия, в настоящее время для их производства используются некоторые представители агрономически полезной микрофлоры (PGPB – Plant growth-promoting bacteria).

Анализ научных публикаций позволил нам выделить в качестве объекта исследования бактерии семейства *Rhizobiaceae* – род *Rhizobium*. Эти бактерии способны к фосфатомобилизации и азотфиксации, осуществлению биоконтроля путем синтеза гидролитических энзимов, выделения биологически активных веществ, например, антибиотиков трифолитоксина и ризобитоксина, а также конкуренции с патогенами за Fe и место в ризосфере. Эти бактерии колонизируют ризосферу растений различных семейств, например *Fabáceae*, *Asteráceae*, *Crucíferae* и т.д. Одним из преимуществ работы с *Rhizobium* является возможность их легкого выделения. Перспективным является получение биопрепаратов на основе композиций бактерий рода *Rhizobium* с другими микроорганизмами [2–4].

Маркетинговое исследование показало, что на рынке Украины известны как монобиопрепараты, так и биопрепараты, содержащие композиции представителей разных семейств. Ассортимент биопрепаратов представлен в «Перечне вспомогательных продуктов для использования в органическом сельском хозяйстве согласно стандарту МАОС (Международных аккредитованных органов сертификации) по органическому производству и переработке, эквивалентному постановлением ЕС № 834 / 2007 и № 889/2008», в котором приведены биопрепараты на основе монокультур семейства *Rhizobiaceae*, однако композиции с микроорганизмами других семейств отсутствуют [5].

Перспективными для использования в составе полибактериальных биопрепаратов являются бактерии рода *Azotobacter*. Данная группа микроорганизмов отмечается способностью фиксировать атмосферный азот, переводя его в доступные растению формы, а также способна синтезировать фитогормоны. Важным свойством представителей рода *Azotobacter* является способность некоторых видов (*A. vinelandii*) разлагать загрязняющие окружающую среду химические вещества, такие как тетрацианоникеляты. Важно отметить, что представителей рода *Azotobacter* можно использовать как в виде монокультуры, так и в сочетании с родами *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Agrobacterium* и, что особенно интересно, представителями клубеньковых бактерий (семейство *Rhizobiaceae*) [6].

Литературные данные свидетельствуют о перспективности совместного использования бактерий родов *Rhizobium* и *Azotobacter*, в связи с усилением их ценных свойств. Растительным объектом для определения ростстимулирующей активности был выбран салат посевной *Lactuca sativa*, имеющий короткий вегетационный период и широко применяющийся в тепличных хозяйствах.

Целью работы было выделение и исследование бактерий рода *Rhizobium* и *Azotobacter* для создания бактериальной композиции и проверки ее ростстимулирующих свойств.

Материалы и методы

С целью выделения клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* нами были использованы изоляты с поверхностно простерилизованных корней *Pisum sativum*. Инкубация проводилась на бобовом агаре в течение 2 дней при температуре 28 ± 2 °С.

В результате нами были получены большие округлые колонии цвета стеарина с каплевидным профилем и однородной структурой, свидетельствующей о том, что это представитель рода *Rhizobium*. Для выделения представителей рода *Azotobacter* мы использовали ризосферную почву *Lactuca sativa*. Выделение проводили на агаре Эшби (рН 7–7,2) 7 дней при температуре 28 ± 2 °С. Данные условия позволили выявить в ризосфере латука 4 культуры азотфиксирующих бактерий. При микроскопировании культуры отмечалось наличие капсул с диплококками, полиморфизмом, от палочек к коккам, значительным выделением капсулярной слизи, колониями округлой формы с однородной структурой, пигментацией на МПА. Эти данные свидетельствуют, что это представитель рода *Azotobacter*.

В ходе эксперимента по определению ростстимулирующей активности были исследованы группы семян: № 1 – обработанные бактериальной суспензией *Rhizobium*; № 2 – бактериальной суспензией представителя рода *Azotobacter*; № 3 – бактериальной смесью *Rhizobium* и *Azotobacter*; № 4 – обработанные препаратом Азотофит – Р; № 5 – контроль без инокуляции. Жизнеспособность семян проверяли на ватном диске, смоченном водой; на 3 день было выявлено, что 100 % семян проросло.

Стерильное выращивание растений проводилось в высоких и широких пробирках с 5 см слоем перлита пропитанного питательным раствором, на котором размещались простерилизованные семена *Lactuca sativa*. Нестерильное выращивание проводилось в лотке со слоем перлита толщиной около 5 см. Экспозиция составляла 10 дней при температуре 16–18 °С и естественном освещении.

Образцы бактериальных суспензий готовились путем смыва клеток со скошенного агара до достижения клеточной нагрузки $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Композиция *Azotobacter* + *Rhizobium* готовилась путем смешивания одинаковых порций бактериальных суспензий в стерильных условиях. В качестве контрольного препарата-сравнения использовали Азотофит-Р на основе бактерий *Azotobacter chroococcum*. Препарат готовили согласно инструкции для обработки семян.

Результаты и их обсуждение

Таким образом, из ризосферы салата *Lactuca sativa* выделены бактерии рода *Azotobacter*, из клубеньковых образований корней гороха посевного *Pisum sativum* – бактерии рода *Rhizobium*.

Морфология ростков, обработанных бактериальной композицией *Rhizobium* и *Azotobacter* отмечалась лучшими ростовыми показателями: длиннее корни и стебель, сформированные листья насыщенного зеленого цвета.

Ростки, полученные из семян, обработанных монобактериальной суспензией *Rhizobium*, также имели длинные корни, но не отличались интенсивным вертикальным ростом.

Ростки, полученные из семян, обработанных контрольным препаратом Азотофит–Р и бактериями рода *Azotobacter*, выделенными из ризосферы *Lactuca sativa*, имели визуально меньшую длину стебля и корней, меньшую площадь листьев, способных к фотосинтезу.

Использование полибактериальной композиции на основе бактерий родов *Rhizobium* и *Azotobacter* повысило массу ростков *Lactuca sativa* в нестерильных условиях на 39,9 % по сравнению с неинокулированными семенами и на 49,6 % по сравнению с семенами, обработанными биопрепаратом Азотофит–Р.

Бактерии рода *Rhizobium* стимулировали рост семян *Lactuca sativa* также в виде монобактериальной суспензии, повысив показатели массы ростков в нестерильных условиях на 26,44 % по сравнению с неинокулированными семенами и на 38,3 % по сравнению с семенами, обработанными биопрепаратом Азотофит–Р.

Таким образом, можно утверждать о положительном влиянии композиции и монокультуры *Rhizobium* на массу семян, а полученные биопрепараты способны конкурировать с биоинокулянтами промышленного производства для растений семейств отличных от бобовых. Следующим шагом наших исследований будет увеличение выборки для верификации полученных данных и усовершенствование методики проращивания, а именно предпосевной обработки семян и определения масс различных сегментов растений.

Библиографические ссылки

1. Органічне землеробство в Україні є одним з найпривабливіших напрямів для інвестицій, – США [Електронний ресурс] / URL: https://zik.ua/news/2017/09/29/organichne_zemlerobstvo_v_ukraini_ie_odnym_z_naupryvably_vishyh_napryamiv_dlya_1176765 (дата обращения 24.05.2018).
2. *Bhattacharyya P. N., Jha D. K.* Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture // *World J Microbiol Biotechnol.* 2012. № 28. С. 1327–1350.
3. *Rhizobia as a biological control agent against soil borne plant pathogenic fungi / V.K. Deshwal // Indian Journal of Experimental Biology.* 2003. Vol. 41. С. 1160–1164.
4. *Моргун В.В., Коць С.Я., Кириченко Е.В.* Ростстимулирующие ризобактерии и их практическое применение // *Физиология и биохимия культурных растений.* 2009. Т. 41. №3. С. 187-207.
5. Перелік допоміжних продуктів для використання в органічному сільському господарстві, згідно зі стандартом МАОС (міжнародних акредитованих органів сертифікації), з органічного виробництва і переробки, що еквівалентний постановам ЄС № 834/2007 та № 889/2 [Електронний ресурс] // ТОВ «Органік стандарт». 2017. URL: http://www.organicstandard.com.ua/files/inputs/ua/OS_TABL_2017.pdf.
6. *Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review / E. A. Tsavkelova [et al.] // Applied Biochemistry and Microbiology.* 2006. Vol. 41. № 2. С. 133–143.