

ИЗУЧЕНИЕ ФИТОСТИМУЛИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ СВОБОДНОЖИВУЩИХ БАКТЕРИЙ-АЗОТФИКСАТОРОВ

В. В. Леонович

*Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4,
220030, г. Минск, Беларусь, veronicaleonovich@gmail.com
Научный руководитель — Д. В. Маслак*

Исследованы фитостимулирующие свойства шести изолятов не фитопатогенных свободноживущих бактерий-азотфиксаторов. Отобраны два изолята способные к синтезу ИУК и повышающие ростовые параметры молодых растений рапса озимого и пшеницы яровой при выращивании в условиях недостатка азота.

Ключевые слова: бактерии-азотфиксаторы; стимуляция роста растений; ИУК биопрепарат; агробиотехнологии.

Азот является одним из основных элементов, необходимых для получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур. Биологический азот, в отличие от минерального, в почву поступает постепенно, в течение всего периода вегетации, что исключает избыточное накопление его в растениеводческой продукции и окружающей среде. Это достигается благодаря тесной связи между растением и микроорганизмами-азотфиксаторами, из-за чего практически весь фиксированный азот сразу же поступает в метаболические пути и используется для биосинтеза азотсодержащих соединений.

Большинство существующих в настоящее время биопрепаратов на основе бактерий-азотфиксаторов созданы на основе симбиотических микроорганизмов. Такие препараты имеют высокую специфичность и не могут применяться для большого круга культур. В настоящее время возрос интерес к препаратам на основе ассоциативных и свободноживущих азотфиксаторов, которые будут иметь широкий спектр применения.

Целью данной работы являлось исследование фитостимулирующей активности свободноживущих бактерий-азотфиксаторов и отбор наиболее активных изолятов.

В предварительных исследованиях из образцов почвы и ризосферы растений выделены и изучены 5 изолятов (К40, И1, Е3, Г2, Г3) азотфиксирующих не фитопатогенных бактерий, которые показали способность стимулировать рост корней проростков кресс-салата. Из коллекции не фитопатогенных микроорганизмов НИЛ Молекулярной генетики и биотехнологии, отобран изолят азотфиксирующих бактерий ТР1, проявивший в предварительных исследованиях фитостимулирующие свойства.

Отобранные изоляты были оценены на способность микроорганизмов синтезировать и накапливать в ростовой среде индолил-3-уксусную кислоту (ИУК). Бактерии для исследований выращивали в среде для продукции ИУК (содержащей триптофан, как предшественник ИУК) при 28 °С в течение 48 часов. Для определения концентрации ИУК использовался реактив Сальковского. Оптическую плотность реакционной смеси оценивали спектрофотометрически (длина волны 525 нм). Концентрацию ИУК определяли по калибровочной кривой, построенной в диапазоне от 0,1 до 100 мкг/мл. Максимальное значение концентрации ИУК в эксперименте (53 мкг/мл) зарегистрирована в культуральной жидкости изолята ТР1. Значительно ниже было значение концентрации ИУК в варианте с изолятом Г3 - 2,36 мкг/мл. У изолятов Е3, И1 и К40 концентрация ИУК в культуральной жидкости через 48 часов культивирования не превышала значения 1 мкг/мл и составила 0,68 мкг/мл, 0,24 мкг/мл и 0,06 мкг/мл соответственно. Бактерии изолята Г2 не проявили способность к синтезу ИУК.

У ИУК-продуцирующие азотфиксаторов исследована способность стимулировать ростовые процессы проростков двудольных растений (рапс озимый, сорт «Зенит»), выращиваемых в условиях отсутствия минерального азота (табл. 1). Растения выращивали на модифицированной среде Кнопа, не содержащей азот. В вегетационные сосуды с семенами вносили 1% раствор исследуемой бактериальной суспензии, выращенной на безазотной среде Эшби (опыт), или стерильную дистиллированную воду (контроль). Параллельно растения были высажены в стандартную среду Кнопа (эталон). Растения выращивали в течении 11 дней, 2 суток в темноте, затем в светотеплице с световым днем 12 часов.

Таблица 1

Влияние бактерий-азотфиксаторов на ростовые параметры растений рапса озимого, сорт «Зенит» при выращивании в условиях недостатка азота

Вариант	Сухой вес стебля (мг)	Сухой вес корня (мг)	Длина стебля (мм)	Длина корня (мм)
Г3	41,4±2,6	19,44±1,8	81,2±0,8	155,3±5,2
К40	35,75±3,2	15,1±0,6	70,2±2,3	143,3±4,3
Тр1	49,1±1,9	20,9±2,1	84,21±1,7	160,86±6,4
Е3	43,2±2,2	14,81±3,2	60,1±1,3	136,5±3,4
И1	54,46±5,7	17,56±2,5	69,67±4,2	138,2±2,1
Контроль	48,2±1,8	16,4±0,6	63,11±2,7	128,9±3,2
Эталон	128,2±7,4	29,1±1,9	102,77±6,3	97,52±4,3

Примечание. Контроль – обработка водой. Эталон – вариант с стандартной средой Кнопа.

Как видно из представленных данных, во всех вариантах опыта обработка исследуемыми бактериями достоверно увеличила длину корня растений рапса как по сравнению с контролем, так и по сравнению с эталоном. Обработка изолятом ГЗ увеличила сухой вес стебля на 15,64 % и длину стебля на 22,28% по сравнению с контролем. Обработка изолятом Тр1 увеличило длину стебля на 33,45% по сравнению с контролем. При использовании изолята К40 сухой вес стебля и корня достоверно снижался по сравнению с контрольным вариантом. Обработка семян изолятами ГЗ и Тр1 привела к увеличению длины корня на 20,48% и 24,5% соответственно. В этих вариантах эксперимента отмечен наибольшие значения длины стебля растений. Данный параметр вырос по сравнению с контролем в 1,33 раза при обработке изолятом ТР1 и в 1,29 раза в варианте с изолятом ГЗ. Тем не менее, во всех вариантах эксперимента при обработке бактериями-азотфиксаторами длина стебля, а также сухой вес стебля и корня растений были достоверно ниже, чем у растений, выращиваемых на среде с минеральным азотом (эталон).

У изолятов ГЗ и Тр1, показавших лучшие фитостимулирующие свойства на растениях рапса, исследована способность влиять на биометрические показатели однодольных растений - пшеницы яровой, сорт «Сударыня» при выращивании в условиях недостатка азота (Табл. 2). Эксперимент проводили по схеме, описанной выше. Растения выращивали в течении 7 дней, 2 суток в темноте, затем в светотеплице с световым днем 12 часов. Из представленных данных видно, что при обработке изучаемыми бактериальными изолятами у опытных растений происходило увеличение параметров роста по сравнению с контролем.

Таблица 2

Влияние бактерий-азотфиксаторов на ростовые параметры растений пшеницы яровой, сорт «Сударыня» при выращивании в условиях недостатка азота

Вариант	Сухой вес стебля (мг)	Сухой вес корня (мг)	Длина стебля (мм)	Длина корня (мм)	Количество корней на 1 растение (шт)
ГЗ	34,81±0,2	24,57±1,6	160,5±5,2	67,4±2,7	5±0,75
Тр1	35,76±1,8	17,93±0,4	178,0±3,5	73,8±3,3	6±0,68
Контроль	26,8±0,4	20,26±1,2	155,9±4,3	60,4±3,9	4±0,45
Эталон	37,64±1,3	24,3±0,2	176,6±1,1	65,2±5,2	5±0,53

Примечание. Контроль – обработка водой. Эталон – вариант с стандартной средой Кнопа.

Отмечено достоверное увеличение сухого веса стебля (на 30 и 33%) и длина корня (на 11% и 22%) в вариантах ГЗ и Тр1 соответственно. Обработка изолятом Тр1 достоверно увеличивало длину стебля в опыте по сравнению с контролем на 14,2%. Максимальная длина корня показана при обработке изолятом ТР1, этот показатель в 1,22 раз превышал контроль. В эксперименте учитывалось количество придаточных корней растений, как признак развития корневой системы. Выяснено, что обработка бактериями изолята Тр1 достоверно увеличивало количество корней у растений в опыте по сравнению с контролем ($5\pm 0,75$ и $4\pm 0,45$ штук соответственно).

Необходимо отметить, что обработка бактериями-азотфиксаторами изолята ГЗ, позволила получить практически все параметры (сухой вес стебля и корня, длины корня и среднее количество корней на 1 растение) достоверно не отличающиеся от параметров растений, выросших в условиях доступности минерального азота (эталона). Обработка растений бактериями изолята Тр1 позволили сравнить с параметрами растений эталона сухой вес и длину стебля, а также длину корня и среднее количества корней растений на 1 растение. Бактерии-азотфиксаторы изолятов ГЗ и Тр1, обладающие способностью стимулировать ростовые параметры растений при выращивании в условиях недостатка минерального азота являются перспективными для использования при разработке биопрепаратов для растениеводства.