

УДК 631.461.5: 631.416.2

**ВЛИЯНИЕ ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ
НА РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ**

Л.Н. Лученок, Л.А. Юрко, кандидаты сельскохозяйственных наук

Т.Б. Барашенко, агроном

Институт мелиорации и луговодства НАН Беларуси

Введение

Основным фактором повышения урожайности является питание растений, которое тесно связано с деятельностью микроорганизмов ризоплана и ризосферы. В процессе жизнедеятельности бактерий для растений становятся доступны не только соединения азота, фосфора и калия, но и физиологически активные вещества, стимулирующие рост растений, – витамины, ауксины, гиббереллины, цитокинины [1].

Одним из важнейших биогенных элементов, необходимым для жизнедеятельности растений в первые 4-5 недель роста и затем до восковой спелости зерна, является фосфор. Последний способствует хорошему развитию корневых систем, формированию колоса и созреванию растений, а также служит залогом их успешной перезимовки, что весьма актуально для районов, в которых возделываются озимые зерновые. Большую роль в фосфатном питании сельскохозяйственных культур играют минеральные соединения фосфора. В почвах значительное количество этого элемента находится в виде кальциевых и магниевых трехзамещенных солей ортофосфорной кислоты, труднодоступных многим растениям. Поэтому коэффициент усвояемости фосфорных удобрений растениями не превышает 25%.

Научные исследования показали, что мобилизация труднодоступного фосфора в почве связана с деятельностью ризосферных микроорганизмов, способных к растворению трехзамещенных ортофосфатов [1]. Установлено, что многие представители ризосферных бактерий играют значительную роль в повышении усвояемости труднодоступных фосфатов [2-6]. Таким образом, использование ризосферных микроорганизмов для инокуляции сельскохозяйственных растений позволяет стимулировать рост культур, улучшать режим питания, что приводит к повышению урожая и качества продукции [7-9].

Целью настоящей работы было изучение возможных механизмов влияния штаммов ризосферных бактерий на проростки пшеницы.

Объекты и методы

Объектами исследований служили штаммы фосфатмобилизующих ризосферных бактерий, выделенные с корней пшеницы в лаборатории микробиологии, биохимии и детоксикации почв (РУП «Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси»).

Оценку способности бактерий растворять ортофосфат кальция проводили на твердой агаризированной глюкозо-аспарагиновой среде следующего состава (г/л): глюкоза – 10,0; аспарагин 1,0; K_2SO_4 – 0,2; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,4; дрожжевой автолизат – 0,2; агар – 17; pH 6,8 [2]. Для анализа использовали свежеприготовленный ортофосфат кальция, который получали при смешивании 10,9%-ного раствора $Na_3PO_4 \times 12H_2O$ и 22%-ного раствора $CaCl_2$ непосредственно перед приготовлением среды [5]. Посев бактерий на твердый агар производили из шестикратно разведенных водных суспензий трехсуточной бактериальной культуры. Бактерии выращивали при 28 °С в течение 14 суток. Активность растворения трехзамещенного фосфата кальция оценивали по величине зон просветления среды вокруг бактериальных колоний [3].

Способность культур штаммов фосфатмобилизирующих бактерий P-7 и P-28 к биосинтезу ауксинов изучали на жидкой глюкозо-аспарагиновой среде. В качестве предшественника индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в питательную среду добавляли DL-триптофан в концентрации 0,5 г/л [10]. Бактерии инкубировали на термостатируемой качалке при 28°С в течение 48 часов. Посевным материалом служили бактериальные культуры штаммов P-7 и P-28, выращенные на скошенном агаре глюкозо-аспарагиновой среды в течение 3 суток. Культуральную жидкость получали центрифугированием при 6000 об/мин в течение 40 мин. Качественный анализ культуральной жидкости после экстракции хлористым метиленом (50 мл на 1 экстракцию) проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Silufol UV 254 [8]. Для идентификации ИУК был использован коммерческий препарат чистой ИУК фирмы MERCK. Идентификацию проводили по стандартной методике путем сравнения R_f (отношения расстояний от центра пятна на пластинке до линии старта к расстоянию, пройденному растворителем) исследуемых экстрактов и коммерческого препарата ИУК фирмы MERCK.

Ростостимулирующий эффект фосфатмобилизирующих бактерий изучали в лабораторном и вегетационном опытах. Для лабораторного опыта одинаковые по размеру стерильные и предварительно пророщенные в стерильных условиях в течение 24 часов семена пшеницы инокулировали 1 мл жидкой трехсуточной культуры бактерий и инкубировали в термостате при 26 °С. После прорастания семян чашки Петри устанавливали при естественном освещении и комнатной температуре (20 °С) в течение 2 суток. Контролем служили неинокулированные проростки. Для обеспечения постоянной влажности в чашки добавляли по 2 мл стерильной дистиллированной воды.

Оценку эффективности ризосферных бактерий проводили в вегетационном опыте с одинаковыми по размеру и стерильными семенами озимой пшеницы. Агрохимические показатели дерново-подзолистой супесчаной почвы: pH – 5,56; гумус – 2,2 %; P_2O_5 – 189-192 мг/кг; K_2O – 328-332 мг/кг почвы. Минеральные удобрения вносили в виде аммиачной селитры (2,25 г ф. в./сосуд), калия хлористого (0,8 г ф. в./сосуд); простого суперфосфата (1,75 г ф. в./сосуд). Для обработки проростков семян использовали жидкие культуры фосфатмобилизирующих бактерий (штаммы P-7 и P-28).

Результаты исследований

Согласно общепринятой методике, способность разных штаммов бактерий к растворению ортофосфата кальция определяли по диаметру зон просветления среды вокруг колоний в течение 14 суток. Было установлено, что штаммы фосфатмобилизующих бактерий обладают разной активностью к мобилизации ортофосфата кальция. На основании тестов были отобраны 2 штамма фосфатмобилизующих бактерий: P-7 и P-28. Для наиболее активных штаммов фосфатмобилизующих бактерий P-7 и P-28 средний диаметр зон просветления на 6-е сутки составил 15,5 и 12,2 мм соответственно. При дальнейшей инкубации отмечали повышение активности бактериальной фосфатмобилизации и на 14-е сутки инкубации диаметры просветленных зон вокруг колоний увеличились до 18,0-21,0 мм.

Самые активные по способности к мобилизации ортофосфата кальция штаммы ризосферных бактерий P-7 и P-28 были отобраны для изучения ростостимулирующего эффекта на проростки пшеницы в лабораторных и вегетационных экспериментах.

В лабораторных исследованиях с проростками пшеницы было показано, что штаммы P-7 и P-28, кроме фосфатмобилизующей активности, обладают и ростостимулирующими свойствами. Бактеризация семян пшеницы штаммами P-7 и P-28 ускоряла прорастание семян. Действие отобранных штаммов фосфатмобилизующих бактерий на проростки пшеницы выражалось в изменении морфологии корней: увеличении количества и длины корешков (в 2,0-2,5 раза) и корневых волосков, что увеличивало зону всасывания, а также в стимуляции роста coleoptily (рис. 1). Подобный эффект наблюдали в экспериментах по изучению действия индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) на растения [11]. Поэтому ростостимулирующий эффект изучаемых ризосферных бактерий можно объяснить биосинтезом ими веществ с гормональной активностью, в частности ауксинов [12, 13].

Следующим шагом наших исследований стала идентификация состава культуральной жидкости фосфатмобилизующих бактерий, необходимая для расшифровки механизма действия ризосферных бактерий на проростки пшеницы, а также на рост и развитие растений. С этой целью был проведен качественный анализ состава культураль-

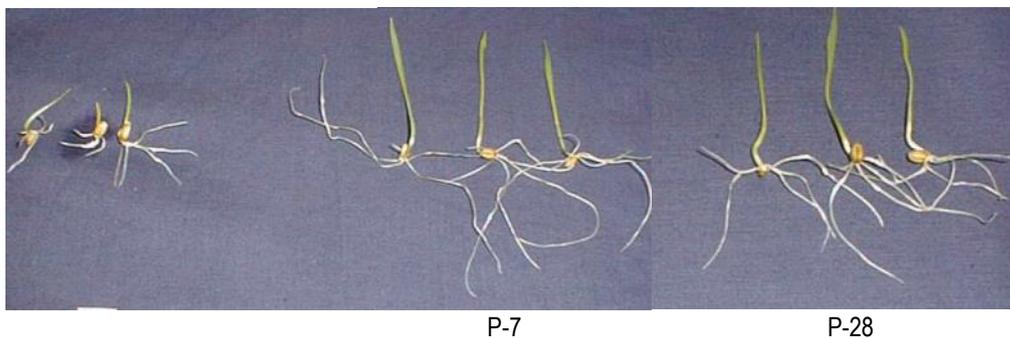


Рис. 1. Эффективность инокуляции семян пшеницы культуральной жидкостью штаммов фосфатмобилизующих бактерий (слева на фото – контрольные семена, справа – инокулированные семена)

ных жидкостей штаммов Р-7 и Р-28 с использованием методов тонкослойной хроматографии (ТСХ) [8,15]. Результаты ТСХ показали, что трехсуточные культуральные жидкости двух штаммов фосфатмобилизирующих бактерий (Р-7 и Р-28) содержали ИУК при культивировании в жидкой среде как с DL-триптофаном, так и без добавления триптофана. Культуральные жидкости штаммов Р-7 и Р-28 кроме ИУК содержали и другие соединения ауксинового ряда. К ним можно отнести индоллил-3-молочную, индоллил-3-карбоновую кислоты, которые также способны оказывать значительный гормональный эффект [9]. Эти биологически активные вещества относятся к производным индола и могут являться предшественниками ИУК в процессе ее синтеза, или продуктами ее разложения, которые также проявляют ростостимулирующие свойства [10].

Таким образом, полученные данные позволили установить, что штаммы ризосферных бактерий Р-7 и Р-28 способны не только растворять трехзамещенный ортофосфат кальция, но и активно стимулировать рост растений благодаря гормональному эффекту.

Способность штаммов ризосферных бактерий Р-7 и Р-28 продуцировать ИУК и повышать доступность для растений плохо растворимых ортофосфатов кальция обеспечивает уже на первых этапах прорастания семян хорошее развитие и функционирование корневой системы, что улучшает водное и минеральное питание проростков. Кроме того, сформированная корневая система в большей степени способна обеспечить надземную часть растений минеральными веществами и водой, необходимыми для процессов фотосинтеза, а ИУК также стимулирует развитие coleoptily и надземной части растений. Подобный эффект наблюдали в вегетационном опыте с озимой пшеницей.

Для озимых зерновых культур, таких как озимая рожь, пшеница и тритикале, очень важно, чтобы растения к зиме были с хорошо сформированной корневой системой и надземной частью. Это позволит перенести зиму и весной максимально использовать весеннюю влагу.

В вегетационных опытах показано, что бактериализация семян стимулировала рост растений. Если в фазе всходов разница между инокулированными и неинокулированными растениями была незначительная, то в фазе третьего листа инокулированные растения опережали в росте небактеризованные, а зеленая масса была на 30 и 17% выше при бактериализации штаммами Р-7 и Р-28 соответственно. Среди двух штаммов выделяется штамм Р-7. В фазах третьего листа и кущения зеленая масса растений пшеницы, бактериализованных Р-7, на 11% больше по сравнению с растениями, инокулированными Р-28 (рис. 2). Кроме того, масса корневой системы в фазе кущения была на 20% выше при инокуляции семян пшеницы штаммом Р-7 и на 6% при инокуляции штаммом Р-28.

Быстро развивающиеся проростки пшеницы формируют полноценно развитую листовую поверхность. При этом содержание хлорофилла в инокулированных фосфатмобилизирующими ризосферными бактериями растениях увеличивается в 1,2-1,5 раза. Хорошо развитая листовая поверхность и увеличение содержания хлорофилла в листьях максимально использует световую энергию даже в условиях короткого дня.

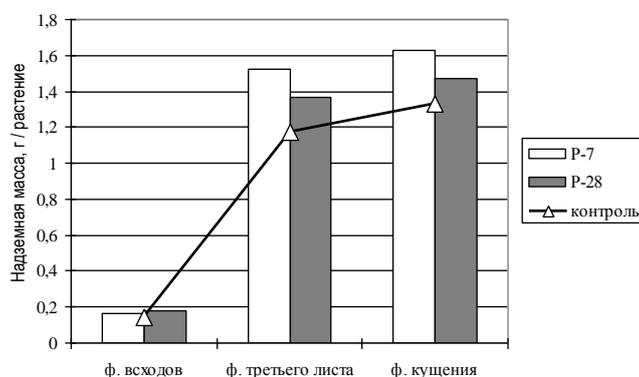


Рис. 2. Динамика накопления зеленой массы озимой пшеницы в вегетационном опыте

Таким образом, бактеризация семян озимой пшеницы фосфатмобилизующими ризосферными бактериями (P-7 и P-28) комплексно воздействует на растения. На этапе прорастания семян бактерии оказывают ростостимулирующее действие за счет гормональной активности. На этапе появления первых корешков (количество которых у инокулированных проростков увеличивается) улучшается минеральное питание проростка, с одной стороны, за счет более развитой корневой системы, а с другой – за счет увеличения концентрации в ризосфере и ризоплане доступных для растений соединений фосфора (фосфатмобилизующая активность ризосферных бактерий). Это способствует развитию более «сильных» проростков и дает старт для дальнейшего роста и развития растений. После всходов инокулированные проростки пшеницы быстрее накапливают биомассу благодаря хорошо развитым корневой системе и фотосинтетическому аппарату.

В южных районах Республики Беларусь на торфяных и песчаных почвах, где зерновые выращивают в основном как озимые, прием бактеризации семян может быть экономически оправданным, так как бактеризованные растения пшеницы более устойчивы к переувлажнению.

Литература

1. Биологическая активность и физиолого-биохимические свойства фосфатрастворяющих бактерий / Ю.С. Бабенко, Г.И. Тарыгина, Е.Ф. Григорьев и др. // Микробиология. – 1987. – Т. 53. Вып. 4. – С. 533-539.
2. Муромцев Г.С. Растворяющее действие корневых и почвенных микроорганизмов на водонерастворимые фосфаты кальция // Агробиология. – 1958. – № 5. – С. 35-41.
3. Gerretsen F.G. The influence of microorganisms in the phosphate intake by the plants // Plant and Soil. – 1948. – № 1. – P. 51-81.
4. Barber D.A. The effect of microorganisms on the uptake and distribution of phosphate in intact plants // Rep agric. Res. Coun. Radiobiol. Lab. – 1966. – P. 34-36.
5. Mikanova O., Kubat J. Uvolnovani fosforu z tezko rozpustnych sloucenin pudni mikroflorou // Rost-

- linna vyroba. – 1994. – Vol. 40. – № 9. – P. 833-840.
6. Геллер И.Т. Мобилизация нерастворимых минеральных соединений почвенными микроорганизмами: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук / ТСХА. – М., 1971. – 17 с.
 7. Сурман К.И. // Использование микроорганизмов для повышения урожая сельскохозяйственных культур. – М.: Колос, 1966. – С. 152-158.
 8. Tien T.M., Gaskins M.H., Hubbell D.H. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet, *Pennisetum americanum* L. // Appl. and Env. Microbiol. – 1979. – Vol. 37, № 5. – P. 1016-1024.
 9. Kapulnik Y., Gafny R., Okon Y. Effect of *Azospirillum spp.* inoculation on root development and NO₃⁻ uptake in wheat (*Triticum aestivum* L. cv. *Miriam*) in hydroponic systems // Can. J. Botany. – 1985. – Vol. 63, № 3. – P. 627-631.
 10. Кравченко Л.В., Леонова Е.И. Использование триптофана корневых экзометаболитов при биосинтезе индолил-3-уксусной кислоты ассоциативными бактериями // Микробиология. – 1993. – Т. 62, Вып. 3. – С. 453-459.
 11. Torrey J.G. Root hormones and plant growth // Annual Review of Plant Physiology. – 1976. – Vol. 27. – P. 435-459.
 12. Peumans W.J., Stinissen H.M., Carlier A.R. Lactin synthesis in developing and germinating wheat and rye embryos // Planta. – 1982. – Vol. 156, № 1. – P. 41-44.
 13. Лученок Л.Н. Ростостимулирующее и фунгистатическое действие *Azospirillum brasilense* // Почвенные исследования и применение удобрений: Сб. науч. тр. – Минск, 2001. – Вып. 26. – С. 343-348.
 14. Родынюк К.С. Механизмы взаимодействия и регулирующие факторы при бактеризации растений // Микроорганизмы – стимуляторы роста растений и животных: Тез. докл. науч. конф. – Ташкент, 1989. – Ч. 1. – С. 166.
 15. Лученок Л.Н. Эффективность бактеризации травосмеси клевер+овсяница+тимофеевка ассоциативными и симбиотическими diaзотрофами на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве. Дисс. ... канд. с.-х. наук./ РУП «Институт почвоведения и агрохимии НАН Беларуси». – 2003. – 128 с.

Summary

Luchenok L., Yurko L., Barashenko T. Growth-promotion and phosphor-mobilization effects of rhizospheric bacteria

Two strains of the P-7 and P-28 phosphate bacteria to produce indole-3-acetic acid and to possess the highest hormonal effect were selected. Inoculation of seedlings by P-7 and P-28 caused the significant root and coleoptiles development. Hormonal effect of phosphate bacteria in experiments with wheat seedlings was studied.