

## РОСТОСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ АССОЦИАТИВНЫХ РИЗОБАКТЕРИЙ PSEUDOMONAS PSEUDOALCALIGENES И BACILLUS SUBTILIS

Артамонова М.Н.<sup>1</sup>, Алексеева А.С.<sup>1</sup>, Потатуркина-Нестерова Н.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, Россия, e-mail:artamonovamn2013@yandex.ru

В данной работе исследовано ростостимулирующее влияние ризобактерий на семена сельскохозяйственных культур *Cucurbita pepo* L. и *Solanum lycopersicum* Mill. Инокуляция семян томата и тыквы референтными и ризосферными штаммами *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis* не оказывала влияния на всхожесть семян, показатели опытных образцов в присутствии исследуемых штаммов были аналогичными контрольным. В то же время выявлено ростостимулирующее влияние референтных и ризосферных штаммов *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis* на семена томата и тыквы. Инокуляция семян тыквы и томата исследуемыми штаммами референтных и ризосферных штаммов *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis* индуцировала увеличение морфометрических параметров проростков по сравнению с контрольными образцами, что проявлялось достоверным увеличением длины и массы проростков.

Ключевые слова: ростостимулирующее воздействие, PGPR-ризобактерии, ризосфера, томат, тыква

## GROWTH PROMOTING ACTIVITY OF ASSOCIATIVE RHIZOBACTERIA PSEUDOMONAS PSEUDOALCALIGENES AND BACILLUS SUBTILIS

Artamonova M.N.1, Alekseeva A.S., Potaturkina-Nesterova N.I.1

<sup>1</sup>Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia, email:artamonovamn2013@yandex.ru

It has been researched the effect of growth promoting rhizobacteria on crop seeds of *Cucurbita pepo* L. and *Solanum lycopersicum* Mill. The inoculation of tomato and pumpkin seeds with rhizosphere and referential *P. pseudoalcaligenes* and *B. subtilis* strains did not have negative effects on seed germination. The germination of plant seeds in the presence of the test strains was similar to controls. It has been established growth stimulating influence of the rhizosphere and reference *P. pseudoalcaligenes* strains on seeds of tomato and pumpkin. Pumpkin seed treatment test strain caused an increase in length and weight of seedlings in all samples when compared with controls. Inoculation of tomato seeds and rhizosphere referential strains *P. pseudoalcaligenes* and *B. subtilis* also induced an increase in morphometric parameters of seedlings compared to the control sample.

Keywords: growth stimulating effects, PGPR-rhizobacteria, rhizosphere, tomato, pumpkin

Микроорганизмы, ассоциированные с растениями, стали объектом активных исследований с середины 1970-х гг. [6,2]. Особый интерес вызывают полезные, вредные и нейтральные для растений свойства бактерий, заселяющих экологическую нишу ризосферы – почвы, прилегающей к корням растения и попадающей под непосредственное действие корневых выделений и почвенных микроорганизмов корневой системы [7]. Установлено, что микроорганизмы прикорневой зоны оказывают положительное многофункциональное воздействие на некоторые растения, в частности повышают их продуктивность [5]. Стимулирующее влияние на рост и развитие растений ризосферные бактерии-ассоцианты оказывают за счет способности к азотфиксации, мобилизации питательных элементов из почвы, подавления роста фитопатогенов, продуцирования таких физиологически активных веществ, как витамины и фитогормоны [4]. Особую актуальность представляет изучение ризосферных микроорганизмов и их воздействия на аграрные культуры.

На территории Центральной России основными возделываемыми культурами являются представители семейств *Cucurbitaceae* и *Solanaceae*. Изучение микрофлоры прикорневой зоны растений данных семейств показало, что доминирующими видами являются представители родов *Bacillus* и *Pseudomonas* [1, 2, 3]. Однако их влияние на рост и развитие представителей этих семейств остаются неизученными.

Целью данного исследования явилось изучение ростостимулирующего влияния ризосферных бактерий *Pseudomonas pseudoalcaligenes* и *Bacillus subtilis* на семена *Solanum lycopersicum* Mill. и *Cucurbita pepo* L.

#### **Материалы и методы исследования**

Объектом исследования являлись штаммы бактерий *Pseudomonas pseudoalcaligenes* и *Bacillus subtilis*, выделенные из ризосферы сельскохозяйственных растений, а также референтные штаммы: *P. pseudoalcaligenes* MV-11, полученный из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИГенетика, и *B. subtilis* ATCC 6633, полученный из государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФГБУ «ГИСК им. Л.А. Тарасевича». Штаммы микроорганизмов, выделенные из ризосферы растений, культивировали на плотных питательных средах в течение суток при температуре 37<sup>0</sup>С. Для *B. subtilis* использовали МПА (Россия), картофельно-глюкозный агар (Lab-Biomed, Россия), для *P. pseudoalcaligenes* – ГРМ-агар (ЗАО «НПО БИОКОНТ», Россия). Видовую идентификацию изолятов производили на основе изучения морфологических, тинкториальных и культурально-биохимических свойств с помощью программного обеспечения для автоматизированной идентификации бактерий производства ООО НПО «Диагностические системы».

Определение ростостимулирующей активности исследуемых штаммов производили в биотесте с семенами томата и тыквы. Семена растений предварительно подвергали стерилизации в 0,05%-ном растворе перманганата калия, после чего их помещали в стерильные чашки Петри и заливали стерильной дистиллированной водой для набухания. Через 24 ч семена помещали между слоями фильтровальной бумаги и инокулировали суспензией четырехсуточной культуры бактерий, полученной в МПБ и разведенной до титра 10<sup>7</sup> КОЕ/мл.

В качестве контроля служили семена растений, обработанные стерильным МПБ. Чашки Петри выдерживали при оптимальной для роста семян температуре 22<sup>0</sup>С в течение 7 суток. Энергию прорастания и всхожести семян определяли посредством подсчета количества проросших семян в опытных образцах и контроле (ГОСТ 12038-84, 1984). Оценку ростостимулирующего действия изучаемых штаммов производили путем измерения длины и массы корней и зеленых проростков семян, обработанных бактериальной

суспензией, и соответствующих показателей в контроле. При определении морфометрических параметров массу и длину корня и проростка в контрольной группе принимали за 100%.

### Результаты и обсуждение

Результаты лабораторно-вегетационного опыта показали, что инокуляция семян *Solanum lycopersicon Mill.* и *Cucurbita pepo L.* штаммами *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis* не оказывала влияния на их всхожесть. Отмечена сходная динамика в прорастании семян томата и тыквы как в контрольных, так и в опытных образцах (табл. 1).

**Таблица 1**

Результаты всхожести семян томата и тыквы после инокуляции штаммами *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis*

Инокуляты	Всхожесть семян томата, %	Всхожесть семян тыквы, %
<i>P. pseudoalcaligenes MV-11</i>	100	99
<i>P. pseudoalcaligenes</i>	98	97
Контроль	95	96
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	99	100
<i>B. subtilis</i>	96	99
Контроль	99	100

В ходе исследования установлено, что инокуляция семян тыквы *B. subtilis* вызывала стимуляцию формирования проростков. При обработке семян референтными штаммами происходило увеличение длины проростков в 1,6 раз, а массы – в 1,4 раз по сравнению с контролем. Проращивание семян тыквы в присутствии *B. subtilis*, выделенных из ризосферы *C. pepo*, вызывало увеличение длины проростков в 1,7 раз, а массы — в 1,3 раза по сравнению с контрольным образцом (табл. 2).

Инокуляция семян тыквы референтными штаммами *P. pseudoalcaligenes* оказывала ростостимулирующее действие. Происходило увеличение морфометрических параметров проростков семян: длина — в 1,6 раз, масса в 1,4 раза. Штаммы *P. pseudoalcaligenes*, выделенные из ризосферы растений, индуцировали увеличение длины и массы проростков в 1,7 раз и 1,3 раз соответственно.

**Таблица 2**

Морфометрические параметры проростков тыквы после воздействия *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis*

Исследуемые варианты	Длина проростка		Масса проростка	
	см	в % к контролю	г	в % к контролю
<i>P. pseudoalcaligenes MV-11</i>	3,4±0,25*	158,14	3,1±0,32*	135,37
<i>P. pseudoalcaligenes</i>	3,6±0,41*	167,44	2,9±0,2*	126,64

<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	3,35±0,45*	155,81	3,28±0,33*	143,23
<i>B. subtilis</i>	3,65±0,3*	169,77	2,9±0,1*	126,64
Контроль	2,15±0,48	100	2,29±0,39	100

\*— различия между показателями и контрольным образцом достоверны при  $p < 0,05$

Проявление ростостимулирующей активности исследуемых штаммов *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis* также было отмечено на семенах томата (табл. 3).

**Таблица 3**

Результаты воздействия *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis* на ростовые параметры семян томата

Исследуемые варианты	Длина проростка		Масса корня	
	см	в % к контролю	г	в % к контролю
<i>P. pseudoalcaligenes</i> MV-11	2,8±0,15*	133,33	1,9±0,1*	135,71
<i>P. pseudoalcaligenes</i>	2,9±0,3*	138,10	2,0±0,2*	142,86
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	3,0±0,25*	142,86	2,1±0,1*	150,00
<i>B. subtilis</i>	2,75±0,15*	130,95	2,0±0,15*	142,86
Контроль	2,1±0,38	100	1,4±0,32	100

\*— различия между показателями и контрольным образцом достоверны при  $p < 0,05$

Анализ полученных данных показал, что при обработке семян *S. lycopersicum* референтными штаммами *P. pseudoalcaligenes* происходило увеличение длины и массы проростков в 1,3 и 1,4 раз соответственно. Инокуляция ризосферными штамма исследуемого микроорганизма приводила к достоверному повышению морфометрических показателей: длины проростков в 1,4 раза и 1,4 раза соответственно.

Аналогичные изменения ростовых показателей семян томатов наблюдались при их обработке референтными штаммами *B. subtilis*: длина проростка увеличивалась в 1,4 раза, масса – в 1,5 раза по сравнению с контролем. Обработка семян ризосферными штаммами данного вида показали увеличение длины проростка в 1,3 раз, массы в 1,4 раз.

### Выводы

1. Референтные и ризосферные штаммы *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis* не оказывают влияния на всхожесть семян *S. lycopersicum* Mill. и *C. pepo* L.
2. Инокуляция семян тыквы и томата референтными и ризосферными штаммами *P. pseudoalcaligenes* и *B. subtilis* вызывает выраженный ростостимулирующий эффект на *Solanum lycopersicon* Mill. и *Cucurbita pepo* L., что проявляется достоверным увеличением длины и массы их проростков.

## Список литературы

1. Алексеева А.С., Потатуркина-Нестерова Н.И. Характеристика видового состава микробиоценоза прикорневой зоны *Lycopersicum esculentum* Mill. // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2014. — № 4. – С. 149-153.
2. Артамонова М.Н, Алексеева А.С., Потатуркина-Нестерова Н.И. Сравнительная характеристика микробиоценозов ризосферы представителей семейств *Cucurbitaceae* и *Solanaceae* // Естественные и технические науки. – 2014, № 9-10.
3. Артамонова М.Н., Потатуркина-Нестерова Н.И. Характеристика микробного сообщества ризосферы и ризопланы *Cucurbita pepo* L. // Фундаментальные исследования. – 2013. — № 10. – С. 3067–3070.
4. Жардецкий С.С., Лужинская А.Я., Храмцова Е.А. Ростостимулирующая активность мутантного штамма бактерий *Pseudomonas mendocina*//Вестник БГУ. – 2005. – № 3. – С. 32–35.
5. Маслиенко Л.В. Влияние лабораторных образцов биопрепаратов на основе перспективных штаммов антагонистов фитопатогенов на проростки сои // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2010. – Вып. 1. – С. 104–108.
6. Терещенко Н.Н. Исследование эффективности комплексного применения оксигумата торфа и бактериальной культуры *Pseudomonas sp.* для создания биопрепарата системного действия//Вестник ТГУ. – 2009. – № 1. – С. 27–36.
7. Чан Минь Куан, Егоров М.А. Исследование ростостимулирующей активности штамма рода *Bacillus*, выделенного из клубеньков *Vigna cylindrica*//Естественные науки. – 2011. — № 2. – С. 106–109.

### Рецензенты:

Золотухин В.В., д.б.н., профессор кафедры зоологии ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова», г. Ульяновск;

Артемьева Е.А., д.б.н., профессор кафедры зоологии ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова», г. Ульяновск.