

УДК 631.461.5

Е.В. Кириченко

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины,
ул. Васильковская, 31/17, Киев 03022, Украина,
тел. (044) 257 31 08; e-mail: leki07@mail.ru

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РИЗОСФЕРНОЙ ПОЧВЫ ПШЕНИЦЫ ЯРОВОЙ В АССОЦИИ С БАКТЕРИЯМИ *AZOTOBACTER CHROOCCUM* T79, МОДИФИЦИРОВАННЫМИ N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНОМ

Цель. Исследование биологической активности ризосферной почвы растений пшеницы яровой в ассоциации с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозамином. **Методы.** В условиях вегетационных опытов исследованы такие показатели биологической активности почвы как ростоактивирующая способность (методом фитотестов), численность (методом количественного разведения почвенной суспензии, посева на селективную среду роста Эшби и подсчета бактериальных колоний) и нитрогеназная активность (ацетиленовым методом) азотфиксирующих микроорганизмов при функционировании ассоциации пшеницы яровой с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79 в комбинации с N-ацетил-D-глюкозамином (0,1 М). **Результаты.** Установлено существенное увеличение численности (в 1,4–3,9 раза) и нитрогеназной активности (в 2,1–5,6 раза) азотфиксирующих микроорганизмов на протяжении вегетации растений, а также ростоактивирующей способности почвы (в 1,2 раза) на раннем этапе формирования фитобактериальной ассоциации. **Выводы.** Обработка семян пшеницы бактериями *Azotobacter chroococcum* T79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозамином по сравнению с моноинкулянтном азотобактера, способствовала активации функционирования бактериальной нитрогеназы (на 10–38 %) и увеличению популяции азотфиксирующих микроорганизмов (в 1,2–2,2 раза) в большей мере, нежели их способности накапливать биологически активные вещества в ризосферной почве растений.

Ключевые слова: пшеница яровая, азотобактер, глюкозамин, ризосфера.

Ризосферная почва – зона активной коммуникации растений и микроорганизмов, осуществляемой посредством обмена молекулярными метаболитами [19, 20]. Биологически активные вещества (флавоноиды, лектины, сапонины, гормоны, аминокислоты, сахара и др.), накапливаемые в ризосферной почве растений, определяют развитие и функциональную активность почвенных



микроорганизмов. При экзогенном действии на бактериальные клетки данные соединения влияют на развитие, метаболическую и физиологическую активность бактерий [12, 18, 22], в том числе и ризобактерий, характеризующихся комплексом агрономически ценных свойств [7]. Так, предварительная инкубация клубеньковых бактерий сои и гороха со специфичными фитолектинами привела к более высокому уровню реализации симбиотического потенциала ризобий – клубенькообразующей способности, нитрогеназной активности и эффективности бобово-ризобияльных систем [6]. Стимулирующее влияние на развитие и метаболизм ризосферных diaзотрофов родов *Azospirillum* и *Azotobacter* оказывали агглютинин зародышей пшеницы и лектин картофеля [2, 5, 7]. Вещества углеводной природы, синтезируемые бактериями (полисахариды) также проявляли биоэффекторное действие по отношению к микроорганизмам, влияя на процессы их роста и размножения в чистой культуре [10], а также на реализацию продуктивного потенциала фитобактериальных симбиозов [7, 10, 11]. N-ацетил-D-глюкозамин – вещество углеводной природы, принимающее участие во взаимодействии растений и микроорганизмов посредством лектин-углеводного рецептинга [2, 6]. В условиях чистой культуры нами показана способность азотобактера связывать N-ацетил-D-глюкозамин, что предполагает наличие бактериальных агглютининов, обладающих специфичностью к данному аминсахару [9]. О влиянии N-ацетил-D-глюкозамина на бактериальные клетки азотобактера при формировании ассоциаций с растениями данные отсутствуют. Известно, что одним из основных показателей биологической активности ризосферной почвы является ростоактивирующая способность, определяемая качественным и количественным составом аккумуляированных в ней разнообразных БАВ, источниками насыщения которых являются корневые экссудаты растений [3] и экзометаболические микроорганизмов [16, 17]. Исходя из вышесказанного, целью работы было исследование биологической активности ризосферной почвы – ростоактивирующей способности, численности и нитрогеназной активности азотфиксирующих микроорганизмов в течение вегетации растений пшеницы в ассоциации с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозамином.

Материалы и методы

Объектами исследования была ризосферная почва пшеницы яровой (*Triticum aestivum* L.) сортов Коллективная 3 и Ранняя 93 в ассоциации с бактериями *Azotobacter chroococcum* T79 [14] (титр инокулюма 10^7 кл/мл), предварительно проинкубированными в течение суток с N-ацетил-D-глюкозамином (концентрация аминсахара 0,1 М) («Лектинотест», Львов).

Микробиологические показатели биологической активности почвы оценивали в условиях вегетационных опытов, которые проводили на вегетационной площадке ИФРГ НАНУ при природном освещении и температуре в 6–7-кратных повторностях по вариантам в сосудах Вагнера (9 кг) на почвенном субстрате с внесением минеральных солей по Прянишникову с 0,5 нормой азота [4] согласно схеме:



1. Обработка семян водой (контроль);
2. Инокуляция семян штаммом *A. chroococcum* T79 (штамм-контроль);
3. Обработка семян *A. chroococcum* T79, проинкубированным (24 ч) при температуре 28 °С с раствором (0,1 М) глюкозамина (T79 + GlcNAc, 1:1)

Отборы ризосферной почвы осуществляли в фазы развития всходов, кущения, начала колошения и полной спелости зерна пшеницы. Экспресс-оценку ростоактивирующей способности почвы (уровень накопления биологически активных веществ, БАВ) проводили по интенсивности развития тест-объекта (кресс-салат посевной сорта Забава) на почвенных образцах (метод фитотестов) [3]. В качестве контроля была почва варианта с обработкой семян водой. В экспериментах также оценивались азотфиксирующая активность ризосферных микроорганизмов (ацетиленредуктазным методом по Харди с соавт. [23]) и численность азотфиксирующих микроорганизмов в ризосферной почве (методом количественного разведения почвенной суспензии, посева на селективную среду Эшби и подсчета выросших бактериальных колоний [1]). Для определения азотфиксирующей активности использовали корни растений с почвой. В герметичные флаконы с образцами вводили по 5 мл ацетилена, инкубировали 2 ч и анализировали на приборе «Chromatograf 504» (Польша, «Mera Elwgo»). Результаты статистически обработаны (*Statgraphyc Plus*) и представлены в виде средних значений и их ошибок ($M \pm m$), рассчитанных по данным не менее трех биологических повторностей.

Результаты и обсуждение

С использованием экспресс-метода оценки ростоактивирующей способности ризосферной почвы показано (табл. 1), что при бактеризации семян пшеницы яровой активным штаммом *A. chroococcum* T79 [8] существенно повышалась ростоактивирующая способность ризосферной почвы, результатом чего было активное развитие проростков тест-объекта на почвенных образцах опытного варианта во все фазы вегетации растений. Так, масса проростков кресс-салата, на образцах ризосферы пшеницы сорта Коллективная 3 в 1,2–1,8 раза превышала контрольные значения (обработка семян водой). Для сорта Ранняя 93 данная разница составила 1,1–1,5 раза. Активное развитие проростков тест-объекта свидетельствует о накоплении в ризосферной зоне БАВ, источником поступления которых являются экзометаболиты микроорганизмов и корневые выделения растений, что может свидетельствовать как о повышении способности ризосферных микроорганизмов к продуцированию веществ росторегуляторного действия, так и об интенсификации процесса фотосинтеза, образования фотоассимилятов и выделительной функции корневой системы растений.

Бинарный инокулянт (T79 + GlcNAc) активировал ростостимулирующую способность ризосферной почвы пшеницы сортов Коллективная 3 и Ранняя 93 в 1,2–1,4 и 1,1–1,4 раза, соответственно, по сравнению с контролем (табл. 1). При этом эффективность его действия относительно данного показателя биологической активности почвы находилась на уровне эффекта азотобактера (вариант T79).



Таблица 1

Средняя масса (мг) проростка кресс-салата на образцах ризосферы пшеницы яровой

Table 1

Average weight (mg) seedling of cress on samples of the rhizosphere of spring wheat

Образец ризосферы пшеницы	Исследуемая группа	Фаза вегетации пшеницы			
		Всходы	Кущение	Начало колошения	Полная спелость зерна
Сорта Коллективная 3	1	—	7,5±0,5 100%	13,0±1,3 100%	15,5±0,6 100%
	2	-	11,6±1,4 155%	23,3±1,0 179%	18,0±0,5 116%
	3	-	10,8±1,2 144% 93% ¹	14,9±0,5 115% 64% ¹	18,6±0,9 120% 103% ¹
Сорта Ранняя 93	1	19,6±0,4 100%	18,2±0,5 100%	25,2±1,2 100%	20,6±0,6 100%
	2	21,9±0,4 112%	20,4±1,2 112%	36,9±1,0 146%	25,2±0,7 122%
	3	25,1±1,9* 128% 115% ¹	20,2±0,6 111% 99% ¹	34,9±1,0 139% 95% ¹	25,7±0,7 125% 102% ¹

Примечания к табл. 1.

Исследуемая группа: 1 – предпосевная обработка семян водой (контроль),

2 – бактериями *A. chroococcum* T79 (T79, моноинокулянт, штамм-контроль),

3 – бактериями *A. chroococcum* T79, предварительно проинкубированными с N-ацетил-D-глюкозаминном 0,1M (T79+GlcNAc, биинокулянт);

* – достоверно (p<0,05) по сравнению с 2 группой;

% по отношению к контролю, %¹ – к штамм-контролю;

«—» – не определяли.

Было выявлено достоверно значимое увеличение биологической активности ризосферной почвы по признаку ростаактивирующей способности в группе с использованием бинарного инокулянта по сравнению с таковой в случае штамма азотобактера (15 %) отмечена лишь в раннюю фазу онтогенеза пшеницы сорта Ранняя 93 (всходы), в фазу колошения отмечена тенденция противоположной направленности, что может указывать на регуляцию GlcNAc способности бактерий к продукции БАВ на начальных этапах формирования фитобактериальной ассоциации.

В фазу полной спелости зерна пшеницы ростаактивирующая способность ризосферной почвы обоих сортов яровой пшеницы в опытных группах в 1,2 и



1,3 раза превышала контрольные значения (вариант с обработкой семян водой), но находилась на уровне значений при инокуляции семян азотобактером, что свидетельствует об отсутствии токсического влияния на почву интродуцированных в составе инокулянтов бактерий *A. chroococcum* Т79 и аминоксахара N-ацетил-D-глюкозамина.

Применение штамма азотобактера (Т79) и его комбинации с N-ацетил-D-глюкозамином (Т79+GlcNAc) для предпосевной обработки семян пшеницы яровой изменяло функциональную (нитрогеназную) активность ризосферных микроорганизмов (табл. 2). Азотфиксирующая активность (АФА) diaзотрофов пшеницы сорта Ранняя 93 при использовании моноинокулянта Т79 существенно превышала (в 2,1 и 2,5 раза) активность микрофлоры контрольных растений в фазы кущения и начала колошения пшеницы. Для сорта Коллективная 3 в фазу начала колошения данная разница составила 1,8 раза ($2,10 \pm 0,10$ по сравнению с $1,16 \pm 0,22$ нмоль C_2H_4 / (растение·час) в контроле).

Таблица 2

Нитрогеназная активность (нмоль C_2H_4 / (растение·час)) ризосферных микроорганизмов пшеницы яровой сорта Ранняя 93 на разных фазах вегетации

Table 2

Nitrogenase activity (nmol C_2H_4 / (plant·HR)) of rhizosphere microorganisms of spring wheat cv. Rannay 93 at different phases of vegetation

Исследуемая группа	Фаза вегетации пшеницы		
	Кущение	Начало колошения	Полная спелость зерна
1	$2,00 \pm 0,15$ 100%	$1,03 \pm 0,12$ 100%	0
2	$4,24 \pm 0,22$ 212%	$2,56 \pm 0,38$ 249%	$0,44 \pm 0,27$ 100%
3	$4,68 \pm 0,29$ 234% 110 ¹ %	$3,53 \pm 0,27^*$ 343% 138% ¹	$2,45 \pm 1,36^*$ 557%

Примечания к табл. 2.

Исследуемая группа: 1 – предпосевная обработка семян водой (контроль),

2 – бактериями *A. chroococcum* Т79 (Т79, моноинокулянт, штамм-контроль),

3 – бактериями *A. chroococcum* Т79, предварительно проинкубированными с N-ацетил-D-глюкозамином 0,1М (Т79+GlcNAc, биинокулянт);

* – достоверно ($p \leq 0,05$) по сравнению с 2 группой;

% по отношению к контролю, %¹ – к штамм-контролю;

«→» – не определяли.

В варианте с бинарным инокулянтом (Т79+GlcNAc) отмечена интенсификация процесса фиксации азота ризосферными микроорганизмами, что проявлялось в значительном увеличении показателя АФА бактерий по сравнению с контролем (1 группа): в 2,3 и 3,4 раза для сорта Ранняя 93 (табл. 2),



в 2,1 раза ($2,46 \pm 0,22^*$ по сравнению с $1,16 \pm 0,22$ нмоль C_2H_4 / (растение·час) в контроле) для сорта Коллективная 3. Регуляторное действие глюкозамина по отношению к бактериям *A. chroococcum* T79 выражалось более высоким уровнем функционирования нитрогеназы интродуцированных и аборигенных почвенных микроорганизмов в ассоциациях с растениями пшеницы, активность которых в 3 группе (T79+GlcNAc) в 1,1; 1,4; 5,6 раза (соответственно фазам вегетации растений) превышала АФА штамма T79 для сорта Ранняя 93 (табл. 2) и в 1,2 раза ($2,46 \pm 0,22^*$ по сравнению с $2,10 \pm 0,10$ нмоль C_2H_4 / (растение·час) во 2 группе) для сорта Коллективная 3. При этом получены значения АФА, как достоверно отличимые от контроля (обработка семян водой) и варианта с обработкой семян азотобактером (фазы колошения и полной спелости зерна пшеницы сорта Ранняя 93), так и находящиеся на границе ошибки эксперимента (сорт Коллективная 3), что свидетельствует о тенденции повышения уровня способности ризосферных микроорганизмов к фиксации азота в фазу колошения пшеницы сорта Коллективная 3.

Отмечено, что в фазу полной спелости зерна пшеницы сорта Ранняя 93 при использовании для инокуляции семян бактерий *A. chroococcum* T79, активированных GlcNAc, АФА diaзотрофов в 5,6 раза была больше показателя в варианте с инокуляцией семян азотобактером. При этом в контрольном варианте (обработка семян водой) способность ризосферных бактерий к азотфиксации не фиксировалась (табл. 2). Полученные результаты указывают на продление периода активной фиксации азота ризосферными микроорганизмами (вплоть до фазы полной спелости зерна пшеницы), что максимально выражено в ассоциациях, сформированных растениями с бактериями, обработанными глюкозамином. При этом отмечено снижение абсолютных значений азотфиксирующей активности почвенных микроорганизмов в ризосфере на протяжении вегетации растений во всех вариантах опыта.

Повышение уровня азотфиксирующей способности ризосферных diaзотрофов может объясняться активирующим действием веществ углеводной природы на функционирование бактериальной нитрогеназы. Так, в условиях чистой культуры клубеньковых бактерий люпина установлено [13], что углеводная фракция метаболитов корневых клубеньков повышала азотфиксирующую активность ризобий. В условиях *in situ* при изучении влияния добавок искусственных корневых экссудатов и отдельных сахаров, как источников углерода, на активность и качественный состав несимбиотических diaзотрофов показано [21], что только те субстанции, которые содержали в своем составе углеводный компонент, индуцировали азотфиксацию в ризосфере.

При сравнении изменения показателей биологической активности ризосферной почвы пшеницы – ростостимулирующей (табл. 1) и азотфиксирующей (табл. 2) способности можно отметить, что GlcNAc при совместной инкубации со штаммом T79 существенно активировал нитрогеназную функцию ризосферных diaзотрофов на протяжении всех фаз вегетации растений по сравнению с действием моноинокулянта азотобактера. При этом ростостимулирующая способность почвы в данной группе находилась на уровне показателей варианта



с применением штамма Т79. Более того, при достаточно низкой ростоактивирующей способности почвы (сорт Коллективная 3) в группе Т79 + GlcNAc (на 36% меньше, чем в варианте с азотобактером, табл. 1, начало колошения), АФА ризосферного микробного комплекса была в 1,2 раза большей. На основании полученных результатов можно предположить, что глюкозамин, как вещество углеводной природы, влияет на активность основного фермента фиксации азота – нитрогеназы в большей мере, чем на способность микроорганизмов к продукции БАВ.

При бактеризации семян пшеницы яровой сорта Коллективная 3 азотобактером (Т79) существенно изменялась численность азотфиксирующих микроорганизмов в ризосферной почве на протяжении вегетации растений (табл. 3). Количество жизнеспособных азотфиксирующих бактериальных клеток увеличилось в 2,5; 1,3; 1,3 и 1,8 раза по сравнению с контролем в разные фазы вегетации растений.

Таблица 3

Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) азотфиксирующих бактерий (10^m кл/г) в ризосферной зоне на разных фазах вегетации пшеницы яровой сорта Коллективная 3

Table 3

The number of colony forming units (CFUS) of nitrogen-fixing microorganisms (10^m cells/g) in rhizosphere soil at the different phases of vegetation of spring wheat cv. Kollektivnaya 3

Почва перед посевом семян	Исследуемая группа	Фаза вегетации пшеницы			
		Всходы	Кущение	Начало колошения	Полная спелость зерна
$(71,4 \pm 14,6) \times 10^8$ кл/г	1	$(38,3 \pm 2,4) 10^{10}$ 100%	$(11,9 \pm 1,2) 10^{12}$ 100%	$(12,4 \pm 1,0) 10^{12}$ 100%	$(48,8 \pm 6,7) 10^9$ 100%
	2	$(94,6 \pm 6,1) 10^{10}$ 247%	$(15,8 \pm 2,0) 10^{12}$ 133%	$(16,3 \pm 0,4) 10^{12}$ 131%	$(87,9 \pm 9,6) 10^9$ 180%
	3	$(132,3 \pm 10,3) 10^{10}$ * 345% 140% ¹	$(16,4 \pm 0,4) 10^{12}$ 138% 104% ¹	$(18,7 \pm 0,5) 10^{12}$ * 151% 115% ¹	$(192,2 \pm 3,7) 10^9$ * 394% 219% ¹

Примечания к табл. 3.

Исследуемая группа: 1 – предпосевная обработка семян водой (контроль),

2 – бактериями *A. chroococcum* Т79 (Т79, моноинокулянт, штамм-контроль),

3 – бактериями *A. chroococcum* Т79, предварительно проинкубированными с N-ацетил-D-глюкозаминном 0,1М (Т79+GlcNAc, биинокулянт);

* – достоверно ($p \leq 0,05$) по сравнению с 2 группой;

% по отношению к контролю, %¹ – к штамм-контролю;

«←» – не определяли.



В асоціаціях пшениці з азотобактером, модифіцированим глюкозаміном (Т79 + GlcNAc), численність ризосферних діазотрофів і олигонитрофілів збільшилась в 3,5; 1,4; 1,5 і 3,9 рази по порівнянню з контролем (табл. 3). При цьому по відношенню до варіанту з азотобактером (№ 2) різниця по даному показателю складала 1,4; 1,2 і 2,2 рази.

Полученні результати свідчать про активуючий вплив N-ацетил-D-глюкозаміну на розвиток популяції азотфіксуючих бактерій в ризосферній зоні пшениці. Порівняння числа азотфіксуючих мікроорганізмів в вихідному субстраті росту рослин (10^8 кл/г) і в ґрунті в кінці вегетації пшениці (10^9 кл/г) свідчить про покращення мікробіологічних показателів ґрунту за рахунок розвитку агрономічно корисної групи азотфіксуючих мікроорганізмів.

При порівнянні показателів численності бактерій (табл. 3) і їх АФА в ризосферній ґрунті пшениці сорту Колективна 3 в фазу початку колосіння (дані представлені в тексті вище) відмічено, що число КОЕ мікроорганізмів в варіанті Т79 + GlcNAc перевищувало контрольне (№ 1) значення в 1,5 рази, їх АФА – в 2,1 рази, що вказує на активацію глюкозаміном функціонування нитрогенази однієї бактеріальної клітки. При цьому кількість КОЕ бактерій і їх азотфіксуюча активність в асоціаціях пшениці з модифіцированим штаммом азотобактера (Т79 + GlcNAc) на 15 і 17 % відповідно перевищувало кількість і функціональну активність азотфіксуючих бактерій в варіанті з інюляцією насіння штаммом Т79, що свідчить про збільшення рівня АФА мікробного комплексу, ймовірно за рахунок збільшення численності бактерій, здатних до фіксації молекулярного азоту.

Результати, представлені в літературі, свідчать про те, що деякі ґрунтові бактерії (*Enterobacter*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*), в більшій або меншій ступені, здатні зв'язувати глюкозу і її похідні, в тому числі і глюкозамін [9, 15]. Дане зв'язування здійснюється за рахунок вуглевод-білкового взаємодіяння, в тому числі і при участі бактеріальних лектинів. В умовах *in vitro* показано [9], що культура *A. chroococcum* Т79 мала агглютинуючу активність, що вказує на здатність даних бактерій синтезувати агглютиніни. В реакції затримання гемоглобіну встановлено, що азотобактер зв'язував (до 50%) і глюкозамін (0,01–0,1 М), що передбачає наявність специфічності бактеріального агглютиніну до даного вуглеводу. Повністю ймовірно, що при спільному інкубуванні кліток *A. chroococcum* Т79 з глюкозаміном в чистій культурі лектин-вуглеводне взаємодіяння (агглютинін азотобактера+глюкозамін) включає каскад передачі сигналів в бактеріальну клітку, що призводить до зміни метаболізму і функціонування бактерій, результатом чого є встановлений нами більш високий рівень функціонування асоціації «пшениця–Т79+GlcNAc» в умовах *in situ* в порівнянні з асоціацією, сформованою монокультурою азотобактера.



Исходя из анализа экспериментальных результатов можно предположить, что реализация активности глюкозамина при экзогенном действии на культуру клеток азотобактера при совместной инкубации (Т79 + GlcNAc) осуществляется, вероятнее всего, во-первых, за счет влияния углевода на численность бактерий в суспензии, что в конечном итоге повышает титр бактериальных клеток в инокулянте а, во-вторых, за счет биоинформационного лектин-углеводного сигналинга, триггером которого является взаимодействие глюкозамина с агглютинином бактерий, а конечным результатом – увеличение численности и функциональной активности микроорганизмов в ризосфере растений пшеницы при инокуляции семян азотобактером в комбинации с глюкозамином.

В ассоциациях пшеницы яровой с почвенными микроорганизмами при инокуляции семян активным и эффективным штаммом *A. chroococcum* Т79 в комбинации с N-ацетил-D-глюкозамином изменялась биологическая активность ризосферной почвы, что проявлялось в существенном увеличении показателей численности и нитрогеназной активности азотфиксирующих микроорганизмов на протяжении вегетации растений, а также ростоактивирующей способности почвы на раннем этапе формирования фитобактериальной ассоциации. Обработка семян пшеницы бактериями *Azotobacter chroococcum* Т79, модифицированными N-ацетил-D-глюкозамином по сравнению с моноинокулянт азотобактера, способствовала активации функционирования бактериальной нитрогеназы (на 10–38%) и увеличению популяции азотфиксирующих микроорганизмов (в 1,2–2,2 раза) в большей мере, нежели их способности накапливать биологически активные вещества в ризосферной почве растений.

О.В. Кириченко

Институт фізіології рослин і генетики НАН України,
вул. Васильківська, 31/17, Київ 03022, Україна,
тел. (044) 257 31 08; e-mail: leki07@mail.ru

БИОЛОГИЧНА АКТИВНІСТЬ РИЗОСФЕРНОГО ҐРУНТУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ В АСОЦІАЦІЇ З БАКТЕРІЯМИ *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* Т79, МОДИФІКОВАНИМИ N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМІНОМ

Реферат

Мета. Дослідження біологічної активності ризосферного ґрунту рослин пшениці ярої в асоціації з бактерією *Azotobacter chroococcum* Т79, модифікованими N-ацетил-D-глюкозаміном. **Методи.** У вегетаційних умовах досліджено такі показники біологічної активності ризосферного ґрунту як рістактивувальна здатність (методом фітотестів), чисельність (методом кількісного розведення ґрунтової суспензії, висіву на селективне середовище Ешбі та підрахунку бактеріальних колоній) і нитрогеназна активність (ацетиленовим методом) азотофіксуювальних мікроорганізмів при функціонуванні асоціації пшениці ярої з бактерією *Azotobacter chroococcum* Т79 у комбинації з N-ацетил-D-глюкозаміном



(0,1 М). **Результати.** Встановлено суттєве збільшення чисельності (в 1,4–3,9 рази) і нітрогеназної активності (в 2,1–5,6 рази) азотофіксувальних бактерій протягом вегетації рослин, а також рістактивувальної здатності ґрунту (в 1,2 рази) на ранньому етапі формування фітобактеріальної асоціації. **Висновки.** Обробка насіння пшениці бактеріями *Azotobacter chroococcum* T79, модифікованими N-ацетил-D-глюкозаміном порівняно до моноінокулянту азотобактера, сприяла активації функціонування бактеріальної нітрогенази (на 10–38 %) та збільшенню популяції азотофіксувальних мікроорганізмів (в 1,2–2,2 рази) більшою мірою, ніж їхньої здатності накопичувати біологічно активні речовини у ризосферному ґрунті рослин.

Ключові слова: пшениця яра, азотобактер, глюкозамін, ризосфера.

O.V. Kyrychenko

Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv,
31/17, Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine,
tel. (044) 257-31-08; e-mail: leki07@mail.ru

BIOLOGICAL ACTIVITY OF RHIZOSPHERE SOIL SPRING WHEAT IN ASSOCIATION WITH BACTERIA *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* KZT79. MODIFIED N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE

Summary

Aim. The study of the biological activity of rhizosphere soil of the plants of spring wheat in association with bacteria *Azotobacter chroococcum* T79, modified N-acetyl-D-glucosamine. **Methods.** The biological activity of the rhizosphere soil such as the growth-activating ability (method of phytotest), number (by quantitative dilutions of the soil suspension, plating on selective medium growth Eshbi, and counting bacterial colonies) and nitrogenase activity (acetylene method) of nitrogen-fixing microorganisms in the functioning of the association of spring wheat with bacteria *Azotobacter chroococcum* T79 in combination with N-acetyl-D-glucosamine (0.1 M) in the greenhouse experiments were study. **Results.** It was shown the significant increase of the number (in 1.4–3.9 times) and nitrogenase activity (in 2.1–5.6 times) of nitrogen-fixing microorganisms during the vegetation of wheat plants as well as the growth-activating ability of the soil (in 1.2 times) in the early stage of formation phytobacteriology association. **Conclusion.** The treatment of wheat seeds by *Azotobacter chroococcum* T79, modified N-acetyl-D-glucosamine vs. *azotobacter* monoinoculant was promoted activation of the functioning of the bacterial nitrogenase (by 10–38 %) and increasing populations of nitrogen-fixing microorganisms (in 1.2–2.2 times) more than their ability to accumulate biologically active substances in the rhizosphere soil of plants.

Key words: spring wheat, *Azotobacter*, glucosamine, rhizosphere.



Список использованной литературы

1. Антипчук А.Ф., Піляшенко-Новохатний А.І., Євдокименко Т.М. Практикум з мікробіології. Навчальний посібник. – К.: Університет «Україна», 2011. – 156 с.
2. Антонюк Л.П. Регуляція метаболізму бактерії *Azospirillum brasilense* sp. 245: особливості азотного обміну і вплив лектина пшениці (аглютинина зародка пшениці): автореф. дис. ... докт. біол. наук: 03.00.04 – біохімія. – М., 2002. – 47 с.
3. Гродзинский А.М. Аллелопатия растений и почвоутомление: Избр. тр. – К: Наук. думка, 1991. – 432 с.
4. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. – К: Наук. думка, 1973. – 388 с.
5. Жеребор Т.А. Дія лектину картоплі на синтез мікроорганізмами фітогормонів // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – 2008. – 2, в. 3 (46). – С. 107–112.
6. Кириченко Е. Роль фитолектинов в регуляции функционирования симбиозов и ассоциаций. Биологическая активность лектинов бобовых и зерновых культур. – Saarbrücken, Deutschland: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 84 с.
7. Кириченко Е.В. Биотехнологии в растениеводстве. – Николаев: Илион, 2014. – 436 с.
8. Кириченко Е.В., Титова Л.В., Коць С.Я. Эффективность бактериализации семян пшеницы яровой новым штаммом *Azotobacter chroococcum* T79 // Stiinta Agricola. – 2010. – № 1. – С. 21–24.
9. Кириченко О.В. Зміна активності лектину пшениці та ступеню його взаємодії з різними компонентами при створенні композицій лектинової природи // Український біохімічний журнал. – 2006. – 78, № 6. – С. 105–112.
10. Косенко Л.В., Михалкив Л.М., Кругова Е.Д., Мандровская Н.М., Коць С.Я. Биологическая активность глюкана *Sinorhizobium meliloti* // Микробиология. – 2003. – 72, № 5. – С. 633–638.
11. Кругова О.Д. Интенсифікація симбіотичної азотфіксації за допомогою біологічно активних речовин синтетичного і природного походження // Фізіолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом. – К.: Логос, 2001. – С. 157–168.
12. Леонова Н.О. Фізіологічна активність *Bradyrhizobium japonicum* та ефективність соєво-ризобіального симбіозу за дії фіторегулювальних речовин: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.07 – мікробіологія. – К., 2006. – 23 с.
13. Маліченко С.М., Кругова О.Д., Старченков Ю.П. Нітрогеназа чистих культур *Rhizobium lupini* та дія на її активність метаболітів бульбочок бобових рослин // V Укр. біохім. з'їзд: тез доп. – К., 1987. – Ч. 1. – С. 102–103.
14. Патент України на винахід № 62820А С05F11/08, С12N1/20. Штам бактерій *Azotobacter chroococcum* T79 для одержання бактеріального добрива під сою // Коць С.Я., Титова Л.В., Кириченко О.В., Омельчук С.В., Жемойда А.В.: заявник та патентовласник Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. – опубл. 15.12.2003. – Бюл. № 12.
15. Подгорский В.С., Коваленко Э.А., Симоненко И.А. Лектины бактерий. – К.: Наукова думка, 1992. – 200 с.



16. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцев Т.А., Нетрусов А.И. Микроорганизмы – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 133–143.

17. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцев Т.А., Нетрусов А.И. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, № 3. – С. 261–268.

18. Barazani Oz, Friedman J. Effect of exogenously applied L-tryptophan on allelochemical activity of plant-growth-promoting rhizobacteria // J. Chem. Ecol. – 2000. – V. 26, N 2. – P. 343–349.

19. Barea J.M., Pozo M.J., Azcon R. Microbial cooperation in the rhizosphere // J. Exp. Bot. – 2005. – V. 56. – P. 1761–1778.

20. Brencic A., Winans S.C. Detection and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2005. – V. 69. – P. 155–194.

21. Burgmann H., Meier S., Bunge M. Effects of model root exudates on structure and activity of a soil diazotroph community // Environ. Microbiol. – 2005. – V. 7, N 11. – P. 1711–1724.

22. Fons F., Amellal N., Leyval C. Effects of gypsophila saponins on bacterial growth kinetics and on selection of subterranean clover rhizosphere bacteria // Can. J. Microbiol. – 2003. – V. 49, N 6. – P. 367–373.

23. Hardy R.W.F., Burns R.C., Holsten R.D. Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation // Soil. Biol. Biochem. – 1973. – V. 5, N 1. – P. 41–83.

References

1. Antypchuk AF, Pilyashenko-Novokhatniy AI, Evdokimenko TM Practicum on Microbiology. Manual. University “Ukraine”, Kyiv, 2011. 156 p. (In Ukr.).

2. Antonyuk LP Regulation of *Azospirillum brasilense* sp. 245 bacterium metabolism: characteristics of nitrogen metabolism and the effect of wheat lectin (wheat germ agglutinin). The dissertation for doctor sciences degree in biology, thesis, Institute of Biochemistry of RNS of Moscow, 2002:47. (In Russ.).

3. Grodzinskiy AM Allelopathy of plants and soil exhaustion: Izbr. Tr. Naukova dumka, Kiev, 1991. 432 p. (In Russ.).

4. Grodzinskiy AM, Grodzinskiy DM A short handbook to plant physiology. Naukova dumka, Kiev, 1973. 388 p. (In Russ.).

5. Zherebor TA The effect of potatoes lectin on the microorganismes phytohormones synthesis. Visnyk agrarnoyi nauky Prychornomor'ya. 2008;2(3/46):107–112.

6. Kirichenko E The role of lectins in the regulation of the formation and functioning of phytobacterial symbiosis and association. Biological activity of the legumes and cereals lectins. Palmarium Academic Publishing, Saarbrucken, Deutschland, 2012:84 p. (In Russ.).

7. Kyrychenko O Crop biotechnology. Piion, Nikolaev, 2014:436 p. (In Russ.).

8. Kirichenko EV, Titova LV, Kots SYa Efficiency of the spring wheat seed bacterization of the new strain of *Azotobacter chroococcum* T79. Stiinta Agricola. 2010;(1):21–24. (In Russ.).



9. Kyrychenko OV Change of the wheat lectin activity and degree of its interaction with different components of compositions of lectin nature. Ukr. Biochem. J. 2006;78(6):105–112. (In Ukr.).
10. Kosenko LV, Mykhalkiv LM, Krugova ED, Mandrovskaya NM, Kots SYa Biological activity of *Sinorhizobium meliloti* glucan. Russ. J. Microbiol. 2003;72(5):633–638.
11. Krugova OD Intensification of nitrogen fixin by synthetic and natural biological activity substances. In: *Phyziologo-biokhimichni osoblyvosti zhyvlennya roslyn biologichnym azotom*. Logos, Kyiv, 2001:157–168. (in Ukr.).
12. Leonova NO Physiological activity of *Bradyrhizobium japonicum* and soybean-rhizobium symbioses efficiency by effect of phyto-regulation substances: PhD thesis, Institute of Microbiology and Virology of NASU of Kyiv, 2006:23. (In Russ.).
13. Malichenko SM, Krugova OD, Starchenkov YuP Nitrogenase of the pure culture *Rhizobium lupine* and her effect on the metabolites of the legume plants nodules In: Abstracts of V Ukr. Biochem. Cong. Kyiv, 1987;1:102-103. (in Ukr.).
14. Pat. Ukr. № 62820A, C05F11/08, C12N1/20. Strain of bacteria *Azotobacter chroococcum* T79 for bacterial fertilizer to soybeans / SYa Kots, LV Tytova, OV Kyrychenko, SV Omelchuk, AV Zhemoyda; zayavnyk ta patentovlasnyk Instytut fiziologii roslyn i genetyky NAN Ukrainy. – № 2003065695; zayavl. 19.06.2003; opubl. 15.12.2003., byul. № 12, 6 p. (in Ukr.).
15. Podgorskiy VS, Kovalenko EA, Simonenko IA Lectins of bacteria. Naukova dumka, Kiev, 1992. 200 p. (In Russ.).
16. Tsavkelova EA, Klimova SYu, Cherdyntseva TA, Netrusov AI Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. Rus. J. Appl. Biochem. Microbiol. 2006;42(2):117–126.
17. Tsavkelova EA, Klimova SYu, Cherdyntseva TA, Netrusov AI Hormones and hormone-like substances of microorganisms: A review. Ibid. 2006;42(3):229–235
18. Barazani Oz, Friedman J Effect of exogenously applied L-tryptophan on allelochemical activity of plant-growth-promoting rhizobacteria. J. Chem. Ecol. 2000;26(2):343–349.
19. Barea JM, Pozo MJ, Azcon R Microbial cooperation in the rhizosphere. J. Exp. Bot. 2005;56:1761–1778.
20. Brencic A, Winans SC Detection and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2005;69:155–194.
21. Burgmann H, Meier S, Bunge M Effects of model root exudates on structure and activity of a soil diazotroph community. Environ. Microbiol. 2005;7(11):1711–1724.
22. Fons F, Amellal N, Leyval C Effects of gypsophila saponins on bacterial growth kinetics and on selection of subterranean clover rhizosphere bacteria. Can. J. Microbiol. 2003;49(6):367–373.
23. Hardy RWF, Burns RC, Holsten RD Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. Soil. Biol. Biochem. 1973;5(1):41–83.

Стаття надійшла до редакції 04.07.2016 р.

