

УДК 631.451.5:551.577.38:641.536.63

ВЛИЯНИЕ ЗАСУХИ И НИЗКИХ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУР НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ С РАСТЕНИЯМИ ОГУРЦА

О.В. СЕЛИЦКАЯ, Л.В. САМОХИН, Е.А. БЛИНКОВ

(Кафедра микробиологии)

Исследовали ассоциативное взаимодействие в условиях фитотрона между бактериями и растениями в неблагоприятных условиях температурного и водного режимов. Показана способность бактерии *Klebsiella planticola* проникать в корни *Cucumis sativus* L. и увеличивать численность diaзотрофов на корнях *Cucumis sativus* L. на фоне низкой температуры при разных режимах увлажнения.

Ключевые слова: огурец, diaзотрофы, инокуляция, инвазивность, ассоциативное взаимодействие.

Переориентация современного сельского хозяйства на разработку и освоение экологически безопасных, а также энергосберегающих методов увеличения продуктивности небольших культур приводит к необходимости частично замещать традиционные минеральные удобрения (в первую очередь азотные) на «микробные». Эти удобрения состоят из культур микроорганизмов, способных улучшить питание растений, стимулировать их развитие и оказывать фитосанитарный эффект. Особенно актуально это в овощеводстве защищённого грунта.

Изучение микробного населения корневой системы овощных культур показало, что азотфиксация в ризоплане этих растений осуществляется главным образом факультативно анаэробными бактериями, среди которых доминируют энтеробактерии, главным образом представители рода *Klebsiella*.

В то же время широкое применение микробных земледобрильных препаратов в практике сельского хозяйства сдерживается нестабильностью положительного эффекта во времени.

Одной из причин данного явления может быть гибель интродуцированной популяции микроорганизмов после попадания в почву, что может быть вызвано разными причинами. В этом плане ассоциативные бактерии, способные быстро колонизировать ризоплану растений и находящие на корнях определённую экологическую нишу, менее подвержены воздействию неблагоприятных условий окружающей среды и представляют наибольший интерес для разработки новых биопрепаратов.

Цель работы заключалась в исследовании некоторых особенностей ассоциативного взаимодействия между микроорганизмами и растениями в неблагоприятных условиях температурного и водного режима. В задачи исследования входило: 1) изучение динамики численности diaзотрофов *Klebsiella planticola* (штамм ТСХА-91) в ризоплане и филлосфере *Cucumis sativus* L. в стрессовых условиях (дефицит влаги и низкие положительные температуры); 2) изучение инвазии *Klebsiella planticola* во внутренние органы растений.

Методика

Объектами исследования были: *Klebsiella planticola* штамм ТСХА-91 AmpR (препарат биоплант-К) и растения *Cucumis sativus* L. (скороспелый пчелоопыляемый сорт Конкурент, устойчивый к мучнистой росе).

Исследования проводили в модельном опыте. Семена огурца замачивали в чашках Петри и оставляли открытыми двое суток при температуре 25°C. Проросшие семена высевали в пластиковые перфорированные стаканчики объемом 500 мл, наполненные низинным торфом. Стаканчики помещали в климатермосветокамеру, где растениям огурца наряду с оптимальными условиями выращивания (23°C днем, 17°C ночью, влажность субстрата около 80% ПВ) имитировали стрессовые условия в виде недостатка влаги (около 60% ПВ) и низких положительных температур (16°C днем, 12°C ночью). После появления первого настоящего листа растения инокулировали суточной культурой препарата биоплант-К (титр культуры составлял порядка 10⁷ КОЕ/мл), аккуратно (без разбрызгивания) выливали под каждое 50 мл суспензии. Контроль

не инокулировали. Учёт численности *Klebsiella planticola* в ризоплане и филлосфере огурца проводили через 1, 2 и 4 нед методом посева на среду LB [2] с добавлением 200 мкг/мл ампициллина. Для подсчёта общего числа азотфиксаторов суспензию корней с разведений высевали в пенициллиновые флаконы в количестве 1 мл с добавлением 4 мл полужидкой безазотной среды с сахарозой и витаминами [1]. Инкубацию проводили в термостате при 28°C в течение 7 сут. Обработку результатов проводили по таблице Мак-Креди.

Для оценки инвазивности *Klebsiella planticola* штамм ТСХА-91 использовали трансмиссионную электронную микроскопию.

Нитрогеназную активность оценивали газохроматографически ацетиловым методом. Навеску корней массой 1 г помещали в пенициллиновые флаконы и вводили 1 мл ацетилен, предварительно откачав оттуда 1 мл воздушной смеси, после чего инкубировали флаконы 1 ч при 28°C.

Результаты

По результатам опыта (таблица) установлено, что инокуляция расте-

Влияние стрессовых условий на динамику численности diaзотрофов на корнях *Cucumis sativus* L.

Температурный режим	Режим увлажнения	Вариант	Численность diaзотрофов (КОЕ/г сухого вещества) в ризоплане и эндосфере корней <i>Cucumis sativus</i> L. в зависимости от времени после инокуляции		
			1 нед	2 нед	4 нед
Оптимальный	Нормальный	Контроль	5,0×10 ⁵	5,0×10 ⁶	<10 ⁵
		Инокуляция <i>K. planticola</i>	<10 ⁶	1,3×10 ⁷	<10 ⁵
Неблагоприятный	Дефицит	Контроль	5,0×10 ⁸	<10 ²	<10 ⁵
		Инокуляция <i>K. planticola</i>	6,0×10 ⁶	2,5×10 ⁷	<10 ⁵
	Нормальный	Контроль	9,0×10 ⁵	1,7×10 ⁶	5,0×10 ⁶
		Инокуляция <i>K. planticola</i>	2,5×10 ⁸	1,2×10 ⁸	2,5×10 ⁹
		Контроль	8,0×10 ⁵	4,2×10 ⁵	5,0×10 ⁶
		Инокуляция <i>K. planticola</i>	4,5×10 ⁷	3,0×10 ⁶	1,3×10 ⁸

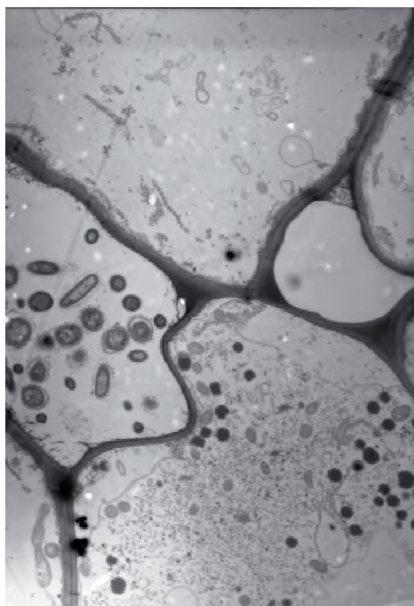


Рис. 1. Клетки бактерий в тканях
корня огурца (данные трансмиссион-
ной электронной микроскопии).
Увеличение $\times 8000$



Рис. 2. Клетки бактерий в тканях
корня огурца (данные трансмиссион-
ной электронной микроскопии).
Увеличение $\times 12000$

ний огурца штаммом *Klebsiella planticola* ТСХА-91 как в оптимальных, так и в стрессовых условиях способствует увеличению численности diazotрофов на корнях *Cucumis sativus* L. в 10-1000 раз. В условиях дефицита влаги численность diazотрофов уменьшается, однако инокуляция бактериями *Klebsiella planticola* позволяет сохранить их численность в ризоплане на уровне, характерном для оптимальных условий. На фоне низких положительных температур инокуляция *Klebsiella planticola* повышает численность diazотрофов в ризоплане во все сроки наблюдения как при оптимальном, так и при недостаточном увлажнении почвы.

В филлосфере *Cucumis sativus* L. численность diazотрофов при внесении штамма *Klebsiella planticola* ТСХА-91 в целом не отличалась от контроля.

Существенных различий в уровне нитрогеназной активности между вариантами опыта выявлено не было.

Методом электронной микроскопии была показана способность *Klebsiella planticola* к инвазии в корни *Cucumis sativus* L. (рис. 1, 2). В тканях корней огурца (4 нед после инокуляции) были обнаружены клетки бактерий *Klebsiella planticola*.

Выводы

1. Инокуляция растений огурца штаммом *Klebsiella planticola* ТСХА-91 (препарат биоплант-К) в целом способствовала увеличению численности diazотрофов на корнях *Cucumis sativus* L. Наибольшее увеличение их численности (в 10-1000 раз) отмечено при низкой температуре как при нормальном, так и при дефицитном режиме увлажнения.

2. Показана способность *Klebsiella planticola* к инвазии в корни *Cucumis sativus* L.

Библиографический список

1. Емцев В.Т., Селицкая О.В., Кубарева О.Г., Петров-Спиридонов А.А., Брук М.Х., Захарова С.Н. Ассоциативный симбиоз и его роль в продуктивности сельскохозяйственных растений. Тимирязев и биологическая наука: Сб. науч. тр. (к 150-летию со дня рождения К.А. Тимирязева). М.: Изд-во МСХА, 1994. С. 106-119.

2. МиллерДж. Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир, 1976.

Рецензент — д. б. н. В.Т. Емцев

SUMMARY

Association interreaction between bacteria and plants under unfavourable temperature and water conditions in the phytotron has been researched. The ability of *Klebsiella planticola* bacterium to both penetrate into *Cucumis sativus* L. roots and to increase the number of diazotrophes on *Cucumis sativus* L. roots at low temperature under different watering conditions is shown.

Key words: cucumber, diazotrophes, inoculation, invasiveness, association inter-reaction.

Селицкая Ольга Валентиновна — к. б. н., РГАУ - МСХА имени К. А. Тимирязева. Эл. почта: www.m.biol.timacad.ru:

Самохин Леонид Викторович — асп. кафедры микробиологии РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева. Эл. почта: www.m.biol.timacad.ru:

Блинков Евгений Александрович — РГАУ - МСХА имени К. А. Тимирязева.