

УДК 631.461.5:633.18

### АЗОТФИКСИРУЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ЗАТОПЛЯЕМЫХ ПОЧВ ПОД РИСОМ

О.Д. СИДОРЕНКО

(Кафедра микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени КА. Тимирязева)

**В условиях избыточного увлажнения и затопления проводили отбор образцов почвы, учитывали наличие несимбиотических азотфиксирующих бактерий и определяли активность азотфиксации выделенных штаммов. Характеристика диазотрофов представлена для оценки возможного использования их при разработке бактериальных препаратов.**

**Ключевые слова:** диазотрофы, фиксация молекулярного азота, симбиотическая азотфиксация, факультативные анаэробы.

Известно, что при возделывании риса в почве создаются своеобразные окислительно—восстановительные условия для развития разнообразных групп азотфиксаторов как аэробных, так и анаэробных. Наличие анаэробноза находит отражение в развитии почвенной микрофлоры в целом и азотфиксирующих микроорганизмов в частности [4,5]. Резко возрастает численность анаэробных и факультативно-анаэробных фиксаторов азота, таких как *Clostridium pasteurianum*, *Paenibacillus polytuxa* и др. Жизнедеятельность аэробных азотфиксаторов подавляется частично или полностью. К активным азотфиксаторам затопляемых почв рисовников относятся так называемые факультативно—симбиотрофные микроорганизмы. Характерной особенностью их является то, что их азотфиксирующая способность лучше всего проявляется в симбиотических ассоциациях с другими микроорганизмами [2].

Своеобразие биохимических условий почв избыточного увлажнения позволяет предположить участие не изученных ранее групп азотфиксаторов в процессе несимбиотической фиксации азота, особенно в условиях тропического земледелия. Высокий температурный режим в сочетании с затоплением рисовых чеков и активной фотосинтетической продуктивностью растений в значительной степени способствует развитию разнообразных диазотрофов.

Средний уровень несимбиотической азотфиксации в тропиках намного превышает этот показатель в зоне умеренного климата. Пополнение почвы азотом может осуществляться за счет использования наиболее активных штаммов азотфиксирующих бактерий в виде бактериальных препаратов или бактериальных удобрений.

В связи с этим ведется поиск суперактивных штаммов азотфиксаторов в почве и ризосфере тропических растений с целью создания эффективных биологических

препаратов. Среди бактерий, способных активно фиксировать молекулярный азот атмосферы в условиях тропиков, широко распространены роды *Klebsiella*, *Azospirillum*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *P. polymyxa*. Они обладают высокой нитрогеназной активностью и способностью формировать тесные ассоциативные связи с корневой системой многих бобовых и небобовых растений; участвуют в сопряженном и взаимообусловленном процессах азотфиксации и фотосинтеза. Поэтому необходимо изучение активности процесса несимбиотической азотфиксации, путей инокуляции растений чистыми культурами или консорциумом перспективных штаммов ризосферных бактерии, а также поиском новых таксонов, не изученных ранее, ассоциативных азотфиксаторов, способных стабилизировать азотный баланс почвы под рисом и повысить продуктивность растений.

Для активизации ассоциативной азотфиксации важен отбор видов и сортов растений с повышенной способностью принимать или адгезировать диазотрофы и формировать эффективные бактериальные сообщества не только при жизни растения, но и после его отмирания, и изменением приемов функционирования автономной системы «почва — диазотрофы — растение» можно регулировать суточную и сезонную динамику азотфиксации, локализацию микроочагов в местах наиболее интенсивного выделения экссудатов и в целом управлять эффектом бактеризации с.-х. растений.

Цель нашей работы — изучение свободноживущих азотфиксаторов, выделенных из тропических почв Вьетнама, и ассоциативного комплекса диазотрофов из ризосферы дикого бобового растения сесбания в разные фазы фегетации.

### Материалы и методы

Образцы почвы рисовников (наносные почвы речных долин, тяжелые суглинки) и ризосферы растений сесбании отбирали по методам, принятым в почвенной микробиологии [3]. Учет и выделение чистых культур свободноживущих и ассоциативных диазотрофов проводили высевом на жидкие и твердые питательные среды [2]. Способность выделенных штаммов к азотфиксации устанавливали ацетиленовым методом на безазотистой глюкозной среде с манатом натрия [1]. При использовании ацетиленового метода азотфиксирующую активность определяли по восстановлению ацетилена в этилен методом газовой хроматографии на хроматографе системы «Хром-3» на колонке с силикагелем АСК при температуре 50°C. Газ-носитель — азот при постоянном потоке 60-70 мл/мин.

### Результаты исследований

Амплитуда численности аэробных диазотрофов в тропических почвах составляет от 125 тыс. до 1,06 млн, а анаэробных — от 3,1-162,5 тыс. до 87,5-7500 тыс. КОЕ/г абсолютно сухой почвы соответственно. При измерении нитрогеназной активности (НА) выделенных штаммов (всего в коллекции свыше 60 штаммов) не выявлено достаточно высокого уровня фиксации азота — от 3 до 7,5 н.моль  $C_2H_4$ /мл среды в сутки. Приведенные данные отражают нитрогеназную активность штаммов бактерий, использующих в качестве энергетического материала малат натрия.

Наибольший интерес представляет азотфиксирующая активность чистых культур, выделенных из прикорневой зоны сесбании (таблица). Высокую нитрогеназную активность показали 8 аэробных и 11 анаэробных штаммов — в пределах 11,22-71,06 н.молей  $C_2H_4$ /мл среды в сутки. Причем все активные штаммы были выделены в период цветения или плодоношения сесбании. Низкая НА была отмечена

у штаммов, выделенных из ризосферы растения в фазе проростков. Это, по-видимому, может быть объяснено сопряженностью и взаимообусловленностью процессов азотфиксации, низкой экссудативной активностью и фотосинтезом в этот период.

Высокий уровень азотфиксирующей активности отмечался у штаммов, выделенных в фазе цветения и плодоношения, что, безусловно, определяется высокой фотосинтетической активностью и, следовательно, повышенным оттоком и концентрацией углеродсодержащих соединений в прикорневой зоне. В данном случае растение сесбании, как мощный экологический фактор, селекционирует определенный биоценоз, а их видовой состав формирует взаимоотношения в системе почва — микроорганизмы — растение. Важную роль при этом играют внеклеточные регуляторные метаболиты растений, которые способны контролировать развитие адаптивных реакций бактерий. Эффективность адаптации последних сопровождается активностью их роста, сохранением жизнеспособности и интенсивностью взаимодействий с растительным партнером.

В дальнейшем, по мере развития растения, фотосинтез сесбании нарастает настолько, что снабжает продуктами экзосмоса не только бактерии ризопланы, но и ризосферы. Наиболее активными оказались аэробные diaзотрофы ризосферы. Анаэробные азотфиксирующие бактерии с высокой НА чаще присутствовали в почве, свободной от корней.

Известно, что азот, фиксированный почвенными бактериями, является важной статьей азотного питания растений. Физиология растений риса такова, что до 50% их потребности в азоте покрывается за счет почвы. Отсюда понятна особая значимость для почв под рисом связанного почвенными бактериями азота, который включается в состав органического вещества наносных почв речных долин.

### Выводы

1. Полученные эффективные штаммы ассоциативных diaзотрофов открывают перспективу управления активностью ризоценозов растений риса.
2. Использование потенциальных возможностей симбиотической и ассоциативной систем тропических бобовых растений, а также генетически улучшенных штаммов diaзотрофов может привести к значительному повышению продуктивности с.-х. растений.
3. Препараты на основе diaзотрофов и фосфатминерализующих микроорганизмов способны частично компенсировать недостаток минеральных удобрений, повысить урожай и качество растениеводческой продукции.

### Библиографический список

1. *Баландро Ж.П., Доммерг И.Р., Умаров М.М.* Определение несимбиотической азотфиксации в ризосфере риса ацетиленовым методом: Сб. статей. Повышение плодородия почв рисовых полей. М.: Наука, 1977. С. 107-116.

**Нитрогеназная активность штаммов diaзотрофов, выделенных из прикорневой зоны сесбании в фазу плодоношения**  
(н.моль-С<sub>2</sub>H<sub>4</sub>/мл среды в сут.)

№ штамма	Анаэробы	Аэробы
	почва (вне корней)	ризосфера
4	63,58	—
7	11,22	—
9	44,80	—
11	71,06	—
16	22,44	—
15	18,70	—
5	—	22,40
5	—	29,92
6	—	44,88
6	—	52,36
25	—	67,32

2. Калининская Т.А., Чистякова И.К Несимбиотическая азотфиксация под рисом в засоленных почвах Казахской ССР: Сб. статей Повышение продуктивности почв рисовых полей. М.: Наука, 1985. С. 92-101.

3. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. М.: МГУ, 1976. 306 с.

4. Сидоренко О.Д. Основы регулирования почвенного плодородия при возделывании риса: Автореф. докт. дисс. Минск, 1992. 28 с.

5. Tikhonovich I.A., Iugtenberg B.I., Provorov N.A. Molecular plant-microbe interactions: new bridges between past and future (editorial remarks) // Biology of plant-microbe interactions. St.-Peterburg. Russia, July, 2003. V 4. P. 17-19.

*Рецензент* — д. б. н. В.Т. Емцев

#### SUMMARY

Soil samples selection has been screened under conditions of both humid zone and inundation, taking into account the presence of non-symbiotic, nitrogen-fixing bacteria. Nitrogen fixation activity in isolated strains is determined. Diazotrophs characteristics are provided in order to estimate their further use in developing bacterial preparations.

**Key words:** diazotrophs, fixation of molecular nitrogen, symbiotic nitrogen-fixing, optional anaerobes.

Сидоренко Олег Дмитриевич — профессор кафедры микробиологии и иммунологии РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел. (499) 976-09-66; e-mail: tppj f/ timacad.ru).