

ФІТОГОРМОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ШТАМІВ *RHIZOBIUM RADIOBACTER*

Трепач А.О., Токмакова Л.М., Близнюк Н.М.

Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН,
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна
E-mail: fosfor@ok.net.ua

*За використання методів біотестування встановлено здатність штамів *Rhizobium radiobacter*, ізольованих з ризосфери пшениці озимої, продукувати фітогормони стимулювальної дії. Виявлено, що культуральна рідина бактерій проявляє найвищу ауксинову, гіберелінову та цитокінінову активність при розбавленні у співвідношеннях 1:10 та 1:100.*

Ключові слова: *Rhizobium radiobacter*, фітогормони, ауксини, гібереліни, цитокініни.

Одним з важливих прийомів підвищення продуктивності сільськогосподарських культур є застосування у технологіях їх вирощування біологічно-активних речовин – фітогормонів стимулювальної дії та їх синтетичних аналогів. Стимулятори росту і розвитку рослин регулюють проходження окремих етапів онтогенезу, перебіг важливих фізіологічних процесів рослинного організму, а також захищають його від стресових чинників [1, 2]. Результати численних досліджень свідчать, що підвищення врожайності сільськогосподарських культур під впливом регуляторів росту супроводжується покращанням показників окремих елементів їх продуктивності, наприклад, для зернових – це кількість продуктивних стебел на рослину, довжина колоса, кількість і маса зерен у ньому тощо [3-5].

Оскільки синтетичні препарати за певних умов можуть бути шкідливими для доквілля, людини і тварин [6], наукові пошуки все частіше спрямовуються на створення препаратів-регуляторів росту на основі речовин природного походження – не менш ефективних, але екологічно безпечніших. Фітогормони здатні синтезувати не лише рослини, але й представники різних груп ґрунтових мікроорганізмів [7-9]. Серед них важливе місце займають *Rhizobium radiobacter*, які, крім того, мають фосфатмобілізувальні та азотфіксувальні властивості [10-12].

У зв'язку з цим, метою нашої роботи було визначити здатність нових штамів бактерій *Rhizobium radiobacter* продукувати фітогормони.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були штами бактерій *Rhizobium radiobacter* 599, *Rh. radiobacter* 1333, *Rh. radiobacter* 2142, *Rh. radiobacter* 5005, *Rh. radiobacter* 5006, *Rh. radiobacter* 5718, ізольовані з кореневої зони рослин пшениці озимої як активні фосфатмобілізатори. Бактерії вирощували на рідкому поживному середовищі Муромцева на коливалках протягом 3-х діб.

Дослідження рістстимулювальної дії культуральної рідини, розведеної стерильною водою у певних співвідношеннях, проводили за допомогою специфічних біотестів [13-15].

Насіння пшениці та кукурудзи пророщували у кюветах на вологому фільтрувальному папері у термостаті без доступу світла за температури 28 °С протягом 3-х діб, насіння огірків – за аналогічних умов протягом 5-ти діб. Відрізки колеоптилів пшениці і кукурудзи та сім'ядольні листки огірків поміщали в чашки Петрі у відповідні розчини і витримували у термостаті протягом доби за температури 28 °С, після чого проводили вимірювання довжини колеоптилів та маси сім'ядольних листків.

Ауксинову активність перевіряли на відрізках колеоптилів озимої пшениці сорту Київська з початковою довжиною 5 мм. Як контрольні використовували колеоптилі, оброблені водою та розчином індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК) з концентрацією 0,001 мкг/мл.

Тест-культурою на гібереліни слугувала кукурудза сорту Рання золота. У дослідженнях використовували відрізки колеоптилів довжиною 15 мм. Контролями слугували колеоптилі, оброблені водою і розчинами гіберелової кислоти в концентраціях 0,01 мкг/мл, 0,1 мкг/мл, 1 мкг/мл, 10 мкг/мл.

При вивченні цитокінінової активності бактерій використовували ізольовані сім'ядольні листки проростків огірків сорту Фенікс, які зважували до і після замочування у культуральній рідині. Для порівняння використовували сім'ядольні листки, оброблені водою та розчинами 6-бензиламінопурину з концентрацією 0,01 мкг/мл, 0,1 мкг/мл, 1 мкг/мл, 10 мкг/мл.

Результати та їх обговорення. У результаті проведених досліджень з визначення ауксинової активності з'ясовано,

що нерозбавлена культуральна рідина *Rh. radiobacter* 5006 та *Rh. radiobacter* 5718 пригнічує ріст відрізків колеоптилів, що може пояснюватися дією високих концентрацій ауксиноподібних речовин, присутніх у ній. Це підтверджується тим, що розбавлення культуральної рідини бактерій у 10 і навіть 100 разів зумовлює інтенсифікацію росту відрізків колеоптилів (табл.). Так, при розбавленні 1:10 приріст довжини колеоптилів пшениці становив від 16,9 % (внаслідок дії *Rh. radiobacter* 599 або *Rh. radiobacter* 1333) до 56,3 % (*Rh. radiobacter* 5718) до контролю. Однак найбільше ауксинова активність проявлялася при розбавленні культуральної рідини бактерій у 100 разів. За цих умов ріст відрізків колеоптилів пшениці, витриманих у досліджуваних розчинах, був інтенсивнішим на 28,2-49,3 % порівняно з контрольним варіантом. При подальшому розбавленні спостерігали зниження ауксинової активності культуральної рідини бактерій всіх досліджуваних штамів, хоча за розведення 1:1000 ще спостерігали приріст довжини колеоптилів на 14,1 % (*Rh. radiobacter* 599) на 29,6 % (*Rh. radiobacter* 1333 і *Rh. radiobacter* 5006) до контролю.

Отже, ізольовані штами *Rh. radiobacter* є активними продуцентами речовин ауксинової природи. Серед досліджуваних штамів найбільш активні за цим показником *Rh. radiobacter* 599, *Rh. radiobacter* 1333, *Rh. radiobacter* 5005, *Rh. radiobacter* 5006, оскільки рістстимулювальна дія культуральної рідини цих бактерій найсильніше проявляється у розбавленні 1:100. Для штамів *Rh. radiobacter* 2142 та *Rh. radiobacter* 5718 найефективнішою за дією на колеоптилі пшениці виявилася концентрація культуральної рідини 1:10, що свідчить про нижчу активність синтезу ІОК та інших ауксинів порівняно з рештою досліджуваних штамів бактерій.

Отримані результати досліджень з визначення гіберелінової активності свідчать, що при застосуванні нерозбавленої культуральної рідини бактерій приріст довжини колеоптилів кукурудзи сягає 22,2 % (*Rh. radiobacter* 5006). Подібний результат отримано при рості колеоптилів у стандартному розчині гіберелінової кислоти з концентрацією 1 мкг/мл – 22,7 % до контролю. Гіберелінова активність культуральної рідини зберігалася і при розведенні у 10 та 100 разів і становила від 0,5 % (*Rh. radiobacter* 5718) до 16,9 % (*Rh. radiobacter* 5006) та від 3,4 % (*Rh. radiobacter* 5005 і *Rh. radiobacter* 5718) до 16,9 % (*Rh. radiobacter* 5006) до контролю, відповідно.

Таблиця. Фітогормональна активність штаміів *Rh. radiobacter*

Штами бактерій	Розбавлення	Ауксини		Гібереліни		Цитокініни				
		довжина колеоптилів, мм	приріст до контролю %	довжина колеоптилів, мм	приріст до контролю мм	приріст до контролю %	приріст до контролю г			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Контроль – вода		7,1	–	–	20,7	–	–	0,22	–	–
Контроль – фітогормони	10,0 мкг/мл	–	–	–	20,8	0,1	0,5	0,35	0,13	59,09
	1,0 мкг/мл	–	–	–	25,4	4,7	22,7	0,38	0,16	72,73
	0,1 мкг/мл	–	–	–	23,0	2,3	11,1	0,40	0,18	81,82
	0,01 мкг/мл	–	–	–	21,6	0,9	4,3	0,34	0,12	54,55
	0,001 мкг/мл	8,5	1,4	19,7	–	–	–	–	–	–
<i>Rhizobium radiobacter</i> 599	нерозбавлена культуральна рідина	7,2	0,1	1,4	17,2	–3,5	–16,9	0,28	0,06	27,27
	1:10	8,3	1,2	16,9	21,8	1,1	5,3	0,29	0,07	31,82
	1:100	9,2	2,1	29,6	23,0	2,3	11,1	0,30	0,08	36,36
	1:1000	8,1	1,0	14,1	21,0	0,3	1,4	0,25	0,03	13,64
<i>Rhizobium radiobacter</i> 1333	нерозбавлена культуральна рідина	8,3	1,2	16,9	22,4	1,7	8,2	0,29	0,07	31,82
	1:10	8,3	1,2	16,9	23,8	3,1	15,0	0,30	0,08	36,36
	1:100	9,5	2,4	33,8	23,8	3,1	15,0	0,30	0,08	36,36
	1:1000	9,2	2,1	29,6	22,2	1,5	7,2	0,22	0,00	0,00

Отже, *Rh. radiobacter* 599, *Rh. radiobacter* 1333 та *Rh. radiobacter* 5718 проявляють найбільший рістстимулювальний вплив на колеоптилі кукурудзи при концентрації культуральної рідини 1:100, тоді як у *Rh. radiobacter* 2142, *Rh. radiobacter* 5005 та *Rh. radiobacter* 5006 найефективнішою була нерозбавлена культуральна рідина. Особливо слід відмітити *Rh. radiobacter* 5006, оскільки культуральна рідина бактерій цього штаму, порівняно з рештою, проявляє найвищу гіберелінову активність як у нерозбавленому вигляді, так і в розведеннях.

Як встановлено у результаті досліджень, речовини групи цитокінінів у значних кількостях продукують бактерії усіх досліджуваних штамів, на що вказують високі прирости маси сім'ядольних листків проростків огірків. Так, нерозбавлена культуральна рідина зумовлює збільшення інтенсивності росту сім'ядольних листків проростків від 27,27 % (*Rh. radiobacter* 599) до 59,09 % (*Rh. radiobacter* 5005) до контролю. Варто звернути увагу, що аналогічну стимуляцію росту сім'ядольних листків огірків викликав розчин 6-бензиламінопурину у концентрації 10 мкг/мл (приріст маси також складав 59,09 %). Окрім штамів *Rh. radiobacter* 599 і *Rh. radiobacter* 1333, максимальну цитокінінову активність спостерігали при розбавленні культуральної рідини *Rh. radiobacter* 5005 у 10 разів, причому приріст маси сім'ядольних листків огірків сягав 50,00 % відносно контрольного варіанту. Подальше розбавлення культуральної рідини бактерій у 100 разів мало дещо меншу активність – від 31,82 % (*Rh. radiobacter* 2142, *Rh. radiobacter* 5006, *Rh. radiobacter* 5718) до 45,45 % (*Rh. radiobacter* 5005) приросту до контролю значень показників.

Таким чином, результати біотестування вказують на здатність штамів *Rh. radiobacter*, ізольованих з кореневої зони пшениці, продукувати фітогормони-стимулятори – ауксини, гібереліни, цитокініни у значних кількостях. Одержані результати можуть бути використані в подальших дослідженнях механізму позитивної дії зазначених бактерій на ріст і розвиток рослин.

1. Основы химической регуляции роста и продуктивности растений / [Г.С. Муромцев, Д.И. Чкаников, О.Н. Кулаева та ін.]. – М.: Агропромиздат, 1987. – 383 с.

2. Кефели В.И. Проблемы регуляторов роста и перспективы / В.И. Кефели // Регуляторы роста и развития растений. – К.: Наукова думка,

1989. – С. 24-39.

3. Никелл Л.Дж. Регуляторы роста растений. Применение в сельском хозяйстве /под ред. В.И. Кефели; пер. с англ. В.Г. Кончакова. – М.: Колос, 1984. – 192 с.

4. Лисицкая Т.Б. Влияние фосфатмобилизирующих бактерий на рост растений /Т.Б. Лисицкая //Биотехнологии в ФЦП “Интеграция”: заочн. научн. практ. конф. (Санкт-Петербург, октябрь 1999 г.): тез. докл. – СПб, 1999. – С. 123-124.

5. Драговоз І.В. Технологія виготовлення комплексного регулятора росту зернових культур “Біовітрекс” /І.В. Драговоз, В.П. Антонюк., М.В. Волкогон., В.К. Яворська //Наука та інновації. – 2008. – № 3. – С. 32-42.

6. Шевелуха В.С. Новый этап в развитии теории и практики фитогормональной регуляции растений /В.С. Шевелуха //Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях: материалы шестой международной конференции (Москва, 26-28 июня 2001 г.). – М.: МСХА, 2001. – С. 3-6.

7. Costacurta A., Vanderleyden J. Synthesis of phytohormones by plant associated bacteria /A. Costacurta, J. Vanderleyden //Crit. Rev. Microbiol. – 1995. – V. 21(1). – P. 1-18.

8. Гормональний комплекс рослин і грибів /[К.М. Ситник, Л.І. Мусатенко, В.А. Васюк та ін.]. – К.: Академперіодика, 2003. – 186 с.

9. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика /[В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська та ін.]. – К.: Аграрна наука, 2006. – 312 с.

10. Чумаков М.И. Новый ассоциативный диазотроф *Agrobacterium radiobacter* из гистосферы пшеницы /М.И. Чумаков, В.В. Горбань, Л.Е. Ковлер и др. // Микробиология. – 1992. – Т. 61, Вып. 1. – С. 92-102.

11. Муронец Е.М. Синтез индолилуксусной кислоты сапрофитной ассоциативной бактерией *Agrobacterium radiobacter* /Е.М. Муронец, Н.В. Белавина, Т.Н. Митронова, С.В. Каменева //Микробиология. – 1997. – Т. 66, Вып. 4. – С. 506-513.

12. Токмакова Л.М. Новый штам *Agrobacterium radiobacter* для виробництва агробактерину /Л.М. Токмакова, В.І. Канивець, Н.М. Близнюк //ІІІ(Х) з’їзд Товариства мікробіологів України (Одеса, 15-17 вересня, 2004) : тез. доп. – Одеса, 2004. – С. 311.

13. Бойчук О.Б. Застосування тесту коротких відрізків пшеничних колеоптилів для визначення ауксинів /О.Б. Бойчук, Л.М. Зайцева //Український бот. журн. – 1977. – Т. XXXIV, № 6. – С. 632-636.

14. Власов В.П. Комплексный метод определения природных регуляторов роста. Первичный анализ незрелых семян кукурузы на активность свободных ауксинов, гиббереллинов и цитокининов с помощью биотестов /В.П. Власов, В.В. Мазин, Р.Х. Турецкая и др. //Физиол. раст.

– 1979. – Т. 26, Вып. 3. – С. 646-652.

15. Методические рекомендации по определению фитогормонов.
– К.: Ин-т ботаники им. Н.Г. Холодного, 1988. – 78 с.

ФИТОГОРМОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ *RHIZOBIUM RADIOBACTER*

Трепач А.А., Токмакова Л.Н., Близняк Н.М.

Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН, г. Чернигов

*При использовании методов биотестирования установлена способность штаммов *Rhizobium radiobacter*, изолированных из ризосферы пшеницы озимой, продуцировать фитогормоны стимулирующего действия. Определено, что культуральная жидкость бактерий проявляет наиболее высокую ауксиновую, гиббереллиновую и цитокининовую активность при разбавлении в соотношениях 1:10 и 1:100.*

Ключевые слова: *Rhizobium radiobacter*, фитогормоны, ауксины, гиббереллины, цитокинины.

PHYTOHORMONE ACTIVITY OF *RHIZOBIUM RADIOBACTER* STRAINS

Trepach A.O., Tokmakova L.M., Bliznjuk N.M.

Institute of Agricultural Microbiology UAAS, Chernihiv

*The possibility of *Rhizobium radiobacter* strains isolated from rhizosphere of winter wheat to produce phytohormones of stimulatory action at use of methods of biotesting was established. It was shown, that bacterial culture liquid possesses high auxin, gibberellin and cytokinin activity at dilution ratio 1:10 and 1:100.*

Key words: *Rhizobium radiobacter*, phytohormones, auxins, gibberellins, cytokinins.