УДК 633.11: 631.461.5

А.М. Самойлов, В.В. Жмурко

Кафедра физиологии, биохимии растений и микроорганизмов Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, 61022, Украина

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДИАЗОТРОФОВ КОРНЕВОЙ ЗОНЫ ИЗОГЕННЫХ ПО ГЕНАМ *VRN* ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ

В трехлетних полевых опытах изучали биохимические свойства изолятов диазотрофов, выделенных из корневой зоны растений изогенных по генам Vrn яровых линий пшеницы – Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1 и озимого сорта Мироновская 808. Больший процент изолятов диазотрофов – 47–55 %, способных к нитратредукции, выявлен в корневой зоне растений изогенных линий – Vrn-A1 и Vrn-D1. В корневой зоне растений сорта, в отличие от яровых изолиний, был существенно выше процент изолятов диазотрофов, обладающих амило- и протеолитической активностям – 44 % и 75 % соответственно. Однако процент изолятов диазотрофов, способных продуцировать ИУК-подобные вещества, в корневой зоне растений сорта, был меньше – 53 %. Процент изолятов, способных продуцировать индол, выделенных из ризосферы растений линий Vrn-D1 и Vrn-A1, был ниже – 33–35 %, чем у изолинии Vrn-B1 и озимого сорта. Предполагается, что выявленные различия по числу изолятов диазотрофов, обладающих изучаемыми физиолого-биохимическими свойствами, из ризосферы растений изогенных по генам Vrn линий пшеницы, связаны с различиями между линиями по интенсивности корневых выделений и азотфиксации.

К л ю ч е в ы е с л о в а: изогенные линии Triticum aestivum L., диазотрофы, гены Vrn, ассоциативная азотфиксация, нитратредуктазная активность, фосфатмобилизирующая активность, амило- и протеолитическая активности, ИУК-подобные вещества.

Физиологическая и биохимическая активность бактерий ризосферы растений – важный фактор эффективного функционирования микроценоза корней. Бактерии, которые относятся к PGPR или PGPB (plant growth promoting (rhizo)bacteria), в ассоциации с растениями обеспечивают продукцию ростстимулирующих веществ, изменяют проницаемость клеток корня, улучшают минеральное питание растений, подавляют развитие фитопатогенных микроорганизмов и, в целом, положительно влияют на рост и развитие растений [4, 12, 15]. К данной группе бактерий ризосферы относят и ассоциативные азотфиксаторы [4]. Так, азоспириллы способны к нитратредукции, образованию ростстимулирующих веществ, синтезу пектиназ и обладают рядом других физиолого-биохимических свойств [12]. Представители рода *Bacillus*, среди которых есть специфические азотфиксаторы пшеницы, способны к мобилизации фосфатов, нитратредукции и др. [6, 14].

Состав и биологическая активность микробных ассоциаций в ризосфере в значительной степени определяются видовыми особенностями метаболизма растений, а также генотипом сорта, гибрида или линии [5, 8, 14]. Однако возможное участие конкретных генов растений в функци-

© А.М. Самойлов, В.В. Жмурко, 2016

онировании ассоциативного азотфиксирующего комплекса исследовано недостаточно.

В литературе имеются данные о том, что изогенные линии пшеницы, которые несут гены устойчивости к заболеваниям (*Lr-TR, Pm-4b*), а также гены короткостебельности (*Rht3, Rht1+Rht2*), достоверно различаются по активности процесса ассоциативной азотфиксации [8].

Для установления зависимости формирования и функционирования ассоциативного азотфиксирующего комплекса от конкретных генов растений, определяющих тип и темпы их развития, целесообразно использовать изогенные по генам *Vrn* линии мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), которые различаются по состоянию определенных локусов *Vrn* [2, 8].

По нашим данным, изогенные по генам *Vrn* линии пшеницы сорта Мироновская 808 ярового типа развития (*Vrn-A1*, *Vrn-B1* и *Vrn-D1*) различаются по динамике численности азотфиксаторов в ризосфере и ризоплане, а также нитрогеназной активности [9]. По этим данным сделан вывод, что гены *Vrn*, которые определяют тип и темпы развития растений, могут влиять на формирование и функционирование ассоциативного комплекса диазотрофов ризосферы пшеницы опосредованно, через участие в регуляции метаболических процессов у растений [9].

Вместе с тем, для углубления представлений о механизмах ассоциативной азотфиксации под контролем генов *Vrn* важны данные о физиолого-биохимической активности диазотрофов, составляющих микроценоз ризосферы. Однако такие данные в литературе отсутствуют.

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования было изучение физиолого-биохимических свойств изолятов диазотрофов, выделенных из корневой зоны изогенных по генам *Vrn* линий пшеницы.

Материалы и методы. В работе использованы изогенные моногенодоминантные по генам *Vrn-A1, Vrn-B1* и *Vrn-D1* линии мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), созданные в генофоне озимого сорта Мироновская 808. Все линии несут один из генов *Vrn* в доминантном состоянии, а два других – в рецессивном, поэтому развиваются по яровому типу и не требуют яровизации для перехода к колошению. У озимого сорта Мироновская 808, в генофоне которого созданы линии, все гены локусов *Vrn* рецессивные, поэтому без яровизации он не переходит к колошению в год весеннего посева [10]. Изогенные линии для исследований любезно предоставлены отделом генетики Селекционно-генетического института – Национального центра семеноводства и сортоизучения НААН Украины.

Полевые опыты проводили в 2009–2011 гг. на экспериментальном участке кафедры физиологии, биохимии растений и микроорганизмов Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина, который находится на территории ботанического сада университета (г. Харьков). Почва – чернозем оподзоленный тяжелосуглинистый. Агротехника – общепринятая для ранних яровых культур в зоне восточной Лесостепи Украины. Бактериальные препараты под пшеницу не вносили. Посев проводили в оптимальные для яровой пшеницы сроки – первая-вторая декада апреля.

Растения каждой линии выращивали в трехкратной повторности на делянках 1 м^2 (мелкоделяночный опыт) [1]. Отбор образцов корней с почвой для микробиологических исследований проводили в фазе колошения-цве-

тения яровых линий. Образцы корней растений озимого сорта, который только кустился в течение вегетации (весенний посев), отбирали одновременно с образцами яровых линий в указанную фазу их развития. С выкопанных монолитов грунта с растениями стерильным пинцетом отбирали корни и очищали их от почвы. Полученную таким образом ризосферную почву отбирали в количестве 1 г, готовили почвенную суспензию и ряд десятикратных разведенных до 10^{-7} [3, 11]. Для выделения микроорганизмов с поверхности корней корни последовательно отмывали в четырех колбах со 100 мл стерильной водопроводной воды путем встряхивания по 5 минут. В последнюю колбу до стерилизации вносили 4 г кварцевого прожаренного песка. Затем суспензии из 2-ой–4-ой колб объединяли и изготавливали ряд десятикратных разведенных до 10^{-8} [11].

Для выделения культур азотфиксирующих микроорганизмов проводили посев суспензий на твердые питательные среды: Эшби с маннитолом – для выделения широкого круга олигонитрофилов и азотфиксаторов, которые способны использовать гексозы и сахароспирты [3] и RC (Red Congo, модифицированная среда Доберейнер) – для выделения представителей ассоциативных азотфиксаторов родов *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Bulkholderia* и др., которые лучше используют органические кислоты и плохо растут на средах с углеводами и сахароспиртами [13]. Из посевов на селективных средах в двукратной повторности отбирали колонии, обладающие разным морфотипом для дальнейшей очистки. Очистку культур изолятов проводили на этих же средах методом разведений и/или истощающего посева. Доочистку и проверку на чистоту культур проводили посевом на богатые среды (бобовый агар и маннитно-дрожжевой агар) с последующим микроскопированием колоний. Полученные чистые культуры хранили методом субкультивирования на скошенном маннитно-дрожжевом агаре. Способность к фиксации азота у выделенных изолятов определяли по уровню накопления связанного азота в безазотистой среде Nfb после 14 дней культивирования [11]. В том случае, если уровень общего азота в среде культивирования увеличивался на 0,3 мг от исходного, считали, что данная культура является диазотрофом [11]. Общий азот в среде культивирования определяли микрометодом по Кьельдалю [11].

Всего в процессе исследований было выделено 427 чистых культур диазотрофов: 2009 г. – 158 изолятов, 2010 г. – 127 изолятов, 2011 г. – 142 изолята.

У выделенных чистых культур диазотрофов определяли ряд ферментативных активностей. Для этого культуры азотфиксаторов засевали в специальные среды и инкубировали в термостате при 32 ^{0}C в течение от 1–2 до 7–14 суток в зависимости от методики.

Амилолитическую активность определяли при посеве бактерий на модифицированный крахмало-аммиачный агар по способности расщеплять растворимый крахмал (состав среды, г/л: NH_4NO_3 – 0,5; K_2HPO_4 – 1; KH_2PO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 1; NaCl – 0,25; $CaCO_3$ – 1; крахмал растворимый – 10; агар – 18). Способность к расщеплению крахмала устанавливали после нанесения на поверхность среды раствора Люголя в виде зон просветления вокруг тестируемых культур [3].

Способность выделенных культур азотфиксаторов к протеолитической активности устанавливали по расщеплению ими желатины на среде сле-

дующего состава, г/л: NH_4NO_3 – 0,5; K_2HPO_4 – 1; KH_2PO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 1; NaCl – 0,25; желатина – 60 [3].

Способность к редукции нитратов устанавливали в двух вариантах сред – Nfb (состав, г/л: K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,25; NaCl – 0,1; $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,02; яблочная кислота – 5 г (нейтрализованная КОН); раствор микроэлементов – 2 мл; Fe-ЭДТА – 4 мл (1,64 % раствор); дрожжевой экстракт – 0,01; pH 6,9. Раствор микроэлементов: $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ – 1; $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ – 1,2; H_3BO_3 – 1,4; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,04; $ZnSO_4$ – 0,12) или МПБ (HiMedia) с добавлением нитрата калия до 1 %, поскольку не все культуры диазотрофов были способны расти в МПБ. После культивирования в течение одних-двух суток в среду добавляли 1 % раствор реактива Грисса на 5 % уксусной кислоте для определения наличия нитритов [3].

Определяли также способность к мобилизации труднорастворимых неорганических фосфатов по растворению кальция ортофосфата в виде зон просветления на среде Муромцева следующего состава, г/л: глюкоза – 10; аспарагин – 1; K_2SO_4 – 0,2; $MgSO_4$ – 0,2; агар – 18; дрожжевой экстракт – 0,02; отдельно вносили в виде стерильных растворов 3,3 г $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ и 3,8 г $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ [3]. Для культур, не способных утилизировать гексозы, в среду вместо глюкозы добавляли малат калия.

Способность к образованию индола [11] изучали при посеве исследуемых культур в среду Строгова следующего состава, г/л: K_2HPO_4 – 2,5; NaCl – 1; пептон (HiMedia) – 10, содержащую 0,25 % триптофана. Наличие индола определяли с реактивом Ковача (*n*-диметиламинобензальдегид – 5 г; спирт амиловый – 75 мл; концентрированная HCl – 25 мл) по красно-вишневому окрашиванию.

Способность культур к синтезу веществ, обладающих ауксиноподобным действием (ИУК-подобные вещества), оценивали в посевах на двух типах сред – Nfb и Строгова. Биомассу бактерий отделяли от среды культивирования центрифугированием при 12000 об/мин 15 мин. Культуральную среду стерилизовали с помощью бактериальных фильтров Millex GP (диаметр пор 0,22 мкм). Полученные фильтраты культуральной среды испытывали на наличие веществ, проявляющих ауксинподобное действие, специфическим методом биотестирования по приросту отрезков этиолированных проростков пшеницы [7]. В качестве контролей использовали раствор коммерческого ауксина (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 0,1 мг/мл и 1 мг/мл.

На рисунках представлено число изолятов, обладающих исследуемыми свойствами от общего числа диазотрофов, выделенных из ризосферы каждой линии, в процентах. Достоверность различий оценивали методом дисперсионного анализа с использование критерия НСР при уровне значимости 0,95. На рисунках приведены средние значения и значение ошибки в 5 %. Звездочками указаны те средние значения, которые превышают уровень $НСР_{0,05}$.

Результаты и их обсуждение. Амило- и протеолитическая активности микроорганизмов, наряду с другими, обеспечивают трансформацию органического вещества в ризосфере растений. Поэтому, изучение этих свойств ассоциативных диазотрофов является важным для оценки характера функционирования ассоциативного азотфиксирующего комплекса в корневой зоне растений.

Полученные данные показали, что наибольший процент изолятов диазотрофов, обладающих амилолитической активностью, был в корневой зоне озимого сорта – 44 % (рис. 1). Меньше всего таких изолятов было в ризосфере изогенных линий – 27–31 %. При этом в ризосфере линий *Vrn-A1*, *Vrn-D1* и *Vrn-B1* различий по данному показателю не выявлено (рис. 1).

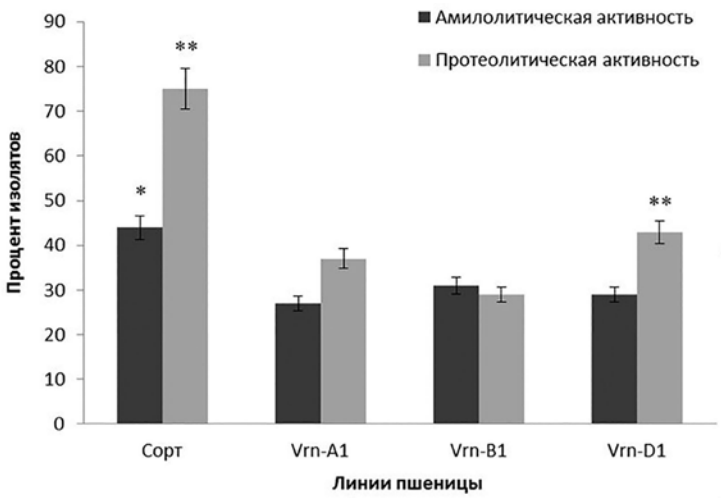

Рис. 1. Процент изолятов диазотрофов, обладающих амилолитической и протеолитической активностью, из корневой зоны изогенных по генам *Vrn* линий пшеницы сорта Мироновская 808, среднее за 2009–2011 гг. $НСР_{0,05} \leq 7,6$ % (амилолитическая активность) и $НСР_{0,05} \leq 11,7$ % (протеолитическая активность)

Примечание: здесь и далее *) – обозначены достоверные различия.

Изучение протеолитической активности показало, что в корневой зоне растений озимого сорта Мироновская 808, который только кустится в течение вегетации, ею обладали 75 % выделенных изолятов. В корневой зоне изолиний таких изолятов было существенно меньше – 29–43 %. В ризосфере изолинии *Vrn-D1* наблюдалось больше изолятов с протеолитической активностью, чем у линий *Vrn-B1* и *Vrn-A1* (рис. 1).

Таким образом, среди яровых линий, в большинстве случаев, не выявлено существенных различий по числу изолятов, способных к гидролизу крахмала и желатины. Вместе с тем, установлены различия между яровыми изолиниями и озимым сортом по числу изолятов с этими свойствами.

Для углубления существующих представлений о взаимосвязи физиолого-биохимических свойств азотфиксаторов и уровня азотфиксации в корневой зоне, важны данные о нитратредуктазной активности диазотрофов, населяющих ризосферу.

Бактериальная нитратредукция обеспечивает поддержание высокой активности азотфиксирующей ассоциации ризосферы в результате постоянного уменьшения количества нитратов, присутствие которых угнетает процессы фиксации азота. Кроме того, нитриты индуцируют образование латеральных корней и метаболизацию минеральных форм азота корнями растений [4]. Это обосновало целесообразность изучения нитратредуктазной активности у выделенных изолятов диазотрофов.

Наибольшее число изолятов, способных к восстановлению нитратов, было идентифицировано в корневой зоне растений изолиний *Vrn-A1* (47 %) и *Vrn-D1* (55 %) в 2010 году (рис. 2). В среднем же за три года показатель составил 39 и 41 % для этих же линий. Такая закономерность прослеживалась во все три года исследований – из корневой зоны растений линий *Vrn-A1* и *Vrn-D1* выделялось значительно больше диазотрофов, обладающих нитратредуктазной активностью, чем из ризосферы растений линии *Vrn-B1* и озимого сорта. Исключение составили показатели 2010 года, когда по количеству способных к нитратредукции изолятов у линии *Vrn-B1* отличий, в сравнении с другими изолиниями, не выявлено.

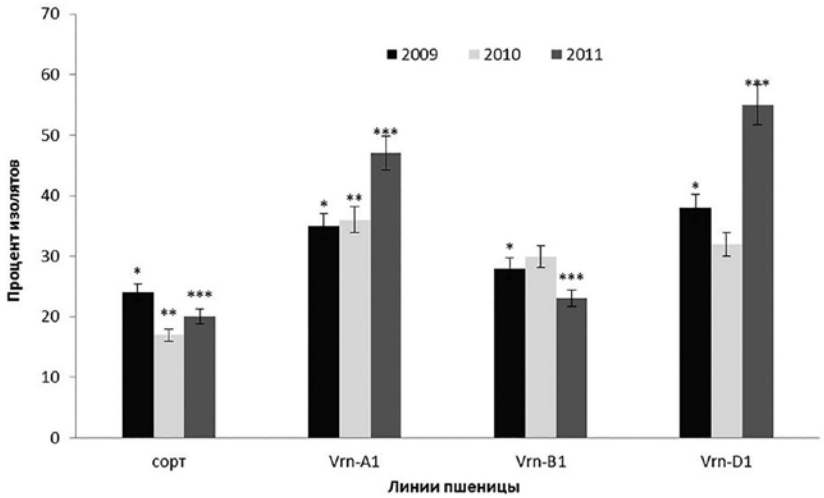

Рис. 2. Процент изолятов диазотрофов, обладающих нитратредуктазной активностью, из корневой зоны изогенных по генам *Vrn* линий пшеницы сорта Мироновская 808, $НСР_{0,05} \leq 4,64$ %

Полученные нами результаты согласуются с литературными данными о роли бактериальной нитратредукции в ассоциативной азотфиксации как одной из важных функций PGPR [4, 12], поскольку большинство ассоциативных азотфиксаторов относят к данной группе бактерий.

Ранее нами показана связь нитрогеназной активности с генотипом изолиний по генам *Vrn* [9]. Так, средний уровень ацетиленвосстанавливающей активности неотмытых корней растений линий *Vrn-A1* и *Vrn-D1* в среднем за 2009–2011 годы исследований составлял 1912,61 и 2709,5 нмоль/г сухих корней в час соответственно, что на 24,7–46,8 % выше, чем нитрогеназная активность в корневой зоне растений линии *Vrn-B1*, абсолютный уровень которой составлял 1439,57 нмоль/г сухих корней в час [9]. Наименьшим данный показатель был у растений сорта – всего 625,17 нмоль/г сухих корней в час. Нами также показано, что одним из возможных механизмов такой разницы в фиксации азота у данных линий могут быть генетически обусловленные различия по скорости оттока фотоассимилятов и уровню корневых выделений, в том числе в их фракционном составе [2, 9].

Сопоставление результатов изучения нитрогеназной активности корней и нитратредуктазной активности диазотрофов, изолированных из корневой зоны растений изогенных линий пшеницы, полученных в настоя-

щем исследовании, выявило взаимосвязь между уровнем азотфиксации у яровых изогенных линий пшеницы и большим числом изолятов диазотрофов с их корней, которые обладают способностью к редукции нитратов.

Важным процессом, обогащающим почву доступными для растений формами фосфора, является его высвобождение из труднорастворимых фосфатов [6, 14]. Поэтому важно было исследовать, как изоляты диазотрофов из корневой зоны растений изогенных линий пшеницы различаются по этим свойствам.

Способность к мобилизации труднорастворимых фосфатов среди выделенных из корневой зоны изогенных линий пшеницы изолятов была различной. Тем не менее, этот показатель колебался незначительно – от 18 до 30 % изолятов были способны к растворению кальция ортофосфата (рис. 3). Только среди диазотрофов, выделенных из ризосферы изолинии *Vrn-D1*, число изолятов, способных к мобилизации труднорастворимых фосфатов, было выше, чем у других линий и озимого сорта, и составляло в среднем 30 % от общего их числа. У других объектов исследования этот показатель не отличался и был достаточно низким – от 18 % (*Vrn-A1*) до 22 % (*Vrn-B1* и сорт).

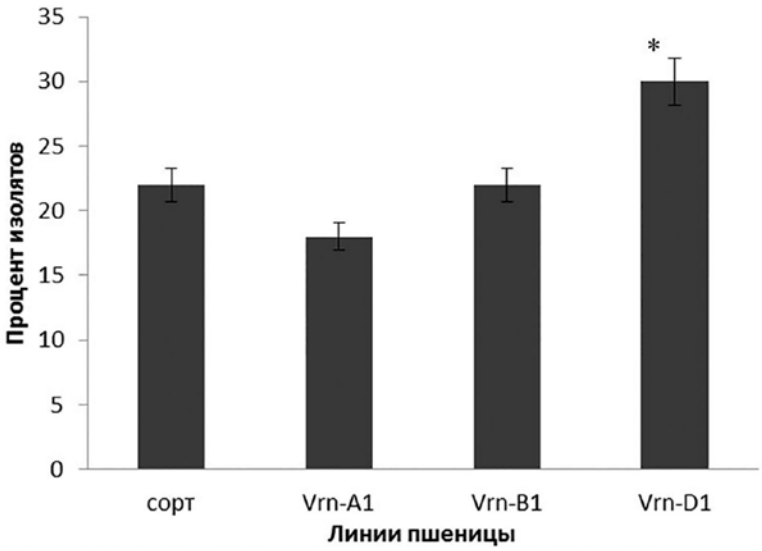

Рис. 3. Процент изолятов диазотрофов, способных растворять кальция ортофосфат, из корневой зоны изогенных по генам *Vrn* линий пшеницы сорта Мироновская 808, среднее за 2009–2011 гг., $НСР_{0,05} \leq 4,96$ %

Микроорганизмы, ассоциированные с корнями растений, могут синтезировать фитогормоны и другие ростстимулирующих вещества, с чем связывают их положительное влияние на рост и развитие растений [4, 12]. Кроме синтеза ИУК, ризобактерии способны продуцировать индол, который метаболизируется в ризосфере. Поэтому, важно было исследовать способность выделенных штаммов диазотрофов к продукции индола и ИУК.

Результаты исследований показали (рис. 4), что процент изолятов, способных образовывать индол, был наименьшим в корневой зоне растений линий *Vrn-D1* и *Vrn-A1*, у которых фиксация азота, соответственно, выше. В то же время, из корневой зоны растений линии *Vrn-B1*, которая среди

изогенных линий имеет наименьшие показатели азотфиксации, изолировано значительно большее число изолятов со способностью образовывать индол (рис. 4).

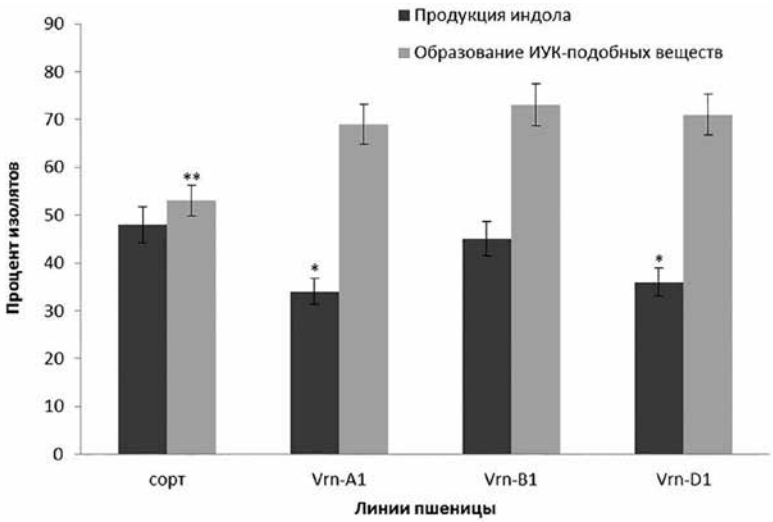

Рис. 4. Процент изолятов диазотрофов, способных продуцировать индол и ИУК, из корневой зоны изогенных по генам *Vrn* линий пшеницы сорта Мироновская 808, среднее за 2009–2011 гг., $НСР_{0,05} \leq 8$ % (продукция индола) и $НСР_{0,05} \leq 6,2$ % (образование ИУК)

Способностью образовывать ИУК-подобные вещества обладало большинство выделенных изолятов азотфиксаторов (рис. 4). Культуральная жидкость примерно 70 % изолятов из корневой зоны растений яровых изогенных линий пшеницы обладала способностью к стимуляции прироста колеоптилей пшеницы на уровне или выше прироста контроля (10 мкг/мл коммерческого ауксина). Среди изолятов из ризосферы растений озимого сорта это свойство было присуще лишь 53 % культур, что существенно меньше, чем для яровых линий. Полученные результаты указывают на то, что больший процент диазотрофов активно функционирующей ассоциации способен к продукции ИУК-подобных веществ. Число таких изолятов зависит от функционального состояния ризоценоза и, в частности, типа развития растений. Вероятно, это связано с более высоким уровнем корневых выделений у яровых линий, чем у озимого сорта [9].

Наши данные показали, что с уровнем ассоциативной азотфиксации исследуемых линий пшеницы и сорта связан процент изолятов диазотрофов, способных к редукции нитратов и продукции индола. Нами также выявлены различия и по другим биохимическим показателям среди изолятов диазотрофов, выделенных из ризосферы яровых изогенных линий и озимого сорта. Из корневой зоны последнего изолированы культуры диазотрофов, среди которых, в отличие от изолятов из корневой зоны яровых изолиний, было существенно выше число положительных по амило- и протеолитической активностям культур и низкое число изолятов, способных продуцировать вещества, обладающие ауксино-подобным действием.

Таким образом, полученные данные показали, что в ризоценозе пшеницы функционируют диазотрофы, обладающие амило- и протеолити-

ческой, нитратредуктазной и фосфатмобилизирующей активностями, а также способностью к синтезу ИУК-подобных веществ и индола. Эти результаты подтверждают данные литературы о физиолого-биохимических свойствах ассоциативных диазотрофов [4, 12, 15].

В ризосфере изогенных по генам *Vrn* линий пшеницы нами выявлены различия по числу изолятов диазотрофов, обладающих изученными физиолого-биохимическими свойствами, в зависимости от генотипа растений линий по этим генам. На основании этого можно предположить, что выявленные различия связаны с состоянием генов *Vrn* у этих линий пшеницы (доминантные и/или рецессивные).

По нашему мнению, одним из возможных механизмов формирования различного по физиолого-биохимическим свойствам состава ризоценоза диазотрофов у исследованных линий пшеницы могут быть различия между ними по характеру метаболических процессов. Так, показано, что, в зависимости от состояния генов *Vrn*, исследованные линии различаются по интенсивности накопления в листьях и оттока из них углеводов, а также динамике содержания общего и амминного азота в органах главного побега [2]. Нами ранее показано, что в корневой зоне линий с разным состоянием генов *Vrn* различна динамика численности диазотрофов, интенсивность азотфиксации, а также различен объем и состав корневых выделений [9].

Анализ данных литературы и собственных данных дает основание предположить, что различия между исследованными линиями по функционированию ассоциации диазотрофов корневой зоны и, в частности, по числу изолятов диазотрофов с определенными физиолого-биохимическими свойствами, определяются различиями между линиями по характеру и интенсивности метаболических процессов. Вероятно, что гены *Vrn* опосредованно, через регуляцию метаболических процессов растений, могут участвовать в формировании и функционировании ассоциации диазотрофов корневой зоны пшеницы.

А.М. Самойлов, В.В. Жмурко

Кафедра фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів
Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна
пл. Свободи, 4, Харків, 61022, Україна

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ДІАЗОТРОФІВ КОРЕНЕВОЇ ЗОНИ ІЗОГЕННИХ ЗА ГЕНАМИ *VRN* ЛІНІЙ ПШЕНИЦІ

Резюме

У трирічних польових дослідах вивчали біохімічні властивості ізолятів діазотрофів, виділених з кореневої зони рослин ізогенних за генами *Vrn* ярих ліній пшениці – *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1* та озимого сорту Миронівська 808. Більший відсоток ізолятів діазотрофів – 47–55 %, здатних до нітратредукції, виявлено в кореневій зоні рослин ізогенних ліній – *Vrn-A1* і *Vrn-D1*. У кореневій зоні рослин сорту, на відміну від ярих ізоліній, істотно вищим був відсоток ізолятів діазотрофів, які мають аміло- і протеолітичну активності – 44 % і 75 % відповідно. Однак відсоток ізолятів діазотрофів, здатних продукувати ІОК-подібні речовини в кореневій зоні рослин сорту, був меншим – 53 %. Відсоток ізолятів, здатних продукувати індол, виділених з ри-

зосфери рослин ліній *Vrn-D1* і *Vrn-A1*, був нижчим – 33–35 %, ніж у рослин ізолінії *Vrn-B1* і озимого сорту. Припускається, що виявлені відмінності по числу ізолятів діазотрофів, які мають досліджувані фізіолого-біохімічні властивості, з ризосфери рослин ізогенних за генами *Vrn* ліній пшениці, пов'язані з відмінностями між лініями за інтенсивністю кореневих виділень і азотфіксації.

К л ю ч о в і с л о в а: ізогенні лінії *Triticum aestivum* L., діазотрофи, локуси *Vrn*, асоціативна азотфіксація, нітратредуктазна активність, фосфатмобілізуюча активність, аміло- і протеолітична активності, ІОК-подібні речовини.

A.M. Samoilov, V.V. Zhmurko

Department of Plant and Microorganisms Physiology and Biochemistry of
V.N. Karazin Kharkov National University
4 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF DIAZOTROPHS FROM A ROOT ZONE OF WHEAT NEAR ISOGENIC LINES BY *VRN* GENES

Summary

Some of biochemical properties of diazotrophs isolated from a root zone of plants of such wheat isogenic lines as *Vrn-A1, Vrn-B1, Vrn-D1,* and Mironovskaya 808 cultivar were studied in a three-year field experiment. The larger percentage of isolates (47–55 %) capable of nitrate reduction is typical for the root zone of plants of the lines with higher levels of nitrogen fixation – *Vrn-D1* and *Vrn-A1*. Compared with the spring isolines the rhizosphere of plants of the winter cultivar has substantially higher percentage of diazotroph' isolates with proteolytic and amylolytic activities – 44 % and 75 % respectively. However, the percentage of the isolates capable of producing IAA-like substances in the root zone of plants of the cultivar was less – 53 %. The percentage of isolates capable of producing indole, isolated from the rhizosphere of plants of *Vrn-D1* and *Vrn-A1* lines, was less (33–35 %) than the same indices of plants of the *Vrn-B1* isoline and winter cultivar. Obtained data concerning differences in the percentage of the isolates of diazotrophs with studied physiological and biochemical properties from the plant rhizosphere of isogenic by *Vrn* genes lines of wheat are supposed to be connected with the differences between the lines in root exudates rate and nitrogen fixation.

The paper is presented in Russian.

Key words: isogenic lines of *Triticum aestivum* L., diazotrophs, *Vrn* loci, associative nitrogen fixation, nitrate reductase activity, phosphate-solubilizing activity, amilolytic and proteolytic activities, IAA-like substances.

1. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследования). – 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
2. *Жмурко В.В., Авксентьева О.А.* Некоторые физиолого-биохимические аспекты генетического контроля озимости и фотопериодической реакции растений // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: Зб. наук.праць. – Киев: Логос, 2007. – С. 28–33.
3. *Методы* почвенной микробиологии и биохимии / Под. ред. Д.Г. Звягинцева. – Москва: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

4. *Моргун В.В., Коць С.Я., Кириченко Е.В.* Рост стимулирующие ризобактерии и их практическое применение // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – **41**, № 3. – С. 187–207.
5. *Надкерничная Е.В.* Функционирование ассоциативной системы диазотрофы-озимая рожь в зависимости от сортовых особенностей растений // Агроэкол. журнал. – 2003. – № 4. – С. 7–17.
6. *Патика В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В., Шерстобоєва О.В., Мельничук Т.М.* Біологічний азот / За ред. В.П. Патики. – К.: Світ, 2003. – 424 с.
7. *Полевой В.В., Чиркова Т.В.* Практикум по росту и устойчивости растений. – СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2001. – 98 с.
8. *Родынюк И.С.* Ассоциативная азотфиксации в ризоценозе изогенных иммунных и короткостебельных линий яровой мягкой пшеницы // С.-х. биология. – Сер. Биология растений. – 1991. – № 5. – С. 88–95.
9. *Самойлов А.М., Жмурко В.В.* Динаміка чисельності діазотрофів у кореневій зоні ізогенних за генами *Vrn* ліній пшениці // Мікробіологічний журнал. – 2012. – **74**, № 5. – С. 92–97.
10. *Стельмах А.Ф.* Генетика темпів розвитку пшениць (внесок Селекційно-генетичного інституту за 30 років) // Тр. по фундаментальной и прикладной генетике (к 100-летнему юбилею генетики). – Харьков: Штрих, 2001. – С. 89–109.
11. *Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И.* Практикум по микробиологии. – Москва: Колос, 1993. – 175 с.
12. *Bashan Y., Holguin G., de-Bashan L.E. Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural and environmental advances // Can. J. Microbiol. – 2004. – **50**, N 8. – P. 521–577.
13. *Caceres E.A.R.* Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. // Applied and Environmental Microbiology. – 1982. – **44**, N 4. – P. 990–991.
14. *Chen C.R., Condron L.M., Davis M.R., Sherlock R.R.* Effects of plant species on microbial biomass phosphorus and phosphatase activity in a range of grassland soils // Biology and fertility of soils. – 2004. – **40**, N 5. – P. 313–322.
15. *Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G., Valori F.* Microbial diversity and activity in rhizosphere // Ci Suelo. – 2007. – **25**, N 1. – P. 89–97.

Отримано 15.01.2016