

УДК 632.937

Н.Е.БЕКМАХАНОВА, О.Н.ШЕМШУРА, А.И.СЕЙТБАТТАЛОВА, Г.А.МОМБЕКОВА

РГП «Институт микробиологии и вирусологии», г. Алматы, Казахстан

## РОСТСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ РИЗОСФЕРНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

### Аннотация

В обзорной статье представлены литературные данные, посвященные вопросу ростстимулирующей активности микроорганизмов и синтезируемых ими биологически активных веществ. Показано что, бактерии рода *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Bacillus* и *Flavobacterium* способны синтезировать кинетин, зеатин, изопентанилладенин, индолилуксусную кислоту и другие ростовые соединения.

Отмечено, что стимулирующее действие ризосферных микроорганизмов на прорастание семян, рост и урожайность связано с активацией ассоциативной и симбиотической азотфиксации и физиологических процессов в растениях.

Показано что, грибные культуры родов *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Myceliasterilia*, *Fusarium*, как и ризосферные бактерии способны продуцировать вещества типа ауксинов, цитокининов, органических кислот, аминокислот, витаминов, гиббереллинов и других ростовых веществ.

**Ключевые слова:** ризосферные микроорганизмы

Многие микроорганизмы, ассоциированные с растениями, способны синтезировать вещества фитогормональной природы, необходимые им как для собственного развития, так и для установления связей с растениями и другими почвенными микроорганизмами. Образование гормонов, таких как, ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовая, салициловая и жасмоновые кислоты – одно из важных свойств ризосферных, эпифитных и симбиотических бактерий, стимулирующих рост растений [1-3].

Растительные гормоны способствуют формированию у растений лучшей корневой системы, активизируют метаболические функции клеток и повышают коэффициент поглощения воды и питательных веществ с большей площади, кроме того, они повышают не только устойчивость растений к болезням, но и позволяют им ускоренно проходить наиболее чувствительные к патогенам стадии своего раннего развития.

Микроорганизмы со сниженным уровнем фитогормонов, например, ауксинов, не могут влиять на ростовые показатели растений, что доказывает важность участия фитогормонов в росте индуцирующей активности ризосферных микроорганизмов [4].

Известно, что бактерии рода *Bacillus* способны стимулировать рост растений, при этом они используют L-триптофан корневых выделений для продуцирования собственных ауксинов. Анализ ауксинов в культуральной жидкости *B. subtilis* 4-13, проведенный с помощью ВЭЖХ, показал, что кроме индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в ней обнаружены индолил-3-молочная кислота и индолил-3-ацетамид, образующиеся на путях биосинтеза ИУК, а также индолил-3-карбоновая кислота и индолил-3-альдегид, являющиеся продуктами деградации ИУК [5]. Наиболее интенсивно *B. subtilis* 4-13 продуцировал индолил-3-альдегид и индолил-3-молочную кислоту. Доля ИУК в суммарной фракции ауксинов составила 7,8%. Кроме того, анализ метаболитов ряда штаммов *B. subtilis* показал, что данный вид бацилл характеризуется способностью к синтезу гексановых антибиотиков с сопряженными двойными связями и целого ряда циклических липопептидов различной химической структуры [6]. Возможно, антифунгальные метаболиты штамма *B. subtilis* 4-13 принадлежат кенным группам указанных антибиотиков.

Одними из недавних разработок ВНИИ СХМ, широко востребованными сельхозпроизводителями, стали биологические препараты «Экстрасол», используемые в качестве микробиологического удобрения и рост-стимулятора «Бисолби Сан», зарегистрированного в качестве фунгицида, протравителя семян пшеницы [7]. Основу этих препаратов также составлял штамм ризосферных бактерий *Bacillus subtilis* 4-13.

Известны ризобактерии, относящиеся к родам *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, синтезирующие ИУК из триптофана через индолил-3-пиривиногрядную кислоту и индолил-3-уксусный альдегид.

Эпифитная и ризосферная микрофлора растений играет первостепенную роль в превращении триптофана, содержащегося в корневых экссудатах, в ИУК [8-9].

Из культурального экстракта *Azospirillum brasiliense* выделено ауксинподобное вещество (фенилуксусная кислота). Синтез вещества у бактерий происходит с участием индол-3-пириватдекарбоксилазы, являющейся ключевым ферментом в биосинтезе [10]. Показано, что биосинтез фенилуксусной кислоты бактериями происходит только при наличии фенилаланина или его предшественников.

Цитокинины также обладают стимулирующей активностью, они образуются ризобактериями, принадлежащими к родам *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus* [11-12]. Кроме того, микроорганизмы способны синтезировать также кинетин, зеатин, изопентениладенин и некоторые другие производные; при этом, путем присоединения углеводов к молекуле фитогормона, в клетке регулируется концентрация активных цитокинов.

Наличие гиббереллинов в культуральной жидкости бактериальных культур впервые было установлено в 1965 году Кацнельсоном и Коли [13]. Образование гиббереллинов свойственно эпифитным и ризосферным бактериям – представителям родов *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Clostridium*, *Agrobacterium* [14].

Установлено что, смешанные культуры ризобактерий produцируют большее количество фитогормонов. Так, совместно выращенные культуры *Azospirillum brasiliense* и *Azotobacter diacamelloi* способны синтезировать большее количество ауксинов, гиббереллинов и цитокинов, чем чистые культуры этих бактерий.

В настоящее время найдены ассоциативные симбионты более чем у 110 видов растений, в том числе пищевых и кормовых злаков и овощей.

«Флавобактерин» - препарат, созданный на основе ассоциативных азотофиксирующих бактерий, повышает урожай зерновых культур на 0,3-0,5 т /га; кормовых трав – на 1,4-1,8 т/га; сахарной свеклы – на 6-7 т/га, овощных культур – на 1,7-6 т/га при расходе 300 г. препарата на гектарную норму семян. При этом улучшается качество продукции за счет повышения содержания сырого белка на 1,5-2%, аскорбиновой кислоты – на 15-20%.

«Ризоэнтерин» - препарат, повышающий урожай риса, озимой пшеницы и озимой ржи на 200-500 кг на 1 га и содержание белка в зерне.

Оба препарата улучшают минеральный и водный обмен растений за счет усиления поглотительной способности корней, стимулируют рост растений, повышают их устойчивость к заболеваниям, так как являются антагонистами фитопатогенных микроорганизмов

«Ризоэнтерин», «Флавобактерин» и подобные им препараты, такие как «Агрофил», «Ризоагрин», на основе *Alcoligenes paradoxus* 207 и *Bacillus sp.*, не могут полностью удовлетворять потребность растений в азоте, но позволяют сократить дозы внесенного удобрения в почву и снизить степень нитратного загрязнения среды [15].

Известно что, ризосферные бактерии стимулируют рост и развитие растений не только за счет образования биологически активных веществ, но и за счет способности к азотофиксации, улучшению водного и минерального питания растений, предотвращению или уменьшению роста фитопатогенов, благодаря возможности синтезировать вещества бактерицидного и фунгицидного действия [16].

Стимулирующее действие ризосферных микроорганизмов на рост растений связано с активацией ассоциативной и симбиотической азотофиксации и физиологических процессов в растениях, улучшением минерального, в том числе и азотного питания, увеличением накопления биологического азота в них.

Комплекс положительных эффектов влияния ризосферных бактерий на растения и почву широко используется в практике растениеводства, а именно, в применении бактериальной инокуляции семян или обработке растений в период вегетации. Предпосевная инокуляция семян ризобактериями родов *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Clostridium*, *Agrobacterium* и других существенно стимулирует всхожесть и прорастание семян, рост и урожайность растений. Эти бактерии используются для инокуляции различных сельскохозяйственных культур: злаковых, овощных, бобовых [17-18].

Также отмечено стимулирующее действие инокуляции семян ярового ячменя и подсолнечника бактериями *Klebsiella terrigene* E6 на энергию прорастания и рост растений [19].

Инокуляция семян растений – сидератов ассоциативными штаммами бактерий привела к увеличению всхожести семян, площади листьев, массы корней и надземной части растений. Прибавка урожая горчицы, редьки масличной, рапса, рассчитанная по массе растений, составила соответственно 12-50, 15-24 и 51-129% [20].

Бактеризация семян ярового ячменя биопрепаратором «микрогумин» (биоагент) *Azospirillum brasiliense* 410 на дерново-подзолистой почве обеспечивало увеличение урожайности культуры на 11,0-16,4%.

Предпосевная бактеризация семян яровой пшеницы препаратами «Ризоагрин» (биоагент *Agrobacterium radiobacter* 204) и «Ризоэнтерин» (биоагент *Enterobacter aerogenes* 30) способствовала повышению зерновой продукции на 15,2 и 21,9%, что составило 4,94 и 7,14 ц/га для сорта Ранняя 93, 4,7 и 24,9% или 1,43 и 7,57 ц/га для сорта Коллективная [21-24].

Кроме бактерий, различные стимуляторы роста растений вырабатывают и выделяют в окружающую среду ризосферные грибы.

В последние годы, в связи с бурным развитием биотехнологии вновь возрастает интерес к микроскопическим грибам рода *Trichoderma*, которые являются основой для получения биологически активных веществ и средств защиты растений.

Известно, что *Trichoderma* синтезирует различные метаболиты: факторы роста (ауксины, цитокины и этилен), органические кислоты, внутриклеточные аминокислоты, витамины и свыше 100 антибиотиков. Фитогормоны *Trichoderma* (цитокинины), отвечающие за стимуляцию физиологических процессов растений, поступают в растительный организм и приводят к более активному его развитию [25]. При изучении влияния культуральной жидкости *Trichoderma viride* на рост гороха отмечено, что данный штамм увеличивает рост корней 7-дневных микrorастений (проростков) в 2,5 (2,3) раза по отношению к контролю [26].

Стимулирующий эффект гриба *Trichoderma asperellum* M 99/5 обнаруживался уже на самых ранних стадиях развития растений, начиная с прорастания семян, увеличивая их энергию прорастания и всхожесть. Гриб оказывает стимулирующее действие на накопление хлорофилла растением, а также увеличение содержания углеводов и белков. Внесение грибов этого рода в ризосферу значительно активизирует многие ферменты растений – инвертазу, каталазу, амилазу, уреазу, увеличивает интенсивность окислительно-восстановительных процессов, фотосинтез и поглощение питательных элементов корневой системой. Кроме того, грибы рода *Trichoderma* оказывают положительное влияние на продуктивность растений: под их действием увеличивается общая и продуктивная кустистость, конечная урожайность, масса зерен [27-29].

К синтезу гормонов способны и другие различные почвенные грибы. Установлено, что глубинная культура *Aspergillus niger*, при использовании общезвестного

предшественника мевалоновой кислоты в концентрации до 60 мкм, способствует продуцированию в среде гиббереллиновой кислоты и увеличению биомассы гриба [30].

В культуральной жидкости гриба *Penicillium citrinum* обнаружены новые метаболиты с активностью фитогормонов. Их химические структуры были определены с использованием различных хроматографических и спектроскопических методов, в том числе гетероядерного ЯМР. Все они являются производными изокумарина: одно соединение, состоящее из двух колец, получило название склеротинин С (СкС), а остальные три, включающие по три кольца, названы цитринолактонами (Цл)А, В и С. Метаболиты (Цл)А и СкС стимулируют рост корней пропорционально концентрации в диапозоне 3-300 мг/л; ЦлВ, наоборот, в концентрации 300 мг/л полностью подавляет рост корней, ЦлС на рост корней не влияет [31].

В Японии выделили гриб *Penicillium brevicompactum*, способный продуцировать соединения «Бревикомпанины» А и В, являющиеся новыми регуляторами роста растений [32].

Новый препарат «Мицефит» создан на основе эндофитного гриба *Myceliasterilia*, предназначен для стимуляции роста и развития растений, а также повышения их репродуктивного потенциала. Препарат представляет собой стерильный, лиофильно высушенный природно-сбалансированный комплекс биологически активных веществ, в составе которого обнаружены сахара, аминокислоты, жирные кислоты, фитогормоны, такие как цитокинины, гиббереллины, ауксины.

Препарат «Мицефит» обладает большой эффективностью при малых концентрациях (10-100 ppm), совместим с существующими технологиями возделывания и защиты сельскохозяйственных культур. Обработка растений осуществляется путем замачивания семян и/или опрыскивания. Обработка семян препаратом «Мицефит» повышает полевую всхожесть, продуктивную кустистость у злаковых растений, ускоряет накопление биомассы. Наибольший эффект биостимуляции наблюдается при неблагоприятных условиях для выращивания растений: бедные почвы, нехватка влаги, наличие различных антропогенных загрязнителей [33].

Выявлены непатогенные штаммы *Fusarium moniliforme* – 2 и *Fusarium moniliforme* – 5, оказывающие гиббереллинподобное действие на растения. В результате изучения биохимических свойств штаммов, показано наличие в эндо- и экзо - метаболитах грибов гибберелловой кислоты ГК<sub>3</sub>, проявляющей высокое ростстимулирующее действие на проростки кукурузы сорта К-945 и хлопчатника сорта Наманганд-77. Установлено, что предпосевная обработка семян хлопчатника и кукурузы 0,01%-ным раствором препарата *F. moniliforme* – 2 в комбинации с корневой подкормкой самого препарата в условиях вегетационных и полевых мелкоделяночных опытов, имеет высокое стимулирующее действие на рост, развитие кукурузы и хлопчатника. При этом прибавка урожая составляет 6,5 ц/га по сравнению с контрольным вариантом [34].

Исходя из представленного материала, очевидной является перспективность проведения работ, раскрывающих возможности поиска и использования новых штаммов ризосферных бактерий и грибов в практике растениеводства.

Применение препаратов на основе ростстимулирующих бактерий и грибов позволит снизить химическую нагрузку на экосистемы, вследствие уменьшения количества применяемых минеральных удобрений и химических средств защиты растений, приведет к повышению урожайности и улучшению качества экологически чистой продукции.

### **Литература:**

- 1 Патент 2322061 Россия, 000 Экобиотех НПО. №200 6112903/13. Заявл. 15.04.2006. Биопрепарат для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и улучшения качества продукции / Афанасьев Е.Н., Тюминцова Н.С., Афанасьев Н.Е.; Опубл. 20.04.2008.
- 2 Моргун В.В., Коць С.Я., Кириченко Е.В. Ростстимулирующие ризобактерии и их практическое применение // Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – Т. 41, №3. – С. 187-206.

- 3 Каменева С.В., Муронец Е.М. Генетический контроль процессов взаимодействия бактерий с растениями в ассоциациях // Генетика. – 1999. – Т. 35, №11. – С. 1480-1494.
- 4 Максимов В.В., Абизильдина Р.Р., Пусенкова Л.И. Стимулирующие рост растений микроорганизмы как альтернатива химическим средствам защиты от патогенов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – Т. 47, №4. – С. 373-385.
- 5 Волкова Е.Н. Бактериальные препараты повышают урожай и качество лука порея // Картофель и овощи. – 2007. - №2. – С. 20.
- 6 Koumoutsi A., Chen X.-H., Henne A., Liesegang H., Hitzeroth G. et. al. *B. subtilis* – продуцент гексеновых антибиотиков // J. Bacteriol. – 2004. – Vol. 186, №4. – P. 1084-1096.
- 7 Биопрепараты в сельском хозяйстве (методология и практика, применение микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве) / Ред. И.А. Тихонович, Ю.В. Круглов, М.: Изд. Россельхозакадемия, 2005. – 154 с.
- 8 Кравченко А.В., Азарова Т.С., Макарова Н.М., Тихонович И.А. Роль триптофана в корневых экзометаболитах для фитостимулирующей активности ризобактерий // Микробиология. – 2004. – Т. 73, №2. – С. 195-198.
- 9 Кравченко Л.В. Роль корневых экзометаболитов в интеграции микроорганизмов с растениями: Автореф. ... д.б.н.- М., 2000. – 51 с.
- 10 Sivakumar V., Kennedy Z.J., Kumutha K. Intence of Azospirillum and Azotobacter in leaf yield and leaf chlorophyll content of mulberry (*morus alba*) // J. Ecobiol. – 2004. – Т. 16. - №6. – Р. 471-474.
- 11 Somers E., Ptacek D., Gysegan P. et.al. *Azospirillum brasiliense* produces the auxin – like phenilacetic acid by using the key enzyme for indole-3-acetic acid biosynthesis // Appl. and Environ. Microbiol. – 2005. – Т. 71, №4. – Р. 1803-1810.
- 12 Соколова М.Г., Акимова Г.П., Вайшля О.Б. Влияние на растения фитогормонов, синтезирующих ризосферными бактериями // Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – Т. 47, №3. – С. 302-307.
- 13 Лисицина Р.А., Рахимбаев И.Р. Фитогормоны – регуляторы роста растений. – М.: Наука, 1980. – С. 106-109.
- 14 Цавклова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцев Т.А., Петрусов А.И. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42, №3. – С. 261-268.
- 15 Патент 2314693 Россия, Ассоциация бактерий для получения биопрепарата, биопрепарат, повышающий плодородие почвы и оздоровляющий ее, обладающий противогрибковым и стимулирующим рост растений свойствами и способ его получения / Буяновский Э.К., Кудряшова Е.В., Санцевич Н.И., Кадомцева В.М. заявитель и патентообладатель ООО Био Агат Групп, №2005 124138/13; Заявл. 29.07.2005; Опубл. 2001. 2008.
- 16 Архипова Г.Н., Веселов С.Ю., Мелентьев А.И., Мартыненко Е.В. Сравнение действия штаммов бактерий, различающихся по способности синтезировать цитокинины, на рост и содержание цитокинов в растениях пшеницы // Физиология растений. – 2006. – Т. 53, №4. – С. 567-574.
- 17 Akkoprii A., Deneir S. Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria // J. Phytopatol. – 2005. – Т. 153, №9. – Р. 544-550.
- 18 Mikhailovskaya N. The effect of flax seed inoculation by *Azospirillum brasiliense* on flax yield and its quality // Plant soil and Environ. – 2006. – Vol. 52, №9. – P. 402-406.
- 19 Salantur A., Ozturk A., Akten S. Growth and yield response of spring wheat to inoculation with rhizobacteria // Plant soil and Environ. – 2006. – Vol. 52, №3. – P. 111-118.
- 20 Лотников А.К., Казакова М.Л., Злотников К.М., Казаков А.В. Новый бактериальный эндофит сельскохозяйственных культур // С.-х. биология. Серия биология растений. – 2006. - №3. – С. 62-66.
- 21 Макаров П.Н., Юрнина В.С., Трофимова А.Ф., Лисофеенко И.Б. Влияние семенной инокуляции ассоциативными штаммами бактерий на рост и продуктивность растений –

сидератов семейства крестоцветных // Сургут. Гос. Ун-т. Сборник научной трудов. – 2005. - №2. – С. 79-82.

22 Патика В.П., Стані перспективи досліджень мікробної азотофіксації // Онтогенез рослин, біологічна фіксація молекулярного азоту та азотний метаболізм – Тернопіль, 2001. – С. 111-115.

23 Compant S., Duffy B., Nowak J. et.al. Use of plant growth – promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action and future prospects // Appl. and Environ microbiol. – 2005. – Vol. 71, №9. – Р. 4951-4959.

24 Xie C.-H., Yokota A. Azospirillum oryzae sp. nov., a nitrogen – fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant Oryza sativa // Int. J. Syst. and Envol. Microbiol. – 2005. – Vol. 55, №4. – Р. 1435-1438.

25 Benitez T. Biocontrol mechanisms of Trichoderma Strains. T. Benitez, A.M. Rincon, M.C. Lim on, A.C. Codon // International Microbiology. – 2004. - №7. – Р. 249-260.

26 Алимова Ф.К. Биотехнология. Промышленное изменение грибов рода Trichoderma: учебно-методическое пособие / Ф.К. Алимова, Д.И. Тазетдинова, Р.И. Тухбатова. – Казань: УНИПРЕСС Даc. – 2007. – 234 с.

27 Гнеушова И.А., Павловская И.Е., Яковлева И.В. Биологическая активность грибов рода Trichoderma и их промышленное применение // Вестник Орел, ГАУ. – 2010. - №3. – С. 36-39.

28 Коломбет Л.В. Грибы рода Trichoderma как продуценты биоfungицидов: прошлое, настоящее, будущее // Тез. Докл. Первого съезда микологов «Современная микология в России». – Москва. – 2002. – С. 229.

29 Бондарь П.Н., Громовых Т.И., Садыкова В.С. Ростстимулирующая активность сибирских штаммов рода Trichoderma в отношении злаковых растений // Иммунология, Аллергология, Инфектология. – 2010. - №1. – С. 89.

30 Cihaugier Nilüfer. Stimulation of the gibberelic acid synthesis by Aspergillus niger in submerged culture using a precursor // World J. Microbiol. and Biotechnol. – 2002. – Vol.18, №8. – Р. 727-729.

31 Kuramata Masato, Fujioka Shozo, Shimada Atsumi, Kawano Tsuoshi, Kimura Yasuo. Citrinolactones A, B and C, and sclerotinin C, plant growth regulators from Penicillium citrinum // Biosci, Biotechnol. and Biochem. – 2007. – Vol. 71, №2. – Р. 499-503.

32 Kusano M., Sotoma G., Koshino H., Uzawa J. et.al. Brevicompanines A and B: new plant growth regulators produced by the fungus, Penicillium brevicompactum // J. Chem. Soc., Perkin Trans. – 1998. - №1.– Р. 2823-2826.

33 Синчурина Е.В., Крашенинникова Т.К. Новый препарат стимулятор роста растений «Мицэфит» // 4-ый Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития», Материалы конгресса. – М. – 2007. – С. 318.

34 Хамирова Х.М., Зухритдинова Н.Ю., Ташпулатов Ш. Ростстимулирующая активность микроорганизмов // 4-ый Московский Международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы растения», Материалы конгресса. – М.- 2007.- С. 342.

## Түйін

Н.Е.БЕКМАХАНОВА, О.Н.ШЕМШУРА, А.И.СЕЙТАЛЛОВА,  
Г.А.МОМБЕКОВА

«Микробиология және вирусология институты» РМК Алматы, Қазақстан

**РИЗОСФЕРАЛЫҚ МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ ӨСҮ  
ҚАРҚЫНДЫЛЫҒЫНЫң БЕЛСЕНДІЛІГІ**

Шолу мақалада микроорганизмдердің өсу қарқындылығының белсенділігіне және олардың биологиялық белсенді заттарды синтездейтін мәселесіне арналған әдеби мәліметтер берілген. *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Bacillus* және *Flavobacterium* бактериялардың түрлері кинетинді, зеатинді, изопентаниладенинді, индолил сірке қышқылды және басқа өсу қосындыларды синтездеу қабілеті көрсетілген.

Тұқымдардың өніп-өсуіне және өнімділігіне ризосфералық микроорганизмдердің қарқынды әсері өсімдіктердегі ассоциативті және симбиотикалық азотфиксациялануының активтенуімен және физиологиялық процестерімен байланыстылығы байқалған.

*Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mycelia sterilia*, *Fusarium* саңырауқұлактар түрлері, ризосфералық бактериялар сияқты ауксиндерді, цитокинinderді, органикалық қышқылдарды, аминқышқылдарды, дәрумендерді, гиббереллиндерді және басқа өсу заттарды продуценттеуге қабілеттілігі көрсетілген.

N. E.BEKMAKHANOVA, O. N.SHEMESHURA, A. I.SEITBATTALOVA,  
G. A.MOMBEKOVA

SNE “Institute of microbiology and virology” SK MES RK, Almaty, Kazakhstan

## THE GROWTH STIMULATING ACTIVE OF RHIZOSPHERICAL MICROORGANISMS

### Summary

In this form of article are shown literature data devoted to the question, growth stimulating activities of microorganisms and synthesizing by biological active things. Shown that bacterium *Pseudomanas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Bacillus* and *Flavobacterium* are able to synthesis kinetin, zeatin, isopeniladin, endolilacetic acid and other growing connections.

Mentioned that, stimulating activities of rhizospheric microorganisms to growing of seeds, growth and productivity is involved with an intensification associative and symbiotically nitric- fiction and physical activities of plants.

Shown that, fungi cultures *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mycelia sterilia*, *Fusarium* such as rhizospherical bacteriums are able to produce things such as auxins, cytokins, organic acid, amino acid, vitamins, gibberellins and other growing things.

**Key words:** rhizospherical microorganisms

Many microorganisms are associated with plants, which are able to synthesis things of phyto-hormone nature, which are important for them to its own evolution, also for setting connections with plants and with other soil organisms.

Foundation of hormone such as auxins, cytokins, gibberellins, abssithic, salicylic, jasmine acid one of the most important qualities risospherical, epiphytic and symbiotic bacterium which are stimulate the growth of plants [1-3].

Plant hormones help to plants to formulate the best root system, also activated metabolical functions of cells and increase coefficient of absorbing water and nutrient with a lot quantities, besides they increase not only stability of plants to disease, and also let them to pass more sensible stages to pathology in their early stages.

Microorganisms with low level of phyto-hormone for example auxins cannot to influence to growing process of plants, which proved importance of participation of hormone to growing activities rhizospherical microorganisms [4].

Known, that bacterium *Bacillus* are able to stimulate growing of pants and by this they use L-tryptophan root excretions for producing their own auxins. Analysis of the auxins in the culture liquid *B. subtilis* 4-13 which took part with help of HPLC showed that besides indole-3 acetic acid (IAA) in it discovered indole-3-lactic acid and indole -3 acetamide which formed on the way of biosynthesis IAA, and also indole-3-carboxylic and indole-3-aldehyde which are products of degradation IAA [5].

The most intensively *B. subtilis* 4-13 produced a 3-indolyl aldehyde and indole-3-lactic acid. Part of IAA in total fraction of the auxins are 7,8%. Besides, analysis of metabolites from series *B. subtilis* showed that this kind of bacilli is characterized by ability to synthesis of hexane antibiotics connected with double connection and the whole series of cyclic lipopeptides with different chemical structures [6]. May be, antifungal metabolites from the culture *B. subtilis* 4-13 belong to this group of antibiotics.

One of a recently exploitation of All Scientific Research Institute Agriculture Microbiology is wide demanding by farmers is a biological preparation extrasol which used in the capacity of microbiological fertilization growth stimulator of Bisolbi San, registered as fungicide, which is mordant of wheat seeds [7]. Basis of this preparation made of culture rhizosphere bacterium *Bacillus subtilis* 4-13.

Known that rhizobacterium which to the culture *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella* which synthesis IAA from triptophan by indolil-3-pyrovine acid and indolil-3-acetic aldegid.

Epiphytic and rhizosphere microflora of plants take the most important rule in becoming triptophan which contain in roots exudation, to IAA [8-9].

The culture of extract, *Azospirillum brasiliense* evolved like auxin things (phenyl acetic acid). Synthesis in bacterium takes with activity of indole-3 pyruvate decarboxylase, which is the main ferment in biosynthesis [10]. Shown that, biosynthesis of phenyl acetic acid with bacterium takes only in case with phenylalanine or its predecessors.

Cytokines also possess with stimulating activities, they are formulated with rhizobacterium which are belong to the type of *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus* [11-12]. Besides, microorganisms are able to synthesis, also kinetin, zeatin, izopenteniladenin and other producible in this way joining carbohydrates to phyto hormone molecule, in cell regulated concentration of active cytokine.

Presence of gibberellins in the culture liquid of bacterium cultures, was set up at first in 1965 year by Kasnelson and Koli [13]. Formulating of gibberellins peculiar to epiphytic and rhizosphere bacterium which are belongs to culture *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Clostridium*, *Agrobacterium* [14].

Fixed that, mix culture of rhizobacterium produces more phyto-hormones. So co-cultures of *Azospirillum brasiliense* and *Azobacter diazotrophicus* are able to synthesis more auxins, gibberellins and cytokines than pure culture of this bacterium.

In that time are found an associative symbionts more than from 110 types of plants, including food and scull grasses and vegetables. Preparation was made on a basis of associative nitrogen-fixative bacterium – “Flavobacterin” increase the grain harvest to 0,3-0,5 ton to 1 hectare, grasses to 1,4-1,8 ton to hectare, sugar-beets to 6-7 ton to 1 hectare, vegetables to 1,7-6 ton for 1 hectare, in consumption 300g of preparation for hectare rate of seeds. Also improved quality of production because of increasing of raw proteins to 1,5-2%; ascorbic acid to 15-20%.

“Rhizoenterin” another preparation increase rice harvest, winter crops wheat rye to 200-500kg for 1 hectare, and content of protein in crop. The both preparation improve mineral and water metabolism of plant because of absorbent intensification abilities of roots, stimulate growing of plants, increase their stability for disease, because they are antagonists of a microorganisms -phytopathogens.

“Rhizoentrin”, “Flavobacterin” and similar preparations: “Agrofil”, “Rizoagrin”, on the basis *Alcoligenes paradoxus* 207, and *Bacillus sp*. II don't satisfied all needs plants in nitrogen, but let to reduce the dose of carrying manure in soil and decrease the stage of nitrate pollution of the environment [15].

Known that, rhizospheric bacterium stimulate growing and evolution of plants not only because of biological formulation of active things, and because of abilities to nitrogen fixation, improvement water and mineral nutrition of plants, averting or decreasing of growth of phytopathogens thanking for an opportunities to synthesis things like bactericidal and fungicidal activities [16].

Stimulating activities of rhizosphere microorganisms to the growth of plants are connected with activation of associative and symbiotically nitrogen fixations and physiological processes of plants, improvement of mineral and nitrogen nutrition, increasing of accumulations of biological nitrogen in it.

Complex of affirmative effects influence of rhizosphere bacterium to plants and soils are wild used in practice of plant growing and exactly in a using of bacterial inoculation of seeds or claboration of plants during vegetation. Fore sowing inoculation of seeds with rhizobacterium from cultures *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Clostridium*, *Agrobacterium* and others substantively stimulate germination and growing of seeds; growth and plant productivity. These bacterium are used for inoculation of different agriculture – cereal, vegetable, siderite, bean [17-18].

Also noticed that stimulating activities of inoculation seeds of spring barley and sunflowers with bacterium *Klebsiella terrigene* E6 to the energy of growing and raise of barley from sort of Zernograd 321 [19].

Inoculation of seeds – green manure which associated with culture of bacterium made increase in seeds, size of leaves, mass of roots and over ground parts of plants. An increase to harvest such as mustard, olive radish, rape which are calculated for mass of plants made up accordingly 12-50, 15-24, and 51-129 % [20].

Bacterization of spring barley seeds with bio preparation microgumin (bio agent) *Azospirillum brasiliense* 410 to sod-podzolic soil provided increasing of productivity culture to 11,0-16,4%.

Fore sowing Bacterization of spring wheat seeds with preparation of «Rizoagrin» (bio agent *Agrobacterium radiobacter* 204) and «Rizoenterin» (bio agent *Enterobacter aerogenes* 30) help to increase corn productions to 15,2 and 21,9%, that made 4,94 and 7,14 c/ha for sort Early 93, 4,7 and 24,9% or 1,43 and 7,57 c/h for sort Collective [21-24].

In spite of bacterium, different stimulators of growing plants produce and evolved to environment rhizospheric fungi.

In last years, according with rapid developments of biotechnology interest increase to microscopically fungi from culture *Trichoderma* which is the basis for getting biological active things and resources for protecting plants.

Known that *Trichoderma* synthesis different metabolites: factors of growing (auxins, cytokines and ethylene), organic acids, intracellular amino acids, vitamins and over 100 antibiotics. Phytohormones *Trichoderma* (cytokinins) which are responsible for stimulation of physiological processes of plants are entered vegetal organism make its evolution more active [25]. During study of influence culture liquid *Trichoderma viride* to growth of pea, noticed that this culture increase growth of the roots 7 day (sprouts) micro plants to 2,5 (2,3) more in term to control [26].

Stimulating effect of the fungus *Trichoderma asperellum* M99/5 was revealed in early stages of evolution of plants, beginning with sprouting of seeds increase their energy of sprouting and germination. Fungus make stimulating actions to accumulation of chlorophyll to plants, also increase content of carbohydrate and proteins. Entering of fungus of this culture to rhizosphere greatly activated many ferment of plants – invertase, catalase, amylase, urease increase the intensity of oxidize- reconstruction processes, photosynthesis and absorbing of nutritious elements of root system. Also fungi from culture *Trichoderma* make good influence to production of plants: by their action increased total and productive bush, final yield, mass of seeds (27-29).

Other different soil fungi are able to synthesis hormones. Fixed that, deep culture *Aspergillus niger* in using wild known predecessor of mevalonic acid in concentration 60 mkm help to produce gibberellic acid in environment and to increase bio mass of the fungus [30].

In culture liquid of fungus *Penicillium citrinum* revealed new metabolites with active phyto hormones. Their structure were appointed with using of different chromatographic and spectroscopic methods including nuclear magnetic resonance (NMR). They are all derivative isocoumarine: one connection consist from two rings which take name sclerotinin C (SkC) and

other three consisting from three rings named cytrinolactons (Cl)A, B and C. The metabolites (Cl) A and SkC stimulate growth of roots proportional concentration in range 3-300mg/l (Cl)B, on the contrary, in concentration 300 mg/l put down completely growth of roots, (Cl)C hasn't an influence on growth of roots [31].

In Japan marked out fungus *Penicillium brevicompactum*, which is able to produce stimulating growth of plants connection. "Brevicompanins A and B" which are new regulators of growth of plants [32].

New preparation "Mitsefit" assigned for stimulating growth and evolution of plants, also an increase of their reproductive potential was made of on a basis endophyty fungus *Mycelia sterilia*. Preparation is sterile leophilic dried natural balanced complex biological active things, in mixture which revealed sugar, amino acid, fatty acids, phytohormones such as cytokinins, gibberellins, auxins.

Preparation "Mitsefit" has great effect in a little concentration (10-100 ppm), combine with presence technology culture and protect of agriculture. Refinement of plants put into practice by the way of soaking seeds and/or spraying. Refinement of seeds by preparation "Mitsefit", increase germination, productive bush of cereal plants, speed up accumulation of bio mass. The most effect of biostimulating observed during unfavorable condition for growing of plants: poor soil, lack of moisture, presence of different anthropogenic pollutants [33].

Discovered that non-pathogenic strains of *Fusarium moniliforme* -2-and *Fusarium moniliforme* -5 providing like gibberelin activity to plants. In conclusion of studying bio chemical characteristics of culture showed that in endo- and exo-fungal metabolites have gibberlic acid GA3, which showed high growth of stimulating activities to sprout of maize of sort K-945 and cotton Namangan-77. Found that pre-sowing seed cotton and maize with 0,01% solution of *F. moniliforme*-2 combining with root feeding this preparation in condition vegetation and field piece of woodland experience, have high stimulating action to growth, evolution of maize and cotton. In this the productivity made up 6,5 c/h with comparing to control variation [34].

From these materials obviously is perspective of having work, which opens opportunities of search and using new cultures of rhizosphere bacterium and fungi in practice of plant growing.

Use of preparations on basis of stimulating bacterium and fungi help to decrease chemical load to ecosystem in consequence of decreasing of quantity using mineral manures and chemical resources of plant protection, carried out to an increase of productivities and improvement of ecological qualities of pure productions.

#### **References:**

- 1 Patent 2322061 Russia Bio preparation for increasing of productivity agriculture and increasing of production quality / Afanaseva E.N.Tuyminsova N.S. Afanaseva N.E... OOO Eco biotech NPO. №200 6112903/13 demanded 15.04.2006. Established 20.04.2008.
- 2 Morgyn B.B. Kos S .Y. Kirishenko E.B. Growth stimulating ritho bacterium and its practically using// Physiology and bio chemistry of culture plants. -2009.-T.4, №3 – P.187-206.
- 3 Kameneva S.B. Murones E.M. Genetic control of interaction of bacterium with plants in association // Genetics.- 1999.-T.35, №11 P1480-1494.
- 4 Maksimov B.B. Abizgildina R.R. Pusenkova L.I. Stimulating microorganisms to growth of plants such an alternative for chemical things, protection from pathogens // Applied bio chemistry and microbiology. – 2011.- T.47, №4 P. 373- 385.
- 5 Volkova E.N. Bacterium preparation increase the harvest and quality of leek// Potatoes and vegetables.- 2007.- №2.- P20.
- 6 Koumoutsi A., Chen X.-H., Henne A., Liesegang H., Hitzeroth G. et. al. *B. subtilis*-produsion of gecson antibiotics // J. Bacteriol.- 2004. -Vol.186, №4.-C.1084-1096.
- 7 Bio preparations in agriculture (methodology and practice, use of microorganisms in plant growing and forage production.) Editor I.A. Tihonovich. U.B. Kruglov. M. Estab Rus agricultural academy. - 2005. – 154p

- 8 Kravchenko A. B. Azarova T.S. Makarova N.M. Tihonovich I.A. Role of typtofana in root ecsometabolits for phytostimulating activities of rhizospheric bacteria// Microbiology. -2004. -T.73.-№2.-P.195-198.
- 9 Kravchenko L. B. Role of root ecsometabolits in integration of microorganisms with plants. Abtoref. diss...d.b.n.-M.2000.-51p
- 10 Sivakumar V., Kennedy Z.J., Kumutha K. Intence of Azospirillum and Azotobacter in leaf yield and leaf chlorophyll content of mulberry (*morus alba*) //J. Ecobiol.-2004.-T.16, №6.- P.471-474
- 11 Somers E., Ptacek D..Gysegan P.et.al. Azospirillum brasiliense produces the auxin like phenilacetic acid by using the key enzyme for indole-3-acetic acid biosynthesis //Appl and Environ. Microbiol. – 2005. -T.71, №4.- P.1803-1810.
- 12 Sokolova M.G., Akimova G.P., Baishlya O. B. An Influence of phytohormones to plans synthesizing with rhizospheric bacteria // Applied bio chemistry and microbiology. -2011. – T.47, №3.-P.302-307.
- 13 Lisesina R.A., Rahimbaeva I.R., Phytohormones – regulator growth of plants. M Science.-1980.-P.106-109.
- 14 Savkelova E.A., Klimova S. U., Cherdymsev T.A., Petrusov. A.I. Hormones and hormone similar connection of microorganisms //Applied bio chemistry and microbiology. -2006. -T.42, №3. -P. 261-268.
- 15 Patent 2314693 Russia. Association of bacterium for taking bio preparation, bio preparation increasing fertility of soil and rendering it having antifungal and growth stimulating qualities and way of taking it / Buyanovsky E.K., Kudryashova E.V., Sansevych N.I., Kadomseva V.M.; OOO BIO Agat Group. №2005 124138/13 demanded. 29.07.2005. Established 2001. 2008.
- 16 Arhipova G.N., Veselov S.U., Melentev A.I., Martynenko E.V. Comparing of bacterium culture actions, distinguishing by abilities of to synthesis cytokines to growth and content of cytokines in wheat plants // Physiology of plants.-2006.- T.53, №4. –P.567-574.
- 17 Akkoprii A., Deneir S. Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by AMF Glomusin traradices and some rhizospheric bacteria //J. Phytopatrol.- 2005. – T. 153, №9.- P.544-550.
- 18 Mikhailovskaya N. The effect of flax seed inoculation by Azospirillum brasiliense on flax yield and its quality// Plant soil and Environ.-2006.-Vol.52, №9. – P.402-406.
- 19 Salantur A., Ozturk A., Akten S. Growth and yield response of spring wheat to inoculation with rhizobacteria // Plant soil and environ.-2006. - Vol.52, №3.P.111-118
- 20 Zlotnikov A.K., Kazakova M.L., Zlotnikov K.M., Kazakov A.V. New bacterial endophyte of agriculture // S. –h biology. Series of plant biology. – 2006. -№3.-P.62-66.
- 21 Makarov P.N., Uyrgina V.S., Trophimova A.F., Lisofenko I. B. An influence of seed inoculation associative culture of bacterium to growth and productivity of sidrate plant which is from family crucicolour. // Surgut. Goe Collection of scientific works. 2005.-№2.- P.79-82.
- 22 Patika V.P. Стані перспективи дослідженъ мікробні азотофіксції // Онтогенез рослин. Біологічна фіксація молекулярного азоту та азотний метаболізм – Тернопіль. 2001. –С. 111-115.
- 23 Compart S., Duffy V, Nowak J. et. al. Use of plant growth promoting bacteria for bio control of plant diseases: Principles, mechanisms of action and future prospects //Appl. And environ microbiol. – 2005. – Vol.71, №9. – P.4951-4959.
- 24 Xie C. – H., Yokota A. *Azospirillum oryzae* sp. Nov... a nitrogen – fixing bacterium isolated from the roots of the rice plant *Oryza sativa* // Int. J. Syst. And Envol. Microbiol. 2005.- Vol.55, №4. – P.1435-1438.
- 25 Benitez T. Bio control mechanisms of *Trichoderma* Strains. T. Benitez. A.M.Rineon. M.C. Limon. A.c. Codon // International Microbiollogy. 2004. -№7.- P. 249-260.
- 26 Alimova F.K. Bio technology. Industrial changes of mushrooms from culture *Trichoderma*: educational methodology aid / F.K. Alimova. D.I. Tazetdinova. R.I. Tuhbatova. Kazan: UNIPRESSDaS. 2007. -234 p.
- 27 Gneushova I. A., Pavlovskya I.E., Yakovleva I.B. Biological activity of mushrooms from culture *Trichoderma* and its industrial using //Bestnik Orel. GAU. – 2010. -№3.- P. 36-39.
- 28 Kolombet L.B. Mushrooms culture of *Trichoderma* like produces of bio fungicides: past, present, future // Tez Presen. The first convention of mycologists “ Modern mycology in Russia” Moscow. – 2002. – P.229.
- 29 Bondar P.N., Gromobuh T.I., Sadykova V.S. Growth stimulating activity of Siberian culture of *Trichoderma* in attitude to cereal plants// Immunology, Allergology, Infect ology.-2010. -№1.- P.89.
- 30 Cihaugier Nilufer. Stimulation of the gibberelic acid synthesis by *Aspergillus niger* in submerged culture using a precursor // Woorld J. Microbiol. And Biotechnol.- 2002.- Vol.18, №8. – P.727-729

- 31 Kuramata Masato, Fujioka Shozo, Shimada Atsumi, Kawano Tsuoshi, Kimura Yasuo. Citrinolactones A, B and C, sclerotinin C. plant growth regulators from Penicillium citrinum // Biosei. Biotechnol. and Biochem. -2007. -Vol. 71, №2 –P.499-503.
- 32 Kusano M., Sotoma G., Koshino H., Uzawa J. et.al. Brevicompanines A and B new plant growth regulators produced by the fungus. Penicillium brevicompactum //J Chem. Soc. Perkin Trans. – 1998. - №1. – P. 2823-2826.
- 33 Sinchurina E.V., Krasheninnikova T.K. New preparation growth stimulator of plants “Misefit” // the fourth Moscow international congress “Biotechnology: condition and develop perspective”. Congress materials. M. – 2007. -P.318.
- 34 Hamidova H.M., Zuhritdinova N.U., Tasshpulatov Sh. Growth stimulating activity of microorganisms // the fourth Moscow international congress “Biotechnology: condition and develop perspective”. Congress materials. M. – 2007.- P.342