

ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2014 * № 3

On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© Коллектив авторов, 2014

УДК 57.065, 579.262, 631.472.74, 582.6/9, 58.051

Е.С. Корсакова¹, А.А. Пьянкова¹, О.Н. Гагарских², А.В. Назаров^{1, 2}

**РИЗОСФЕРНЫЕ БАКТЕРИИ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАСТЕНИЯМИ
БЕСКИЛЬНИЦЫ РАССТАВЛЕННОЙ (*PUCCINELLIA DISTANS* (JACQ.) PARL.),
ПРОИЗРАСТАЮЩИМИ НА ТЕРРИТОРИИ СОЛЕРАЗРАБОТОК**

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

² Пермский государственный национальный исследовательский университет,
Пермь, Россия

Цель. Изучить таксономическое разнообразие бактериального сообщества ризосферы растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.) из района промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей (г. Соликамск, Пермский край).

Материалы и методы. Для идентификации бактерий использовался анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК.

Результаты. Из ризосферы растений *P. distans* выделены 26 штаммов бактерий, относящиеся к родам *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*. При этом доминирующими являлись микроорганизмы рода *Pseudomonas*, доля которых составляла 93,8% от общей численности выделенных микроорганизмов.

Заключение. В ризосфере бескильницы расставленной обнаружены бактерии родов *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*. При этом доминирующими являлись представители рода *Pseudomonas*, доля которых составляла 93,8% от численности выделенных ризосферных микроорганизмов. Полученные данные позволяют предположить наличие тесных симбиотических связей между представителями рода *Pseudomonas* и растениями в условиях засоления. Данные микроорганизмы по нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК обнаруживали близкое сходство с морским штаммом *Pseudomonas xanthomarina* КММ 1447^T.

Ключевые слова: засоленные почвы, ризосфера, бактерии, филогенетическое разнообразие, ген 16S рРНК.

Е.С. Korsakova¹, А.А. Pyankova¹, О.Н. Gagarskykh², А.В. Nazarov^{1, 2}

**RHIZOSPHERE BACTERIA ASSOCIATED WITH *PUCCINELLIA DISTANS* (JACQ.)
PARL. GROWING IN THE SALT DEPOSIT AREA**

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, UrB RAS, Perm, Russia

² Perm State National Research University, Perm, Russia

Objective. The aim of this work was to study the taxonomic diversity of the bacterial community in the rhizosphere of plants *Puccinellia distans* (Jacq.) Parl. from the area of industrial development of Verkhnekamsk salt deposit (Solikamsk, Perm region).

Materials and methods. To identify the bacteria the analysis of nucleotide sequences of 16S rRNA was used.

Results. The 26 strain bacteria of the genera *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus* were allocated in the rhizosphere *P. distans*. At the same time the bacteria of the genus *Pseudomonas* were predominant with their proportion of 93,8% within the isolated rhizosphere microorganisms.

Conclusion. In the rhizosphere *Puccinellia distans* there were found the bacteria of the

genera *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*. At the same time the bacteria of the genus *Pseudomonas* were predominant with their proportion of 93,8% within the isolated rhizosphere microorganisms, that indicates the presence of close symbiotic relationships between them and plants under the saline conditions. The bacteria showed the closest similarity to the marine strain of *Pseudomonas xanthomarina* KMM 1447^T in the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene.

Key words: saline soil, rhizosphere, bacteria, phylogenetic diversity, 16S rRNA gene.

Введение

Исследование биоразнообразия ризосферного микробного сообщества растений засоленных местообитаний необходимо для более полного понимания функционирования микробно-растительных симбиозов в условиях засоления, выявления механизмов адаптаций ассоциаций микроорганизмов и растений к засолению, а также для идентификации штаммов для дальнейшего их использования с целью повышения продуктивности растений при засолении. Между тем в условиях гумидного климата и техногенного засоления почвы биоразнообразие ризосферных бактериальных сообществ остается слабо изученным. На территории Пермского края техногенное засоление почв обусловлено, прежде всего, добычей солей на Верхнекамском месторождении и приурочено к отходам добычи солей (галитовым отвалам).

Целью настоящей работы было изучение таксономического разнообразия бактериального сообщества ризосферы растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), которая является одним из доминирующих видов фитоценозов наиболее засоленных участков территории района промышленных разработок Верхнекамского месторождения солей (г. Соликамск, Пермский край).

Материалы и методы исследования

Для исследования были отобраны образцы ризосферы растений бескильницы расставленной (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), произрастающих в районе разработок Верхнекамского месторождения калийно-магниевых солей (ВКМКС). Участок отбора проб расположен в непосредственной близости от солеотвала СКПРУ-2 предприятия ОАО «Уралкалий» (г. Соликамск, Пермский край) и имеет засоленную почву, охарактеризованную как дерново-подзолистая. Общее содержание солей в почве – 1,0%, концентрация ионов Na^+ – 2,31 мг-экв/100 г почвы, рН водной вытяжки – 7,42. Содержание катионов Na^+ в почве определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре АА-6300 («Shimadzu», Япония). Общую минерализацию оценивали со-

гласно методике [1].

Отбор, пробоподготовку и микробиологический анализ ризосферы растений проводили общепринятыми методами [2]. В работе использовали агаризованную среду Раймонда с внесением 5 г/л триптона, 2,5 г/л дрожжевого экстракта и 50 г/л NaCl [3].

Аmplификацию фрагмента гена 16S рНК проводили с использованием бактериальных праймеров 27F и 1492R согласно методике [4]. Филогенетический анализ изолятов был основан на определении нуклеотидных последовательностей гена 16S рНК с применением набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystems», США).

Результаты и обсуждение

Из ризосферы растений бескильницы расставленной выделены 26 штаммов бактерий. Все изоляты идентифицированы на основе анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рНК (табл. 1) и отнесены к трем филумам: *Proteobacteria* (класс *Gamma*proteobacteria), «*Actinobacteria*» (класс *Actinobacteria*), *Firmicutes* (класс *Bacilli*).

Наибольшим видовым разнообразием и численностью характеризовался класс *Gamma*proteobacteria, представители которого составляли 97,8% от общей численности бактерий, выделенных из ризосферы. Микроорганизмы класса *Gamma*proteobacteria, изолированные из ризосферы бескильницы, близкородственны родам *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter*. Большую численность имели представители рода *Pseudomonas*, их доля составляла 93,8%, что согласуется с литературными данными [5]. Выделенные нами бактерии рода *Pseudomonas* из ризосферы бескильницы имели наибольшее сходство со штаммом *Pseudomonas xanthomarina* КММ 1447^T, обнаруженным в морских экосистемах [6].

Представители рода *Halomonas* являются типичными обитателями засоленных экосистем, в том числе и ризосферы растений, произрастающих на почве с повышенной минерализацией [3, 7]. В ризосфере *P. distans* выявлены галофильные бактерии близкородственные *Halomonas variabilis* DSM 3051^T (табл. 1).

Доля бактерий классов *Actinobacteria* и *Bacilli* в ризосфере составляла 1,9 и 0,3%, соответственно.

Таблица 1 Анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК изолированных штаммов бактерий

Исследуемый штамм	Типовой штамм	Сходство, %	Количество нуклеотидов
BR6	<i>Halomonas variabilis</i> DSM 3051 ^T (AJ306893)	99,42	1401
BR7	<i>Pseudomonas xanthomarina</i> KMM 1447 ^T (AB176954)	98,93	1397
BR9-111		98,62	871
BR18		98,93	1400
BR19-12		98,60	860
BR22-11		98,93	1399
BR22-12		98,92	1396
BR22-22		98,92	1396
BR24-1		98,93	1404
BR25-221		98,63	875
BR15		<i>Serratia glossinae</i> C1 ^T (FJ790328)	97,35
BR21	97,30		1413
BR23	97,36		1406
BR24-2	<i>Enterobacter aerogenes</i> KCTC 2190 ^T (CP002824)	98,76	808
BR2	<i>Bacillus marisflavi</i> TF-11 ^T (AF483624)	99,93	1400
BR14		99,89	880
BR1-1	<i>Bacillus vietnamensis</i> 15-1 ^T (AB099708)	99,77	865
BR17-1		99,70	1413
BR20-21		99,70	1420
BR20-22		99,76	846
BR3-21		98,77	818
BR3-22(1)	<i>Arthrobacter nicotianae</i> DSM 20123 ^T (X80739)	98,82	850
BR3-22(2)		98,82	850
BR4-2		98,82	847
BR9-122	<i>Rhodococcus fascians</i> DSM 20669 ^T (X79186)	100	887
BR11-2	<i>Rhodococcus wratislaviensis</i> NCIMB 13082 ^T (Z37138)	100	850

В таблице 1 представлены бактерии, перечисленных выше классов, имеющие наибольшее филогенетическое сходство с представителями родов *Arthrobacter*, *Rhodococcus* и *Bacillus*.

Заключение

Таким образом, в ризосфере растений бескильницы расставленной обнаружены бактерии родов *Halomonas*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter*,

Bacillus, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*. При этом доминирующими являлись представители рода *Pseudomonas*, доля которых составляла 93,8% от численности выделенных ризосферных микроорганизмов.

Полученные данные позволяют предположить наличие тесных симбиотических связей между представителями рода *Pseudomonas* и растениями в условиях засоления. Данные микроорганизмы по нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК обнаруживали близкое сходство с морским штаммом *Pseudomonas xanthomarina* КММ 1447^Т.

Выделенные нами бактерии рода *Pseudomonas* могут служить основой для создания биопрепаратов, обладающих протекторным действием на растения в условиях повышенной минерализации.

(Работа поддержана грантом РФФИ-Урал №13-04-96048 р_урал_a и грантом CRDF Global – УрО РАН (Грант. согл. № RUB2-7100-PE-13).

ЛИТЕРАТУРА

1. Практикум по агрохимии: учебное пособие / Под ред. В.Г. Минеева. М.: МГУ, 2001. 689 с.
2. Методы почвенной микробиологии и биохимии: учеб. пособие / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: МГУ, 1991. 304 с.
3. Корсакова Е.С., Пьянкова А.А., Назаров А.В. Филогенетическое разнообразие бактерий, выделенных из ризосферы мари красной (*Chenopodium rubrum* L.), произрастающей в условиях засоления на территории солеразработок. Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2013. Вып. 3: 47-51.
4. Молекулярная генетика: учеб.-метод. пособие / Под ред. С.В. Боронниковой. Пермь: Перм. ун-т., 2007. 150 с.
5. García L., Domenech J., Santamaría C., et al. Growth of forest plants (pine and holm-oak) inoculated with rhizobacteria: relationship with microbial community structure and biological activity of its rhizosphere. *Environment Experimental Botany*. 2004. 52 (3): 239–251.
6. Romanenko L.A., Uchino M., Falsen E. et al. *Pseudomonas xanthomarina* sp. nov., a novel bacterium isolated from marine ascidian. *Journal of General and Applied Microbiology*. 2005. 51 (2): 65-71.
7. Llamas I., del Moral A., Martínez-Checa F. et al. *Halomonas maura* is a physiologically versatile bacterium of both ecological and biotechnological interest. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2006. 89 (3-4): 395-403.
8. Dimkpa C., Weinand T., Asch F. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell and Environment*. 2009. 32: 1682-1694.

Поступила 03.07.2014

(Контактная информация: **Корсакова Екатерина Сергеевна** - младший научный сотрудник Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН; адрес: 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13; тел.: 8(342)2808431; e-mail: Camomille-08@mail.ru.)