Study of the population dynamics of endophytic bacteria introduced into winter wheat

Ananyeva I.N., Aleschenkova Z.M., Rybaltovskaya P.V., Chindareva M.A.

Institute of Microbiology, NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

E-mail: ananeva@mbio.bas-net.by

Key message. High efficiency of introducing endophytic microbiota was demonstrated upon application of nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing bacteria for pre-sowing treatment of winter wheat seeds.

Keywords: endophytic bacteria, wheat, introduction

One of the main functions of endophytic microorganisms is to provide the host with nutrient elements such as nitrogen and phosphorus by converting them into easily digested forms. Endophytic bacteria are able to produce plant hormones and to provide a growth-promoting effect on plants, which is particularly important at the early stages of plant ontogenesis.

Aim. Study of the population dynamics of endophytic bacteria introduced into winter wheat.

Methods. The introduction of antibiotic-resistant strains of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing endophytic bacteria was carried out by inoculating winter wheat seeds of "Bogatka" variety. Microbiological culture of plant samples (root, stem, leaf) of winter wheat were plated on the media (Ashby and glucose-aspartic with calcium orthophosphate) containing rifampicin in concentration 0.150 µg / ml on 14 and 21 days after inoculation.

Seed inoculation is an effective method of wheat treatment with endophytic bacteria, providing high introduction capacity.

Seeds were inoculated. Under model conditions with nitrogen-fixing strain *Rahnella aquatilis* A3K (nitrogen-fixing activity in pure culture – 38 nM C₂H₄ vial per day, phosphate-mobilizing activity - diameter of calcium phosphate dissolution zones – 19.5 mm, IAA synthesis – 72 µg/ml) and phosphate-mobilizing strain *Pantoea agglomerans* 6SK (phosphate-mobilizing activity - diameter of calcium phosphate dissolution zones – 17.5 mm, IAA synthesis – 133 µg/ml). The treatment resulted in accumulation of nitrogen-fixing bacteria in roots, stems and leaves of seedlings by 14 days in cell titers $(2.360 \pm 0.147) \cdot 10^7$, $(2.681 \pm 0.045) \cdot 10^8$, $(7.958 \pm 0.800) \cdot 10^6$ CFU/g, respectively, and of phosphate-mobilizing bacteria – $(3.780 \pm 0.207) \cdot 10^7$, $(4.723 \pm 0.003) \cdot 10^8$, $(1.336 \pm 0.201) \cdot 10^7$ CFU/g, respectively. On 21 days after inoculation, the number of endophytic nitrogen fixing species in the roots, stems, and leaves increased to $(8.849 \pm 0.147) \cdot 10^7$, $(3.920 \pm 0.040) \cdot 10^8$, $(9.130 \pm 0.435) \cdot 10^6$ CFU/g respectively. The cell titer of phosphate-mobilizers by 21 days constituted $(1.055 \pm 0.068) \cdot 10^8$, $(2.240 \pm 0.120) \cdot 10^8$, $(5.609 \pm 0.217) \cdot 10^6$ CFU/g, respectively.

In model experiments, the high efficiency of using seed treatment for the introduction of endophytes was established.

Изучение динамики численности интродуцированных эндофитных бактерий озимой пшеницы

Ананьева И.Н., Алещенкова З.М., Рыбалтовская П.В., Чиндарева М.А.

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Аннотация. На основании результатов использования азотфиксирующих и фосфатсольбилизирующих эндофитных бактерий для обработки семян озимой пшеницы установлена высокая эффективность данного способа интродукции эндофитов.

Ключевые слова: эндофитные бактерии, пшеница, интродукция

Одной из основных функций эндофитных микроорганизмов является обеспечение хозяина питательными элементами, такими как азот и фосфор, путем перевода их в легкоусвояемые формы. Эндофитные бактерии способны продуцировать растительные гормоны и оказывать ростстимулирующий эффект на растение, что особенно важно на ранних стадиях онтогенеза растений.

Цель. Изучить динамику численности интродуцированных эндофитных бактерий озимой пшеницы.

Методы. Интродукцию антибиотикорезистентных штаммов азотфиксирующих и фосфатсольбилизирующих эндофитных бактерий осуществляли методом инокуляции семян озимой пшеницы сорта «Богатка». Микробиологический посев растительных образцов (корень, стебель, лист) озимой пшеницы на среды (Эшби и глюкозо-аспарагиновую с орто-фосфатом кальция) с рифампицином в концентрации 150 мкг/мл проводили через 14 и 21 сутки после инокуляции.

Эффективным способом обработки эндофитными бактериями растений пшеницы, обеспечивающим высокую интродуцирующую способность, является инокуляция семян. В модельных условиях обработку семян проводили азотфиксирующим штаммом *Rahnella aquatilis* A3K (азотфиксирующая активность в чистой культуре – 38 нМ C₂H₄ фл./сут, фосфатмобилизующая активность – диаметр зон растворения фосфатов кальция – 19,5 мм, синтез ИУК – 72 мкг/мл) и фосфатсольбилизирующим штаммом *Pantoea agglomerans* 6SK (фосфатмобилизующая активность – диаметр зон растворения фосфата кальция – 17,5 мм, синтез ИУК – 133 мкг/мл) обеспечивает накопление азотфиксирующих бактерий в корне, стебле и листьях проростков через 14 дней в количестве $(2.360 \pm 0.147) \cdot 10^7$, $(2.681 \pm 0.045) \cdot 10^8$, $(7.958 \pm 0.800) \cdot 10^6$ КОЕ/г, соответственно, а фосфатмобилизующих бактерий – $(3.780 \pm 0.207) \cdot 10^7$, $(4.723 \pm 0.003) \cdot 10^8$, $(1.336 \pm 0.201) \cdot 10^7$ КОЕ/г, соответственно. На 21 сутки после инокуляции численность эндофитных азотфиксаторов в корне, стебле и листьях увеличилась и составила $(8.849 \pm 0.147) \cdot 10^7$, $(3.920 \pm 0.040) \cdot 10^8$, $(9.130 \pm 0.435) \cdot 10^6$ КОЕ/г. Численность фосфатмобилизаторов на 21 сутки составила $(1.055 \pm 0.068) \cdot 10^8$, $(2.240 \pm 0.120) \cdot 10^8$, $(5.609 \pm 0.217) \cdot 10^6$ КОЕ/г, соответственно.

В модельных экспериментах установлена высокая эффективность использования обработки семян для интродукции эндофитов.