Bacteria of *Pseudomonas* genus in sugar beetrogenesis

Bezler N.V., Petyurenko M.Yu.

Federal State Budgetary Scientific Institution "The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar", Voronezh
E-mail: bezler@list.ru

Key message. Bacteria of *Pseudomonas* genus able to fix nitrogen and to produce heteroauxin are developed on roots of sugar beet. Their isolation from rhizoplane and introduction onto surface of sugar beet leaf apparatus promotes development of aerobic spore-forming bacteria, ammonifiers, and nitrogen immobilizers that activates growing of leaf blade growth, syntheses of sucrose and growth of beet roots.

Keywords: bacteria, *Pseudomonas* sp., *P. fluorescens*, ammonifiers, immobilizers

Bacteria of *Pseudomonas* genus are assigned to microorganisms capable to activate growth and development of plants at the expense of atmosphere nitrogen fixation and physiologically active substances production. Pseudomonads are one of the most numerous groups of microorganisms in the zone near plant roots and remarkable for great colonizing ability [1]. Their use in agriculture is one of actual directions of ecological agriculture development.

Aim of the investigations is to study influence of *Pseudomonas* genus bacteria isolated from sugar beet rhizoplane on microbial community of leaves and to reveal interaction between the bacteria and plants.

In the Laboratory of soil ecological-microbiological studies (Federal State Budgetary Scientific Institution "The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar"), *Pseudomonas fluorescens* 116 and *Pseudomonas* sp. 75 were isolated from sugar beet rhizoplane. Genus and species to which they belonged were identified with the help of molecular-genetic methods, and their ability to fix nitrogen was determined by presence of the gene *nifH* coding nitrogenase [2].

Ability of *P. fluorescens* 116 to produce heteroauxin was shown in a laboratory experiment with Salkovsky reagent.

Based on the laboratory investigations, a field experiment was set up [3]. Cultivation methods were common for the Central Black-Earth Region. Suspension of bacterial cultures were applied by pneumatic sprayer. A titre of viable bacterial cells was 10^{8-10} colony-forming units/ml. Working solution consumption was 200 l/ha. The experiment was designed with 4 replications.

The investigation results showed that introduction of *P. fluorescens* 116 and *Pseudomonas* sp.75 onto sugar beet leaf surface made the number of aerobic spore-forming bacteria (with many antagonists of phytopathogens revealed among them) more by 0.0081 and 0.0091 million of colony-forming units per 1 cm² of leaf area accordingly (vs. 0.0003 in the control). Quantity of ammonifiers and nitrogen immobilizers increased by 33 % and 0.019-0.136 million of colony-forming units per 1 cm² of leaf area accordingly (vs. 0.0001 in the control). It indirectly testified to increase of nitrogenous substances' supply for leaf surface. Practically, it could be compared with foliar application of nitrogen for plants. This method promoted growth of leaf blade mass due to its thickening by 46 %. Sugar content of beet roots improved by 0.3 %, and productivity had a 2.2 t/ha gain only when spraying sugar beet with *P. fluorescens* 116 10^8 colony-forming units/ml.

Бактерии рода *Pseudomonas* в агроценозе сахарной свеклы

Безлер Н.В., Петюренко М.Ю.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара им. А.Л. Мазлумова». Воронеж, Россия

Аннотация. На корнях сахарной свеклы развиваются бактерии рода *Pseudomonas*, которые способны фиксировать азот и продуцировать гетероауксин. Выделение их из ризопланы и интродукция на поверхность листового аппарата сахарной свеклы способствует развитию аэробных спорообразующих бактерий, аммонификаторов, иммобилизаторов азота, что активизирует рост листовой пластинки, синтез сахарозы и рост корнеплодов.

Ключевые слова: бактерии, *Pseudomonas* sp., *P. fluorescens*, аммонификаторы, иммобилизаторы

Бактерии рода *Pseudomonas* относятся к микроорганизмам, способным активизировать рост и развитие растений за счет фиксации азота атмосферы и продуцирования физиологически активных веществ. Псевдомонады являются одной из наиболее многочисленных групп микроорганизмов в прикорневой зоне растений и отличаются высокими колонизирующими свойствами [1]. Использование их в сельском хозяйстве – одно из актуальных направлений развития экологического земледелия.

Цель исследований: изучить влияние бактерий рода *Pseudomonas*, выделенных из ризопланы сахарной свеклы, на МСО листьев и определить их взаимодействие с растениями.

В лаборатории эколого-микробиологических исследований почв ФГБНУ «ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова» были выделены *Pseudomonas fluorescens* 116 и *Pseudomonas* sp. 75 из ризопланы сахарной свёклы. Родовую и видовую их принадлежность идентифицировали с помощью молекулярно-генетических методов, способность фиксировать азот по наличию гена *nifH*, кодирующего нитрогеназу [2].

В лабораторном опыте с реактивом Сальковского была показана способность *P. fluorescens* 116 продуцировать гетероауксин.

На основании лабораторных исследований был заложен полевой опыт [3]. Технология возделывания – общепринятая для ЦЧР. Суспензию бактериальных культур вносили помповым опрыскивателем. Титр жизнеспособных бактериальных клеток – 10^{8-10} КОЕ/мл. Расход рабочей жидкости – 200 л/га. Повторность опыта – четырехкратная.

Результаты исследований показали, что интродукция *P. fluorescens* 116 и *Pseudomonas* sp. 75 на поверхность листьев сахарной свеклы повысила численность аэробных спорообразующих бактерий (среди них выявлено много антагонистов фитопатогенов) соответственно на 0,0081 и 0,0091 млн КОЕ на 1 см² листовой поверхности (в контроле 0,0003). Численность аммонификаторов выросла на 33 %, а иммобилизаторов азота – на 0,019 – 0,136 млн КОЕ на 1 см² листовой поверхности (в контроле 0,0001) соответственно. Это косвенно свидетельствует об увеличении поступления азотистых веществ на поверхность листьев. Что практически можно сравнить с внекорневой подкормкой растений азотом. Этот прием способствовал нарастанию массы листовой пластинки за счет увеличения ее толщины на 46%. Сахаристость корнеплодов увеличилась на 0,3 %, а урожайность на 2,2 т/га только при опрыскивании сахарной свеклы *P. fluorescens* 116 с титром 10^8 КОЕ/мл.

1. Логин О.Н. Бактерии *Pseudomonas* и *Azotobacter* как объекты сельскохозяйственной биотехнологии. – М.: Наука, 2005. – 166 с.

2. Безлер Н.В., Хуссейн А.С., Петюренко М.Ю. ПЦР идентификация и генетическое разнообразие *Pseudomonas fluorescens*, выделенных из агроценоза сахарной свёклы (*Beta vulgaris* L.) // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2016. – № 1. – С. 43-49.

3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта: с основами статистической обработки результатов исследований, 5-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.