

БАКТЕРИИ *PSEUDOMONAS AURANTIACA* В-162 КАК ОБЪЕКТ АГРОБИОТЕХНОЛОГИИ

Феклистова И.Н., Максимова Н.П.

Белорусский государственный университет, г.Минск, Беларусь

Feklistova_Iren@rambler.ru

В настоящее время бактерии, обладающие совокупностью полезных для растений свойств (*Pseudomonas putida*, *P. fluorescens*, *P. aureofaciens* (*P. chlororaphis*), *Bacillus subtilis*, *Azotobacter chroococcum* и др.), принято обозначать как PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), т.е. способствующие росту растений ризобактерии. Среди PGPR-группы особо можно выделить ризосферные бактерии *Pseudomonas*, являющиеся потенциальными объектами агrobiотехнологии и используемые для разработки на их основе средств биоконтроля фитопатогенов, а также стимуляции роста и повышения продуктивности растений. На основе представителей указанной группы бактерий уже создан ряд препаратов (“Blue-Cicle”, “Intercept”, “Victus”, “Ризоплан”) как для защиты растений от заморозков, фитопатогенов и нематод, стимуляции корнеобразования и повышения урожайности, так и для борьбы с сорными растениями.

К числу наиболее активных антимикробных метаболитов, синтезируемых ризосферными бактериями, можно отнести феназиновые пигменты, которые представляют собой редокс-активные соединения с широким спектром антибиотической активности в отношении грибов и бактерий. Известно более 50 типов феназиновых соединений, синтезируемых различными видами *Pseudomonas*, в частности, феназин-1-карбоксилат (*P. fluorescens* и *P. aureofaciens*), 4,9-диоксифеназин (*P. cepacia*), феназин-1-карбоксамид (*P. chlororaphis*), иодинин (*P. iodina* и *P. phenazinium*), аэругинозин (*P. aeruginosa*), 2-оксифеназин-1-карбоксилат и 2-оксифеназин (*P. aureofaciens*).

Для получения биопрепарата на основе продуцирующих биологически активные соединения бактерий необходимо как детальное изучение его антимикробных свойств и фитостимулирующей активности, так и идентификация агентов, определяющих эти свойства. В данной работе описана антибактериальная и антифунгальная активность бактерий *P. aurantiaca* В-162, изучено влияние экзогенных факторов на синтез феназинового пигмента, являющегося основным антимикробным агентом данного штамма, а также его стимулирующая рост растений активность.

Выявлено, что бактерии *Pseudomonas aurantiaca* В-162 проявляют высокую антимикробную активность в отношении ряда фитопатогенных микроорганизмов, распространенных на территории Республики Беларусь: *Fusarium*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Sclerotinia* и *Botrytis*, а также *E. herbicola*, *E. carotovora*, *P. pisi*, *P. glycinea* и *P. syringae*. При этом наиболее чувствительными оказались представители *F. culmorum* – наблюдалось 60–80 %-ное подавление вегетативного роста, *B. cinerea* и *A. alternata* – 78 и 81 % ингибирования, а также *E. herbicola* ЕН-103, *E. carotovora* 330, *P. pisi* 7152, *P. glycinea* 8541 и *P. syringae* 345 (диаметр зоны задержки роста составлял 30 – 40 мм).

Для установления конкретных типов синтезируемых *P. aurantiaca* В-162 феназиновых соединений был проведен масс-спектрометрический анализ очищенного препарата пигментов. В результате экспериментов выявлено, что основным компонентом является феназин (C₁₂H₈N₂). Второй компонент представлен, очевидно, феназин-1,6-дикарбоксилатом - общим предшественником всех феназиновых пигментов.

Изучение продукции феназина бактериями *P. aurantiaca* В-162 в зависимости от источника углерода показало, что предпочтительными являются сахароза, глюкоза, глицерин, лактоза, манноза, мальтоза, маннит и фруктоза, при добавлении которых в ростовую среду содержание феназина достигало 28-36 мг/л. Такие источники углерода, как этанол, антранилат, малонат, а также *n*-амино- и *n*-оксибензоат вызывают значительное снижение образования пигмента (концентрация феназина в культуральной жидкости составляла менее 1 мг/л). Известно, что другие представители рода *Pseudomonas* обладают меньшей продукционной способностью: бактерии *P. chlororaphis* синтезируют 18,1 мг/л феназин-1-карбоксилата и 1 мг/л феназин-1-карбоксамиды, а *P. aeruginosa* - 22 мг/л оксихлороафина и 26 мг/л феназин-1-карбоксилата. Таким образом, штамм *P. aurantiaca* В-162 может являться основой для создания на его основе продуцента феназина.

Минеральные соединения также оказывают влияние на биосинтез антимикробных агентов. Результаты экспериментов показали, что добавление ионов Co^{2+} , Zn^{2+} и Fe^{2+} (конечная концентрация 1 мМ) приводит к повышению содержания феназина в культуральной среде в 1,2 – 1,3 раза, тогда как Mn^{2+} и Mg^{2+} вызывают снижение уровня продукции на 20 – 40 %. Поскольку ионы цинка, как и других металлов, являются компонентами более чем 300 различных протеинов, добавление катионов приводит к увеличению активности ферментов пути биосинтеза антибиотиков, в том числе и феназиновых пигментов. Таким образом, источник углерода, как и минеральные соединения, существенно влияет на синтез феназинового пигмента бактериями *P. aurantiaca* В-162. Можно предположить, что биосинтез антимикробных агентов в естественных условиях способен индуцироваться органическими веществами, выделяемыми растениями в ризосфере.

При применении биопрепарата в условиях больших площадей существенной проблемой представляется равномерное его внесение в почву. Одним из решений данного вопроса является предпосевная обработка семян растений. Было установлено, что при обработке семян суспензией бактерий *P. aurantiaca* В-162 стимулируется рост побегов (в 1,4 – 2,2 раза) и корневой системы (в 1,7 – 3,3 раза) таких овощных культур как свекла “Красный шар” и “Бордо”, капуста “Белорусская 85”, редис “Красный великан”. У огурцов “Верасень” и “Родничок” наблюдалось усиление корнеобразования (в 2,5 раза), а у томатов “Ляна” и “Пралеска” - увеличение массы побегов (в 1,2 раза). Таким образом, обработка семян 24-х часовой культурой бактерий *P. aurantiaca* В-162 приводит к стимуляции корнеобразования ряда сельскохозяйственных растений, а также способствует увеличению массы их побегов. Биостимулирующая активность *P. aurantiaca* В-162 связана, очевидно, с продукцией индол-3-уксусной кислоты, являющейся регулятором роста растений и синтезируемой практически всеми ризосферными бактериями.

Таким образом, бактерии *P. aurantiaca* В-162 могут быть рекомендованы для создания на их основе нового высокоактивного препарата, предназначенного как для защиты растений от различных фитопатогенных микроорганизмов, так и для использования его в сельском хозяйстве для стимуляции роста овощных культур.