

ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ФИТОЗАЩИТНОГО БИОПРЕПАРАТА, И ИЗУЧЕНИЕ ИХ СВОЙСТВ

А. В. Савчик

К настоящему времени известно о многих видах ассоциированных с высшими растениями бактерий, способных частично или полностью заменить удобрения и пестициды, которые оказывают негативное влияние на здоровье человека, растения, биоразнообразие и плодородие почв. Такие бактерии способны стимулировать рост и развитие растений за счет синтеза необходимых для них фитогормонов и витаминов, фиксации молекулярного азота, способности осуществлять биоконтроль бактериальных и грибных заболеваний. Клеппером с соавторами (Kloepper et al., 1980) для обозначения такой группы бактерий был предложен термин PGPR (от англ. *plant growth-promoting rhizobacteria*), эта группа включает почвенные микроорганизмы, активно колонизирующие ризосферу и ризоплану растений и стимулирующие их рост. Внутри этой группы выделяют значительное количество эндофитных бактерий, которые вступают с растениями в симбиотические отношения [1]. Эндофитные бактерии – микроорганизмы, населяющие внутренние ткани здоровых растений и не несущие какого-либо вреда для растения-хозяина, положительно влияющие на их рост и развитие. Особенностью эндофитных микроорганизмов является то, что они не специфичны по отношению к растению-хозяину и не приводят к формированию анатомических структур таких, как клубеньки и галлы, что отличает их от симбиотических и некоторых патогенных микроорганизмов.

Эндофитные бактерии являются перспективными микроорганизмами для создания на их основе фитозащитных биопрепаратов пролонгированного действия, так как они способны стимулировать рост растений, улучшать их питание, индуцировать системную устойчивость ISR-типа, снижать заболеваемость растений, которая обусловлена патогенными грибами и бактериями, нематодами и насекомыми, а также увеличивать продуктивность сельскохозяйственных культур. Кроме того, эндофитные бактерии способны передаваться растениями из поколения в поколение, сохраняясь в растительных тканях [2].

В Республике Беларусь подобных препаратов пока еще не было разработано. Поэтому изучение эндофитных бактерий и возможности их применения в биотехнологии является весьма актуальным и может позволить в дальнейшем получить высокоэффективные препараты на основе этих микроорганизмов для защиты растений и стимуляции их роста. Исходя из этого, целью данной работы является выделение штаммов

эндофитных микроорганизмов из различных сельскохозяйственных растений и изучение проявления ими комплекса хозяйственно-полезных свойств.

В НИЛ молекулярной генетики и биотехнологии кафедры генетики биологического факультета Белорусского государственного университета в оптимизированных нами условиях было выделено 83 бактериальных штамма из растительных тканей 12 различных сельскохозяйственных культур. Выделенные бактерии могли принадлежать как к группе эндофитных микроорганизмов, так являться фитопатогенами. Для исключения из дальнейших исследований фитопатогенных бактерий необходимо определить наличие у выделенных штаммов факторов фитопатогенности. Наличие совокупности этих факторов (способности вызывать некроз у растений табака, мацерацию тканей картофеля и моркови, наличие целлюлолитической и пектатлитической активностей, а также фитотоксичность по отношению к модельному объекту водоросли *Chlorella vulgaris*) свидетельствовало о том, что тестируемый штамм являлся фитопатогенным. Анализ 83 штаммов показал наличие такой совокупности факторов фитопатогенности у 33 бактериальных штаммов. Эти бактерии были исключены из дальнейших исследований.

Оставшиеся 50 бактериальных штаммов являлись эндофитами и были включены в последующую работу по определению наличия у них хозяйственно-полезных свойств. У эндофитных бактерий проводилась оценка способности мобилизовать фосфаты, фиксировать азот и стимулировать рост *Chlorella vulgaris*. Анализ 50 эндофитных бактериальных штаммов показал, что 27 штаммов обладали способностью к фосфатмобилизации, 27 – к азотфиксации, а 47 штаммов были способны стимулировать рост *Chlorella vulgaris*.

В дальнейшую работу по определению способности стимулировать рост растений рапса были включены 3 эндофитных штамма, обладающие всей совокупностью определенных нами хозяйственно-полезных свойств: № 3, № 9, № 16. Было доказано, что эндофитные штаммы № 3 и № 16 при разведении в 100 раз достоверно увеличили длину корня растений рапса на 18 %. Кроме того, была зарегистрирована стимуляция роста растений льна масличного при обработке семян штаммом № 16.

В связи с наличием вышеперечисленных свойств для более детального изучения был взят эндофитный штамм № 16. Было установлено, что штамм № 16 относится к грамотрицательным бактериям, обладает казеинолитической активностью и способностью разжижать желатину. Кроме того, он может расти на среде Канеда с сукцинатом в качестве единственного источника углерода и энергии с выделением флуоресцирующего пигмента. Данный штамм устойчив к хлорамфениколу в кон-

центрации 20 мкг/мл и ампициллину – 200 мкг/мл, и чувствителен к канамицину в концентрации 5–25 мкг/мл и стрептомицину – 100–400 мкг/мл. Показано, что он не обладает антибактериальной активностью по отношению к некоторым фитопатогенным штаммам бактерий рода *Erwinia*, *Clavibacter* и *Pseudomonas*. Однако, методом отсроченного антагонизма было установлено, что штамм проявляет антифунгальную активность по отношению к широкому кругу фитопатогенных грибов *Alternaria radicina*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Magnaporthe oryzae*, *Monilinia fructicola* и *Trichothecium roseum*, ингибируя их рост на 41–84 %. Так же, методом микроскопирования установлено, что штамм № 16 подавляет прорастание спор фитопатогенного гриба *A. brassicicola*.

В последующем были проведены эксперименты по колонизации побегов ячменя бактериями штамма № 16. Клетки штамма культивировали на среде М9 с мелассой. После чего поверхностно простерилизованные семена ячменя обрабатывали суспензией бактерий. Затем растения ячменя выращивали в сосудах со стерильной почвой в течение 30 суток. Поверхностно простерилизованные побеги контрольных интактных и опытных инокулированных поврежденных и неповрежденных растений выкладывали на питательную среду с хлорамфениколом в концентрации 20 мкг/мл, к которой штамм № 16 устойчив. Устойчивая к хлорамфениколу поверхностная микрофлора у контрольных поврежденных и неповрежденных, а также у опытных неповрежденных побегов отсутствовала. Колонии сформировались только вокруг опытных поврежденных побегов. После пересева колонии оказались морфологически сходными с колониями штамма № 16. Кроме того, они были также способны к флуоресценции на среде Канада с сукцинатом.

Таким образом, по способности бактериального штамма № 16 поддерживаться в растениях ячменя в течение месяца, было доказано, что выделенный штамм является эндофитным.

Наличие у эндофитного бактериального штамма № 16 фосфатмобилизирующей, азотфиксирующей и антифунгальной активностей, способности стимулировать рост *Chlorella vulgaris*, а также растений рапса и льна масличного и поддерживаться в тканях ячменя позволяет сделать вывод о пригодности выделенного эндофитного штамма бактерий № 16 для дальнейшего исследования свойств и изучения возможности использования его в качестве основы биопрепарата пролонгированного действия для защиты растений и стимуляции их роста.

Литература

1. Щербаков А.В. Эндофитные сообщества сфагновых мхов как источник бактерий – эффективных ассоциантов сельскохозяйственных культур: дис. канд. биолог. наук, 2013.
2. Chebotar V.K. Endophytic bacteria in microbial drugs that improve plant development// Applied Biochemistry and Microbiology. Vol. 51. 2015. № 3. P. 271–277.

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕННОСТИ ЛИСТОВЫХ ПЛАСТИНОК РОБИНИИ ОБЫКНОВЕННОЙ ВЕРХНЕСТОРОННЕЙ БЕЛОАКАЦИЕВОЙ МИНИРУЮЩЕЙ МОЛЮ-ПЕСТРЯНКОЙ (*PARECTOPA ROBINIELLA*) НА ТЕРРИТОРИИ БРЕСТСКОЙ ОБЛАСТИ

Д. А. Способ, О. В. Синчук

ВВЕДЕНИЕ

Робиния обыкновенная, или белая акация (*Robinia pseudoacacia* L.) – интродуцированное древесное растение, естественный ареал которого находится в Северной Америке [1]. В Европу *R. pseudoacacia* впервые завезена в 1601 г. [2], после чего начала широко использоваться в насаждениях во многих странах. На территорию Беларуси впервые интродуцирована, очевидно, в XVIII веке И. Жилибером [3, 4]. По оценкам специалистов в 2015 г. под робинией обыкновенной была занята площадь в 0,396 тыс. га [5].

Робиния обыкновенная первоначально использовалась для закрепления песков вдоль железнодорожных путей. Она достаточно неприхотлива и растет на малопригодных для сельскохозяйственных культур участках [6], что и способствовало успешной натурализации данного растения.

Одним из инвазивных видов, который активно осваивает новые территории, является верхнесторонняя белоакациевая минирующая моль (*Parectopa robiniella* Clemens, 1863) [7]. Данный фитофаг представляет угрозу для белой акации в зеленых насаждениях, так как при вспышках массового размножения может обусловить полную потерю растениями декоративности [8]. На территории Европы вид впервые отмечен в Италии (недалеко от г. Милана) в 1970 г. [9]. В настоящее время *P. robiniella* известна из Англии, Франции, Испании, Германии, Швейцарии, Австрии, Чехии, Польши, Словении, Словакии, Венгрии, Хорватии, Румынии, Сербии, Болгарии, Македонии, Литвы [10]. В Беларуси данная моль-пестрянка впервые была зарегистрирована в 2011 г. [11]. К настоящему времени отмечена на территории всех административных об-