

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ СВОБОДНОЖИВУЩИХ БАКТЕРИЙ-АЗОТФИКСАТОРОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В АГРОБИОТЕХНОЛОГИИ

В. В. Леонович

veronicaleonovich@gmail.com

Научный руководитель – Д. В. Маслак, заведующий сектором НИЛ Молекулярной генетики и биотехнологии кафедры генетики

Целью работы было создание коллекции изолятов азотфиксаторов, фитостимулирующих биопрепаратах. Из природных источников выделено 38 изолятов несимбиотических бактерий-азотфиксаторов, изучены их фитопатогенные, фосфатмобилизующие свойства и способность стимулировать рост растений. Отобраны 14 изолятов, перспективных для использования при разработке биопрепаратов для растениеводства.

Ключевые слова: агробиотехнология, биопрепарат; бактерии-азотфиксаторы; фосфатмобилизация; стимуляция роста *Ch; vulgaris*.

Азот является одним из основных элементов, необходимых для получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур. Чтобы восполнить недостаток азота в почве, проводятся различные агротехнические мероприятия, в основном добавление минеральных и органических удобрений. К сожалению, такая стратегия имеет негативные эффекты при неправильном или долгосрочном применении. Так, при внесении азотных удобрений снижается азотфиксирующая активность микробиома [1], а из-за способности азота накапливаться в растениях и грунтовых водах страдает экология.

Биологический азот, в отличие от минерального, в почву поступает постепенно, в течение всего периода вегетации, что исключает его избыточное накопление в растениеводческой продукции и окружающей среде. Это достигается благодаря тесной связи между растением и микроорганизмами-азотфиксаторами, в результате чего практически весь фиксированный азот сразу же поступает в метаболические пути и используется для биосинтеза азотсодержащих соединений [2].

Большинство существующих в настоящее время биопрепаратов на основе бактерий-азотфиксаторов созданы на основе симбиотических микроорганизмов. Такие препараты имеют высокую специфичность и не могут быть использованы для большого круга культур. В настоящее время возрос интерес к препаратам на основе ассоциативных и свободноживущих азотфиксаторов, которые будут иметь более широкий спектр применения.

МЕТОДЫ

Выделение азотфиксирующих бактерий и исследование у выделенных изолятов наличия агрономически значимых свойств проводили согласно общепринятым методикам [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выделение изолятов свободноживущих и ассоциативных бактерий-азотфиксаторов проводили из образцов почвы различных природных источников, отличающихся по антропогенному воздействию – парк Павлова г. Минска, фермерские хозяйства Республики Беларусь, природный заповедника Дубрава «Щемяслицкая», а также из корневой зоны растений голубики и винограда частного участка в садово-огородном товариществе. Критерием способности выделенных бактерий к азотфиксации являлась их способность к росту на безазотной среде Эшби. В ходе проведенной работы выделено 38 бактериальных изолятов.

Для исключения из дальнейшей работы фитопатогенных бактерий, выделенные бактериальные изоляты исследовали на наличие следующих признаков: наличие целлюлолитической и пектатлитической активности, способность мацерировать растительные ткани картофеля и моркови, проявлять фитотоксичные свойства по отношению к культуре *Chlorella vulgaris* и способность вызывать некроз листьев боба обыкновенного. Из 38 изолятов 18 имели не менее двух признаков фитопатогенности и были исключены из дальнейшей работы как потенциально опасные для растений. Особое внимание уделяли способности бактерий вызывать некроз растительной ткани. Так из дальнейших исследований удалили изоляты, бактериальная суспензия которых вызывала в течение 48 часов после инокуляции некроз большей части листа боба обыкновенного (даже при отсутствии у бактерий данного изолята других признаков фитопатогенности).

Необходимо отметить, что 20 изолятов бактерий, отобранных для дальнейших исследований, не проявляли антагонистическую активность по отношению к *Ch. vulgaris*, не вызывали некроз на листьях боба обыкновенного и не обладали пектатлитической активностью. Из них 9 изолятов обладали целлюлитической активностью, 4 – мацерировали ткань клубней картофеля и 1 мацерировал ткань корнеплода моркови.

У 20 изолятов нефитопатогенных бактерий-азотфиксаторов изучены такие агрономически полезные свойства, как способность к фосфатмобилизации (растворять малорастворимые неорганические соединения фосфора) и способность стимулировать рост микроводоросли *Ch. vulgaris* как модельного объекта растительной клетки. Результаты проведенных экспериментов представлены в таблице.

**Агрономически значимые свойства нефитопатогенных азотфиксирующих
изолятов, выделенных из почвенных образцов**

Изолят	Наличие факторов фитопатогенности	Стимуляция роста <i>Ch. vulgaris</i>	Фосфатмобилизующая активность
БП	Ц	++	-
Б2П	-	+	-
В3Б	М	++	-
Г1	Ц	-	-
Г2	-	++	-
Г3	Ц	++	-
Г111	М	++	-
Е3	Ц	+	+
Е11	Ц	++	-
К1	Ц	++	-
К2	-	+	-
К5	Ц	+	-
К11	Ц	-	-
К111	М	++	-
К210	-	++	-
К40	М	++	-
К6	-	+	-
И1	Ц	-	+
И111	М	-	-
И5	Ц	++	+

Примечание: Ц – наличие целлюлолитической активности;

М – способность к мацерации растительных тканей

«-» – отсутствие признака

«+» – наличие признака

«+++» – сильное проявление признака Как видно из представленных данных, из 20 исследованных изолятов несимбиотических бактерий-азотфиксаторов, 16 стимулировали рост *Ch. vulgaris*. Бактерии двух изолятов – Е3 и И5 – кроме способности стимулировать рост *Ch. Vulgari* так же продемонстрировали способность к фосфатмобилизации, бактерии изолята И1 обладали фосфатмобилизующими свойствами, но не стимулировали рост хлореллы.

Необходимо отметить, что способность бактерий разлагать целлюлозу, если это не сопровождается наличием иных факторов фитопатогенности, является преимуществом при рассмотрении вопроса о включении данного микроорганизма в состав микробиологических удобрений. Микроорганизмы с такими свойствами могут ускорять разложение растительных остатков в почве, переводя углерод, связанный в молекулах биополимеров, в доступную для растений форму.

На основании полученных данных для дальнейших исследований отобраны 14 изолятов ассоциативных и свободноживущих бактерий-азотфиксаторов – БП, ВЗБ, Г2, Г3, Г111, Е11, Е3, К1, К2, К210, К40, К111, И1, И5. Способность этих бактерий оказывать влияние на рост и развитие растений сельскохозяйственных культур будут исследованы в ходе дальнейшей работы.

Не фитопатогенные бактерии-азотфиксаторы, выделенные и изученные в ходе проведенной работы, помещены в коллекцию микроорганизмов НИЛ молекулярной генетики и биотехнологии.

Библиографические ссылки

1. *Егоров В.С.* Последствие разных систем удобрения на процессы несимбиотической азотфиксации и денитрификации на дерново-подзолистой почве // Проблемы Агрохимии И Экологии. 2008. № 1. С. 13 – 16.
2. *Завалин, А.А., Алферов А.А., Чернова Л.С.* Ассоциативная азотфиксация и практика применения биопрепаратов в посевах сельскохозяйственных культур // Агрохимия2019. № 8. С. 83 – 96.
3. *Желдакова Р.А., Мямин В.Е.* Фитопатогенные микроорганизмы: Учеб. – метод. комплекс для студентов биол. фак. спец. G – 31 01 01 «Биология». Минск: БГУ, 2005.