

ВЫДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ – ПРОДУЦЕНТОВ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ОСНОВЫ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА

А. А. Политыко

*УО «Республиканский центр экологии и краеведения», ул. Макаенка, 8,
220114, г. Минск, Беларусь, polityko.2007@mail.ru
Научный руководитель — И.А. Гринева*

В результате ступенчатой негативной селекции среди 12 выделенных бактерий найдены три нефитопатогенных изолята с наибольшим количеством гидролитических активностей, обладающих рядом хозяйственно-полезных свойств, способных дополнять активности друг друга. На основе этих изолятов была создана коллекция бактерий, перспективных для создания биопрепаратов для растениеводства.

Ключевые слова: гидролитические ферменты; целлюлаза; биопрепарат; бактерии; хозяйственно-полезные свойства; ростостимулирующая активность; фитопатогены; антагонизм.

Известно, что в окружающей среде могут обнаруживаться высокоактивные микроорганизмы-продуценты гидролитических ферментов, которые можно использовать для создания биопрепаратов для растениеводства: для разложения пожнивных остатков, защиты растений и стимуляции их роста [1, 4].

Из накопительной культуры с целлюлолитическими микроорганизмами, из почвы, высушенных дикорастущих растений и стоячего водоема были выделены 12 бактериальных изолятов. В результате изучения наличия ферментативных активностей у выделенных изолятов было установлено, что целлюлолитической активностью обладали изоляты 35-1, 21-19, 25-6, Г23 и 26-1, амилолитической активностью – изоляты А3, А4, В1, 35-1, 21-19, 25-6, Г23 и 26-1, пектатлитической активностью – изоляты 35-1, 21-19, 25-6, Г23 и 26-1, липолитической активностью – изоляты А3, А4, 25-6, Г23, желатиназной активностью – изоляты А4, В1, 35-1, 21-19, 25-6, Г23 и 26-1, казеинолитической активностью – изоляты А4, В1, 35-1, 21-19, 25-6, Г23 и 26-1, ДНК-азная активность была обнаружена у изолятов В1 и 26-1, уреазной активностью не обладал ни один изолят [2, 3].

Для дальнейшей работы были отобраны шесть наиболее перспективных изолятов, обладающих совокупностью 5-7 ферментативных активностей. Наиболее активные изоляты были выделены из накопительной культуры целлюлолитических микроорганизмов (В1, 35-1, 21-19, 25-6, Г23 и 26-1).

Для определения возможности применения бактерий для разложения растительных остатков было проведено количественное определение

целлюлолитической активности у изолятов, обладающих этой активностью. По результатам измерения оптической плотности реакционной смеси с использованием калибровочной кривой определяли количество глюкозы и рассчитывали активность целлюлазы для каждого отобранного изолята. Результаты исследования представлены на диаграмме (рис. 1). Было установлено, что четыре изолята бактерий обладали целлюлолитической активностью в пределах 0,1-0,25 мг/мин, а наибольшую активность проявил изолят Г23 – 1 мг/мин.

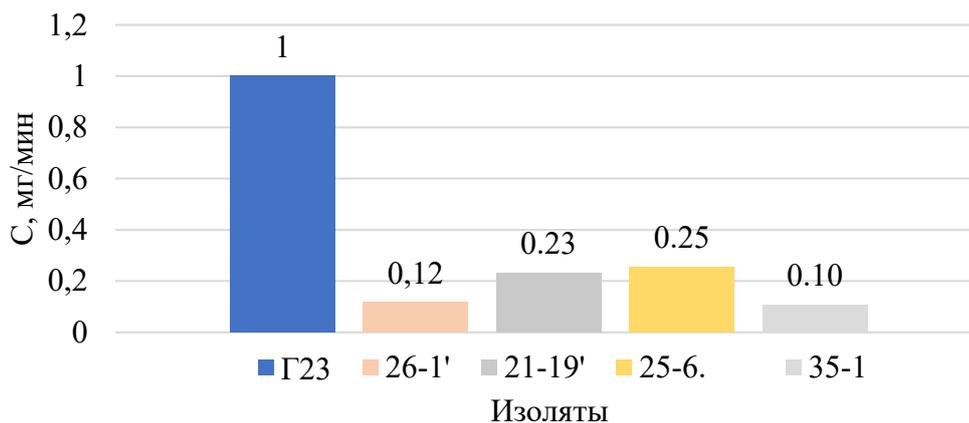


Рис. 1. Изучение целлюлолитической активности изолятов

В связи с тем, что наличие высокой активности гидролитических ферментов характерно и для патогенов растений, для выявления и исключения из дальнейших исследований фитопатогенных микроорганизмов был проведен ряд экспериментов, включающий тесты на наличие не только целлюлолитической, но и пектатлитической активности, на способность мацерировать растительные ткани, на токсичность к протисту *Chlorella*, на способность вызывать некроз у листьев боба конского [2, 3]. После анализа совокупности вышеперечисленных фитопатогенных свойств из дальнейших исследований был исключен изолят 26-1.

На безазотной среде Эшби было установлено, что бактерии 21-19, 25-6, Г23 обладали способностью фиксировать азот воздуха. Наличие такого свойства могло указывать на потенциальную способность изолятов положительно влиять на рост растений.

Исследования наличия ростостимулирующей активности на растениях пшеницы яровой рулонным методом показали, что изолят Г23 достоверно увеличивал длину побегов и корней растения на 10 % и 6 %, соответственно (рис. 2).

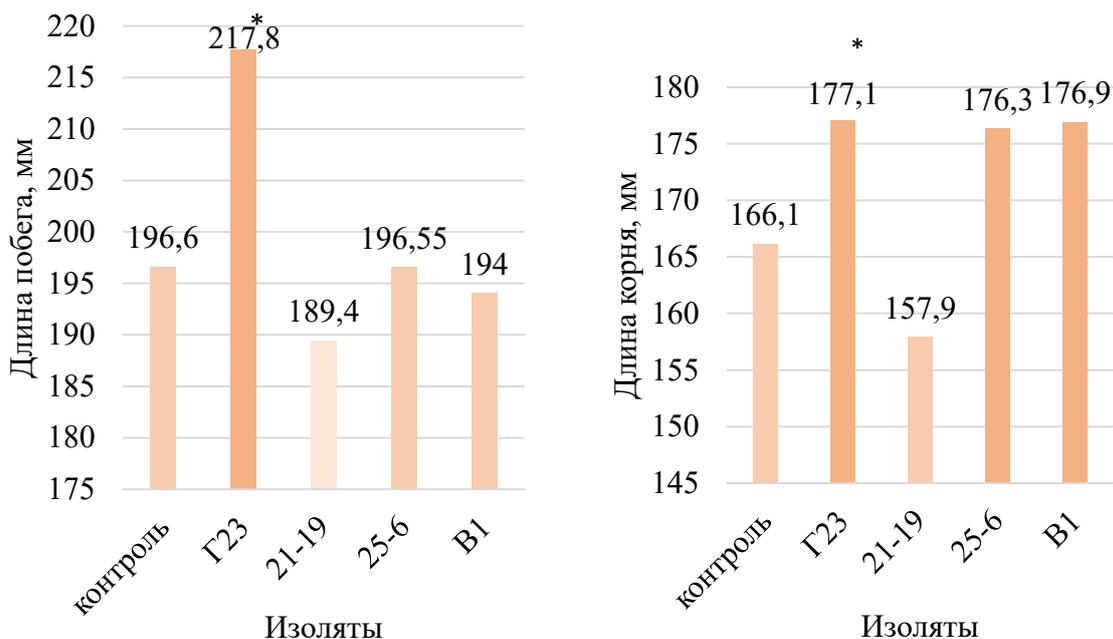


Рис. 2. Влияние на растения пшеницы изолятов:
 а – длина побегов; б – длина корня

Для определения возможности применения изолятов для защиты растений наиболее перспективные бактерии исследовали на наличие антагонистических свойств по отношению к некоторым бактериальным фитопатогенам методом агаровых блоков. Было установлено, что изоляты Г23 и 21-19 проявляли антагонизм к исследуемым фитопатогенам (*Pectobacterium carotovorum subsp. atroseptica* 3-2, *Pseudomonas syringae*, *Clavibacter sp.*), изолят 25-6 – только к *Clavibacter sp.*, а изолят В1 антагонистическими свойствами не обладал.

Изучалась возможность получения ассоциации микроорганизмов с целью повышения эффективности создаваемых на их основе биопрепаратов. Совместимость микроорганизмов проверяли методом перпендикулярных штрихов. Были определены две возможные пары изолятов, не проявляющих антагонизм друг по отношению к другу (Г23 и 21-19; 21-19 и 25-6).

Создана коллекция под минеральным маслом из трех нефитопатогенных изолятов Г23, 21-19 и 25-6), обладающих рядом гидролитических активностей (целлюлолитической, липолитической, протеолитической), хозяйственно-полезными свойствами (способностями фиксировать азот воздуха, стимулировать рост растений, защищать от фитопатогенов), дополняющих активности друг друга, способных стать основой новых биопрепаратов для растениеводства для разложения растительных остатков, стимуляции роста растений и защиты посевов.

Библиографические ссылки

1. Биологически активные препараты для растениеводства. Научное обоснование – рекомендации – практические результаты = Biologically active preparations for plant growing. Scientific background – Recommendations – Practical results: материалы XIV Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 3-8 июля 2018 г. / БГУ, биолог. фак., Частный институт прикладной биотехнологии daRostim; редкол.: Д. В. Маслак (отв. ред.) [и др.]. Минск: БГУ, 2018. С. 196-198.
2. Желдакова Р. А., Мямин В. Е. Фитопатогенные микроорганизмы. Минск: БГУ, 2006.
3. Лысак В.В., Желдакова Р.А., Фомина О.В. Микробиология. Практикум. Минск: БГУ, 2015.
4. Смирнова И.Э. ЭМ-ассоциации, перспективные для восстановления почв деградированных пастбищ // Евразийский союз учёных. 2016. № 30. С. 14-17.