

ВЫДЕЛЕНИЕ НЕ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ-ФОСФАТМОБИЛИЗАТОРОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ВКЛЮЧЕНИЯ В БИОПРЕПАРАТЫ ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА

Е. В. Веснина

*Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4,
220030, г. Минск, Беларусь, lizavetavesnina@gmail.com
Научный руководитель – Д. В. Маслак*

Произведен поиск изолятов фосфатмобилизующих бактерий в образцах почвы и ризосферы растений. Выделено 17 изолятов, обладающих фосфатмобилизующей активностью, 13 из них сохраняли свойства в лабораторных условиях. Оценена их безопасность для растений. Отобрано 5 не фитопатогенных изолятов, 2 из которых способны стимулировать рост *Chl. vulgaris* (модельного объекта растительной клетки).

Ключевые слова: фосфор; фосфатмобилизирующие бактерии; микробные препараты; фитопатогенность; растениеводство.

Фосфор незаменим для существования живых организмов в целом и растений в частности. Он является частью нуклеиновых кислот, влияет на регуляторные механизмы клетки, необходим для фотосинтеза и дыхания, задействован в энергетическом обмене. Соответственно, при недостатке фосфора замедляется рост надземных органов растений и формирование плодов. Проблема фосфорного питания растений заключается в том, что почвенный фосфор, в основном, представлен нерастворимыми соединениями. Минеральные фосфорные удобрения призваны восполнить недостаток доступного для растений фосфора, но их применение связано с рядом проблем: производство фосфорных удобрений приводит к загрязнению окружающей среды и высоким финансовым затратам. Использование минеральных фосфорных удобрений повышает содержание тяжелых элементов в почве, а через некоторое время фосфор удобрения связывается с другими почвенными элементами и снова становится недоступным для растения. Эффективным и более экологичным способом повышения доступности фосфора для растений является использование микробных препаратов, созданных на основе фосфатмобилизующих микроорганизмов.

Фосфатмобилизирующие бактерии – микроорганизмы, способные переводить фосфаты в доступную для растений форму (чаще всего при помощи синтеза органических кислот и выделения ферментов). Фосфатмобилизирующие бактерии перспективны для применения в

агробиотехнологии: они эффективно повышают доступность фосфора для растений, обладают более высокой скоростью роста по сравнению с иными биотехнологическими объектами, высокой адаптивностью к среде. Кроме того, препараты на основе живых микроорганизмов чаще всего многофункциональны. Бактерии, входящие в их состав, способны к синтезу вторичных метаболитов, которые не только улучшают минеральное питание растения, но и стимулируют его рост, а также защищают от фитопатогенов [1]. Данное направление биотехнологии активно развивается, но только у семи разрешенных к применению на территории РБ препаратов упоминается наличие фосфатмобилизирующей активности. Так, целью работы является поиск и выделение фосфатмобилизирующих бактерий, перспективных для использования в сельском хозяйстве для оптимизации минерального питания растений.

Для проведения исследования была использована почва из дачного участка, находящегося в Добрушском районе Гомельской области. Почва дерново-подзолистая супесчаная. Пробы почвы отбирали из прикорневой зоны и ризосферы мяты, артишока и земляники. Навеску в 10 г почвы или 1 г корней растения помещали в 100 мл стерильного физиологического раствора и перемешивали на протяжении 1 часа. Далее производили серию последовательных разведений и высев на полноценную среду. Образовавшиеся изолированные колонии пересекали методом истошающего штриха для получения чистых культур, которые засевали на среду Муромцева. В случае наличия у микроорганизма фосфатмобилизирующей активности вокруг колоний образовывались зоны гало. Оценка факторов вирулентности у выделенных бактерий проводили стандартным методом [2].

Выделение микроорганизмов производили из почвы прикорневой зоны и ризосферы растений мяты, артишока и земляники. Известно, что бактерии могут утрачивать свои фосфатмобилизирующие свойства в лабораторных условиях [1]. Поэтому способность бактерий к фосфатмобилизации дополнительно оценивали после трех пассажей на полноценной агаризованной среде и хранении в холодильнике при 5 °С. В таблице 1 отображено количество изолятов, полученных в ходе работы и отобранных для дальнейшего исследования.

Таким образом, из 119 выделенных изолятов только 17 проявляли фосфатмобилизирующие свойства. Но при дальнейших пересевах бактерии 4 изолятов утратили фосфатмобилизирующую активность, и дальнейшие исследования проводились с 13 изолятами.

О возможной фитопатогенности микроорганизмов свидетельствует наличие у них комплекса факторов вирулентности, а именно амило-, целлюло- и пектатлитической активностей, фитотоксичности по

отношению к *Chlorella vulgaris* (модельному объекту растительной клетки), способности мацерировать растительные ткани и вызывать некроз на листьях боба обыкновенного [2]. Как видно из данных, представленных в таблице 2, ни один из исследуемых микроорганизмов не обладал целлюло- и пектатлитической активностью. Амилолитическая активность была обнаружена у 4 из 13 изолятов. Семь исследуемых изолятов подавляли рост *Chl. vulgaris*. Как потенциально опасные для растений оценили изоляты, обладающие комбинацией 3 и более факторов вирулентности из шести проверенных. Для дальнейшей работы отобраны изоляты 1,2,5,7 и 8.

Таблица 1

Количество изолятов, выделенных в ходе работы

Образец	Количество изолятов, шт.					
	всего выделено		фосфатмобилизаторов		фосфатмобилизаторов, сохранивших свойства при пересевах	
	ризосфера	почва	ризосфера	почва	ризосфера	почва
Мята	20	18	4	1	3	1
Артишок	27	17	8	3	5	3
Земляника	17	18	2	0	1	0
Всего	119		17		13	

Таблица 2

Наличие факторов вирулентности у изучаемых бактерий-фосфатмобилизаторов

Номер изолята	Амилолитические св-ва	Целлюлолитические св-ва	Пектатлитические св-ва	Фитотоксичность	Мацерация		Гиперчувствительность	Фитопатогенность
					картофеля	моркови		
1	-	-	-	стим	-	-	-	-
2	-	-	-	+	-	-	-	-
3	-	-	-	+	+	+	+	+
4	-	-	-	+	+	+	-	+
5	-	-	-	+	-	-	+	-
6	+	-	-	+	-	-	+	+
7	-	-	-	-	-	-	+	-
8	-	-	-	стим	-	-	-	-
9	+	-	-	-	+	-	+	+

Номер изолята	Амилитические св-ва	Целлюлитические св-ва	Пекталитические св-ва	Фитотоксичность	Мацерация		Гиперчувствительность	Фитопатогенность
					картофеля	моркови		
10	+	-	-	-	+	-	+	+
11	+	-	-	-	+	-	+	+
12	-	-	-	+	+	+	+	+
13	-	-	-	+	+	+	+	+

Примечание: “+” – тест положительный, “-” – тест отрицательный, “стим” – стимуляция роста *Chl. vulgaris*.

Интересно отметить, что 5 отобранных микроорганизмов выделены из ризосферы растений (2 изолята из ризосферы мяты и 3 из ризосферы артишока). Как видно из представленных выше данных, бактерии изолятов 1 и 8 способны стимулировать рост *Chl. vulgaris* (возможно, клетки этих изолятов синтезируют фитостимулирующие метаболиты).

На основании проведенных исследований изоляты нефитопатогенных бактерий-фосфатмобилизаторов № 1, 2, 5, 7 и 8 помещены в коллекцию НИЛ Молекулярной генетики и биотехнологии и будут использованы в дальнейшей разработке биопрепаратов для растениеводства.

Библиографические ссылки

1. Картыжова Л.Е. Эндофитное микробное сообщество сои и озимой пшеницы // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. 2017. Т. 9. С. 191-201.
2. Желдакова Р.А., Мямин В.Е. Фитопатогенные микроорганизмы. Минск: БГУ, 2005.