

UDC 631.461:633.1:579.26

Egovtseva A. Yu., Melnichuk T. N.

Orientation of microbiological processes in the *Triticum aestivum* L. rhizosphere under conditions of seed bacterization by a complex of microbial preparations

Summary. The aim of our research was to study the effect of presowing bacterization by a complex of microbial preparations (CMP) in various farming systems on the biological activity of the *Triticum aestivum* L. rhizosphere of southern Chernozem in the Crimean steppe. The three-year study proved the possibility of intensification and normalization of the microbiological status of the winter wheat rhizosphere using resource-saving technologies. The most pronounced effect of the complex of microbial preparations on the microbiological processes of the winter wheat rhizosphere was revealed in adverse weather conditions.

Keywords: *Triticum aestivum* L., rhizosphere, complex of microbial preparations, farming systems.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-110

УДК 581.1:581.143.5

Захарченко Наталья Сергеевна¹, Фурс Ольга Владимировна¹, Пиголева Светлана Васильевна¹, Гарлачков Сергей Владимирович^{1,2}, Фунтикова Татьяна Вячеславовна², Филонов Андрей Евгеньевич², Дьяченко Ольга Владимировна¹, Бурьянов Ярослав Иванович¹, Шевчук Тарас Валерьевич¹

Устойчивость колонизированных ассоциативными микроорганизмами растений к ксенобиотикам и фитопатогенам

¹ФГБУН «Филиал Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН»;

²ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН»
e-mail: znata_2008@mail.ru

В природных условиях растения существуют в тесной ассоциации с почвенными микроорганизмами, которые оказывают стимулирующее влияние на рост и развитие растений [1]. Цель нашей работы – исследование колонизации растений картофеля, томата, рапса и камелины ассоциативными микроорганизмами *Methylobacterium mesophilicum*, *Pseudomonas aureofaciens* BS1393, *Pseudomonas putida* BS3701; исследование устойчивости колонизированных растений к биотическим (фитопатогены *Erwinia carotovora* и *Sclerotinia sclerotiorum*) и абиотическим (нафталин и нефть) стрессовым факторам [2].

Для колонизации растений ассоциативными бактериями стерильные семена и молодые побеги картофеля, томата, рапса и камелины обрабатывали суспензией ассоциативных бактерий. Для этого семена помещали в жидкую культуру бактерий с титром 10^3 – 10^5 (кл/мл) на 1–2 мин, подсушивали на фильтровальной бумаге и переносили на чашки Петри, содержавшие питательную среду МС. Молодые побеги однократно опрыскивали 1 мл суспензии бактерий с титром 10^3 – 10^5 (кл/мл) и культивировали в стеклянных пробирках *in vitro* на среде МС. В качестве контроля на среду МС помещали необработанные бактериями семена и побеги. Микробиологическое тестирование различных эксплантов растений (листьев или корней) проводили через 7, 14 и 30 суток, после колонизации. Для этого растительный экстракт, полученный путем гомогенизации 1 см² растительной ткани, наносили на поверхность твердой питательной среды LB или K в чашках Петри с селективными антибиотиками и инкубировали при температуре 22–24 °C двое суток. Затем проводили подсчет колониеобразующих единиц на 1 см² площади растительной ткани.

Для исследования устойчивости колонизированных растений к нафталину и нефти, в расплавленную агаризованную среду МС добавляли нафталин (100 мкг/мл)

или нефть (0,7 %). В приготовленные пробы пересаживали свежечеренкованные растения и проводили наблюдение за ростом их в течение месяца.

Через неделю после колонизации картофеля, рапса, томатов и камелины бактериями численность бактерий на корнях составляла от $2,3 \times 10^3$ до $2,5 \times 10^4$ КОЕ/г сырого веса, через семь недель от $3,1 \times 10^3$ до $3,4 \times 10^4$ КОЕ/г сырого веса. В последующих циклах микроразмножения растений содержание бактерий *M. mesophilicum*, *P. putida*, *P. aureofaciens* в корнях стабильно сохранялось практически на том же уровне в течение всего периода вегетации, что указывает на их прочную ассоциацию с растениями.

Колонизированные растения исследовали на устойчивость к окислительному стрессу, вызванному добавлением в среду нафталина или нефти. В качестве маркера стресса использовали активность супероксиддисмутазы (СОД).

Колонизированные растения отличались повышенной скоростью роста в 1,5–2,0 раза по сравнению с контрольными (не колонизированными); бутонизация, цветение и плодоношение у них также начиналось раньше. Отмечена повышенная устойчивость колонизированных растений к фитопатогенам. Повреждение контрольных листьев, зараженных бактериями *E. carotovora*, к концу вторых суток составило 100 %. При заражении грибным патогеном *S. sclerotiorum* признаки некроза тканей наблюдали через 4–5 сут. В то же время, листья растений, колонизированных *P. aureofaciens* и *M. mesophilicum*, оставались без заметных признаков повреждения.

В экспериментах по устойчивости растений к нефти и нафтalinу использовали бактерии *P. putida*, содержащие ген салицилатгидроксилазы *NahG*, который играет основную роль в деградации токсичных полициклических ароматических углеводородов. Через неделю культивирования колонизированных растений на среде с ксенобиотиками на корнях были обнаружены бактерии *P. putida*. Уровень СОД у контрольных растений на среде с нафталином или нефтью увеличивался на 160–150 %, а у колонизированных растений – на 20–18 %. Стресс, обусловленный влиянием нефти или нафталина, был менее токсичен для колонизированных растений по сравнению с контрольными.

Таким образом, методы стабильной ассоциации растений с микроорганизмами, способными конкурировать с фитопатогенами, стимулировать рост растений и вызывать деградацию чужеродных соединений в окружающей среде, перспективны для восстановления микробных биоценозов и естественного плодородия почв.

Литература

1. Glick B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications // Hindawi Publishing Corporation Scientifica. 2012. Vol. 2012. Article ID 963401. 15 p. DOI: 10.6064/2012/963401.
2. Анохина Т. О., Сиунова Т. В., Сизова О. И., Захарченко Н. С. Кочетков В. В. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas* в современных агробιοтехнологиях // Агрoхимия. 2018. № 10. С. 54–66.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 19.08.00375, № 18-08-00752, № 19-08-00299.

UDC 581.1:581.143.5

Zakharchenko N. S., Furs O. V., Pigoleva S. V., Tarlachkov S. V., Funtikova T. V., Filonov A. E., Dyachenko O. V., Buryanov Ya. I., Shevchuk T. V.

Resistance of plants colonized by associative microorganisms to xenobiotics and phytopathogens

Summary. The aim of our work was to study the colonization of potato, tomato, rapeseed and camelina by associative microorganisms *Methylobacterium mesophilicum*, *Pseudomonas aureofaciens* BS1393 and *Pseudomonas putida* BS3701; examine the resistance of colonized plants to biotic (phytopathogens *Erwinia carotovora* and *Sclerotinia sclerotiorum*) and abiotic (naphthalene, oil) stressors. Colonized plants were characterized by an increased growth rate (1.5–2.0 times higher) compared to non-colonized ones; flower-

bud formation, flowering and fructification of the colonized plants also started earlier. An increased resistance of colonized plants to phytopathogens, naphthalene (100 $\mu\text{m}/\text{ml}$) and oil (0.7 %) was noted, too. The level of superoxide dismutase (SOD) in control plants on a medium with naphthalene or oil increased by 160–150%; in colonized plants – by 20–18 %. Colonized plants were more viable because of the presence of *P. putida* BS3701 on the roots.

Keywords: colonization by associative strains, phytopathogens, plants, resistance.

DOI 10.33952/2542-0720-2020-5-9-10-112

УДК 579.67

Каменева Ирина Алексеевна, Якубовская Алла Ивановна, Паштецкий Владимир Степанович, Полякова Наталья Юрьевна, Гритчин Максим Владимирович, Смирнова Ирина Игоревна, Коноплева Галина Николаевна

Перспектива использования жмыхов масличных культур в биотехнологии микробных препаратов

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»
e-mail: irina.kameneva.7@mail.ru

Актуальной проблемой в разработке новых и усовершенствовании существующих форм микробных препаратов для растениеводства остается поиск технологичных и экономичных компонентов субстрата, способствующих повышению титра бактерий, сохранению их жизнеспособности длительное время. В этой связи заслуживают внимания жмыхи масличных культур. Жмыхи являются вторичным сырьевым ресурсом, что делает их экономичными компонентами питательной среды. При низком уровне животноводства (основного потребителя продукта) возникает проблема их утилизации. Целлюлоза, входящая в состав жмыхов, позволит сформировать абсорбционную систему, обеспечивающую иммобилизацию клеток. Высокое содержание белков, углеводов, минеральных веществ, витаминов может использоваться бактериями как дополнительные источники питания, а также стимулировать рост бактерий. Вместе с тем, в жмыхах, в зависимости от вида растений, могут содержаться гликозиды, фенолы и другие вещества, оказывающие негативное действие на рост бактерий.

Цель исследований – изучить технологичность жмыхов, полученных при отжиме масла семян *Linum usitatissimum* L. (льна масличного) и *Brassica* spp. L. (горчицы), как компонента жидкой питательной среды для культивирования ассоциативных бактерий.

Брикеты жмыхов горчицы и льна перемалывали на лабораторной мельнице и в количестве 2 % от объема [1] добавляли в жидкую питательную среду для культивирования производственных штаммов бактерий *Lelliottia nimipressuralis* ССМ 32-3 и *Paenibacillus polymyxa* ССМ П Крымской коллекции микроорганизмов (<http://www.ckr-ri.ru>). Бактерии культивировали глубинно (150 оборотов в минуту при температуре 25–28 °С) 72 часа и далее сохраняли в течение месяца при температуре 8 °С. Контролем являлась культура без добавок жмыхов. Титр жизнеспособных клеток определяли методом серийных разведений с последующим высевом в чашки Петри [2] на агаризованную гороховую среду.

Результаты лабораторных опытов показали, что исследуемые бактерии избирательны к жмыхам как компонентам питательной среды. В исходной культуре со жмыхом горчицы титр бактерий *L. nimipressuralis* ССМ 32-3 составлял 6,3 млрд колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл, что в 1,8 раза было ниже контроля, но через месяц хранения оставался на таком же уровне. Количество жизнеспособных клеток в контрольной культуре за этот период уменьшилось в 1,5 раза. Жмых льна не существенно повышал ростовую активность бактерий (10,1 \pm 0,3 млрд при 9,7 \pm 0,65