
Биотехнология и микробиология

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

УДК 579.841.11;579.64

ПРИНЦИПЫ ОТБОРА СТИМУЛЯТОРОВ КОРНЕОБРАЗОВАНИЯ РАСТЕНИЙ СРЕДИ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS* С АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Ю. М. КУЛЕШОВА¹⁾, В. А. РЫБАКОВА¹⁾, И. Н. ФЕКЛИСТОВА¹⁾, И. А. ГРИНЕВА¹⁾,
В. А. ЛОМОНОСОВА¹⁾, Т. Л. СКАКУН¹⁾, Д. В. МАСЛАК¹⁾, Л. Е. САДОВСКАЯ¹⁾, Н. П. МАКСИМОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Образец цитирования:

Кулешова Ю. М., Рыбакова В. А., Феклистова И. Н., Гринева И. А., Ломоносова В. А., Скакун Т. Л., Маслак Д. В., Садовская Л. Е., Максимова Н. П. Принципы отбора стимуляторов корнеобразования растений среди бактерий *Pseudomonas* с антагонистической активностью // Журн. Белорус. гос. ун-та. Биология. 2017. № 3. С. 54–62.

For citation:

Kuleshova Y. M., Rybakova V. A., Feklistova I. N., Grineva I. A., Lomonosova V. A., Skakun T. L., Maslak D. V., Sadovskaya L. E., Maximova N. P. Selection principles of plant korne formation stimulators among bacteria *Pseudomonas* with antagonistic activity. *J. Belarus. State Univ. Biol.* 2017. No. 3. P. 54–62 (in Russ.).

Авторы:

Юлия Михайловна Кулешова – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории молекулярной генетики и биотехнологии кафедры генетики биологического факультета.

Виктория Андреевна Рыбакова – студентка биологического факультета. Научный руководитель – Ю. М. Кулешова.

Ирина Николаевна Феклистова – кандидат биологических наук; заведующий научно-исследовательской лабораторией молекулярной генетики и биотехнологии кафедры генетики биологического факультета.

Ирина Александровна Гринева – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории молекулярной генетики и биотехнологии кафедры генетики биологического факультета.

Вероника Александровна Ломоносова – научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории молекулярной генетики и биотехнологии кафедры генетики биологического факультета.

Татьяна Леонидовна Скакун – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории молекулярной генетики и биотехнологии кафедры генетики биологического факультета.

Диана Викторовна Маслак – заведующий сектором молекулярной генетики и биотехнологии микроорганизмов кафедры генетики биологического факультета.

Людмила Евгеньевна Садовская – старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории молекулярной генетики и биотехнологии кафедры генетики биологического факультета.

Наталья Павловна Максимова – доктор биологических наук, профессор; заведующий кафедрой генетики биологического факультета.

Authors:

Yuliya M. Kuleshova, PhD (biology); senior researcher at the research laboratory of molecular genetics and biotechnology at the department of genetics, faculty of biology.

Viktoriya A. Rybakova, student at the faculty of biology.
viktoriya-rubka@mail.ru

Irina N. Feklistova, PhD (biology); head of the research laboratory of molecular genetics and biotechnology at the department of genetics, faculty of biology.
feklistova_iren@rambler.ru

Irina A. Grineva, senior researcher at the research laboratory of molecular genetics and biotechnology at the department of genetics, faculty of biology.
grineva_ia@mail.ru

Veronica A. Lomonosova, researcher at the research laboratory of molecular genetics and biotechnology at the department of genetics, faculty of biology.
nikaglad@gmail.com

Tatyana L. Skakun, senior researcher at the research laboratory of molecular genetics and biotechnology at the department of genetics, faculty of biology.
stanysik@yandex.ru

Diana V. Maslak, head of the sector of molecular genetics and biotechnology of microorganisms at the department of genetics, faculty of biology.
diana-maslak@yandex.ru

Ludmila E. Sadovskaya, senior researcher at the research laboratory of molecular genetics and biotechnology at the department of genetics, faculty of biology.
ludmilasadovskaya@rambler.ru

Natalia P. Maximova, doctor of science (biology), full professor; head of the department of genetics, faculty of biology.
nataliamaximova@yahoo.com

Среди PGPR-бактерий рода *Pseudomonas* флуоресцирующей группы с антагонистической активностью выявлены штаммы, способные улучшать минеральное питание растений. Оценены факторы фитопатогенности изучаемых бактерий и влияние их на ростовые процессы растений. При анализе ростостимулирующей активности препаратов на основе 14 различных бактериальных культур зафиксировано достоверное увеличение длины корней до 90 %, побегов – до 95 %, всхожести семян – до 30 % относительно контроля. Таким образом, непатогенные *Pseudomonas* флуоресцирующей группы могут одновременно являться антагонистами фитопатогенов, улучшать минерализацию почв и стимулировать корнеобразование растений, что приводит к увеличению продуктивности последних.

Ключевые слова: *Pseudomonas*; антагонизм; стимуляция корнеобразования; улучшение минерального питания растений; увеличение продуктивности растений.

SELECTION PRINCIPLES OF PLANT KORNE FORMATION STIMULATORS AMONG BACTERIA *PSEUDOMONAS* WITH ANTAGONISTIC ACTIVITY

Y. M. KULESHOVA^a, V. A. RYBAKOVA^a, I. N. FEKLISTOVA^a,
I. A. GRINEVA^a, V. A. LOMONOSOVA^a, T. L. SKAKUN^a,
D. V. MASLAK^a, L. E. SADOVSKAYA^a, N. P. MAXIMOVA^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: Y. M. Kuleshova (yuliakuleshova@yahoo.co.uk)

Among the PGPR *Pseudomonas* with antagonistic activity from «fluorescent» group, strains capable of improving the mineral nutrition of plants have been identified. The influence on plant growth processes and the phytopathogenic factors of studied bacteria are estimated. When analyzing the growth-stimulating activity of preparations on the basis of 14 different bacterial cultures, a reliable increase in the root length was registered, up to 90 %, shoots – up to 95 %, seed germination – up to 30 % relative to control. Thus, non-pathogenic fluorescent *Pseudomonas* can be antagonists of phytopathogens, improve soil mineralization and stimulate root formation of plants simultaneously, which leads to an increase in the plant productivity.

Key words: *Pseudomonas*; antagonistic activity; stimulation of plant roots growth; improvement of plant mineral nutrition; increase in plant productivity.

Интерес к бактериям PGPR-группы вызван возможностью повышения с их помощью урожайности растений, что позволяет рассматривать данные микроорганизмы в качестве альтернативы химическим удобрениям, пестицидам и регуляторам роста [1]. Бактерии PGPR – представители флуоресцирующей группы почвенных *Pseudomonas* – способны к синтезу широкого спектра метаболитов с фитогормональной и сигнальной активностью, стимуляторов системной устойчивости растений, веществ, угнетающих развитие грибных и бактериальных фитопатогенов, а также увеличивающих биодоступность макроэлементов [1; 2]. Это позволяет использовать данные бактерии для разработки биопрепаратов сельскохозяйственного назначения. В связи с этим в настоящей работе рассматривается возможность совмещения в биопрепарате – стимуляторе корнеобразования растений – фитопротекторных и ростостимулирующих свойств.

Материалы и методы исследований

В работе использованы штаммы бактерий *Pseudomonas* флуоресцирующей группы, фитопатогенные бактерии и грибы из коллекции биологического факультета БГУ.

Бактерии культивировали при 28 °С в течение 48 ч с аэрацией в жидкой или на агаризованной среде на основе рыбного бульона либо солевого концентрата М9 с мелассой (концентрация составляла 0,4 %), или солевого концентрата Канада с сукцинатом Na (концентрация равнялась 0,4 %) [3; 4].

Антагонистическую активность исследовали методом отсроченного антагонизма [5].

Изучение фосфатмобилизующей активности проводили с использованием среды Муромцева, азотфиксирующей – среды Эшби [6]. Наличие факторов патогенности устанавливали согласно [7]. Влияние бактерий на ростовые процессы растений исследовали с использованием рапса озимого сорта Зорный, культивируемого согласно [8]. Продуктивность растений определяли в модельной системе с кресс-салатом сорта Звычайны.

Полученные результаты представляли в виде среднего арифметического с учетом стандартной ошибки средней величины. Достоверность различий определяли при помощи критерия Стьюдента при уровне значимости ошибки $p \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

В работе были использованы 94 штамма бактерий рода *Pseudomonas*, депонированные в коллекцию кафедры генетики биологического факультета БГУ. Известно, что представители *Pseudomonas* флуоресцирующей группы продуцируют пиовердины – наиболее активные из известных микробных сидерофоров, являющиеся одним из факторов антагонистической активности синтезирующих их бактерий и способные служить дополнительным источником ионов железа для растений [9]. В связи с этим по способности к флуоресценции на минеральной среде Канеда с сукцинатом Na (среда А) среди коллекционных штаммов были отобраны бактерии, продуцирующие пиовердины и, соответственно, относящиеся к флуоресцирующей группе псевдомонад. Из 37 штаммов флуоресцирующих *Pseudomonas* были исключены бактерии, синтезирующие пиоцианин, поскольку продукция данного сине-зеленого пигмента характерна в том числе для условных патогенов человека, в частности для *P. aeruginosa* (возбудитель нозокомиальных инфекций человека [10]). О способности бактерий к синтезу пиоцианина судили по сине-зеленому окрашиванию полноценной среды на основе гидролизата кильки вокруг колоний микроорганизмов. Таким образом, среди исследуемых бактерий рода *Pseudomonas* были отобраны 23 штамма, не продуцирующих пиоцианины, но способных синтезировать пиовердины и потенциально обладающих антагонистической и стимулирующей рост растений активностью.

Антагонистическую активность отобранных представителей рода *Pseudomonas* изучали при помощи метода отсроченного антагонизма. Бактерии выращивали на полноценной среде и минеральной среде А, так как спектр синтезируемых микроорганизмами метаболитов с антагонистической активностью может различаться при разных условиях культивирования (табл. 1). В качестве фитопатогенной бактериальной тест-культуры был выбран штамм *Clavibacter* sp., выделенный из зараженных растений Минской овощной фабрики. Антифунгальную активность исследовали с использованием в качестве тест-культуры широко распространенного почвенного фитопатогена *Fusarium oxysporum*.

Таблица 1

Антагонистическая активность бактерий рода *Pseudomonas*

Table 1

Antagonistic activity of *Pseudomonas* bacteria

Штамм	Антибактериальная активность		Антифунгальная активность		
	Среда А	Полноценная среда	Радиус роста к антагонисту, мм	Радиус роста от антагониста, мм	Относительный рост фитопатогена, %
<i>P. vesicatoria</i> ВКМБ-546	+	+	33	36	91,7
<i>P. aureofaciens</i> В-161	+	+	33	36	91,7
<i>P. fluorescens</i> ВКМБ-561	+	–	34	36	94,4
<i>P. fluorescens</i> В-172	–	+	36	36	100,0
<i>P. fluorescens</i> ВКМБ-896	+	+	34	36	94,4
<i>P. aurantiaca</i> ВКМБ-876	–	+	23	34	67,64
<i>P. fluorescens</i> В-24	+	+	33	35	94,28
<i>P. aurantiaca</i> В-14	–	+	22	33	66,67
<i>P. putida</i> В-37	+	+	20	34	58,82
<i>P. putida</i> В-38	–	–	24	34	70,58
<i>P. putida</i> В-21	–	+	33	32	103,13
<i>P. putida</i> В-40	+	+	29	35	82,85
<i>P. chlororaphis</i> ВКМБ-897	+	+	32	36	88,89
<i>P. aurantiaca</i> ВКМБ-560	–	+	32	30	106,67
<i>P. fluorescens</i> В-28	–	+	37	35	105,71

Окончание табл. 1
Ending table 1

Штамм	Антибактериальная активность		Антифунгальная активность		
	Среда А	Полноценная среда	Радиус роста к антагонисту, мм	Радиус роста от антагониста, мм	Относительный рост фитопатогена, %
<i>P. fluorescens</i> 8305	+	+	29	36	80,56
<i>P. aurantiaca</i> ВКМВ-548	+	—	30	34	88,23
<i>P. aurantiaca</i> В-162	+	+	21	35	60,0
<i>P. putida</i> КМБУ 4308	+	—	30	36	83,33
<i>P. putida</i> F19	+	—	28	37	75,68
<i>P. putida</i> C11	+	—	27	37	72,98
<i>P. sp.</i> 139	+	+	22	36	61,11
<i>P. chlororaphis</i> 449	+	+	24	36	66,67

Примечания: 1. При исследовании антибактериальной активности в качестве тест-культуры использован штамм *Clavibacter* sp. 2. При исследовании антифунгальной активности в качестве тест-культуры использован *Fusarium oxysporum*. 3. Знак «плюс» означает, что наблюдается зона задержки роста фитопатогена. 4. Знаком «минус» отмечено отсутствие зоны задержки роста фитопатогена.

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о наличии антагонистической активности у всех изучаемых бактерий. При этом 16 из 23 исследованных штаммов выделяли вещества с антагонистической активностью на минимальной среде А, 18 из 23 штаммов подавляли развитие фитопатогенов как бактериальной, так и грибной природы. Наиболее широкий спектр антагонистической активности наблюдался у бактерий *P. vesicatoria* ВКМВ-546, *P. aureofaciens* В-161, *P. fluorescens* ВКМВ-896, *P. fluorescens* В-24, *P. putida* В-37, *P. putida* В-40, *P. chlororaphis* ВКМВ-897, *P. fluorescens* 8305, *P. aurantiaca* В-162, *P. sp.* 139, *P. chlororaphis* 449, что делает их наиболее перспективными для дальнейших исследований в целях создания полифункциональных биопрепаратов для повышения продуктивности растений.

Следует подчеркнуть, что фитопатогенные представители *Pseudomonas* также могут обладать антагонистической активностью. Для исключения фитопатогенов из потенциально перспективных для использования в сельском хозяйстве штаммов был проведен скрининг факторов их патогенности (табл. 2).

Таблица 2

Идентификация факторов фитопатогенности

Table 2

Identification of phytopathogenicity factors

Штамм	Фактор патогенности				
	Мацерация		Целлюлолитическая активность	Некроз	Пектатлитическая активность
	Картофель	Морковь			
<i>P. vesicatoria</i> ВКМВ-546	—	—	+/-	—	—
<i>P. aureofaciens</i> В-161	—	—	—	—	—
<i>P. fluorescens</i> ВКМВ-561	+	—	—	—	—
<i>P. fluorescens</i> В-172	—	—	—	—	—
<i>P. fluorescens</i> ВКМВ-896	+	—	—	—	—
<i>P. aurantiaca</i> ВКМВ-876	—	—	—	—	—
<i>P. fluorescens</i> В-24	—	—	—	—	—
<i>P. aurantiaca</i> В-14	—	—	—	—	—
<i>P. putida</i> В-37	—	—	—	+	—
<i>P. putida</i> В-38	—	—	—	+	—

Окончание табл. 2
Ending table 2

Штамм	Фактор патогенности				
	Мацерация		Целлюлолитическая активность	Некроз	Пектатлитическая активность
	Картофель	Морковь			
<i>P. putida</i> B-21	+	–	–	–	–
<i>P. putida</i> B-40	+	–	–	–	–
<i>P. aurantiaca</i> BKMB-560	–	–	–	–	–
<i>P. aurantiaca</i> BKMB-548	+	+	–	–	–
<i>P. fluorescens</i> 8305	–	–	–	–	–
<i>P. fluorescens</i> B-28	–	–	–	–	–
<i>P. chlororaphis</i> BKMB-897	+	–	–	+/-	–
<i>P. aurantiaca</i> B-162	–	–	–	+/-	–
<i>P. putida</i> F19	+	–	–	+/-	–
<i>P. putida</i> C11	–	–	–	+/-	–
<i>P. sp.</i> 139	+	–	–	–	–
<i>P. chlororaphis</i> 449	–	–	–	–	–
<i>P. putida</i> KMBY 4308	–	–	–	+/-	–

Примечания: 1. Знак «плюс» означает, что активность зафиксирована. 2. Знаком «минус» отмечено отсутствие активности. 3. Знак «плюс/минус» определяет, что зона просветления фиксируется непосредственно в месте укола.

В результате исследования способности мацерировать растительную ткань было обнаружено, что представители 8 штаммов разрушают ткани клубней картофеля, но не могут мацерировать корнеплоды моркови. В то же время показано, что штамм *P. aurantiaca* BKMB-548 мацерировал и картофель, и морковь. Обнаружены также 2 штамма, вызывающих некроз живых тканей листьев табака, – *P. putida* B-37 и *P. putida* B-38. В ходе проведения теста на целлюлолитическую активность был выявлен один штамм, продуцирующий целлюлолитические ферменты, – *P. vesicatoria* BKMB-546. Способности к деградации пектиновых веществ не проявил ни один из тестируемых бактериальных штаммов. Как показывают результаты проведенного скрининга, представленные в табл. 2, ни один из бактериальных штаммов не обладал комплексом свойств, необходимых для проявления фитопатогенности. Тем не менее штаммы *P. putida* B-37, *P. putida* B-38 и *P. aurantiaca* BKMB-548 были исключены из дальнейших экспериментов по активации корнеобразования растений.

Таким образом, в качестве потенциальных стимуляторов корнеобразования среди бактерий рода *Pseudomonas*, способных синтезировать пиовердины, были отобраны 16 нефитопатогенных штаммов, угнетающих развитие возбудителей бактериальных и грибных заболеваний овощных культур.

Исследование фосфатмобилизующей (с использованием среды Муромцева) и азотфиксирующей (на среде Эшби) активностей отобранных бактерий позволило заключить, что большинство из них обладают обеими исследуемыми активностями и, соответственно, способны улучшать минеральное питание растений (табл. 3). Вместе с тем бактерии *P. aureofaciens* B-161, *P. aurantiaca* B-162, *P. sp.* 139, *P. chlororaphis* 449 не могли растворять фосфаты, однако были способны расти на среде без азотистых соединений. Бактерии *P. putida* B-40, напротив, оказались не способными к фиксации азота, но эффективно мобилизовали фосфаты.

Для изучения влияния метаболитов бактерий на рост корней растений в качестве тест-культуры использовали озимый рапс. Поскольку спектр бактериальных метаболитов может отличаться на разных питательных средах, для культивирования бактерий использовали среду М9 с мелассой, так как она часто применяется при производстве биопрепаратов, и среду А, потому что янтарная кислота является предшественником пиовердинов – сидерофоров с антагонистической активностью. Для оптимизации концентрации метаболитов бактериальную культуру разводили в 100 и 1000 раз перед использованием стерильной водопроводной водой и обрабатывали поверхностно стерилизованные семена в течение 4 ч, после чего выкладывали на стерильные, смоченные водой фильтры в стерильные чашки Петри и культивировали согласно [8].

Таблица 3

Способность бактерий улучшать минерализацию почвы

Table 3

The ability of bacteria to improve soil mineralization

Штамм	Способность к мобилизации фосфора, диаметр просветления, мм			Способность расти на среде без азота
	24 ч	48 ч	7 сут	
<i>P. vesicatoria</i> ВКМБ-546	–	9	+	+
<i>P. aureofaciens</i> В-161	–	–	–	+
<i>P. fluorescens</i> ВКМБ-561	10	18	+	+
<i>P. fluorescens</i> ВКМБ-896	9	18	+	+
<i>P. aurantiaca</i> ВКМБ-876	–	–	–	+
<i>P. fluorescens</i> В-24	11	15	+	+
<i>P. aurantiaca</i> В-14	–	10	+	+
<i>P. putida</i> В-40	14	21	+	–
<i>P. fluorescens</i> 8305	–	11	+	+
<i>P. chlororaphis</i> ВКМБ-897	11	20	+	+
<i>P. aurantiaca</i> В-162	–	–	–	+
<i>P. putida</i> КМБУ 4308	10	14	+	+
<i>P. putida</i> F19	–	9	+	+
<i>P. putida</i> C11	11	13	+	+
<i>P. sp.</i> 139	–	–	–	+
<i>P. chlororaphis</i> 449	–	–	–	+

Примечания: 1. Знак «плюс» означает наличие активности. 2. Знаком «минус» отмечено отсутствие активности.

О влиянии обработки семян на ростовые процессы растений судили по изменениям параметров роста 10-дневных проростков. Для исключения влияния среды культивирования на рост рапса при обработке бактериальной культурой данные, полученные в опытах с бактериями, делили на показатели соответствующих контрольных выборок, обработанных средой культивирования без бактерий. Совокупность данных, нормализованных по отношению к соответствующему контролю, представлена на рис. 1.

Анализ полученных результатов позволяет заключить, что обработка семян рапса бактериальными суспензиями способна стимулировать рост корней на 12,0–91,5 %. Наиболее выраженный стимулирующий эффект наблюдался при обработке бактериями *P. putida* В-40, *P. vesicatoria* ВКМБ-546 и *P. fluorescens* 8305, выращенными в среде М9 с мелассой и разведенными в 100 раз перед использованием, при этом увеличение длины корня достигало 90,0; 91,5 и 66,0 % соответственно. Следует отметить, что все три указанных штамма являлись активными фосфатмобилизаторами, а отсутствие азотфиксирующей активности у *P. putida* В-40 не снижало эффективности активации корнеобразования.

Представленные на рис. 1 результаты свидетельствуют о том, что 11 препаратов на основе 9 бактериальных культур способны стимулировать рост надземной части проростков. При этом наиболее выраженная прибавка длины побега (около 95 % по сравнению с соответствующей контрольной выборкой) зафиксирована после обработки семян рапса бактериями *P. vesicatoria* ВКМБ-546, выращенными в среде М9 (разведение в 100 раз перед использованием). Было также отмечено, что колебания показателя энергии прорастания семян после обработки бактериальными суспензиями находились в пределах ошибки измерения. Анализ изменения всхожести семян позволил заключить, что обработка бактериями *P. putida* F19, выращенными в среде М9 (разведение в 100 раз перед использованием), *P. vesicatoria* ВКМБ-546 – в среде М9 (разведение в 100 раз), *P. fluorescens* ВКМБ-561 – в среде А (разведение в 1000 раз), *P. fluorescens* В-24 – в среде М9 (разведение в 1000 раз), достоверно повышает всхожесть семян рапса на 25–30 %, а обработка *P. vesicatoria* ВКМБ-546, выращенными в среде А (разведение в 100 раз), снижает всхожесть примерно на 24 %. Изменения всхожести, вызванные остальными вариантами обработки, были статистически недостоверны.

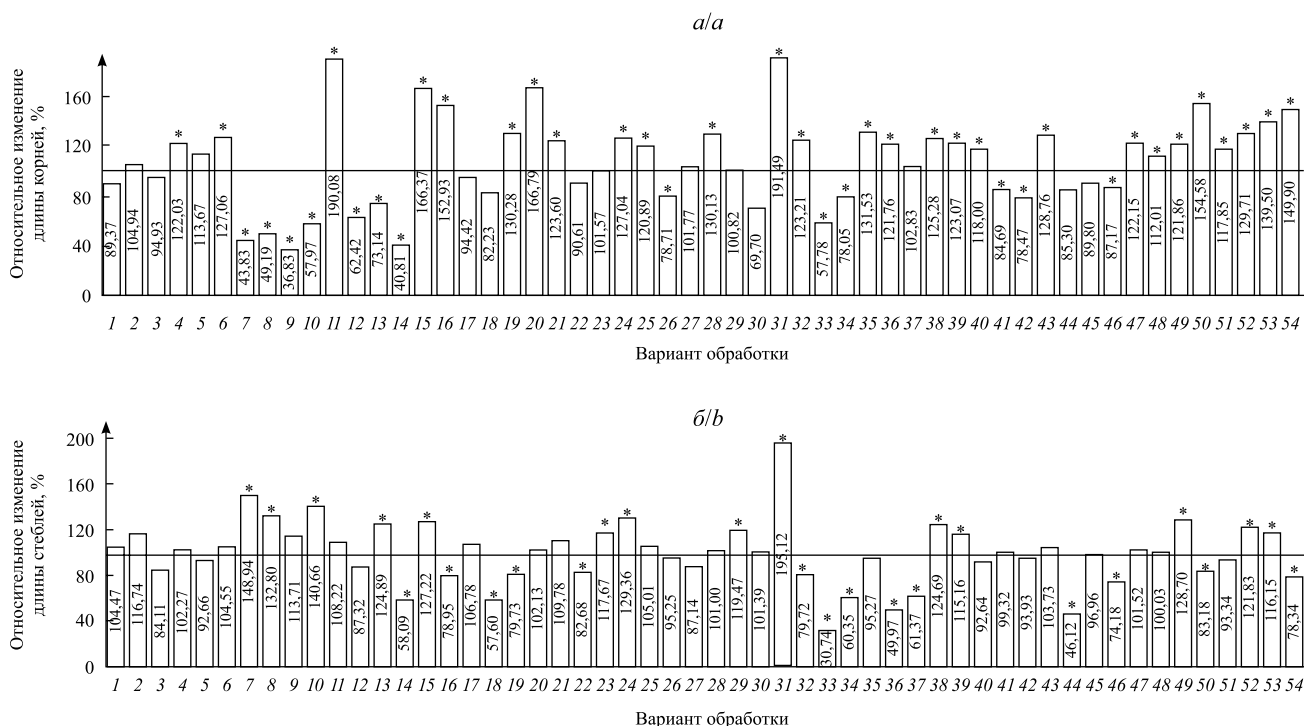


Рис. 1. Изменение длины корней (а) и стеблей (б) проростков рапса после обработки семян бактериальными культурами, выращенными на разных средах (А и М9), при разведении в 100 (×100) и 1000 (×1000) раз:

1 – *P. sp.* 139 в А (×100); 2 – *P. sp.* 139 в А (×1000); 3 – *P. putida* C11 в А (×100); 4 – *P. putida* C11 в А (×1000); 5 – *P. putida* C11 в М9 (×100); 6 – *P. putida* C11 в М9 (×1000); 7 – *P. chlororaphis* 449 в М9 (×100); 8 – *P. chlororaphis* 449 в М9 (×1000); 9 – *P. chlororaphis* 449 в А (×100); 10 – *P. chlororaphis* 449 в А (×1000); 11 – *P. putida* B-40 в М9 (×100); 12 – *P. putida* B-40 в М9 (×1000); 13 – *P. putida* B-40 в А (×100); 14 – *P. putida* B-40 в А (×1000); 15 – *P. fluorescens* 8305 в М9 (×100); 16 – *P. fluorescens* 8305 в М9 (×1000); 17 – *P. fluorescens* 8305 в А (×100); 18 – *P. fluorescens* 8305 в А (×1000); 19 – *P. aurantiaca* B-162 в А (×100); 20 – *P. aurantiaca* B-162 в А (×1000); 21 – *P. aurantiaca* B-162 в М9 (×100); 22 – *P. aurantiaca* B-162 в М9 (×1000); 23 – *P. putida* KMBY 4308 в А (×100); 24 – *P. putida* KMBY 4308 в А (×1000); 25 – *P. putida* KMBY 4308 в М9 (×100); 26 – *P. putida* KMBY 4308 в М9 (×1000); 27 – *P. putida* F19 в А (×100); 28 – *P. putida* F19 в А (×1000); 29 – *P. putida* F19 в М9 (×100); 30 – *P. putida* F19 в М9 (×1000); 31 – *P. vesicatoria* BKMB-546 в М9 (×100); 32 – *P. vesicatoria* BKMB-546 в М9 (×1000); 33 – *P. vesicatoria* BKMB-546 в А (×100); 34 – *P. vesicatoria* BKMB-546 в А (×1000); 35 – *P. fluorescens* BKMB-561 в М9 (×100); 36 – *P. fluorescens* BKMB-561 в М9 (×1000); 37 – *P. fluorescens* BKMB-561 в А (×100); 38 – *P. fluorescens* BKMB-561 в А (×1000); 39 – *P. fluorescens* B-24 в М9 (×100); 40 – *P. fluorescens* B-24 в М9 (×1000); 41 – *P. fluorescens* B-24 в А (×100); 42 – *P. fluorescens* B-24 в А (×1000); 43 – *P. fluorescens* 896 в М9 (×100); 44 – *P. fluorescens* 896 в М9 (×1000); 45 – *P. fluorescens* 896 в А (×100); 46 – *P. fluorescens* 896 в А (×1000); 47 – *P. aureofaciens* B-161 в М9 (×100); 48 – *P. aureofaciens* B-161 в М9 (×1000); 49 – *P. aureofaciens* B-161 в А (×100); 50 – *P. aureofaciens* B-161 в А (×1000); 51 – *P. aurantiaca* B-14 в М9 (×100); 52 – *P. aurantiaca* B-14 в М9 (×1000); 53 – *P. aurantiaca* B-14 в А (×100); 54 – *P. aurantiaca* B-14 в А (×1000); *разница опыта с контролем статистически достоверна при $p \leq 0,05$

Fig. 1. Change in root length (a) and stems length (b) of rape seedlings after seed inoculation with bacterial cultures grown in different medium (A and M9) diluted 100 (×100) and 1000 (×1000) times:

1 – inoculation with *P. sp.* 139, grown in medium A (×100); 2 – *P. sp.* 139 in A (×1000); 3 – *P. putida* C11 in A (×100); 4 – *P. putida* C11 in A (×1000); 5 – *P. putida* C11 in М9 (×100); 6 – *P. putida* C11 in М9 (×1000); 7 – *P. chlororaphis* 449 in М9 (×100); 8 – *P. chlororaphis* 449 in М9 (×1000); 9 – *P. chlororaphis* 449 in А (×100); 10 – *P. chlororaphis* 449 in А (×1000); 11 – *P. putida* B-40 in М9 (×100); 12 – *P. putida* B-40 in М9 (×1000); 13 – *P. putida* B-40 in А (×100); 14 – *P. putida* B-40 in А (×1000); 15 – *P. fluorescens* 8305 in М9 (×100); 16 – *P. fluorescens* 8305 in М9 (×1000); 17 – *P. fluorescens* 8305 in А (×100); 18 – *P. fluorescens* 8305 in А (×1000); 19 – *P. aurantiaca* B-162 in А (×100); 20 – *P. aurantiaca* B-162 in А (×1000); 21 – *P. aurantiaca* B-162 in М9 (×100); 22 – *P. aurantiaca* B-162 in М9 (×1000); 23 – *P. putida* KMBY 4308 in А (×100); 24 – *P. putida* KMBY 4308 in А (×1000); 25 – *P. putida* KMBY 4308 in М9 (×100); 26 – *P. putida* KMBY 4308 in М9 (×1000); 27 – *P. putida* F19 in А (×100); 28 – *P. putida* F19 in А (×1000); 29 – *P. putida* F19 in М9 (×100); 30 – *P. putida* F19 in М9 (×1000); 31 – *P. vesicatoria* BKMB-546 in М9 (×100); 32 – *P. vesicatoria* BKMB-546 in М9 (×1000); 33 – *P. vesicatoria* BKMB-546 in А (×100); 34 – *P. vesicatoria* BKMB-546 in А (×1000); 35 – *P. fluorescens* BKMB-561 in М9 (×100); 36 – *P. fluorescens* BKMB-561 in М9 (×1000); 37 – *P. fluorescens* BKMB-561 in А (×100); 38 – *P. fluorescens* BKMB-561 in А (×1000); 39 – *P. fluorescens* B-24 in М9 (×100); 40 – *P. fluorescens* B-24 in М9 (×1000); 41 – *P. fluorescens* B-24 in А (×100); 42 – *P. fluorescens* B-24 in А (×1000); 43 – *P. fluorescens* 896 in М9 (×100); 44 – *P. fluorescens* 896 in М9 (×1000); 45 – *P. fluorescens* 896 in А (×100); 46 – *P. fluorescens* 896 in А (×1000); 47 – *P. aureofaciens* B-161 in М9 (×100); 48 – *P. aureofaciens* B-161 in М9 (×1000); 49 – *P. aureofaciens* B-161 in А (×100); 50 – *P. aureofaciens* B-161 in А (×1000); 51 – *P. aurantiaca* B-14 in М9 (×100); 52 – *P. aurantiaca* B-14 in М9 (×1000); 53 – *P. aurantiaca* B-14 in А (×100); 54 – *P. aurantiaca* B-14 in А (×1000); *the difference in the experience with the control is statistically significant when $p \leq 0.05$

Логично предположить, что интенсивное развитие корневой системы должно приводить к увеличению урожайности растений. Влияние обработки семян бактериальными суспензиями трех наиболее перспективных штаммов – *P. putida* В-40, *P. vesicatoria* ВКМВ-546 и *P. fluorescens* 8305 – на продуктивность растений изучали с использованием кресс-салата сорта Звучайны, при этом семена высевали в стерильный почвогрунт, а затем проводили обработку разведенными водой бактериальными культурами. За продуктивность принимали вес сырой и сухой массы побегов 10-дневных проростков в пересчете на одно растение (рис. 2). Как видно из представленных данных, обработка бактериями *P. putida* В-40, *P. vesicatoria* ВКМВ-546 и *P. fluorescens* 8305 в среде М9 (разведение в 100 раз) приводит к прибавке сырой (до 22 % при обработке *P. fluorescens* 8305) и сухой (до 10 % при обработке *P. putida* В-40) массы растений.

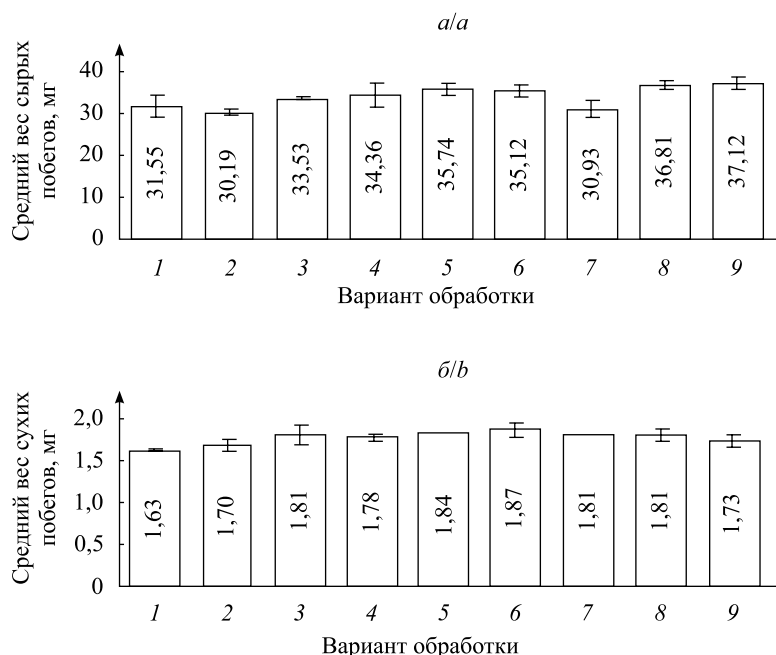


Рис. 2. Изменение массы сырых (а) и сухих (б) 10-дневных побегов кресс-салата после обработки семян бактериальными культурами при разведении в 100 (×100) и 1000 (×1000) раз:

- 1 – обработка водой; 2 – средой М9 (×100); 3 – средой М9 (×1000);
4 – бактериями *P. vesicatoria* ВКМВ-546, выращенными в среде М9 (разведение в 100 раз перед использованием);
5 – *P. vesicatoria* ВКМВ-546 в М9 (×1000); 6 – *P. putida* В-40 в М9 (×100); 7 – *P. putida* В-40 в М9 (×1000);
8 – *P. fluorescens* 8305 в М9 (×100); 9 – *P. fluorescens* 8305 в М9 (×1000)

Fig. 2. Change in the weight of raw (a) and dry (b) 10-day shoots of watercress

after seed inoculation with bacterial cultures diluted 100 (×100) and 1000 (×1000) times:

- 1 – inoculation with water; 2 – inoculation with M9 medium (diluted 100 times); 3 – M9 (diluted 1000 times);
4 – inoculation with *P. vesicatoria* ВКМВ-546 bacteria, grown in M9 and diluted 100 times before use;
5 – *P. vesicatoria* ВКМВ-546 in М9 (×1000); 6 – *P. putida* В-40 in М9 (×100); 7 – *P. putida* В-40 in М9 (×1000);
8 – *P. fluorescens* 8305 in М9 (×100); 9 – *P. fluorescens* 8305 in М9 (×1000)

Таким образом, продемонстрировано, что непатогенные бактерии *Pseudomonas* – антагонисты возбудителей болезней растений – способны улучшать биодоступность фосфатов и азота, а также стимулировать корнеобразование растений. При использовании различных препаратов 14 бактериальных культур зафиксирована достоверная прибавка длины корней до 90 %, что приводит к увеличению продуктивности растений.

Библиографические ссылки

1. Максимов И. В., Абизильдина Р. Р., Пусенкова Л. И. Стимулирующие рост растений микроорганизмы как альтернатива химическим средствам защиты от патогенов // Прикл. биохимия и микробиология. 2011. Т. 47, № 4. С. 373–385.
2. Максимова Н. П., Храмова Е. А., Феклистова И. Н. и др. Генетические подходы к созданию штаммов – продуцентов биологически активных соединений у бактерий *Pseudomonas* // Тр. БГУ. Сер.: Физиол., биохим. и мол. основы функционирования биосистем. 2009. Т. 4 : в 2 ч. Ч. 2. С. 15–55.
3. Kaneda T., Roxburg J. A methanol utilizing bacterium // Canad. J. Microbiol. 1959. Vol. 5, № 2. P. 187–198.
4. Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. Molecular cloning : a laboratory manual. 2nd ed. New York : Cold Spring Harbor Publications, 1989.

5. Fredericq P. Colicins // *Annu. Rev. Microbiol.* 1957. Vol. 2, № 1. P. 7–22.
6. Сэги Ё. Методы почвенной микробиологии. Минск : Колас, 1983.
7. Желдакова Р. А., Мямин В. Е. Фитопатогенные микроорганизмы. Минск : БГУ, 2006.
8. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : ГОСТ 12098–84. Введ. 01.07.86. М. : Министерство сельского хозяйства СССР, 1984.
9. Vansuyt G., Robin A., Briat J. F., et al. Iron acquisition from Fe-pyoverdine by *Arabidopsis thaliana* // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2007. Vol. 20, № 4. P. 441–447.
10. Mesquita C. S., Soares-Castro P., Santos P. M. *Pseudomonas aeruginosa*: phenotypic flexibility and antimicrobial resistance // *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education* / ed. by A. Méndez-Vilas. 2013. Vol. 1. P. 650–665.

References

1. Maksimov I. V., Abizgil'dina R. R., Pusenkova L. I. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (review). *Appl. Biochem. Microbiol.* 2011. Vol. 47, No. 4. P. 373–385 (in Russ.).
2. Maximova N. P., Khramtsova E. A., Feklistova I. N., et al. Genetic approaches for creation of strains-producers of biologically active compounds. *Proc. of the Belarus. State Univ. Ser.: Physiol., biochem. and mol. biol. sci.* 2009. Vol. 4 : in 2 parts. Part 2. P. 15–55 (in Russ.).
3. Kaneda T., Roxburg J. A methanol utilizing bacterium. *Canad. J. Microbiol.* 1959. Vol. 5, No. 2. P. 187–198.
4. Sambrook J., Fritsch E., Maniatis T. *Molecular cloning : a laboratory manual*. 2nd ed. New York : Cold Spring Harbor Publications, 1989.
5. Fredericq P. Colicins. *Annu. Rev. Microbiol.* 1957. Vol. 2, No. 1. P. 7–22.
6. Segi Y. *Soil microbiology methods*. Minsk : Kolas, 1983 (in Russ.).
7. Zheldakova R. A., Myamin V. Y. *The phytopathogenic microorganisms*. Minsk : Belarusian State University, 2006 (in Russ.).
8. Seeds of agricultural crops. Methods for determination of germination : GOST 12098–84. Put into use 01.07.86. Moscow : Ministry of Agriculture of the USSR, 1984 (in Russ.).
9. Vansuyt G., Robin A., Briat J. F., et al. Iron acquisition from Fe-pyoverdine by *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2007. Vol. 20, No. 4. P. 441–447.
10. Mesquita C. S., Soares-Castro P., Santos P. M. *Pseudomonas aeruginosa*: phenotypic flexibility and antimicrobial resistance. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. 2013. Vol. 1. P. 650–665.

Статья поступила в редколлегию 13.09.2017.

Received by editorial board 13.09.2017.