

Идентификация ризосферных микроорганизмов с потенциальными полезными свойствами в условиях карбонатных почв

Думачева Е.В., д.б.н., в.н.с., Максимова П.В., м.н.с., Гаар А.В., м.н.с., Акимов А.В. м.н.с.

Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса (ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»), Лобня, Московская область, Россия

**email: laboratory_ph@mail.ru*

Целью исследования является, выделения нескольких видов чистых культур микроорганизмов с поверхностей листьев, стеблей и зоны ризосферы корней двух видов растений мелового юга Среднерусской возвышенности. Выделенные чистые культуры будут депонированы в НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика. Так же в дальнейшем планируется на основе данного изучения, создания микробно-растительных комплексов и препаратов с антибактериальными свойствами.

Ключевые слова: Bacillus subtilis, Bacillus mojavensis, ризосфера корней, чистые культуры.

Identification rhizosphere microorganisms with potential beneficial properties in carbonate soils Properties in carbonate soil conditions

Dumacheva E.V., Maksimova P.V., Gaar A.V., Akimov A.V.*

V.R. Williams Federal Scientific Centre for Forage Production and Agroecology (V.R. Williams VIC), Lobnya, Moscow Region, Russia

**email: laboratory_ph@mail.ru*

The aim of the study is to isolate several species of pure cultures of microorganisms from the surfaces of leaves, stems and rhizosphere zone of roots of two plant species of the Cretaceous south of the Central Russian Upland. The isolated pure cultures will be deposited in SIC "Kurchatov Institute" GosNIIgenetika – GosNIIgenetics. Also in the future it is planned to create microbial-plant complexes and preparations with antibacterial properties on the basis of this study.

Key words: Bacillus subtilis, Bacillus mojavensis, root rhizosphere, pure cultures.

Изучение микробиома растительных организмов является важным направлением исследований в области изучения взаимоотношений «микроорганизмы-высшие растения». Понимание взаимодействия высших организмов с микробценозом представляет важную научную проблему. Особый научный интерес для изучения представляют виды высших растений, перспективные для введения

в культуру в связи с их полифункциональным значением [1]. В частности, представители родов редких и эндемичных видов, которые являются перспективными для получения фитобиотиков и создания кормов нового поколения, поскольку содержат комплекс ценных БАВ [2, 3]. Микроорганизмы, выделенные с поверхности отдельных частей этих растений, а особенно, из зоны ризосферы, могут стать основой для разработки биопрепаратов против возбудителей многих болезней [4].

Очищенные культуры в данном исследовании представляют собой отдельные популяции, полученные из одной клетки и относящиеся к тому же виду или штамму. После процедуры очищения культуры подвергаются отбору и используются для создания лабораторных коллекций с нужными свойствами. Процесс очистки культур микроорганизмов является важным этапом при изучении вида, полученного из его естественной среды обитания [5].

В качестве источников для выделения микроорганизмов были выбраны многолетние дикорастущие виды флоры мелового юга Среднерусской возвышенности: *Hedysarum grandiflorum*, *Phlomis tuberosa*, *Artemisia hololeuca*, *Medicago falcata*, *Astragalus albicaulis*, *Matthiola fragrans* и другие [6, 7]. Работы по мобилизации биологических ресурсов микроорганизмов, которые являются частью микробиома растений в экстремальных условиях среды, ведутся в рамках исследований лаборатории физиологии сельскохозяйственных растений ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса». Выделены ризосферные микроорганизмы, относящиеся к роду *Bacillus*. Бактерией с широким спектром приложений в биологии, биотехнологии и сельском хозяйстве является *B. subtilis*, которая широко используется в научных исследованиях как модельный организм для изучения различных биологических процессов и механизмов. Одним из видов, родственных *B. subtilis* является *B. mojavensis* – перспективный объект агробиологических и физиологических исследований. Штаммы *B. mojavensis* продуцируют ценные биохимические соединения, таких, как липопептидные антибиотики, ферменты и энзимы.

Девять видов изученных чистых культур микроорганизмов выделены с поверхностей листьев, стеблей и зоны ризосферы корней двух видов растений мелового юга Среднерусской возвышенности с использованием методов [8].

Из *Ph. tuberosa* были выделены и идентифицированы три микроорганизма – *Serratia marcescens* (PN1), *S. marcescens* (PN2), *Pseudomonas putida* (PN3). Так же, из *H. grandiflorum* были выделены и идентифицированы шесть микроорганизмов – *Staphylococcus aureus* (HL1), *Acinetobacter calcoaceticus* (HL2), *B. mojavensis* (HR1), *A. calcoaceticus* (HR2), *B. flexus* (HF1), *B. subtilis* (HF2). Из всех выделенных микроорганизмов больший интерес для дальнейшего исследования имеют два вида бактерий *B. mojavensis* (HR1) и *B. subtilis* (HF2). С поверхностей корней девяти дикорастущих видов высших растений выделены 25 образцов, у которых

изучены микроскопические особенности и оценена способность к спорообразованию. Была проведена идентификация полученных чистых культур до рода.

Из полыни белой (A. hololeuca) были выделены 2 колонии белого цвета с ровными краями, выпуклые, плоские. Один из образцов спорообразующий. Предполагаемый род микроорганизмов: *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*.

Из люцерны желтой (*M. falcata (romanika)*) были выделены 4 колонии. 2 колонии белого цвета с ровными краями, выпуклые, плоские. Оба образца кокки. Предполагаемый вид: *Staphylococcus*, *Micrococcus*. Следующая колония была спорообразующей палочкой белого цвета с неровными краями, плоская, пастообразная, шероховатая, с фестончатым краем. Предположительно может относиться к следующим родам микроорганизмов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*. Последняя выделенная колония палочка прозрачно-белого цвета с неровными краями, плоская, пастообразная, шероховатая, с фестончатым краем. Предполагаемый вид: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*.

Из астрагала белостебельного (*A. albicaulis*) были выделены 2 колонии белого цвета с ровными краями, выпуклые. Оба образца не спорообразующие палочки. Предполагаемый род микроорганизмов: *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*.

Из иссопа мелового (*H. cretaceus*) выделены 7 колоний. 4 колонии кокки, палочки белого цвета с неровными краями, выпуклые. Один вид палочек спорообразующий. Предполагаемый род выделенных микроорганизмов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*. Остальные 3 колонии палочки, кокки прозрачно-белого цвета с ровными краями, выпуклые. Споробразующих видов нет. Предположительно могут относиться к следующим родам микроорганизмов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*.

Из левкоя душистого (*Matthiola fragrans*) были выделены 3 колонии не спорообразующих палочек. Колонии имели следующий внешний вид: прозрачно-белый цвет, ровный край, выпуклые. Предполагаемый род микроорганизмов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*.

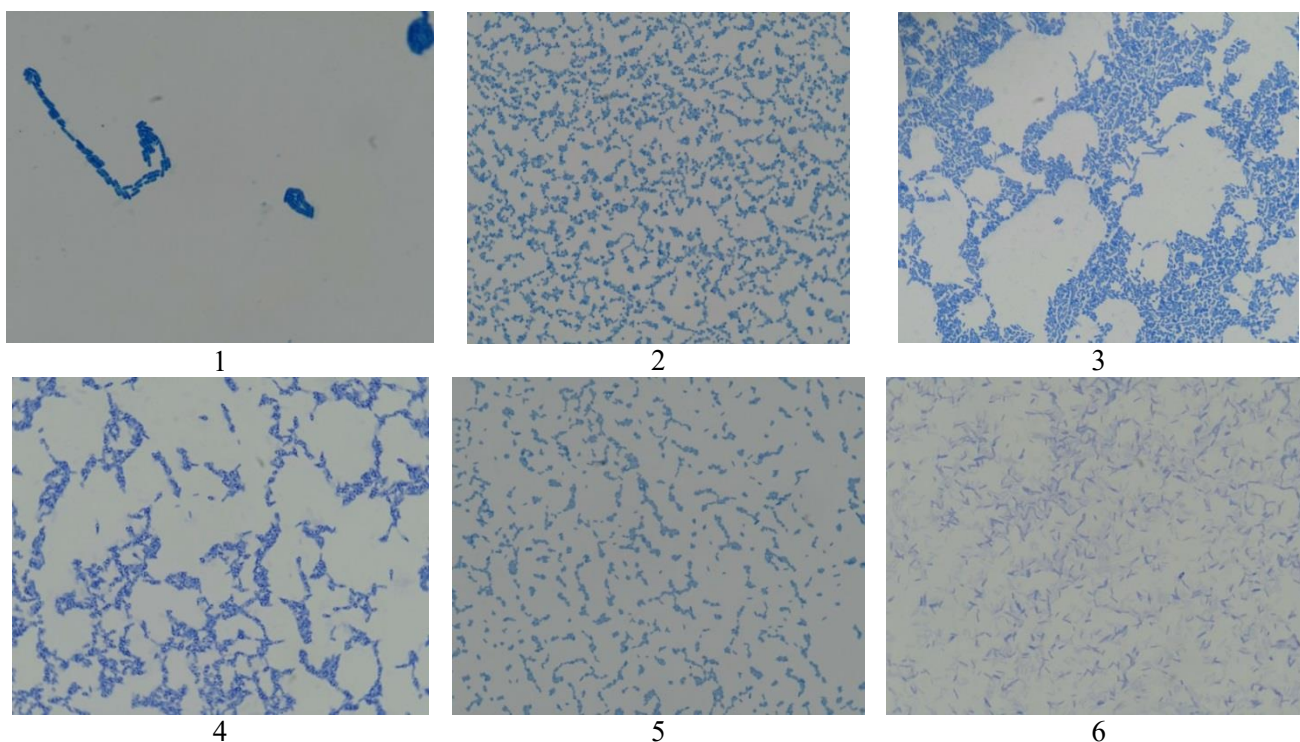
Из тимьяна мелового (*Thymus calcareus*) получилось выделить 2 чистые колонии. Они имели следующий внешний вид колоний: белый цвет, полупрозрачные, ровные края, выпуклые, фестончатый край. В микроскопии представлены в виде коротких палочек. Нет спорообразующих колоний. Предполагаемый род микроорганизмов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*.

Из проломника Козо-Полянского (*Androsace koso-poljanskii*) выделены 4 чистых колоний. Внешний вид полученных колоний был следующим – две колонии были прозрачные, белого цвета, выпуклые, неровными краями, пастообразные. Другие две были белого цвета, с ровными краями, выпуклые. На микропрепарате

представлены в виде палочек. Среди выделенных чистых колоний одна спорообразующая. Предполагаемый род микроорганизмов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*.

Из мать-и-мачехи (*Tussilago farfara*) была выделена одна чистая колония. Внешний вид колоний имеет следующий – прозрачного белого цвета, с ровными краями, выпуклые. Нет спор. Предполагаемый род микроорганизмов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*.

Представлены результаты микрокопирования отдельных микроорганизмов (см. рисунок), выделенных из ризосферы высших растений – эндемиков мелового юга Среднерусской возвышенности.



Результаты микрокопирования отдельных микроорганизмов, выделенных из ризосферы эндемиков мелового юга Среднерусской возвышенности:

1 – Полынь беловойлочная (*A. hololeuca*), 2 – Люцерна желтая (румынская) (*M. falcata (romanik)*), 3 – Астрагал белостебельный (*A. albicaulis*), 4 – Иссоп меловой (*H. cretaceus*), 5 – Проломник Козо-Полянского (*A. Koso-Poljanskii*), 6 – Мать-и-мачеха (*T. farfara*)

Для дальнейшей работы по созданию микробно-растительных комплексов и препаратов с антибактериальными свойствами были депонированы в НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИГенетика два уникальных микроорганизма, которые относятся к видам *B. subtilis* и *B. mojavensis*.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Нацпроекта «Наука и университеты» в рамках создания молодежных лабораторий по Госзаданию FGGW-2022-0013 «Разработка теоретических основ ускоре-

ния интродукции, селекции и повышения эффективности семеноводства сельскохозяйственных растений на основе оценки сопряженности фундаментальных физиологических процессов».

Список литературы

- 1 Compant S., Samad A., Faist H., Sessitsch A. A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application // J. Adv. Res. 2019. V. 19. P. 29–37. doi: 10.1016/j.jare.2019.03.004.
- 2 Дегтярь О.В., Чернявских В.И. О состоянии степных сообществ юго-востока Белгородской области // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия: Биология. 2004. № 2. С. 254–258.
- 3 Думачева Е.В., Чернявских В.И. Биоресурсный потенциал бобовых трав на меловых обнажениях и карбонатных почвах Европейской России. Белгород : Издательский дом "Белгород", 2014. 144 с.
- 4 Studies of biological resources of *Urtica dioica* L. As initial material for breeding / E.V. Dumacheva, V.I. Cherniavskih, A.V. Prisniy [et al.] // Journal of International Pharmaceutical Research. 2018. Vol. 45. P. 473–476.
- 5 Leach J.E., Triplett L.R., Argueso C.T., Trivedi P. Communication in the phytobiome // Cell. 2017. V. 169, No 4. P. 587–596. doi: 10.1016/j.cell.2017.04.025.
- 6 Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей. М.: Пищевая промышленность, 1979. 120 с.
- 7 Sajfutdinova L.D., Kosolapov V.M., Cherniavskih V.I., Dumacheva E.V. Influence of ecological conditions of various habitats on individual morpho-biological and physiological features of *Hedysarum grandiflorum* Pall seeds // Materials v international youth applied research Forum “oil capital”, Khanty-Mansyisk Autonomous Okrug-Yugra, 23–24 марта 2023 года. AIP PUBLISHING, 2023. P. 040005–04005.
- 8 Лавренчук Л.С., Ермошин А.А. Микробиология. Екатеринбург: Изд-во Уральского университета. 2019. 107 с.

DOI 10.18699/GPB2024-30

Влияние источника углеводов на параметры гаплопродукции в культуре пыльников тритикале (*×Triticosecale* Wittm.)

Дьячук Т.И. *, д.б.н, гл.н.с., Хомякова О.В., к.б.н., в.н.с., Акинина В.Н., к.б.н., в.н.с., Жилин С.В., аспирант, Калашикова Э.В., н.с., Сайфетдинов Е.А., м.н.с.

Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, Саратов, Россия

*email: cell_selection@list.ru

В статье представлены результаты сравнительной эффективности получения гаплоидных растений тритикале в культуре пыльников в зависимости от источника углеводов в индукционной питательной среде. Установлено, что замена сахарозы мальтозой привела к увеличению частоты формирования андрогенетических структур. Однако увеличение параметров, характеризующих ин-