

Биологическая активность штаммов PGPR по фиксации атмосферного азота и солюбилизации неорганических и органических фосфатов

С.М. Нерсисян^{1*}, В.С. Масленникова¹, Е.В. Шелихова^{1,2}, К.А. Табанюхов^{1,2}

¹ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

² ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия

* smnersesyan@gmail.com

Цель: Поиск штаммов продуцентов фосфатаз и нитрогеназ для улучшения питания и развития растений.

Материалы и методы: Объектом исследований являлись 60 штаммов микроорганизмов относящимся к родам *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Paracoccus*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, из коллекции лаборатории микробиологии Новосибирского государственного аграрного университета. Для оценки фосфатазной активности штаммов были применены микробиологические методы анализа, включающие посев на селективные питательные среды:

- 1) глюкозо-дрожжевой агар – источник фосфора K_2HPO_4 (фосфат калия) – неорганические фосфаты;
- 2) среда Пиковской – источник фосфора $Ca_3(PO_4)_2$ (фосфат кальция) – неорганические фосфаты;
- 3) среда Менкиной – источник фосфора лецитин – органические формы фосфорных соединений, с последующей оценкой зон растворения исследуемых веществ.

Измерения проводились на 3-и сутки роста.

Для определения азотфиксирующей активности микроорганизмов применялись культивирование штаммов на жидкой безазотистой среде Эшби и оценка концентрации свободного NH_4^+ в питательной среде через 7 суток роста. Концентрация ионов аммония определялась при длине волны 410 нм методом спектрофотометрии с помощью планшетного спектрофотометра Thermo Scientific Varioskan LUX после реакции супернатанта культуральной жидкости проб с реактивом Несслера. Штаммы предварительно отбирались по наличию роста на агаризованной среде Эшби. Концентрацию катионов аммония рассчитывали по калибровочному графику.

Результаты: По разложению органических форм фосфатов на среде Менкиной с учетом величины зон растворения наиболее эффективными показали себя 4 штамма *Azotobacter* spp., 2 штамма *Paracoccus* spp., 4 штамма *Bacillus* spp., 2 штамма *Paenibacillus* spp., культура *Arthrobacter* sp. показала самую высокую активность растворения органических фосфатов с зоной растворения 2,2 см – 299 мг лецитина. Остальные культуры имели зона растворения в районе 1–1,4 см (от 60 до 120 мг лецитина).

Неорганический фосфор в форме фосфата калия растворялся под воздействием метаболитов штаммов в количестве от 60 до 247 мг K_2HPO_4 с зонами растворения 1–2 см соответственно. Неорганические фосфаты в форме фосфата кальция солюбилизировали только 3 штамма *Bacillus* spp., 1 штамм *Paracoccus* sp. и *Azotobacter* sp. Самую высокую активность показал штамм *Bacillus* sp. с зоной растворения 1,8 см или 200 мг $Ca_3(PO_4)_2$.

На агаризованной питательной среде Эшби полное отсутствие роста имели только 11 из 60 исследуемых штаммов, остальным 49 штаммам для начала роста было достаточно очень низких концентраций азота, который попал в среду вместе с агаром, используемым для приготовления твердых сред. Активность фиксации атмосферного азота по определению накопленных в культуральной жидкости ионов аммония показала, что высокой азотфиксацией обладали 9 штаммов, из которых 4 принадлежали к роду *Azotobacter*, 2 к роду *Paenibacillus*, 2 к роду *Bacillus* и 1 к *Azospirillum*. Самую высокую азотфиксирующую активность проявил один из штаммов *Azotobacter* с 19 мг/л NH_4^+ , что является довольно высоким показателем по литературным данным, остальные же штаммы фиксировали намного меньшие количества азота, в 3 и более раз меньше, подобная азотфиксация является невысокой для свободноживущих diaзотрофов.

Выводы: Микроорганизмы постоянно формируют симбиотические связи с растениями и в процессе своей жизнедеятельности влияют на состояние и развитие растения косвенно или напрямую множеством путей. Одними из путей являются азотфиксация и фосфатмобилизация, улучшающие питание и развитие растений. По исследуемым показателям фосфатмобилизации и фиксации азота из 60 были отобраны 14 штаммов для дальнейших исследований по оценке активности других ферментов и влиянию микроорганизмов на культуру кукурузы и иных растений.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-26-00114, <https://rscf.ru/project/25-26-00114/>.