

## **ВЛИЯНИЕ *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* НА НЕКОТОРЫЕ ПОЧВЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ**

**Гандрабурова Н.И.,**

кандидат биологических наук

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»,

355017 Россия, г. Ставрополь ул. Пушкина 1

**Харина Е.И.,**

кандидат биологических наук, доцент

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»,

355017 Россия, г. Ставрополь ул. Пушкина 1

**Гаджихамедова А.Г.,**

студент

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»,

355017 Россия, г. Ставрополь ул. Пушкина 1

## **EFFECTS OF *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ON SOME SOIL MICROORGANISMS**

**Gandraburova N.I.,**

Candidate of Biological Sciences

FSAEI of HE "North Caucasus Federal University"

1, Pushkina Street, Stavropol, Russia, 355017

**Kharina E.I.,**

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor

FSAEI of HE "North Caucasus Federal University"

1, Pushkina Street, Stavropol, Russia, 355017

**Gadzhiahmedova A.G.,**

student

FSAEI of HE "North Caucasus Federal University"

1, Pushkina Street, Stavropol, Russia, 355017

### **АННОТАЦИЯ**

изучено влияние бактерий рода *Pseudomonas* на широко распространенные почвенные микроорганизмы *Phytophthora infestans* и представителей рода *Rhizobium*. Выявлено стимулирующее действие *Pseudomonas fluorescens* на возбудителя фитофтороза и бактерии рода *Rhizobium* при совместном культивировании.

### **ABSTRACT**

The effect of bacteria of the genus *Pseudomonas* on widespread soil microorganisms *Phytophthora infestans* and representatives of the genus *Rhizobium*

was studied. The stimulating effect of *Pseudomonas fluorescens* on late blight pathogen and bacteria of the genus *Rhizobium* was revealed under co-cultivation.

**Ключевые слова:** *Phytophthora infestans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium*, почвенные микроорганизмы, фитопатогенная активность, биоудобрения.

**Keywords:** *Phytophthora infestans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium*, soil microorganisms, phytopathogenic activity, biological fertilizers.

В настоящее время в агропроизводстве отчетливо проявилась тенденция увеличения и зачастую неконтролируемого применения минеральных удобрений и средств химической защиты растений. Например, для борьбы с фитофторозом активно используются «Акробат МЦ», «Металаксил» (Ридомил), «Профит Голд ВДГ» и др. Антропогенное воздействие ведет к загрязнению почвы вредными химическими веществами и снижает доступность для растений питательных элементов. Многими авторами отмечается нарушение круговорота азота, что способствует накоплению его в нитратной и нитритной формах в окружающей среде и продуктах питания. Все это негативно влияет на состояние почвы и ведет к снижению качества и количества растениеводческой продукции [5,6].

Однако существуют альтернативные пути развития агропроизводства – применение экологически чистых, ресурсосберегающих технологий, которые соответствуют основным требованиям построения систем земледелия – высокой экономической эффективности, экологической безопасности методов биологического земледелия, одним из которых является использование бактериальных и других биоудобрений [5].

В настоящее время в литературе накоплено достаточно сведений о бактериях - их относят к группе PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – ризобактерии, способствующие росту растений) - обладающих совокупностью полезных для растений свойств [13]. Современная биотехнология предусматривает процесс интродукции в природные среды (почву, грунты, водоемы, филлосферу растений) микроорганизмов с той или иной полезной

функцией. Среди этой группы широко представлены бактерии рода *Pseudomonas* [1,7]. Это сапрофитные грамотрицательные микроорганизмы, обитающие в воде, в почве, на растениях. Оптимальная температура их роста составляет от 25 до 30 °С. Ризосферные псевдомонады активно колонизируют корни растений, могут синтезировать разнообразные антибиотики и сидерофоры, продуцировать фитогормоны [1,7]. Благодаря своей биологической активности представители этого рода используются даже для очистки природных объектов от нефтяных загрязнений, пестицидов и некоторых других поллютантов. Они способны разлагать широкий спектр ксенобиотиков, таких как хлорбензоаты, хлорфенолы, хлорбифенилы и их незамещенные аналоги. Известно, что способность этих бактерий осуществлять реакции деградации опосредуется набором ферментов с различной субстратной специфичностью [4,7,10].

Однако, бактерии *Pseudomonas* играют значительную роль в порче продуктов (особенно яиц, молока, мяса, рыбы) [3]. *Pseudomonas fluorescens* является возбудителем псевдомоноза рыб, распространенного в хозяйствах, применяющих индустриальные методы рыбоводства [2]. Поскольку псевдомонады характеризуются высокой метаболической активностью, скоростью роста и множественными изоферментами [4,11,13], некоторые могут обладать фитопатогенной активностью [1,7].

Исходя из вышесказанного, является актуальным изучение влияния бактерий рода *Pseudomonas* на некоторые почвенные микроорганизмы.

При выборе объекта исследования ориентировались на данные О.К. Струнниковой (2007), которая говорит, что бактерии рода *Pseudomonas* - хорошо известные агенты биоконтроля многих фитопатогенных грибов. Предмет исследования – влияние бактерий рода *Pseudomonas* на широко распространенные почвенные микроорганизмы *Phytophthora infestans* и представителей рода *Rhizobium* [5].

Эксперимент проводился на базе учебной микробиологической лаборатории кафедры общей биологии и биоразнообразия института живых

систем Северо-Кавказского федерального университета в период с 2018 г. по 2019 г.

На первом этапе работы выделили чистые культуры *Phytophthora infestans* и бактерий рода *Rhizobium* по общепринятым методикам [8].

На втором этапе изучали влияние *P.fluorescens* на возбудителя фитофтороза и бактерии рода *Rhizobium* луночным методом. Взвесь микроорганизмов *Phytophthora infestans* вносили в расплавленную и остуженную среду Сабуро, взвесь бактерий рода *Rhizobium* в бобовый агар. Затем в первой и второй среде делали лунки, в которые вносили по 0,2 мл взвеси *P.fluorescens* и помещали в термостат. Контролем служили чашки, в лунки которых вместо взвеси микроорганизмов вносили стерильный физиологический раствор. Исследования проводили в десятикратных повторях. При учете результатов через 12, 24, 48 часов культивирования при +24°C зона задержки роста отсутствовала.

На третьем этапе работы в расплавленную, остуженную среду Сабуро и в бобовый агар внесли взвесь *P.fluorescens* и выполнили поверхностный посев шпателем на среду Сабуро 1 мл суспензии *Phytophthora infestans* и на бобовый агар 1 мл суспензии бактерии рода *Rhizobium* (стандарт мутности, эталон № 10). Контроль – посеvy суспензии *Phytophthora infestans* на среду Сабуро и суспензии бактерий рода *Rhizobium* на бобовый агар без *Pseudomonas fluorescens*. Исследования были проведены в десятикратных повторях. С целью идентификации микроорганизмов, из колоний, выросших на питательных средах, готовили мазки, окрашивали по Граму и микроскопировали. Результаты, полученные через 12, 24, 48 и 72 часа культивирования, представлены в таблице.

**Таблица - Количество колоний *Phytophthora infestans* и бактерий рода *Rhizobium*, полученных при культивировании с *Pseudomonas fluorescens*, n=22**

Микроорганизмы	Количество колоний±m			
	через 12 ч культив-я	через 24 ч культив-я	через 48 ч культив-я	через 72 ч культив-я
<i>Phytophthora infestans</i> и <i>P. fluorescens</i>	12,54±1,6	29,82±1,3	54,54±2,7 *	72,34±2,9 *

<b>Контроль</b> <i>Phytophthora infestans</i>	8,18±1,3	23,23±1,8	36,44±1,9	51,73±2,4
Бактерии рода <i>Rhizobium</i> и <i>P.fluorescens</i>	8,17±1,9	22,14±2,1	55,12±2,4 *	61,24±2,4 *
<b>Контроль</b> бактерии рода <i>Rhizobium</i>	6,21±1,2	17,63±1,8	29,94±1,7	34,53±1,7

•\* (p<0,05) – в сравнении с контролем

Примечание: ±m – относительная погрешность измерений

Из таблицы следует, что количество колоний *Phytophthora infestans*, выросших на среде Сабуро с *P. fluorescens* через 48 и 72 часа культивирования достоверно выше, чем в контроле и составило 54,54±2,7 и 72,34±2,9 соответственно. Количество колоний бактерии рода *Rhizobium*, выросших на бобовом агаре с *P. fluorescens* через 48 и 72 часа культивирования достоверно выше, чем в контроле и составило 55,12±2,4 и 61,24±2,4 соответственно.

Таким образом, выявлено стимулирующее действие *P. fluorescens* на бактерии рода *Rhizobium* при совместном культивировании, что позволяет использовать *P. fluorescens* при разработке новых бактериальных удобрений. Однако, при применении таких препаратов необходимо учитывать стимулирующее действие данных микроорганизмов на возбудителей фитофтороза растений.

#### Список литературы

1. Безлер Н.В. ПЦР идентификация и генетическое разнообразие *Pseudomonas fluorescens* выделенных из агроценоза сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) / Н.В. Безлер, А.С. Хуссейн, М.Ю. Петюренко // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2016. - №1. – С.43-49.

2. Васильев Д.А. Выделение бактериофагов бактерий *Pseudomonas putida* и их селекция в целях создания биопрепарата для диагностики псевдомоноза рыб / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, И.И. Богданов // Естественные и технические науки. – 2011. – № 2(52). – С. 79–82.

3. Викторов Д.А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов *Pseudomonas fluorescens* / Д.А. Викторов, А.М. Артамонов, Д.А. Васильев // Ветеринария и кормление. – М.: «ВЕТКОРМ», 2012. – № 5. – С. 8–9.
4. Влияние состояния покоя на штамм *Pseudomonas fluorescens* 26К – деструктор ксенобиотиков / И. П. Соляникова, Н. Е. Сузина, А. Л. Мулюкин и др. // Микробиология. – 2013. Т.82, №5. – С.552-562.
5. Влияние бактериальных биопрепаратов на урожай картофеля и его качество / М.Г. Соколова, Г.П. Акимова, А.В. Бойко и др. // Агрехимия. – 2008. - № 6. – С.62-67.
6. Воробьева Т.Н. Биотрансформация системных фунгицидов в экосистеме ампелоценозов / Т.Н. Воробьева, М.Е. Подгорная // Ежеквартальный научно-практический журнал. – 2018. -№ 3. – С. 108-111.
7. Конурбаева М.У. Угледородокисляющая способность культур *Pseudomonas fluorescens* в почве (модельные опыты) / М.У. Конурбаева // Наука и новые технологии. – 2009. - №5. – С.122-126.
8. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии: учеб. пособие / А. И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук. – М.: Издательский центр «Академия». – 2005. – 608 с.
9. Развитие и взаимоотношение *Fusarium culmorum* и *Pseudomonas fluorescens* в почве / О.К. Струнникова, В.Ю. Шахназарова, Н.А. Вишневская и др. // Микробиология. - 2007. – Т.76, №5. – С.675-681.
10. Разработка методов фагоидентификации и фагодетекции бактерий *Pseudomonas fluorescens* / Д.А. Васильев, Д.А. Викторов, А.М. Артамонов и др. // Фундаментальные исследования. – 2014. - №5 – С.55-58.
11. Характеристика вирулентности и токсигенности штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93-деструктора токсичных фосфорорганических соединений / И.В. Дармов, И.П. Погорельский, А.А. Лещенко и др. // Здоровье населения и среда обитания. – 2013. - №10. – С.31-34.
12. Bioremediation of benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes contaminated soil: a biopile pilot experiment / Genovese M., Denaro R., Cappello S., Di Marco G.,

La Spada G., Giuliano L., Genovese L., Yakimov M.M. // J. Appl. Microbiol. - 2008.  
- №105. - P.1694–1702.

13. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria / J. W. Kloepper, J. Leong, M. Teintz, M. N. Schroth // Nature. — 1980. — №286. — P. 885– 886.