

СКРИНИНГ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ С ФУНГИЦИДНЫМИ И ФИТОСТИМУЛИРУЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ ИЗ ДЕГРАДИРОВАННЫХ ПОЧВЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ¹

SCREENING OF NITROGEN-FIXING BACTERIA WITH FUNGICIDAL AND PHYTOSTIMULATING PROPERTIES FROM DEGRADED SOIL ECOSYSTEMS²

**L. Grigoryan
E. Khairova
A. Rusakov**

Summary. The studies confirmed the high significance of screening nitrogen-fixing bacteria with fungicidal and phytostimulating properties from degraded soil ecosystems. Cultures of nitrogen-fixing bacteria from degraded soil ecosystems of the Astrakhan region were isolated. Fungicidal activity of isolates of nitrogen-fixing microorganisms against phytopathogenic micromycetes was established. The study of phytostimulating properties of the selected isolates showed that six of the studied isolates exhibit growth-regulating activity on tomato and radish.

Keywords: soil ecosystems, screening, nitrogen fixers, fungicidal activity, phytostimulation.

Григорян Лилит Норайровна

Кандидат биологических наук, ФГБОУ ВО «Астраханский
государственный университет им. В.Н. Татищева»
lilyagrigoryan90@mail.ru

Хаирова Екатерина Алексеевна

Аспирант, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный
университет им. В.Н. Татищева»
anikina.ekaterina199@gmail.com

Русаков Александр Вячеславович

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный
университет им. В.Н. Татищева»
bumbiro-schepard@mail.ru

Аннотация. Исследования подтвердили высокую значимость скрининга азотфиксирующих бактерий с фунгицидными и фитостимулирующими свойствами из деградированных почвенных экосистем. Выделены культуры азотфиксирующих бактерий из деградированных почвенных экосистем Астраханской области. Установлена фунгицидная активность изолятов азотфиксирующих микроорганизмов в отношении фитопатогенных микромицетов. Изучение фитостимулирующих свойств отобранных изолятов показало, что шесть исследуемых изолятов проявляют рострегулирующую активность на томате и редисе.

Ключевые слова: почвенные экосистемы, скрининг, азотфиксаторы, фунгицидная активность, фитостимуляция.

Введение

Актуальность и важность азотфиксирующих бактерий в почвенных экосистемах

Наряду с воздухом и водой почвенная экосистема является важнейшим и одним из наиболее значимых природных ресурсов, поддерживающих жизнь и экосистемные процессы [6]. Почвенные экосистемы играют фундаментальную роль в поддержании жизни на Земле, выступая в качестве основной среды для роста растений и жизненно важного компонента глобальных биогеохимических циклов [3].

Среди разнообразных микроорганизмов, населяющих почву, азотфиксирующие бактерии играют важную роль благодаря своей уникальной способности преобразовывать атмосферный азот (N_2) в аммиак (NH_3), фор-

му азота, доступную для растений. Этот процесс биологической фиксации азота имеет решающее значение для поддержания плодородия почвы, особенно в экосистемах, где азот является фактором, ограничивающим рост растений, например, в бореальных лесах [5].

Поскольку современные методы ведения сельского хозяйства все больше полагаются на синтетические удобрения для удовлетворения растущего мирового спроса на продовольствие, устойчивость этих методов и их воздействие на окружающую среду стали предметом пристального внимания [4]. В этом контексте изучение и применение азотфиксирующих бактерий предлагает многообещающие альтернативы для повышения плодородия почвы и продуктивности сельскохозяйственных культур более устойчивым и экологически безопасным способом.

¹Исследование выполнено при поддержке Программы развития Астраханского государственного университета (Приоритет-2030)

²This research was supported by the Astrakhan State University Development Program (Priority-2030).

Проблема деградации почв и её последствия

По мере того как численность населения земли приближается к прогнозируемому уровню в 9,5 миллиардов человек к 2050 году, естественная и антропогенная деградация почв остаётся актуальной проблемой. Деградация почв вызвана многими факторами, включая чрезмерную обработку почвы, неправильный севооборот, чрезмерный выпас скота или удаление растительных остатков, вырубку лесов, строительство и разрастание городов, что приводит к истощению питательных веществ, эрозии или загрязнению [7].

Почти пустынный климат Астраханской области, расположенной на Прикаспийской низменности в южной части России, препятствует ведению сельского хозяйства. В Астраханской области имели место длительные периоды деградации почв и опустынивания, которые привели к снижению продуктивности сельского хозяйства и новой фазе биосферы, характеризующейся экологическим стрессом и дестабилизацией. Как правило, основные причины засухи — это увеличение нагрузки на окружающую среду (например, чрезмерный выпас скота), особенно в условиях засушливых климатических условий, и высокая температура воздуха, которые не позволяют развиваться растениям или удерживать влагу в почве. Деградация почвы снижает не только способность поддерживать рост растений, но способность поглощать углерод, усугубляя изменение климата [1].

Естественные микробные сообщества, в том числе азотфиксирующие бактерии, часто нарушаются или значительно сокращаются в деградированной почве. Такое сокращение численности полезных микроорганизмов ещё больше усугубляет деградацию почвы, создавая порочный круг, в результате которого почва может потерять свою способность восстанавливаться и поддерживать здоровый рост растений.

Таким образом, восстановление повреждённых почв путём восстановления или укрепления популяции полезных микроорганизмов имеет решающее значение для этих экосистем, поскольку это играет важную роль в их восстановлении и повышении продуктивности сельского хозяйства. Целью данного исследования является применение азотфиксирующих бактерий, обладающих фунгицидными и фитостимулирующими свойствами, для компенсации снижения плодородия почвы.

Роль азотфиксирующих бактерий, обладающих фунгицидными и фитостимулирующими свойствами

Некоторые азотфиксирующие бактерии не только фиксируют азот, но и обладают фунгицидными и стимулирующими рост свойствами. Фунгицидные свойства этих бактерий позволяют им подавлять рост или унич-

тожать фитопатогенные грибы (*Roesleria subterranea*, *Rhizoctonia salicinum*, *Neotiella heteri*, и т.д.). Фитостимулирующие свойства, с другой стороны, включают в себя производство гормонов и других биологически активных веществ, которые способствуют росту растений.

Ризобактерии, стимулирующие рост растений, это группа бактерий, обитающих в ризосфере таких растений, как чай и табак. Они обладают такими свойствами, как фиксация азота, растворение калия и фосфора, выработка фитогормонов и растворение питательных веществ в почве, что делает их доступными для усвоения корнями растений. Примерами таких ризобактерий являются: *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Azotobacter* и *Bacillus*. [8] они также подавляют патогены растений, выделяя вторичные метаболиты или вызывая иммунный ответ [2]. Другим примером таких бактерий являются цианобактерии — помимо своей азотфиксирующей способности, они также служат резервуаром для N, P, K, Mg, S и Fe; они способствуют удержанию влаги в почве и улучшению ее характеристик, выделению вторичных метаболитов с фунгицидными свойствами, поддержанию pH, и некоторые исследования показывают, что они играют важную роль в поддержании кислотности почвы, удалении тяжёлых металлов. [2]

Сочетание этих азотфиксирующих бактерий с фунгицидными и фитостимулирующими свойствами даёт уникальную возможность одновременно решать множество проблем в деградированных почвенных экосистемах.

Выделение и скрининг таких бактерий из деградированных почв имеют ключевое значение для выявления штаммов, которые могут быть использованы в усилиях по биоремедиации и в качестве биоудобрений в устойчивом сельском хозяйстве. Внесение этих бактерий в почву может помочь восстановить здоровье почвы за счёт реинтродукции полезных микроорганизмов в деградировавшие экосистемы, улучшения структуры почвы, повышения доступности питательных веществ и защиты растений от болезней. Использование этих бактерий в качестве биоудобрений также снижает зависимость от химических удобрений и пестицидов, тем самым смягчая воздействие традиционных методов ведения сельского хозяйства на окружающую среду.

Основной целью данного исследования является скрининг и выделение азотфиксирующих бактерий, обладающих фунгицидными и фитостимулирующими свойствами, из деградированных почвенных экосистем Астраханской области. Выявляя и характеризуя эти бактерии, исследователи стремятся внести вклад в разработку устойчивых методов ведения сельского хозяйства, таких как применение биоудобрений.

В задачи исследования входит:

- Обеспечение решения проблем деградации почв и повышение продуктивности сельского хозяйства в Астраханской области.
- Идентификация азотфиксирующих бактерий, обладающих фунгицидными и фитостимулирующими свойствами.
- Разработка естественных и устойчивых решений для восстановления плодородия почв, повышения урожайности сельскохозяйственных культур и их устойчивости к болезням.

Материалы и методы

Материалами исследований являются изоляты азотфиксирующих микроорганизмов. Для опытов использовали трехсуточную суспензию антагонистов, выращенную на бобовом агаре при температуре 28 °С.

Объекты исследования — 6 изолятов азотфиксирующих микроорганизмов, выделенных из 23 засоленных почвенных образцов Наримановского и Трусовского районов Астраханской области.

Для выявления и количественного учета эколого-трофических групп микроорганизмов методом предельных разведений проводили посев на плотные питательные среды: ГРМ-агар, среда Эшби, среда Чапека. Выращивание культур проходило в течение 3 суток при $t = 28^{\circ}\text{C}$ в термостате ТС-1/80 СПУ.

На первом этапе для отбора активных изолятов с фитостимулирующими свойствами определяли фитотоксичность суспензии изолятов азотфиксирующих микроорганизмов в лабораторных опытах на семенах томата Новичок (*Solanum lycopersicum*)

Фитотоксичность суспензии и экстрактов отобранных активных изолятов азотфиксирующих микроорганизмов исследовали методом ингибирования роста корня редиса Хелро (*Rarhanus sativus*) при 20°С в течение 3 суток в двух концентрациях: 0,5 мг/мл и 1 мг/мл.

Для приготовления газона грибов использовали фитопатогенные грибы возрастом от 14 до 28 суток, растущие на бобовом агаре. Стерильным пробочным сверлом сделали 4 лунки-отверстия по периферии чашки Петри, в которые заливали 0,1 мл суспензии штамма для определения фунгицидной активности; в центре сделали лунку, в которую поместили 0,1 мл стерильной воды (контроль).

Исследовали 3х-суточную суспензию антагонистов, выращенную на бобовом агаре при температуре 28 °С. Фунгицидные свойства оценивали на 3–5 сутки по диаметру зон ингибирования роста грибов вокруг лунок.

Результаты и обсуждение

Наибольший процент обрастания комочков 60 % обнаружен в образце № 11 (глубина 20–40 см). В связи с этим, несмотря на рост микроорганизмов, почва является токсичной для растений. Максимального обрастания комочков не выявлено ни в одном из образцов, что говорит о той или иной степени токсичности среды.

Результаты посевов не показали наличие зависимости количества азотфиксирующей микрофлоры от концентрации солей в почвенных образцах: в сильно засоленных образцах, наблюдалось либо отсутствие, либо их среднее и максимальное число. Не наблюдается статистически значимого перехода между общим содержанием солей и долей обросших слизистыми колониями комочков почвы.

Максимальное процентное содержание азотфиксирующих микроорганизмов выявлено в образцах почв (№ 2, 9, 11, 12, 15, 18) с очень сильной степенью засоления — 32–60 %, кроме образца № 2, со средней степенью засоления. В результате культивирования почвенных комочков рост азотфиксирующих микроорганизмов выявлен в 18 из 23 почвенных образцов. Очистить от микромитетных и бактериальных симбионтов удалось 6 изолятов азотфиксирующих микроорганизмов.

Изоляты азотфиксирующих микроорганизмов проявляли фунгицидную активность в отношении исследуемых тест-культур фитопатогенных микромицетов.

Наибольшие значения всхожести в отношении томата и редиса представлены в варианте с обработкой суспензией изолята А11 (84 % и 79 %, соответственно). Наименьшая всхожесть данных растений установлена у изолята А20 и составила у томата 49 %, у редиса — 33 %. Всхожесть томата в остальных вариантах опыта колебалась от 62 % до 80 %. Всхожесть редиса варьировалась от 64 % до 73 %. Определение биомассы проростков показало, что максимальные показатели данного значения в отношении томата (0,12 г) и редиса (0,30 г) представлены в варианте с обработкой суспензией изолята А11, что совпадает с высокой биологической активностью при изучении всхожести данного изолята. Наименьшая всхожесть данных растений установлена у изолята А20 (томат — 0,02 г, редис — 0,13 г). Биомасса проростков в остальных вариантах опыта колебалась от 0,03 г до 0,05. Биомасса редиса варьировалась от 0,18 г до 0,24 г.

Исследованы культурально-морфологические свойства отобранных изолятов. Изоляты азотфиксирующих бактерий с высокой биологической активностью (А1, А2, А11, А18, А20, А22) помещены в коллекцию микроорганизмов сельскохозяйственного назначения лаборатории «Биотехнология, микробиология и почвоведение».

Заключение

Проведенные нами исследования подтвердили высокую значимость скрининга азотфиксирующих бактерий с фунгицидными и фитостимулирующими свойствами из деградированных почвенных экосистем. Учитывая

высокую степень полиморфизма азотфиксирующих микроорганизмов, представляется необходимым дальнейшее исследование биологической активности изолятов данных культур, выделенных из аридных почвенных экосистем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виссарионович В.Г., Михайлова С.Е. Проблемы деградации земель на территории Астраханской области // Авангард молодежной науки. 2022. Vol. 502.1. P. 121–134.
2. Bano A. et al. Phytostimulants in sustainable agriculture // *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2022. Vol. 6.
3. Bertrand J.C. Biogeochemical Cycles // *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications*. Springer Netherlands. 2015. P. 511–617.
4. Grigoryan L.N., Bataeva Y.V., Shaheen M., Novichenko O.V., Fedotova A.V., Yakovleva L.V. Phytotoxicity and antioxidant activity of actinomycetes in soil ecosystems // *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*. 2023. V. 1229 (1):012036. P. 1–7.
5. Högberg P. et al. Tamm Review: On the nature of the nitrogen limitation to plant growth in Fennoscandian boreal forests // *Forest Ecology and Management*. 2017. Vol. 403. P. 161–185.
6. Jhariya R.A., Yadav M.K., Banerjee D.K., Meena R.S. Soil for sustainable environment and ecosystems management // *Sustainable agriculture, forest and environmental management*, 2019. P. 189–221.
7. Karlen D., Rice C. Soil Degradation: Will Humankind Ever Learn? // *Sustainability*. MDPI AG, 2015. Vol. 7, № 9. P. 12490–12501.
8. Kumar A., Meena V.S. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Agricultural Sustainability*. Berlin: Springer, 2019. Vol. 10.

© Григорян Лилит Норайровна (lilyagrigoryan90@mail.ru); Хаирова Екатерина Алексеевна (anikina.ekaterina199@gmail.com);

Русаков Александр Вячеславович (bumbiro-schepard@mail.ru)

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»