

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
ГНПО «Химический синтез и биотехнологии»  
Институт микробиологии  
БЕЛОРУССКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ФОНД  
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
БЕЛОРУССКОЕ ОБЩЕСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ  
МИКРОБИОЛОГОВ

# **МИКРОБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ**

*Сборник научных трудов*

*Основан в 2007 году  
Том 7*

Минск  
«Беларуская навука»  
2015

УДК 606:579.6(082)

В сборнике представлены обзорные и экспериментальные статьи в области микробного синтеза биологически активных соединений, в том числе с использованием генно-инженерных биокатализаторов. Рассмотрены вопросы создания новых импортозамещающих микробных технологий для медицины, сельского хозяйства, промышленности, охраны окружающей среды и некоторые аспекты их применения.

Сборник представляет интерес для микробиологов, биотехнологов, химиков, работников промышленности и агропромышленного комплекса, а также для студентов средних и высших учебных заведений соответствующих профилей.

Редакционная коллегия:

член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук  
*Э. И. Коломиец* (главный редактор),  
академик НАН Беларуси, доктор биологических наук,  
профессор *А. Г. Лобанок* (заместитель главного редактора),  
член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук,  
профессор *А. И. Зинченко*,  
член-корреспондент НАН Беларуси, доктор сельскохозяйственных наук,  
профессор *В. М. Галушко*,  
член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор *И. Б. Ившина*,  
доктор биологических наук, профессор *Р. В. Михайлова*,  
доктор биологических наук, профессор *Н. П. Максимова*,  
доктор биологических наук, профессор *М. А. Титок*,  
доктор сельскохозяйственных наук, профессор *В. И. Беззубов*,  
доктор сельскохозяйственных наук, профессор *М. А. Кадыров*,  
доктор химических наук, профессор *П. А. Киселев*,  
доктор химических наук, профессор *М. А. Кисель*,  
доктор биологических наук *А. А. Леонтьевский*,  
доктор биологических наук, профессор *И. А. Архипченко*,  
доктор биологических наук *З. М. Алещенкова*,  
доктор биологических наук *А. Н. Капич*,  
доктор биологических наук *А. С. Самсонова*,  
кандидат биологических наук *Н. А. Головнева*,  
кандидат биологических наук *Г. И. Новик*,  
кандидат биологических наук *Т. В. Романовская*,  
кандидат биологических наук *Л. И. Стефанович*

Рецензенты:

академик НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор *А. Г. Лобанок*,  
член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор *И. Б. Ившина*,  
член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор *А. И. Зинченко*,  
член-корреспондент НАН Беларуси, доктор сельскохозяйственных наук,  
профессор *В. М. Голушко*,  
доктор биологических наук, профессор *Р. В. Михайлова*,  
доктор биологических наук, профессор *И. А. Архипченко*

© Институт микробиологии НАН Беларуси, 2015

© Оформление. РУП «Издательский дом  
«Беларуская навука», 2015

*Т. Л. САВЧИЦ<sup>1</sup>, В. А. ТИМОФЕЕВА<sup>2</sup>, Л. А. ГОЛОВЧЕНКО<sup>2</sup>,  
З. М. АЛЕЩЕНКОВА<sup>1</sup>*

## **ЭКЗОГЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ РОСТА И РАЗВИТИЯ ЦВЕТОЧНЫХ РАСТЕНИЙ МИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТОМ «АГРОМИК»**

*<sup>1</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,  
tsavchic@mail.ru*

*<sup>2</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь,  
luda\_gol@yahoo.com*

Интродукция азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих микроорганизмов – компонентов микробного препарата «АгроМик» – в ризосферу растений тагетеса обеспечивает прирост полезной микрофлоры, тем самым повышая биогенность почвы и оказывая положительное влияние на рост и развитие растений. В результате проведенных исследований установлено, что применение микробного препарата оказывает значительное влияние на рост и развитие растений тагетеса, способствуя увеличению высоты растений, формированию более мощной корневой системы, повышению продуктивности цветения.

**Введение.** Важная составляющая в технологиях выращивания цветочных растений – применение эффективных биологических препаратов, увеличивающих обеспеченность растений азотом, фосфором, биологически активными веществами, защищающих растения от абиотических стрессов [1, 2].

Эффективным для стимуляции роста и развития декоративных растений является применение микробных препаратов на основе азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих ризобактерий и арбускулярных микоризных грибов (АМГ). АМГ поставляют в растения питательные вещества (фосфаты, нитраты) и улучшают снабжение растения влагой, а от растения гриб получает жизненно важные углеводы. Благодаря такому взаимодействию у растений вырабатывается устойчивость к болезням, а также адаптация к биотическим и абиотическим стрессам [3–6].

**Цель исследования** – изучение влияния микробного препарата «АгроМик» на рост и развитие однолетних цветочных растений.

**Материалы и методы.** Исследования проводили в 2014 г. в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси (г. Минск). Объектом исследований служил микробный препарат «АгроМик», разработанный в Институте микробиологии НАН Беларуси, включающий бактериальный компонент на основе азотфиксирующего штамма *Agrobacterium* sp. 17 и фосфатмобилизующего штамма *Pseudomonas* sp. 10SK, а также инокулянт на основе АМГ.

Особую значимость для стимуляции роста и развития растений представляет собой синтез гетероауксина – индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) исследуемыми штаммами. Установлено, что штаммы *Agrobacterium* sp.17 и *Pseudomonas* sp. 10SK синтезируют ИУК в количестве 25 и 16 мкг/мл соответственно.

Испытание эффективности применения микробного препарата «АгроМик» проводили на однолетних цветочных растениях – бархатцы прямостоячие (*Tagetes erecta*, сорт Родос).

Интродукцию микроорганизмов, составляющих основу микробного препарата «АгроМик», осуществляли методом полива почвы в условиях горшечной культуры (двух-, трех- и четырехкратно). Сроки применения препарата: первый – при пикировке рассады, последующие – в период активного роста, через каждые 2 недели.

Отбор почвенных образцов производили из верхнего слоя (0–10 см) ризосферной почвы растений. Микробиологическую активность почвы изучали методом посева разведений почвенной суспензии на селективные питательные среды. Общее количество микроорганизмов основных эколого-трофических групп ризосферной почвы цветочных растений учитывали на средах Эшби, Муромцева, МСА, МПА, СА, и КАА [7, 8].

Способность к синтезу ИУК у штаммов микроорганизмов исследовали, культивируя микроорганизмы в жидкой минеральной среде с добавлением L-триптофана (0,2 г/л). Содержание ИУК определяли колориметрическим методом [9].

Эффективность применения микробного препарата «АгроМик» изучали по морфологическим и биометрическим показателям: наблюдение за фенологией развития растений тагетеса, замер прироста побегов, подсчет количества бутонов, цветков. После

окончания цветения растений тагетеса проведено определение массы корневой системы.

Обработка экспериментальных данных проводилась согласно общепринятым для биологических исследований методикам [7].

**Результаты и обсуждение.** Бактерии заметно усиливают поступление азота и труднодоступного фосфора в растения, что частично компенсирует недостаток элементов минерального питания в почве. Одной из наиболее важных характеристик ризосферной микробиоты является соотношение основных физиологических групп микроорганизмов.

Использование микробного удобрения «АгроМик» привело к возрастанию численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп в ризосфере растений тагетеса (рис. 1).

Установлено, что двукратное внесение микробного препарата «АгроМик» привело к увеличению численности микроорганизмов, усваивающих органические формы азота, в 1,5 раза по сравнению с контролем. Обилие аммонифицирующих микроорганизмов свидетельствует о процессах разложения органического вещества почвы, содержание которого стимулирует развитие цветочно-декоративных растений. Применение микробного

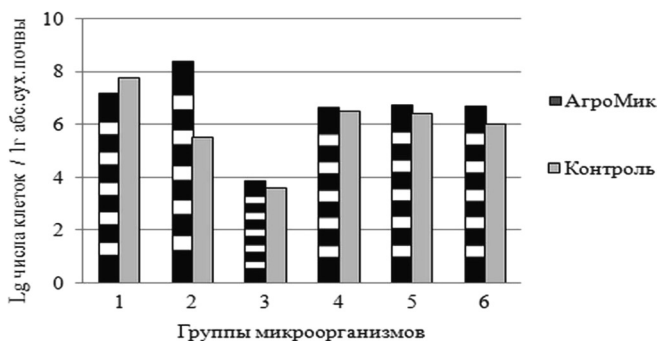


Рис. 1. Влияние микробиологического препарата «АгроМик» на численность микроорганизмов различных эколого-трофических групп ризосферы растений тагетеса (двукратное внесение препарата): 1 – спорообразующие; 2 – усваивающие органические формы азота; 3 – актиномицеты; 4 – фосфатмобилизующие; 5 – олигонитрофильные (в том числе азотфиксирующие); 6 – усваивающие минеральные формы азота

препарата «АгроМик» привело к увеличению численности бактерий, усваивающих минеральные формы азота и олигонитрофильных микроорганизмов, в 1,2 и 1,1 раза соответственно.

Двукратное внесение микробного удобрения «АгроМик» оказало значительное влияние на рост и развитие растений тагетеса. Прирост растений через 2 недели после второго внесения удобрения составил 165,4 мм, что на 55,9% выше контрольных показателей. Через 4 недели после второго внесения удобрения прирост растений тагетеса составил 235,7 мм, что на 69,2% выше контрольного значения; через 6 недель прирост растений тагетеса был на 74,9% выше, чем в контроле, и составил 295,1 мм (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Влияние двукратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на рост растений тагетеса

Вариант опыта	Высота растения, мм		Величина прироста растения	
	до внесения	после 2-го внесения	мм	% к контролю
Контроль (без внесения удобрений)	20,9 ± 0,4	189,6 ± 28,0	168,7	100,0
АгроМик	39,7 ± 4,3	334,8 ± 19,1	295,1	<b>174,9</b>
НСР <sub>05</sub>	13,4	80,7		

В варианте с применением удобрения «АгроМик» начало фазы бутонизации растений тагетеса отмечено на 3 дня раньше, чем в контроле. На протяжении последующего роста растений количество бутонов в варианте внесения препарата «АгроМик» превышало контрольные показатели в 1,1–10 раз (табл. 2, рис. 2).

Т а б л и ц а 2. Влияние двукратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на формирование бутонов у растений тагетеса

Вариант опыта	Количество бутонов, шт./растение				
	19.09	22.09	25.09	03.10	20.10
Контроль (без внесения удобрений)	0	0,1	0,1	0,6	1,6
АгроМик	0,4	0,8	1,0	1,5	1,7

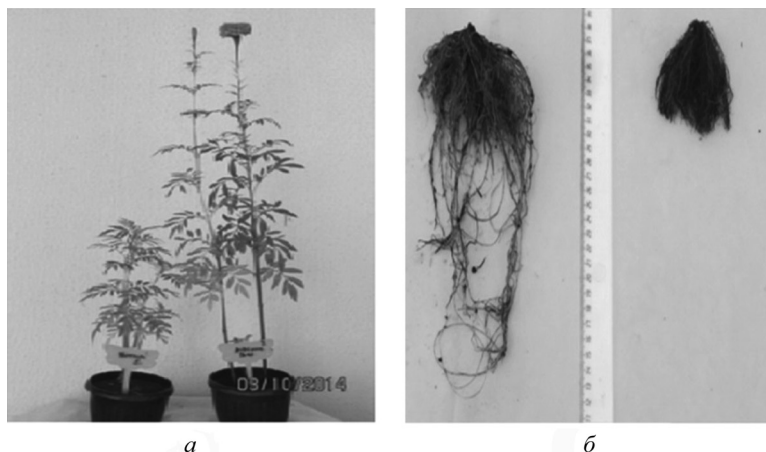


Рис. 2. Влияние двукратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на развитие растений тагетеса: *а* – слева контроль, справа АгроМик; *б* – слева АгроМик, справа контроль

Двукратное внесение микробного удобрения «АгроМик» стимулировало формирование мочковатой корневой системы, характерной для растений тагетеса: масса корневой системы растений тагетеса на 157,5% превышала показатели в контроле (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Влияние двукратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на формирование корневой системы растений тагетеса

Вариант опыта	Масса корневой системы	
	г	% к контролю
Контроль (без внесения удобрений)	5,36 ± 0,35	100,0
АгроМик	13,80 ± 0,73	257,5

Трехкратное внесение микробного удобрения «АгроМик» способствовало развитию микроорганизмов, участвующих в превращении соединений азота и фосфора (рис. 3). В структуре микробоценоза почвы растений тагетеса среди основных эколого-трофических групп микроорганизмов главенствующее место занимают бактерии, способные к солюбилизации фосфатов и усваивающие

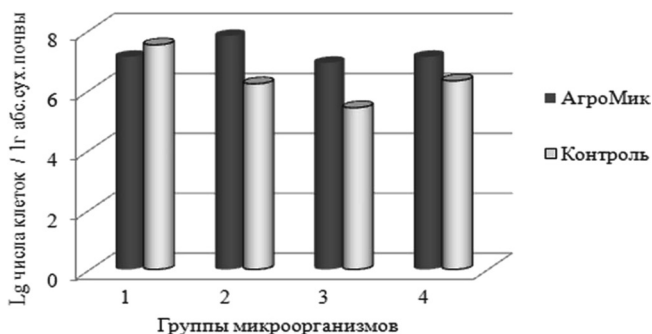


Рис. 3. Влияние микробного препарата «АгроМик» на численность микрофлоры ризосферной почвы цветочных растений (трехкратное внесение препарата): 1 – усваивающие органические формы азота; 2 – фосфатмобилизующие; 3 – олигонитрофильные (в том числе азотфиксирующие); 4 – усваивающие минеральные формы азота

минеральные формы азота; при трехкратном внесении микробного препарата «АгроМик» численность таковых по отношению к контролю возрастает в 1,6 и 1,1 раз соответственно. Доля олигонитрофильных микроорганизмов увеличилась по сравнению с контрольным вариантом в 1,3 раза.

При трехкратном внесении микробного препарата «АгроМик» прирост растений тагетеса через 4 недели после обработки составил 359,0 мм, что на 112,8% превышало контрольные показатели (табл. 4).

В варианте с трехкратным внесением микробного препарата «АгроМик» начало фазы бутонизации отмечено на 3 дня раньше,

Т а б л и ц а 4. Влияние трехкратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на рост растений тагетеса

Вариант опыта	Высота растения, мм		Величина прироста растений	
	до внесения	после 3-го внесения	мм	% к контролю
Контроль (без внесения удобрений)	20,9 ± 0,4	189,6 ± 28,0	168,7	100,0
АгроМик	37,9 ± 3,9	396,9 ± 23,7	359,0	<b>212,8</b>
НСР <sub>05</sub>	8,8	55,3		



чем в контроле, как и при двукратном внесении препарата. На протяжении последующего роста растений количество бутонов в варианте с применением биопрепарата превышало контрольные показатели в 1,1–10,0 раз (табл. 5, рис. 4).

Т а б л и ц а 5. Влияние трехкратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на формирование бутонов у растений тагетеса

Вариант опыта	Количество бутонов, шт./растение				
	19.09	22.09	25.09	03.10	20.10
Контроль (без внесения удобрений)	0	0,1	0,1	0,6	1,6
АгроМик	0,3	0,7	1,0	1,5	1,8

При трехкратном внесении микробного удобрения «АгроМик» масса корневой системы растений тагетеса на 159,5% превышала показатели в контроле (рис. 4, табл. 6). Каждый биохимический процесс в почве обусловлен деятельностью определенных видов микроорганизмов и их сообществ. Основным фактором, регулирующим развитие бактерий, является количество и каче-

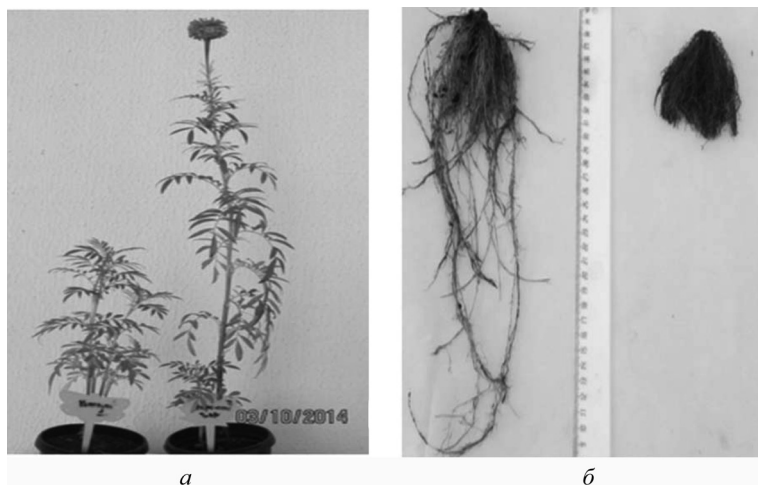


Рис. 4. Влияние трехкратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на развитие растений тагетеса: *а* – слева контроль, справа АгроМик; *б* – слева АгроМик, справа контроль

Т а б л и ц а 6. Влияние трехкратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на формирование корневой системы растений тагетеса

Вариант опыта	Масса корневой системы	
	г	% к контролю
Контроль (без внесения удобрений)	5,36 ± 0,35	100
АгроМик	13,91 ± 1,40	259,5

ство разлагающихся в почве корневых остатков, вид и возраст растения, условия его произрастания [10, 11].

Четырехкратное внесение микробного препарата «АгроМик» в ризосферу растений тагетеса способствовало росту численности микроорганизмов хозяйственно ценных групп, повышению биогенности почвы в ризосфере растений. Максимальную численность имели микроорганизмы, усваивающие органические формы азота (увеличение в 1,4 раза по сравнению с контролем) и характеризующиеся фосфатмобилизующей активностью (в 1,2 раза выше контрольных показателей). Доля микроорганизмов, способных усваивать минеральные формы азота, и олигонитрофильных бактерий также выросла по сравнению с контрольным вариантом (рис. 5). Колебания численности микроорганизмов

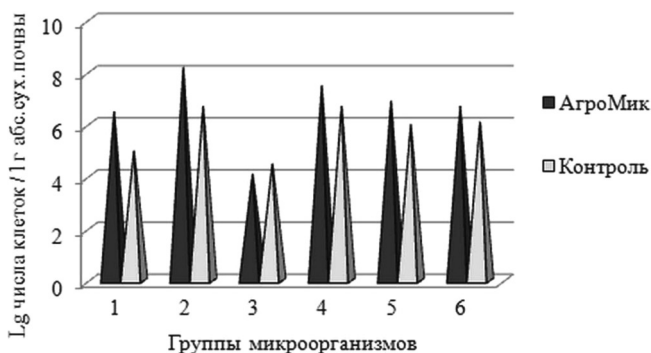


Рис. 5. Изменение численности хозяйственно ценных групп бактерий ризосферы растений тагетеса под действием микробного препарата «АгроМик» (четырёхкратное внесение препарата): 1 – спорообразующие; 2 – усваивающие органические формы азота; 3 – актиномицеты; 4 – фосфатмобилизующие; 5 – олигонитрофильные (в том числе азотфиксирующие); 6 – усваивающие минеральные формы азота

при четырехкратном внесении микробного препарата оказались выше, чем в вариантах двух- и трехкратного внесения.

Анализируя полученные данные, можно констатировать, что использование микробного препарата «АгроМик» при выращивании растений тагетеса положительно влияет на общую биогенность почвы. Отмечен максимум развития микроорганизмов в ризосфере растений тагетеса в фазе цветения.

Четырехкратное внесение микробного удобрения «АгроМик» оказало значительное влияние на рост и развитие растений тагетеса (табл. 7). В опытном варианте прирост растений был на 166,9% выше контрольных показателей.

В варианте четырехкратного внесения микробного препарата «АгроМик» начало фазы бутонизации отмечено на 3 дня раньше, чем в контроле. На протяжении последующего периода роста растений количество бутонов в варианте применения биопрепарата «АгроМик» превышало контрольные показатели в 2,8–14 раз (табл. 8).

**Т а б л и ц а 7. Влияние четырехкратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на рост растений тагетеса**

Вариант опыта	Высота растения, мм		Величина прироста растений	
	до внесения	после 4-го внесения	мм	% к контролю
Контроль (без внесения удобрений)	20,9 ± 0,4	189,6 ± 28,0	168,7	100,0
АгроМик	38,9 ± 2,7	489,2 ± 23,2	450,3	<b>266,9</b>
НСР <sub>05</sub>	19,3	66,4		

**Т а б л и ц а 8. Влияние четырехкратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на формирование бутонов у растений тагетеса**

Вариант опыта	Количество бутонов, шт./растение				
	19.09	22.09	25.09	03.10	20.10
Контроль	0	0,1	0,1	0,6	1,6
АгроМик	0,8	1,4	1,3	1,7	1,5

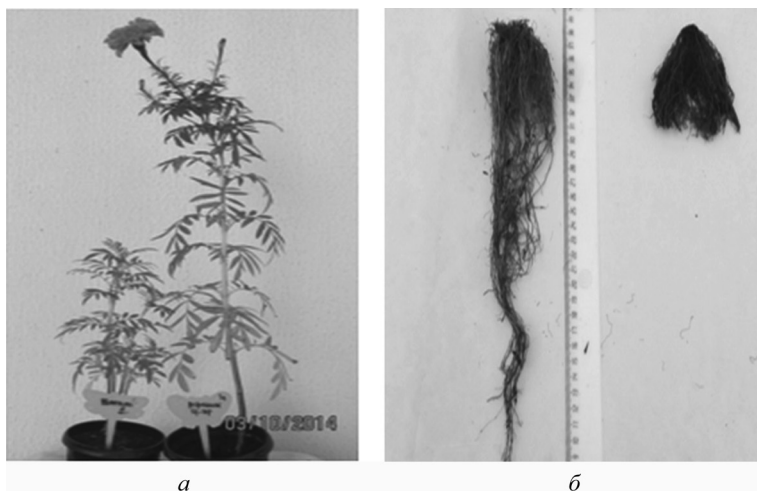


Рис. 6. Влияние четырехкратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на развитие растений тагетеса: *а* – слева контроль, справа АгроМик; *б* – слева АгроМик, справа контроль

Четырехкратное внесение микробного удобрения «АгроМик» стимулировало формирование корневой системы растений тагетеса, масса которой на 162,9% превышала показатели в контроле (рис. 6, табл. 9).

Т а б л и ц а 9. Влияние четырехкратного внесения микробного удобрения «АгроМик» на формирование корневой системы растений тагетеса

Вариант опыта	Масса корневой системы	
	г	% к контролю
Контроль (без внесения удобрений)	5,36 ± 0,35	100
АгроМик	14,09 ± 1,22	262,9

**З а к л ю ч е н и е.** В результате проведенных исследований установлено, что применение микробного препарата «АгроМик» оказало значительное влияние на рост и развитие растений тагетеса, способствуя увеличению высоты растений (на 74,9–166,9%), формированию более мощной корневой системы (на 157,5–162,9%),

более раннему началу бутонизации и цветения, что привело к повышению продуктивности цветения (в 7–15 раз). Наиболее эффективным было четырехкратное внесение препарата «АгроМик».

Установлено, что экзогенное внесение азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих бактерий – компонентов микробного препарата «АгроМик» положительно влияет на изменение количественного состава аборигенной микрофлоры. Было выявлено, что численность микроорганизмов зависит от кратности внесения препарата. Максимальная биогенность почвы в ризосфере растений тагетеса отмечена при четырехкратном внесении препарата.

## Литература

1. Мантрова, Е. З. Особенности питания и удобрение декоративных культур / Е. З. Мантрова. – М.: Изд-во МГУ, 1973. – С. 23.
2. Благоустройство территорий. Озеленение. Правила проектирования и устройства: ТКП 45–3.02–69–2007 (02250). – Утв. и введен в действие приказом М-ва архитектуры и строительства Респ. Беларусь от 20 дек. 2007 г., № 416. – С. 18.
3. *Smith, S. E.* Mycorrhizal symbiosis / S. E. Smith, D. J. Read. – London: Acad. Press, 2008. – P. 678.
4. *Agerer, R.* Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae / R. Agerer // *Mycology Progress*. – 2006. – Vol. 5, № 2. – P. 67–107.
5. *Roman, M.* A revision of the descriptions of ectomycorrhizas published since 1961 / M. Roman, V. Claveria, M. Miguel // *Mycology Research*. – 2005. – Vol. 109, № 10. – P. 1063–1104.
6. *Cairncy, J. W. G.* Basidiomycete mycelia in forest soils: dimensions, dynamics and roles in nutrient distribution / J. W. G. Cairncy // *Mycology Research*. – 2005. – Vol. 109, № 1. – P. 7–20.
7. *Доспехов, Б. А.* Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов; под ред. В. Е. Егорова. – М.: Колос, 1965. – С. 423.
8. *Сэги, Й.* Методы почвенной микробиологии / Й. Сэги. – М.: Колас, 1983. – С. 104.
9. *Кравченко, Л. В.* Возможность биосинтеза ауксинов ассоциативными азотфиксаторами в ризосфере пшеницы / Л. В. Кравченко, А. В. Боровков, З. Пшикрил // *Микробиология*. – 1991. – Т. 60, вып. 5. – С. 927–931.
10. Физиология сосны обыкновенной / Н. Е. Судачкова [и др.]; под ред. Г. М. Лисовского. – Новосибирск: Наука, 1990. – С. 248.
11. *Дятлова, К. Д.* Микробные препараты в растениеводстве / К. Д. Дятлова // *Соросовский образовательный журнал*. – 2001. – Т. 7, № 5. – С. 17–23.

T. L. SAVCHITS<sup>1</sup>, V. A. TIMOPHEEVA<sup>2</sup>, L. A. GOLOVCHENKO<sup>2</sup>,  
Z. M. ALESCHENKOVA<sup>1</sup>

**EXOGENOUS CONTROL OF GROWTH AND DEVELOPMENT  
OF FLORAL CULTURES BY MICROBIAL PREPARATION «AGROMYC»**

<sup>1</sup>*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus,  
Minsk, Belarus, tsavchic@mail.ru*

<sup>2</sup>*Central Botanical Garden, National Academy of Sciences of Belarus,  
Minsk, Belarus, luda\_gol@yahoo.com*

Introduction of nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing microorganisms – components of biopreparation «AgroMyc» into rhizosphere of *Tagetes erecta* promotes propagation of beneficial microflora and, consequently, enhances soil biogenic potential and causes favorable impact on growth and development of plants in urban environment. It was established during performed studies that AgroMyc application induced considerable stimulating effect on *Tagetes erecta* species facilitating intense sprouting, shaping of robust root system, early budding and flowering.

*Поступила 05.05.2015 г.*

*УДК 579.6 + 577.151*

*Л. И. САПУНОВА, С. А. КУЛИШ, А. Г. ЛОБАНОК,  
И. О. ТАМКОВИЧ, Е. А. ШЛЯХОТКО, А. С. ГАЙДУК,  
А. Г. АРХИПЕНКО*

**СИНТЕЗ БАКТЕРИЯМИ *BACILLUS*  
*AMYLOLIQUEFACIENS* SUBSP. *AMYLOLIQUEFACIENS*  
ФЕРМЕНТОВ, КАТАЛИЗИРУЮЩИХ ГИДРОЛИЗ  
РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ**

*Институт микробиологии НАН Беларуси,  
Минск, Беларусь, enzyme@mbio.bas-net.by*

Исучен состав деполимераз, синтезируемых штаммом *B. amyloliquefaciens* subsp. *amyloliquefaciens* – продуцентом фитазы. Установлено, что помимо фитазы культура синтезирует также β-глюканазу, целлюлазу, ксиланазу, протеазу и α-амилазу внеклеточной локализации. Подобран состав питательной среды и определены условия получения посевного материала, обеспечивающие повышение в 1,1–4,0 раза уровня синтеза штаммом исследуемых ферментов.