

УДК 579.64

ВЛИЯНИЕ *DELFTIA* SP. LP-1 НА ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ САЛАТА (*LACTUCA SATIVA* L.) К *ERWINIA CAROTOVORA* SUBSP. *CAROTOVORA* B15

Н.В. Агафонова, Е.Н. Капаруллина, Н.В. Доронина

Пуцинский научный центр биологических исследований Российской академии наук Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пузино, Россия

ВВЕДЕНИЕ

Erwinia carotovora subsp. *carotovora* – известный фитопатоген, вызывающий слизистый бактериоз растений, поражает широкий круг сельскохозяйственных культур: все виды капусты, салат, редис, репу, картофель, морковь, лук, томат, фасоль и др. Бактериоз причиняет наибольший вред в регионах с высокой температурой (~ 25 °С) и повышенной влажностью воздуха (выше 50 %) во время вегетационного периода. В настоящее время перспективными направлениями повышения урожайности растений являются исследования в области биотехнологий, использующих микроорганизмы, стимулирующие рост растений и обладающие выраженными антибиотическими свойствами. Аэробные метилотрофные бактерии используют метанол и другие C₁-метаболиты растений в качестве источников углерода и энергии и оказывают положительное влияние на рост растений. Ранее нами описан представитель рода *Delftia*, штамм *Delftia* sp. Lp-1, способный расти на метаноле – естественном продукте метаболизма растений, и обладающий широким спектром механизмов стимуляции роста различных растений (Агафонова с соавт., 2017). Штамм *Delftia* sp. Lp-1 обладает антифунгальной активностью против грибов рода *Fusarium*, антибактериальной активностью против некоторых представителей рода *Bacillus*, однако о его влиянии на патоген *Erw. carotovora* ранее не сообщалось.

Цель данной работы – выявление антибактериальной активности *Delftia* sp. Lp-1 к *Erwinia carotovora* B15, а также исследование влияния инокуляции семян салата (*Lactuca sativa* L.) на повышение устойчивости ростков к эрвинии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Delftia sp. Lp-1 (BKM В-3039) выращивали на минеральной среде «К» (г/л: KH_2PO_4 – 2,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 2,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,025; NaCl – 0,5; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,002; $\text{H}_2\text{O}_{\text{дист.}}$ – 1 л; pH 7,4) в колбах Эрленмейера объемом 750 мл с 200 мл среды и 0,5 % метанола при 29 °С, 180 об/мин в течение 3 сут. Штамм *Erw. carotovora* B15 выращивали на среде LB при 29 °С, 180 об/мин в течение суток.

Изучение антагонистической активности. Антибактериальную активность *Delftia* sp. Lp-1 к *Erw. carotovora* B15 определяли при их совместном культивировании по наличию зоны подавления роста, как описано ранее (Агафонова с соавт., 2017).

Колонизация растений и изучение ростостимулирующей активности. Семена салата (*Lactuca sativa* L., сорт Московский парниковый) стерилизовали в 5 % растворе NaClO_4 в течение 2–3 мин, затем трижды отмывали стерильной водой. Стерильные семена выращивали в условиях *in vitro* на водном агаре (0,7 %) при температуре 23–25 °С и 16 ч световом режиме в течение 7 дней. Инокуляцию проводили 10 мкл/семя суспензии клеток *Delftia* sp. Lp-1, *Erw. carotovora* B15 и смесью клеток (*Delftia* sp. Lp-1 + *Erw. carotovora* B15) плотностью 10^6 – 10^7 КОЕ/мл, контрольные растения обрабатывали стерильной средой «К». Семисуточные ростки высушивали до постоянной массы при 95 °С, сухой вес определяли из расчета на один росток. Содержание фотосинтетических пигментов определяли в 96 % этанольных экстрактах из листьев спектрофотометрическим методом по максимумам поглощения хлорофиллов и каротиноидов (Корнилина, 2012).

Эксперименты проводили в трехкратной повторности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что исследуемый метилотроф подавлял рост *Erw. carotovora* B15 (рис. 1) с зоной лизиса 3–5 мм, при этом *Delftia* sp. Lp-1 выделял в среду темный пигмент, образование которого не наблюдали при культивировании без конкурентной культуры.

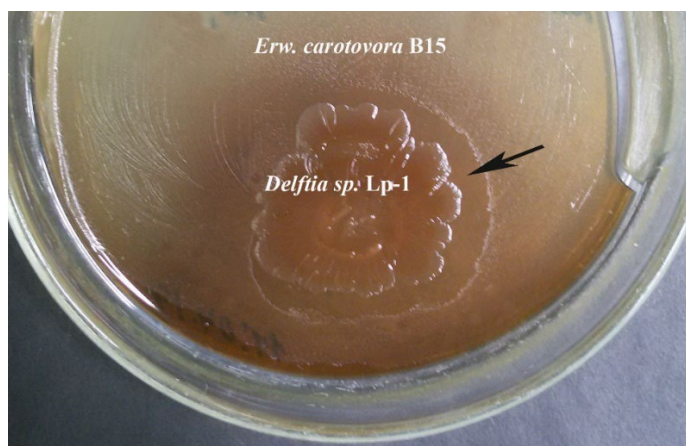


Рис. 1. Антагонистическая активность штамма *Delftia* sp. Lp-1 (пятно) против *Erw. carotovora* B15 (газон), стрелкой указана зона лизиса

В опытах *in vitro* через 5–7 суток после обработки ростков салата у зараженных *Erw. carotovora* B15 растений отмечали замедление роста и развития стеблей и корневой системы, пожелтение корней, уменьшение размеров листовых пластинок, в то время как состояние контрольных, колонизированных штаммом Lp-1 и обработанных смесью клеток (*Delftia* sp. Lp-1 + *Erw. carotovora* B15) растений оставалось без видимых изменений. Ростки, зараженные *Erw. carotovora* B15, имели меньшую высоту стебля, длину корней и сухой вес по сравнению с контрольными (на 40–45 %, 56–60 %, 8–10 %, соответственно), а также обработанными *Delftia* sp. Lp-1 (на 50–52 %, 63–65 %, 12–15 %, соответственно) и *Delftia* sp. Lp-1 + *Erw. carotovora* B15 (на 48–50 %, 54–58 %, 6–8 %, соответственно) растениями (таблица 1, рис. 2). Несмотря на то, что показатели инфицированных бактериозом ростков были довольно низкими, совместная инокуляция *Delftia* sp. Lp-1 + *Erw. carotovora* B15 способствовала улучшению роста, показатели выравнивались до уровня контрольных растений.

Таблица 1. Морфометрические показатели ростков салата (*Lactuca sativa* L.), контрольные и обработанные штаммами *Delftia* sp. Lp-1, *Erw. carotovora* B15, *Delftia* sp. Lp-1 + *Erw. carotovora* B15

Вариант	Высота стебля, мм	Длина корня, мм	Сухой вес из расчета на один росток, мг
Контроль	23	25	24,3
<i>Delftia</i> sp. Lp-1	27	27	26,0
<i>Erw. carotovora</i> B15	13	10	22,3
<i>Delftia</i> sp. Lp-1 + <i>Erw. carotovora</i> B15	25	24	24,2

Показаны средние значения результатов трех независимых экспериментов (стандартная ошибка не более $\pm 5\%$).



Рис. 2. Ростки салата (*Lactuca sativa* L.), контрольные и обработанные штаммами *Delftia* sp. Lp-1, *Erw. carotovora* B15, *Delftia* sp. Lp-1 + *Erw. carotovora* B15.

Кроме того, исследовали влияние инокуляции клетками *Erw. carotovora* B15 на пигментный состав фотосинтетического аппарата ростков салата, поскольку содержание хлорофиллов (*a*, *b*) и каротиноидов, свидетельствует о физиологическом состоянии растений. Полученные данные (таблица 2) также свидетельствовали о повреждающем действии заражения ростков салата эрвиниями, что проявлялось в негативном влиянии на работу фотосинтетического аппарата. Инокуляция зараженных ростков клетками *Delftia* sp. Lp-1 оказывала защитный эффект: суммарное содержание хлорофиллов (*a* + *b*) и каротиноидов отличалось от таковых у поврежденных *Erw. carotovora* B15 ростков, на 10–15 % и 15–20 %, соответственно.

Таблица 2. Содержание и соотношение фотосинтетических пигментов у ростков салата (*Lactuca sativa* L.), контрольных и обработанных штаммами *Delftia* sp. Lp-1, *Erw. carotovora* B15, *Delftia* sp. Lp-1 + *Erw. carotovora* B15

Вариант	ХЛ <i>a</i> , мг/г	ХЛ <i>b</i> , мг/г	ХЛ (<i>a</i> + <i>b</i>), мг/г	каротиноиды, мг/г
Контроль	0,264	0,129	0,393	0,159
<i>Delftia</i> sp. Lp-1	0,308	0,151	0,459	0,188
<i>Erw. carotovora</i> B15	0,256	0,127	0,383	0,154
<i>Delftia</i> sp. Lp-1 + <i>Erw. carotovora</i> B15	0,286	0,139	0,425	0,177

Показаны средние значения результатов трех независимых экспериментов (стандартная ошибка не более $\pm 5\%$)

Таким образом, показано, что метилотрофный фитосимбионт *Delftia* sp. Lp-1 подавляет рост *Erw. carotovora* B15, а при колонизации ростков салата улучшает их устойчивость к фитопатогену, оказывает положительное влияние на рост, развитие растений и работу их фотосинтетического аппарата. Следовательно, использование штамма *Delftia* sp. Lp-1 перспективно как для стимуляции роста, так и повышения устойчивости растений к бактериальным фитопатогенам.

ЛИТЕРАТУРА

Агафонова Н.В., Доронина Н.В., Капарулина Е.Н., Федоров Д.Н., Гафаров А.Б., Сазонова О.И., Соколов С.Л., Троценко Ю.А. Новый фитосимбионт из рода *Delftia*, способный к автотрофной метилотрофии // Микробиология. 2017. Т. 86. № 1. С. 88–98.

Корнилина В.В. Влияние ложного осинового трутовика (*Phellinus tremulae* Bond et Boriss) на содержание пигментов в листьях осины в лесах Ульяновской области // Фундаментальные исследования. 2012. № 9. С. 668–572.