

УДК 57.085.2

МОБИЛИЗАЦИЯ ОРТОФОСФАТА КАЛЬЦИЯ БАКТЕРИЯМИ РОДОВ *ADVENELLA* И *PSEUDOMONAS*

Л.Ю. Кузьмина, З.Г. Гуватова, В.И. Ионина, Н.Ф. Галимзянова, А.И. Мелентьев

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, ljkuz@anrb.ru

Изучена способность бактериальных штаммов *Advenella* и *Pseudomonas* к мобилизации фосфора из нерастворимого ортофосфата кальция. Штаммы рода *Pseudomonas* характеризовались быстрой динамикой аккумуляции растворимых ионов фосфата в культуральной среде. Максимальная солубилизирующая активность была зарегистрирована для штамма *A. kashmirensis* IB Ki-1, что делает его применение многообещающим для целей улучшения фосфорного питания и стимуляции роста растений.

Ключевые слова: фосфатмобилизация, *Advenella kashmirensis*, *Pseudomonas extremaustralis*, *Pseudomonas mandelii*.

Фосфор является важнейшим биогенным элементом биосферы. Валовые запасы неорганического фосфора в почве достаточно велики, однако он находится в малодоступном для растений виде. В структуре первичных минералов фосфор представлен слаборастворимыми фосфатами кальция и марганца – в нейтральных или щелочных почвах, железа и алюминия – в кислых почвах. Улучшать биодоступность минеральных соединений фосфора из их суммарного почвенного пула способны почвенные микроорганизмы, одним из механизмов их действия является солубилизация фосфатов за счет выделения кислых метаболитов [Whitelaw et al., 1999; Булавенко и др., 2000]. Интродукция фосфат-мобилизирующих микроорганизмов в ризосферу растений может стать одним из инструментов повышения доступности почвенного фосфора для растений.

Цель работы оценить способность некоторых штаммов граммотрицательных бактерий растворять ортофосфат кальция *in vitro*. Объектом исследований служили пять штаммов бактерий – представителей видов *Advenella kashmirensis* [Ghos et al., 2005], *Pseudomonas extremaustralis* [Ayub et al., 2004], *Pseudomonas mandelii* [Verhille et al., 1999] и штамм

Pseudomonas sp. Все штаммы были выделены из грунта пещеры Киндерлинская (Башкортостан). Для оценки способности бактерий мобилизовать фосфор использовали питательную среду с ортофосфатом кальция [Муромцев и др., 1985]. Штаммы микроорганизмов выращивали в колбах Эрленмейера со 100 мл питательной среды (160 мин^{-1}) при 28°C в течение 11 суток. Начальный титр штаммов составлял $2-9 \times 10^7$ КОЕ/мл. По окончании культивирования весовым методом определяли убыль $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Концентрацию фосфат-анионов определяли по методу Фиске-Суббароу (Унифицированные методы ..., 1971). Как видно из таблицы, штамм *A. kashmirensis* IB Ki-1 полностью разрушал ортофосфат кальция за 11 суток, при этом уровень pH лишь незначительно снижался в период между первыми и одиннадцатыми сутками культивирования (табл.). Штаммы рода *Pseudomonas* разрушали ортофосфат кальция на 61–74%. Следует отметить, что концентрация фосфат-анионов в культуральной жидкости на различных этапах культивирования не в полной мере характеризует достигаемую степень растворения ортофосфата кальция, однако дает возможность сравнивать штаммы между собой. Среди

псевдомонад максимальная трансформация $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в растворимые формы была достигнута штаммом *P. mandelii* IB Ki-14.

Таким образом, большинство исследованных штаммов грамотрицательных бактерий показывали высокую степень солиubilизации малорастворимого ортофосфата кальция на завершающем этапе культивирования. Штаммы рода *Pseudomonas* характеризовались быстрой динамикой накопления растворимых фосфат-анионов в культуральной среде на начальной стадии культивирования (первые сутки) с последующим снижением их концентрации вследствие потребления доступного фосфора растущей культурой. Наиболее активным среди изученных культур являлся штамм

A. kashmirensis IB Ki-1, полностью трансформирующий ортофосфат кальция в растворимые формы после одиннадцати суток культивирования и показывающий стабильно высокую динамику накопления свободных фосфат-анионов. Среди представителей этого вида описан штамм *A. kashmirensis* subsp. *methylica* PK-1 [Порошина и др., 2015], выделенный из ризосферы осоки, что показывает потенциальную возможность успешной интродукции штамма *A. kashmirensis* IB Ki-1 в ризосферу сельскохозяйственных культур.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 14-04-97049.

Таблица. Динамика роста и освобождения фосфат иона изучаемыми штаммами

Штамм	1 сутки			11 сутки			Высвобождение фосфора из $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, %	Итоговая концентрация растворимых фосфатов, P_2O_5 , мг/л
	титр, КОЕ/мл	pH	P_2O_5 , мг/л	титр, КОЕ/мл	pH	P_2O_5 , мг/л		
<i>A. kashmirensis</i> IB Ki-1	2×10^8	4.8–4.9	190–218	4×10^7	4.4–4.5	438–470	100	916
<i>P. extremaustralis</i> IB Ki 13-2	4×10^9	5.9–6.0	261–264	5×10^9	5.6–5.7	76–77	74	696
<i>P. extremaustralis</i> IB Ki 13-1A	4×10^9	6.0–6.0	138–160	4×10^9	5.6–5.7	91–95	61	678
<i>P. mandelii</i> IB Ki-14	3×10^9	4.5–4.6	253–267	5×10^9	5.7–5.9	69–70	76	568
<i>Pseudomonas</i> sp. IB Ki-19	1×10^8	4.9–5.0	153–166	8×10^8	6.0–6.0	96–98	62	559

Библиографический список (References)

- Булавенко Л.В., Бега З.Т., Курдиш И.К. Мобилизация фосфора некоторыми микроорганизмами из труднорастворимых неорганических фосфатов // Бюллетень Института сельского хозяйства микробиологии, 2000. N 6. с. 55–56.
- Муромцев Г.С., Маршунова Г.Н., Павлова В.Ф., Зольникова Н.В. // Успехи микробиологии, 1985. Т 20. с. 174–198.
- Унифицированные методы анализа вод / под ред. Ю.Ю. Лурье. М.: Химия, 1971. 207 с.
- Порошина М.Н., Доронина Н.В., Капаруллина Е.Н., Троценко Ю.А. *Advenella kashmirensis* subspecies *methylica* PK 1 – факультативный метилотроф из ризосферы осоки // Микробиология, 2015. Т. 48. N 1. с. 90–97.
- Ayub N.D., Pettinari M.J., Ruiz J.A., López N.I. A Polyhydroxybutyrate-Producing *Pseudomonas* sp. Isolated from Antarctic Environments with High Stress Resistance. // Current microbiology, 2004. V. 49. p. 170–174.
- Ghosh W., Bagchi A., Mandal S., Dam B., Roy P. *Tetrathiothiobacter kashmirensis* gen. nov., sp. nov., a novel mesophilic, neutrophilic, tetrathionate-oxidizing, facultatively chemolithotrophic betaproteobacterium isolated from soil from a temperate orchard in Jammu and Kashmir, India // International J. of Systematic and Evolutionary Microbiol, 2005. V. 55. p. 1779–1787.
- Whitelaw M.A., Harden T.J., Helyar K.R. Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum* // Soil Biology and Biochemistry, 1999. V. 31. N 5. p. 655–665.
- Verhille S, Baida N., Dabboussi F., Izard D., Leclerc H. Taxonomic study of bacteria isolated from natural mineral waters: proposal of *Pseudomonas jessenii* sp. nov. and *Pseudomonas mandelii* sp. nov. // Syst. Appl. Microbiol, 1999. V. 22. N. 1. p. 45–58.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 90–91

THE MOBILIZATION OF CALCIUM ORTHOPHOSPHATE BY BACTERIA FROM *ADVENELLA* AND *PSEUDOMONAS* GENERA

L.Y. Kuzmina, Z.G. Guvatova, V.I. Ioannina, G.E. Aktuganov, N.F. Galimzyanova, A.I. Melentev

Institute of Biology Ufa Scientific Centre RAS, ljkuz@anrb.ru

The ability of bacterial strains from genera *Advenella* and *Pseudomonas* to mobilize phosphorus from insoluble calcium orthophosphate was evaluated. The strains of the genus *Pseudomonas* were characterized with rapid dynamics of accumulation of soluble phosphate anions in the culture medium following to decrease of its concentration due to the consumption of available phosphorus by growing culture. Maximal solubilizing activity was detected in the strain *A. kashmirensis* IB Ki-1, which makes its application promising for the purpose of improvement in phosphorous nutrition and growth promoting of plants.