

# Комбинация свойств микроорганизмов – новый подход к созданию биопрепаратов для растениеводства

Л.В.Коломбет, И.А.Дунайцев, С.К.Жиглецова

ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

В результате скрининга микроорганизмов, обладающих способностью высвобождать фосфор и подавлять рост фитопатогенов, выбраны штамм *Pseudomonas sp.*181a и №16 *Trichoderma asperellum* GJS 03-35, сочетание которых в биопреparate эффективно снижает заболеваемость пшеницы фузариозом колоса, увеличивает урожайность, снижает содержание микотоксина дезоксиниваленола в зерне. Проведены вегетационные лабораторные и полевые испытания экспериментальных образцов биопрепаратов, доказывающие, что совместное применение штаммов №16 *T. asperellum* и *Pseudomonas sp.*181a может быть признано перспективным биологическим средством для борьбы с фузариозом колоса пшеницы и для улучшения фосфорного питания, способствующим оздоровлению ризосферной зоны растений.

**Ключевые слова:** биопрепараты, фосфатрастворяющие микроорганизмы (ФРМ), фунгициды, фузариоз, комбинированный биопрепарат, вегетационные лабораторные и полевые испытания

**Для цитирования:** Коломбет Л.В., Дунайцев И.А., Жиглецова С.К. Комбинация свойств микроорганизмов – новый подход к созданию биопрепаратов для растениеводства. Бактериология. 2016; 1(1): 54–61. DOI: 10.20953/2500-1027-2016-1-54-61

## Combined properties of microorganisms – new approach to designing bioformulations for plant growing

L.V.Kolombet, I.A.Dunaitsev, S.K.Zhigletsova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Screening of microorganisms releasing phosphorus and inhibiting the growth of phytopathogens has resulted in selecting strains *Pseudomonas sp.*181a and No. 16 *Trichoderma asperellum* GJS 03-35 which when combined as a single bioformulation decrease efficiently wheat fusarium head blight, increase productivity wheat, and decrease desoxynivalenol mycotoxin content in grain. Experimental bioformulations have been tested both in laboratory and field conditions. It has been proved that the concurrent application of strains No.16 *T. asperellum* and *Pseudomonas sp.*181 is a promising remedy to control wheat fusarium head blight and to stimulate phosphorus nutrition for sanitation of plant rhizosphere.

**Key words:** biocontrol agents, fungicides, phosphate solubilization microorganisms (PSM), fusarium head blight, the combined biological product, vegetative laboratory and field tests

**For citation:** Kolombet L.V., Dunaitsev I.A., Zhigletsova S.K. Combined properties of microorganisms – new approach to designing bioformulations for plant growing. Bacteriology. 2016; 1(1): 54–61. DOI: 10.20953/2500-1027-2016-1-54-61

В конце 60-х годов прошлого столетия казалось, что появление на рынке новых, высокоэффективных химических пестицидов решит все проблемы, связанные с защитой растений. Тем не менее, «как гром среди ясного неба» грянула весть о том, что некоторые «суперхимикаты» становятся неэффективными, поскольку возбудители болезней, адаптируясь к ним, приобретают резистентность. Это приводило к увеличению применяемых доз пестицидов, что, в конечном счете,

было бесперспективно и наносило сокрушительный удар по окружающей среде. Начались поиски альтернативных методов защиты растений от болезней и вредителей. В этом не было особой новизны, просто «химический период» продолжался слишком долго, что затормозило развитие иных подходов.

Средства защиты растений от болезней и вредителей, а также подходы к повышению плодородия почв сегодня тесно связаны с применением микроорганизмов, способных про-

### Для корреспонденции:

Коломбет Любовь Васильевна, доктор биологических наук, заведующая научной частью ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии

Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ  
Телефон: (4967) 36-0003  
E-mail: info@obolensk.org

Статья поступила 01.06.2016 г., принята к печати 15.08.2016 г.

### For correspondence:

Love V. Kolombet, Sc.D. (Bio.), scientific secretary, head of science department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
Phone: (4967) 36-0003  
E-mail: info@obolensk.org

The article was received 01.06.2016, accepted for publication 15.08.2016

дуцировать фитогормоны, антибиотики, ферменты, а также метаболиты, участвующие в балансе минералов, необходимых для питания и поддержания системного иммунитета растения [1, 2]. Одним из необходимых растениям минералов является, в частности фосфор, и стоит проблема перевода его из нерастворимой формы в растворимое биодоступное состояние, в том числе с помощью микроорганизмов [3].

Если в качестве микроорганизмов, растворяющих фосфатную руду собственными метаболитами, будут использованы антагонисты патогенов сельскохозяйственных культур, то одновременно может осуществляться борьба и с болезнями растений.

Продовольственная и экологическая безопасность РФ обеспечивается эффективными мерами по повышению урожайности сельскохозяйственных культур при сохранении биоразнообразия окружающей нас природы. Пшеница, являясь одной из основных зерновых культур, поражается грибами рода *Fusarium* (фузариоз зерна) [4], что приводит к значительным потерям урожая, кроме того, зерно оказывается зараженным микотоксинами [5], представляющими серьезную опасность для теплокровных животных и человека [6, 7]. Биологические средства для борьбы с заболеваниями растений и улучшения плодородия почв могут быть созданы на основании разработки инновационной технологии совмещения двух полезных функций в составе одного препарата.

Целью исследования явилась разработка подходов к созданию биологического препарата, способного подавлять рост фитопатогенов и одновременно повышать в почве доступность фосфора, необходимого для поддержания жизнедеятельности растений.

### Материалы и методы

Объектами исследования явилась коллекция фосфатрастворяющих микроорганизмов (ФРМ) родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Flavobacterium*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* и мицелиальные грибы, в основном, родов *Aspergillus* и *Penicillium*, выделенные из различных экологических ниш в процессе 15 экспедиций в различные регионы РФ и СНГ, в количестве 640 высокоактивных изолятов [8–10]. Динамику выхода фосфора в раствор и окисления глюкозы изучали под действием штамма *Pseudomonas fluorescens* P469 [11] и штамма *Burkholderia cepacia* E-37, являющегося одним из самых активных фосфатрастворяющих (ФР) штаммов [12], который был любезно передан в ГНЦПМБ д-ром R.D. Rogers (INL, Айдахо, США) [9]. Исследовали продуцент препарата Микол – штамм №16 *Trichoderma asperellum* GJS 03-35 [13] и продуцент препарата Бактофит – *Bacillus subtilis* ИПМ 215 [14]. В качестве тест-объектов использовали три фитопатогенных вида грибов рода *Fusarium* из коллекции ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии (п. Оболенск) и Всероссийского института защиты растений (Санкт-Петербург) [15].

Предварительный скрининг высвобождающих фосфаты микроорганизмов проводили на плотной питательной среде по наличию зон просветления в агаре, содержащем суспензию трикальцийфосфата (ТКФ) и в жидких минеральных средах с использованием различных источников углерода [16].

Оценку эффективности совместного действия штаммов №16 *T. asperellum* и *Pseudomonas sp.* 181a выполняли на проростках пшеницы методом «рулонов», согласно ГОСТ 12044-93. Химические фунгициды *Максим экстрим* (1,5 л/т), *Витал ТТ* и *Фликур* использовали как контроли и эталоны сравнения. Фитотоксичность штаммов для проростков пшеницы изучали, как описано [17].

Методика приготовления образцов биопрепаратов и проведения лабораторного и полевого вегетационных опытов описана в [18, 19].

### Результаты и обсуждение

В процессе скрининга коллекции выявили, что культуры микроорганизмов, обладающие фосфатрастворяющей способностью, относились к различным таксономическим группам: около четверти из них составляли грамположительные бациллы и кокки, более 20% – дрожжевые культуры, остальные – ФРМ-грамотрицательные бактерии. Более 50 перспективных ФРМ идентифицировали по культурально-морфологическим и биохимическим признакам. Наиболее активными ФРМ оказались представители родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Azotobacter*.

Общепринято, что основным механизмом растворения минеральных фосфатов микроорганизмами является действие органических кислот, которые образуются из углеродного субстрата [3]. Образование органических кислот приводит к снижению pH среды, и фосфор переходит в водорастворимое состояние из минеральных фосфатов путем замещения иона кальция на ионы водорода.

Механизм высвобождения фосфатов из модельного фосфорсодержащего сырья (ТКФ) изучали на штамме *Burkholderia cepacia* E-37. Оказалось, что повышение концентрации глюкозы увеличивает растворимость фосфора за счет образования кислых продуктов: максимумы растворенного фосфора совпадают с минимумами pH при всех трех исследованных концентрациях глюкозы (0,15%; 0,3% и 0,6%). При этом величина перешедшего в раствор фосфора и время достижения максимума увеличиваются прямо пропорционально концентрации глюкозы. Аналогичные зависимости наблюдали при изучении ФР-свойств и у выделенных наиболее активных изолятов. При использовании вместо глюкозы других углеводов в тех же условиях наблюдали более низкий выход фосфора в раствор, что согласуется с данными других исследователей [20].

Газохроматографический анализ, проведенный для штамма *B. cepacia* E-37 и 96 активных ФРМ, подтвердил, что основными продуктами метаболизма, осуществляющими растворение фосфатов, являются органические кислоты. У штамма *B. cepacia* E-37 и наиболее активных выделенных изолятов обнаружили, в основном, глюконовую и кетоглюконовую кислоты одновременно. Эти результаты подтверждают имеющиеся в литературе сведения о том, что глюконовая и кетоглюконовая кислоты являются наиболее распространенными медиаторами процесса высвобождения фосфатов под действием микроорганизмов [12, 21].

Динамика выхода фосфора в раствор и окисления глюкозы под действием штамма *Pseudomonas fluorescens* P469 представлена на рисунке 1. Штамм *P. fluorescens* P469

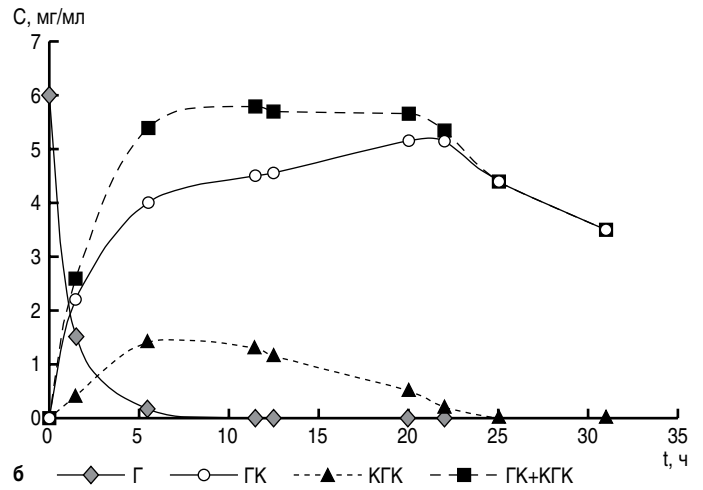
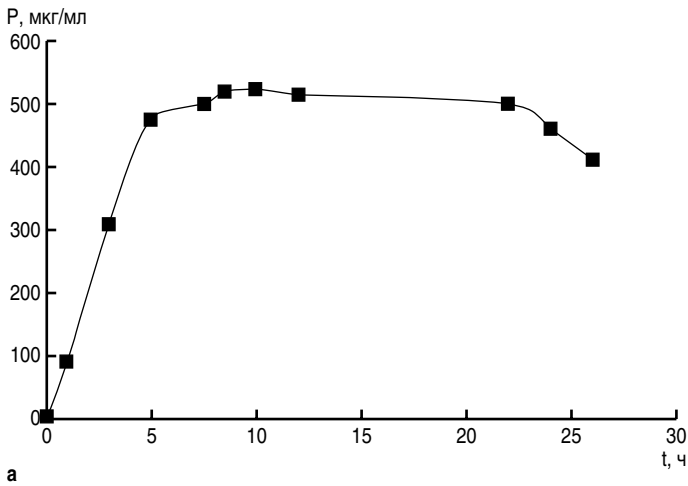


Рис. 1. Динамика растворения фосфатов (а) и содержания глюкозы (Г), глюконовой (ГК), кетоглюконовой (КГК) и суммы этих кислот (ГК+КГК) (б) в среде при культивировании штамма *P. fluorescens* P469.

запатентован в качестве продуцента препарата против болезней растений, вызываемых фитопатогенными грибами и бактериями.

Оказалось, что динамика накопления фосфора в среде под действием штамма *P. fluorescens* P469 такая же, как и для *B. seracina* E-37, и практически совпадает с накоплением суммы глюконовых кислот.

Таким образом, наиболее активные ФРМ, такие как *P. fluorescens* P469, *Pseudomonas sp.* 181a [22], *Acinetobacter sp.* 305 [23], а также *B. seracina* E-37 почти стехиометрически окисляют глюкозу последовательно до соответствующих кислот, что подтверждает предположение Голдштейна [12] о том, что наиболее эффективный механизм высвобождения фосфора из нерастворимого минерального сырья реализуется бактериями через образование глюконовой и кетоглюконовой (и иногда дикетоглюконовой) кислот в результате прямого, практически полного, окисления глюкозы и последующего растворения ТКФ.

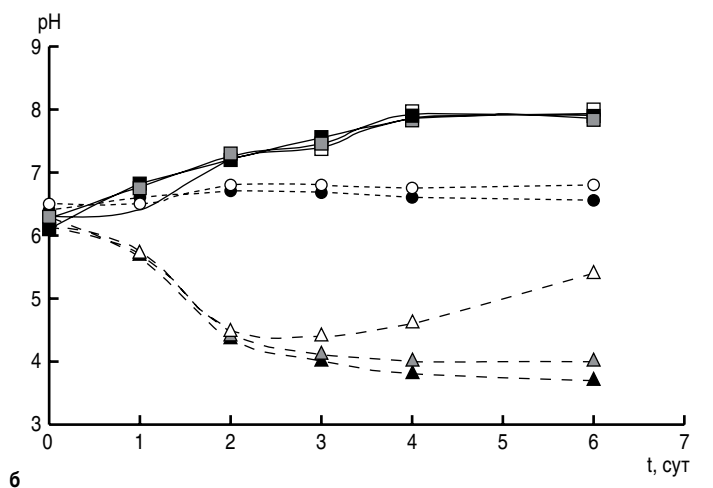
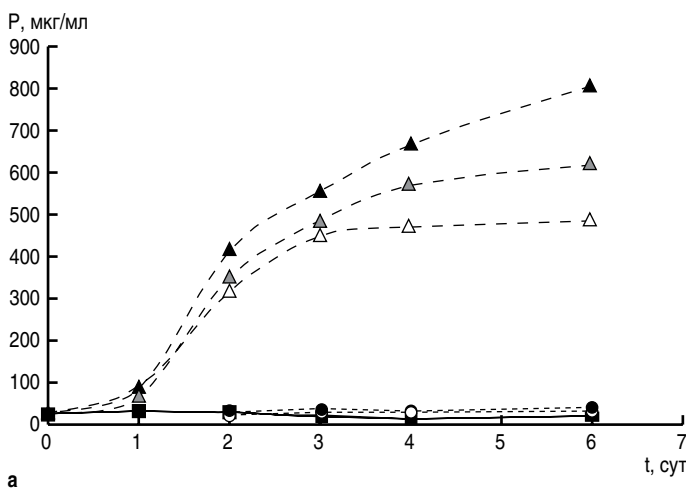
В процессе скрининга фосфатрастворяющие свойства впервые обнаружили у грибного штамма *Trichoderma aspe-*

*rellum*, хотя у представителей других видов этого рода они были описаны ранее [24].

Динамика перехода фосфора в раствор из ТКФ под действием штамма № 16 *T. asperellum* GJS 03-35 в зависимости от состава среды представлена на рисунке 2а. В опыте варьировали исходную концентрацию углеводов (глюкозы и сахарозы): 10, 20 и 30 г/л, а исходные концентрации остальных компонентов не изменяли. Растворение ТКФ под действием штамма № 16 *T. asperellum* GJS 03-35 наблюдали только в средах, содержащих глюкозу и аммонийный азот. Одновременно с определением содержания фосфора в растворе измеряли pH (рис. 2б).

Очевидно, растворение ТКФ под действием штамма №16 *T. asperellum* GJS 03-35 происходит за счет снижения pH. Способность грибов рода *Trichoderma* растворять ТКФ, по литературным данным, значительно варьирует [25–27]. Наиболее активно растворяют фосфаты грибы родов *Penicillium* и *Aspergillus* [28].

Таким образом, штамм №16 *T. asperellum* GJS 03-35, при концентрации глюкозы 10 г/л переводящий в раствор макси-



— Δ— 10 г/л глюкозы — Δ— 20 г/л глюкозы — ▲— 30 г/л глюкозы — □— 10 г/л сахарозы — □— 20 г/л сахарозы — ■— 30 г/л сахарозы  
— ○— Контроль 1 (20 г/л глюкозы) — ●— Контроль 2 (20 г/л сахарозы)

Рис. 2. Динамика перехода фосфора в растворимое состояние из  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (а) и изменение pH в процессе растворения ТКФ (б) под действием штамма №16 *T. asperellum* GJS 03-35 в зависимости от состава среды.

мально 425 мкг/мл фосфора (рис. 2а), проявляет довольно высокую ФР-активность по сравнению с другими грибами рода *Trichoderma* при сходных условиях.

Проведенные исследования механизма растворения фосфатов показали, что процесс высвобождения фосфора из минерального сырья под действием микроорганизмов обусловлен участием органических кислот (прежде всего, глюконовой и кетоглюконовой) и другими факторами, основным из которых является, по-видимому, выброс протонов при поглощении клетками иона аммония. Природа этого явления до конца не выяснена так же, как и для многих других микроорганизмов, для которых не наблюдается соответствия уровня продукции кислот и количества растворенного фосфора.

Изучение фосфатсольбилизирующих свойств микроорганизмов позволило выбрать в качестве перспективных для создания препаратов следующие изоляты природного происхождения: *Acinetobacter sp.* 305, *Pseudomonas sp.* 181a, *P. chlororaphis* Vsk 26a, *P. fluorescens* 469, *B. subtilis* ИПМ 215, №16 *T. asperellum* GJS 03-35, которые относятся к родам, представители которых способны производить широкий спектр антибиотических средств, гормонов, сурфактантов и метаболитов, имеющих перспективу практического использования в борьбе с болезнями растений и в частности с возбудителями заболеваний грибной природы.

Идея использования микроорганизмов, проявляющих антагонистические свойства по отношению к патогенам растений и одновременно высвобождающих фосфаты из минерального сырья, высказывалась и ранее [29], однако практического воплощения эта идея до сих пор не получила.

В связи с этим оценили способность выбранных бактериальных штаммов, активно растворяющих фосфаты, ингибировать возбудителей фузариоза зерновых культур.

Из 116 изолятов ФРМ 21 проявили антагонистическую активность к трем видам грибов рода *Fusarium*: *F. culmorum*; *F. sporotrichioides* и *F. graminearum* (таблица).

Высокая доля бактерий-антагонистов (37%), очевидно, обусловлена тем, что большинство фосфатрастворяющих видов микроорганизмов выделили из ризосферной зоны растений и бедных по питательным веществам экологических ниш (эрозионные минеральные породы, скалы, пещерные наслоения), где конкуренция среди микроорганизмов очень высока. Наиболее высокую активность против всех трех патогенов растений (на уровне активности штамма *B. subtilis* ИПМ 215) показали бактерии рода *Bacillus*, *Pseudomonas*, а также штамм №16 *T. asperellum* GJS 03-35.

Однако все активные бактерии (и грибной штамм) – антагонисты фитопатогенов имели сравнительно низкую фосфатрастворяющую активность – менее 40% от максимальной [16].

Таким образом, найти микроорганизм, одновременно обладающий максимально высокой ФР-активностью и высокой активностью в отношении фитопатогенов, не удалось. Поэтому для создания биопрепарата, обладающего высокой ФР- и фунгицидной активностью, подобрали комбинацию двух микроорганизмов, каждый из которых имел высокий уровень одного из вышеуказанных свойств.

С целью создания эффективной смеси микроорганизмов с повышенной ФР- и антифитопатогенной активностью использовали штамм №16 *Trichoderma asperellum* GLS 03-35, на основе которого разработан препарат Микол [13]. Поскольку штамм №16 *T. asperellum* GLS 03-35 обладает высокой антагонистической активностью и средними ФР-свойствами, то представляло интерес найти совместимый с ним бактериальный штамм с высокими ФР-свойствами, обладающий также и антагонистической активностью.

Оказалось, что штамм №16 *T. asperellum* GLS 03-35 подавляет рост некоторых активных ФРМ (Kav 179 и Vsk 35)

Таблица. Антагонистическая активность фосфатрастворяющих микроорганизмов по отношению к фитопатогенам, вызывающим фузариоз колоса зерновых культур

Обозначение штамма	Вид микроорганизма	Возбудитель ФК		
		<i>F. graminearum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. sporotrichioides</i>
Hor 7	<i>Pseudomonas sp.</i>	++	++	++
Lev 16	<i>Candida lambica</i>	+	+	+
Kav 56a	Не идентифицирован	++	++	++
Kav 88b	<i>Bacillus sp.</i>	+++	++	++
Kav 170	<i>Pantoea agglomerans</i>	+	+	+
Kav 171	<i>Klebsiella oxytoca</i>	++	++	+
Kav 179	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+
Kav 203	Не идентифицирован	++	+	++
Kav 220	<i>Enterobacter cloacae</i>	++	++	++
Kav 243	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+
Kav 305	<i>Acinetobacter sp.</i>	++	+++	+++
Krl 163	<i>Bacillus sp.</i>	++	++	++
Krl 181a	<i>Pseudomonas sp.</i>	+++	++	++
Krl 201	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+
Krm 132	<i>Bacillus sp.</i>	+++	+++	++
Lhv 716	<i>Bacillus megaterium</i>	+++	+++	++
Lhv 97	<i>Bacillus sp.</i>	+++	+++	++
Lhv 98a	<i>Bacillus megaterium</i>	+++	+++	+++
Vsk 26a1	<i>Bacillus subtilis</i>	+++	+++	+++
Vsk 26a3	<i>Pseudomonas sp.</i>	+++	++	++
Vsk 35	<i>Bacillus sp.</i>	+++	++	+++
ИПМ 215	<i>Bacillus subtilis</i>	+++	+++	+++
№16	<i>T. asperellum</i>	+++	+++	+++

Примечание: + наличие зоны угнетения роста мицелия гриба в месте соприкосновения с бактериальным штрихом; ++ обширная зона угнетения роста мицелия гриба не только в месте соприкосновения с бактериальным штрихом, но и в сопредельной области; +++ наличие зоны лизиса между штаммами.



Рис. 3. Оценка совместимости ФРМ-антагонистов фитопатогенов со штаммом №16 *Trichoderma asperellum* GJS 03-35.

(рис. 3). Четыре штамма ФРМ (Lhv 71b, Vsk 26a1, Vsk 26a3, Krm 132), наоборот, подавляли или значительно угнетали рост гриба. Не оказывали значительного угнетающего действия на *T. asperellum* и не подавлялись ею семь исследованных ФРМ – Hor 7, Kav 56a, Kav 170, Kav 220, Kav 305, Krl 181, Lev 16.

Скрининг на фитотоксичность для растений выявил один изолят, достоверно стимулирующий рост проростков пшеницы – а именно, штамм *Pseudomonas sp.* 181a (Krl 181a).

Поскольку штамм *Pseudomonas sp.* 181a обладает ФР-активностью на уровне максимальных значений [12], его выбрали для совместного использования со штаммом №16 *T. asperellum* GJS 03-35 с целью изучения возмож-

ности создания на их основе комплексного препарата для повышения урожайности пшеницы и борьбы с фузариозами. В лабораторных условиях приготовили экспериментальные образцы на основе грибного и бактериального штаммов. Анализ эффективности комбинаций оценили по морфометрическим показателям проростков пшеницы (длина coleoptили и семядольного листа, длина и количество первичных корней) после обработки экспериментальными образцами. Оказалось, что комбинация №16 *T. asperellum*, 1 л/т + *Pseudomonas sp.* 181a, 3,0 л/т; и №16 *T. asperellum*, 2 л/т + *Pseudomonas sp.* 181a, 1,5 л/т обладает достоверно выраженным ростстимулирующим эффектом (рис. 4).

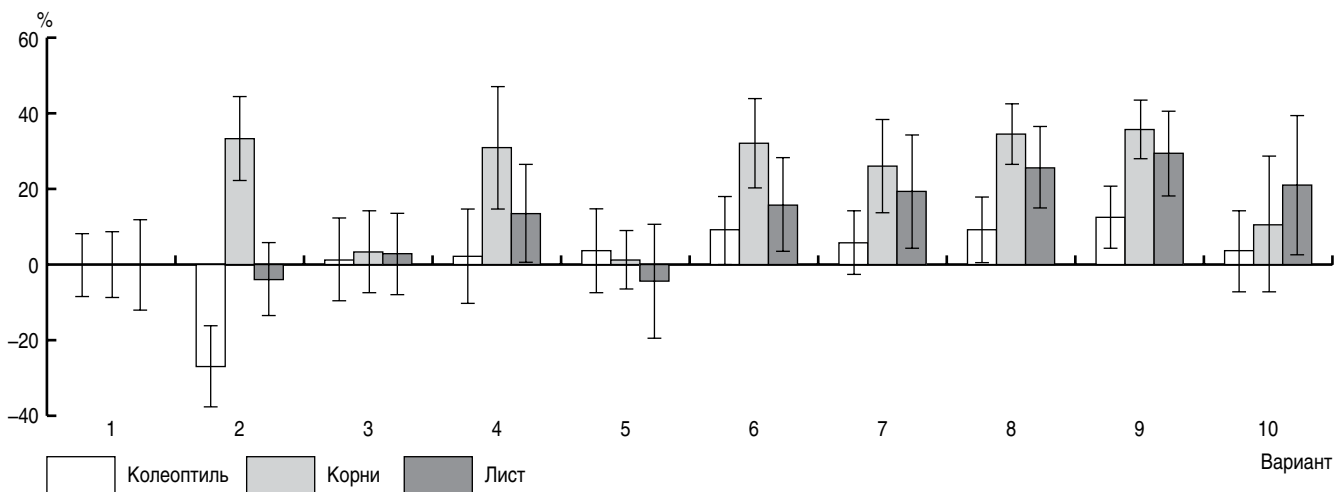


Рис. 4. Относительный рострегулирующий эффект протравителей на проростки семян пшеницы: 1 – контроль; 2 – максим экстрим, 1,5 л/т; 3 – №16 *T. asperellum*, 1 л/т; 4 – №16 *T. asperellum*, 2 л/т; 5 – *Pseudomonas sp.* 181a, 1,5 л/т; 6 – *Pseudomonas sp.* 181a, 3,0 л/т; 7 – №16 *T. asperellum*, 1 л/т + *Pseudomonas sp.* 181a, 1,5 л/т; 8 – №16 *T. asperellum*, 1 л/т + *Pseudomonas sp.* 181a, 3,0 л/т; 9 – №16 *T. asperellum*, 2 л/т + *Pseudomonas sp.* 181a, 1,5 л/т; 10 – №16 *T. asperellum*, 2 л/т + *Pseudomonas sp.* 181a, 3,0 л/т.

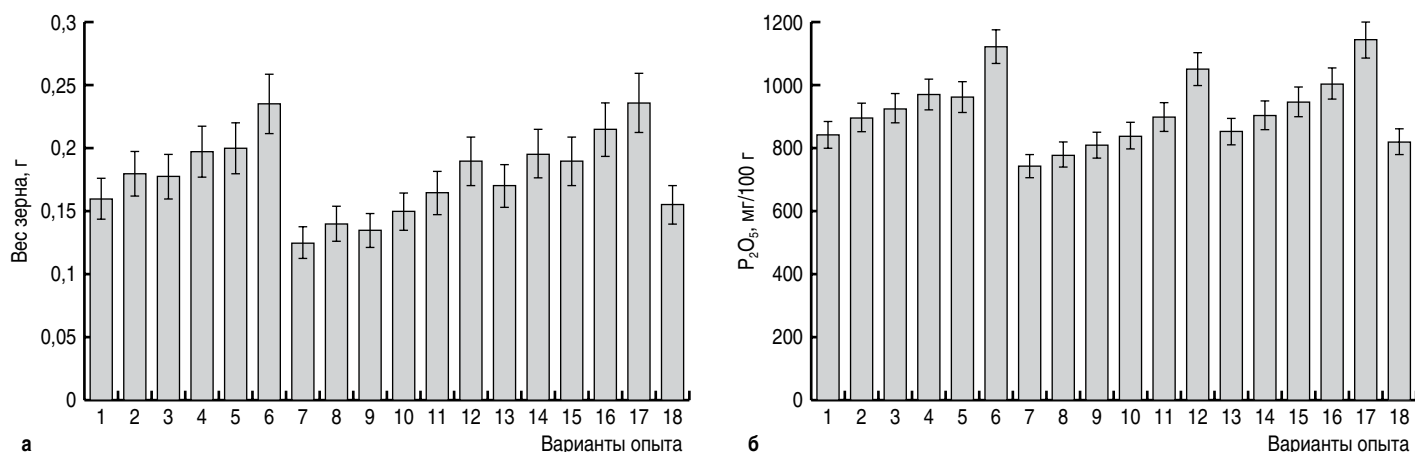


Рис. 5. Характеристика урожая пшеницы (в расчете на одно растение) в лабораторном эксперименте: а – вес зерен; б – содержание фосфора (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>).

Варианты опыта: 1-5, 7-11 и 13-16 в почву внесена фосфоритная руда; 6, 12 и 17 внесен суперфосфат; 1-6 – инфицирование *F. graminearum* семян пшеницы; 7-12 – инфицирование *F. graminearum* колосьев пшеницы; 13-18 – инфицирования нет; 2, 8, 14 – обработка семян *T. asperellum*; 3, 9, 15 – внесение в почву *Pseudomonas sp. 181a*; 4, 10, 16 – обработка семян *T. asperellum* и внесение в почву *Pseudomonas sp. 181a*, а также обработка колосьев во время цветения *T. asperellum*; 5, 11 – обработка семян *T. asperellum* и внесение в почву *Pseudomonas sp. 181a*, а также обработка колосьев во время цветения *T. asperellum*; 6 и 12 – обработка химическими фунгицидами: семян – препаратом Виал ТТ и колосьев – препаратом фоликур; вариант 18 – контроль без обработок и добавок.

Одной из основных характеристик эффективности применения препаратов является урожайность. В лабораторных вегетационных испытаниях на пшенице оценили массу зерна с одного растения (рис. 5а) и накопление фосфора в зерне (рис. 5б).

Оказалось, совместное применение экспериментальных образцов биопрепарата в лабораторных экспериментах привело к аддитивному эффекту по признаку урожайности. Кроме того, комплексная предпосевная обработка биопрепаратами обеспечила накопление фосфора в зерне до уровня 80–86% от содержания фосфора в вариантах с применением двойного суперфосфата.

В лабораторных экспериментах наблюдали снижение степени развития болезни и содержания микотоксина дезоксиневаленола в зерне после обработки комплексным биопрепаратом по сравнению с другими вариантами обработки.

Таким образом, по результатам лабораторных испытаний совместное применение *T. asperellum* и *Pseudomonas sp. 181a* может быть признано перспективным средством для борьбы с фузариозом колоса пшеницы и улучшения фосфорного питания.

Вегетационные полевые испытания проводили на опытном поле отдела селекции и семеноводства ГНУ «Рязанский НИИ сельского хозяйства» на яровой пшенице [17].

В целом, при искусственном заражении колосьев совместная обработка биопрепаратами позволила снизить заболеваемость пшеницы фузариозом колоса, потери зерна от развития *F. graminearum* почти в 3 раза, улучшить показатели качества зерна (содержание белка).

Таким образом, по результатам лабораторных и полевых испытаний совместное применение штаммов №16 *T. asperellum* и *Pseudomonas sp. 181a* может быть признано перспективным биологическим средством для борьбы с фузариозом колоса пшеницы и для улучшения фосфорного питания, способствующим оздоровлению ризосферной зоны растений.

В целом проведенные исследования показали, что использование биологических средств, предусматривающих целевое применение почвенных микроорганизмов, может позволить не только поднять плодородие почв, повысить количество и качество продовольствия, но и сохранить среду обитания человека за счет отказа или снижения доз используемых химических удобрений и пестицидов.

*Исследование выполнили в рамках Отраслевой программы Роспотребнадзора «Научные исследования и разработки с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия и снижения инфекционной заболеваемости в Российской Федерации» (на 2011–2015 гг.).*

## Литература

1. Глик Б, Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002.
2. Kim BH, Gadd GM. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, 2008.
3. Rodríguez H, Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances. 1999;17:319-39.
4. Miller JD, Apsimon JW, Blackwell BA, Greenhalgh R, Taylor A. Deoxynivalenol: A 25 year perspective on a trichothecene of agricultural importance. Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium. St. Paul, Minnesota: APS Press, 2001; pp. 310-320.
5. Levitin M. Toxigenic fungi and mycotoxins in cereals grain and food in Russia. An overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Europe. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad. Publ., 2004; pp. 195-199.
6. Forsyth OM, Yoshizawa T, Morooka N, Tuite J. Emetic and refusal activity of deoxynivalenol to swine. Appl Environ Microbiol. 1977;34:547-52.
7. Miller JD, Richardson SN, McMullin DR, Falardeau J. Literature review on deoxynivalenol, zearalenone, T-2/H-T2 toxins, fumonisins and the fungi that produce them in Canada with a commentary on *Alternaria alternata* toxins in grains and the potential for *Aspergillus flavus* to become a problem in Ontario corn. Carleton University, Ottawa, 2013; 233 p.
8. Dunaytsev IA, Zhigletsova SK, Klykova MV, Kondrashenko TN, Aitov RS, Boyko AS, et al. Screening phosphate solubilizing microorganisms and quantitative

- evaluation of their efficacy. Proceedings of 3<sup>rd</sup> International Symposium on Phosphorus Dynamics in the Soil-Plant Continuum. Uberlandia (Brazil), 2006: pp. 240-241.
9. Dunaytsev IA, Zhigletsova SK, Aitov RS, Klykova MV, Kondrashenko TN, Baranov AM, et al. SRCAMB collection of phosphate solubilizing microorganisms as a long-term bioresource. Proceedings of the 12<sup>th</sup> International Conference on culture collections. 26 September–01 October 2010. Florianopolis, Brazil: 19-20.
  10. Дунайцев ИА. Выделение фосфатсольбилизирующих микроорганизмов и изучение возможности их использования в промышленности и сельском хозяйстве. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.02.03. Оболensk, 2010.
  11. Патент 2235771 Российская Федерация, МПК C12N1/20, A01N63/00. Штамм *Pseudomonas fluorescens* P469 для получения препарата против болезней растений, вызываемых фитопатогенными грибами и бактериями. Асланян Е.М., Галкина Н.Н., Добрица А.П., Коломбет Л.В., Корецкая Н.Г., Кочетков В.В.; заявитель и патентообладатель ФГУП «Государственный научный центр прикладной микробиологии». – №2002112565/13; заявл. 13.05.2002; опубл. 20.04.2004, Бюл. № 25. 8 с.
  12. Goldstein AH. Future trends in research on microbial phosphate solubilization: one hundred years of insolubility. Development in Plant and Soil Sciences. 2007; 102:91-6.
  13. Коломбет ЛВ, Жиглецова СК, Дербышев ВВ, Ежов ДВ, Косарева НИ, Быстрова ЕВ. Микофунгицид – препарат на основе *Trichoderma viride* для борьбы с болезнями растений. Прикладная биохимия и микробиология. 2001;37(1):110-4.
  14. Патент 2019966 Российская Федерация, МПК A01N63/00. Препарат для защиты растений от болезней. Галкина Н.Н., Тур А.И., Жиглецова С.К., Дорогойченко Н.И.; заявитель и патентообладатель Всесоюзный научно-исследовательский институт прикладной микробиологии – №5013323/13; заявл. 24.07.91; опубл. 30.09.94, Бюл. № 18. 7 с.
  15. Zhigletsova SK, Dunaytsev IA, Kolombet LV, Klykova MV, Kondrashenko TN, Starshov AA, et al. Development of microbiological phosphate fertilizer with fungicidal activity. Journal of International Scientific Publications: Ecology & Safety. 2012;6(2):100-8. Available at: <http://www.science-journals.eu>.
  16. Дунайцев ИА, Коломбет ЛВ, Жиглецова СК, Быстрова ЕВ, Бесаева СГ, Клыккова МВ, и др. Фосфатмобилизирующие микроорганизмы – антагонисты фитопатогенов. Микология и фитопатология. 2008;42(3):264-9.
  17. Старшов АА, Коломбет ЛВ, Дунайцев ИА, Жиглецова СК, Клыккова МВ, Кондрашенко ТН, и др. Использование фосфатрастворяющих и фунгицидных свойств микроорганизмов для улучшения фосфорного питания и защиты зерновых культур от фузариоза колоса. Современная микология в России. Т. 3. Материалы 3-го Съезда микологов России, 10-12 октября 2012 г. М.: Национальная академия микологии, 2012; 354-355.
  18. Жиглецова СК, Дунайцев ИА, Бесаева СГ. Возможности применения микроорганизмов для решения задач экологической и продовольственной безопасности. Агрохимия. 2010;6:83-96.
  19. Жиглецова СК, Старшов АА, Клыккова МВ, Кондрашенко ТН, Антошина ОА, Дунайцев ИА, и др. Совместное использование микроорганизмов с фосфатрастворяющими и фунгицидными свойствами для повышения урожайности и защиты зерновых культур от фузариозов. Агрохимия. 2015;7:49-57.
  20. Illmer P, Schinner F. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. Soil Biol Biochem. 1992;24:389-95.
  21. Hwangbo H, Park RD, Kim YW, Rim YS, Park KH, Kim TH. 2-Ketogluconic acid production and phosphate solubilization by *Enterobacter intermedius*. Current Microbiology. 2003;47:87-92.
  22. Патент 2451069 Российская Федерация. Фосфатрастворяющий штамм *Pseudomonas species* 181a с фунгицидными свойствами. Дунайцев И.А., Клыккова М.В., Кондрашенко Т.Н., Сомов А.Н., Старшов А.А., Аитов Р.С., Дятлов И.А.; опубл. 20.05.2012.
  23. Патент 2451068 Российская Федерация. Фосфатрастворяющий штамм *Acinetobacter species* с фунгицидными свойствами. Дунайцев И.А., Клыккова М.В., Кондрашенко Т.Н., Жиглецова С.К., Старшов А.А., Бойко А.С., Дятлов И.А. опубл. 20.05.2012.
  24. Altomare C, Norvell WA, Björkman T, Harman GE. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Appl Environ Microbiol. 1999;65:2926-33.
  25. Mahamuni SV, Wani PV, Patil AS. Isolation of phosphate solubilizing fungi from rhizosphere of sugarcane & sugar beet using TCP & RP solubilization. Asian J Biochem Pharm Res. 2012;2:237-44.
  26. Sunantapongsuk V, Nakapraves P, Piriyaipin S, Manoch L. Protease production and phosphate solubilization from potential biological control agents *Trichoderma viride* and *Azomonas agilis* from vetiver rhizosphere. Int. Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use, Bangkok (Thailand) 16–20 October 2006. Thailand, 2006, pp. 1-4.
  27. Kapri A, Tewari L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. Brazilian J Microbiol. 2010;41(3):253-61.
  28. Whitelaw MA. Growth Promotion of Plants Inoculated with Phosphate-Solubilizing Fungi. Advances in Agronomy. 1999;69:99-151.
  29. Vassilev N, Vassileva M, Nikolaeva J. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. Appl Microbiol Biotechnol. 2006;71:137-44.

## References

1. Glik B, Pasternak Dzh. Molekulyarnaya biotekhnologiya. Printsipy i primeneniye. Moscow: "Mir" Publ., 2002. (In Russian).
2. Kim BH, Gadd GM. Bacterial Physiology and Metabolism. Cambridge University Press, 2008.
3. Rodríguez H, Fraga R. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnology Advances. 1999;17:319-39.
4. Miller JD, Apsimon JW, Blackwell BA, Greenhalgh R, Taylor A. Deoxynivalenol: A 25 year perspective on a trichothecene of agricultural importance. Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium. St. Paul, Minnesota: APS Press, 2001; pp. 310-320.
5. Levitin M. Toxigenic fungi and mycotoxins in cereals grain and food in Russia. An overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Europe. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad. Publ., 2004; pp. 195-199.
6. Forsyth OM, Yoshizawa T, Morooka N, Tuite J. Emetic and refusal activity of deoxynivalenol to swine. Appl Environ Microbiol. 1977;34:547-52.
7. Miller JD, Richardson SN, McMullin DR, Falardeau J. Literature review on deoxynivalenol, zearalenone, T-2/H-T2 toxins, fumonisins and the fungi that produce them in Canada with a commentary on *Alternaria alternata* toxins in grains and the potential for *Aspergillus flavus* to become a problem in Ontario corn. Carleton University, Ottawa, 2013; 233 p.
8. Dunaytsev IA, Zhigletsova SK, Klykova MV, Kondrashenko TN, Aitov RS, Boyko AS, et al. Screening phosphate solubilizing microorganisms and quantitative evaluation of their efficacy. Proceedings of 3<sup>rd</sup> International Symposium on Phosphorus Dynamics in the Soil-Plant Continuum. Uberlandia (Brazil), 2006; pp. 240-241.
9. Dunaytsev IA, Zhigletsova SK, Aitov RS, Klykova MV, Kondrashenko TN, Baranov AM, et al. SRCAMB collection of phosphate solubilizing microorganisms as a long-term bioresource. Proceedings of the 12<sup>th</sup> International Conference on culture collections. 26 September–01 October 2010. Florianopolis, Brazil. pp. 19-20.
10. Dunaytsev IA. Vydeleniye fosfatsolyubiliziruyushchikh mikroorganizmov i izucheniye vozmozhnosti ikh ispol'zovaniya v promyshlennosti i sel'skom khozyaistve. Dissertation. Obolensk, 2010. (In Russian).
11. Patent 2235771 Russian Federation, МПК C12N1/20, A01N63/00. Shtamm *Pseudomonas fluorescens* P469 dlya polucheniya preparata protiv boleznei rastenii, vyzvaemykh fitopatogennymi gribami i bakteriyami. Aslanyan EM,

- Galkina NN, Dobritsa AP, Kolombet LV, Koretskaya NG, Kochetkov VV.; State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. – №2002112565/13; zayavl. 13.05.2002; opubl. 20.04.2004, Byul. №25. (In Russian).
12. Goldstein AH. Future trends in research on microbial phosphate solubilization: one hundred years of insolubility. *Development in Plant and Soil Sciences*. 2007;102:91-6.
  13. Kolombet LV, Zhigletsova SK, Derbyshev VV, Ezhov DV, Kosareva NI, Bystrova EV. Studies of mycofungicid, a preparation based on *Trichoderma viride*, for plant infection control. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2001;37(1):110-4. (In Russian).
  14. Patent 2019966 Russian Federation, MPK A01N63/00. Preparat dlya zashchity rastenii ot boleznei. Galkina NN, Tur AI, Zhigletsova SK, Dorogoichenko NI.; State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology – №5013323/13; zayavl. 24.07. 91; opubl. 30.09. 94, Byul. №18. (In Russian).
  15. Zhigletsova SK, Dunaitsev IA, Kolombet LV, Klykova MV, Kondrashenko TN, Starshov AA, et al. Development of microbiological phosphate fertilizer with fungicidal activity. *Journal of International Scientific Publications: Ecology & Safety*. 2012;6(2):100-8. Available at: <http://www.science-journals.eu>.
  16. Dunaitsev IA, Kolombet LV, Zhigletsova SK, Bysirova EV, Besaeva SC, Klykova MV, et al. Phosphate releasing microorganisms with antagonistic activity against phytopathogenic microorganisms. *Mycology and Phytopathology*. 2008;42(3): 264-9. (In Russian).
  17. Starshov AA, Kolombet LV, Dunaitsev IA, Zhigletsova SK, Klykova MV, Kondrashenko TN, et al. Ispol'zovanie fosfatrastvoryayushchikh i fungitsidnykh svoystv mikroorganizmov dlya uluchsheniya fosfornogo pitaniya i zashchity zernovykh kul'tur ot fuzarioza kolosa. *Sovremennaya mikologiya v Rossii*. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> Congress of mycologists, 10–12 Oct 2012. Moscow: Natsional'naya akademiya mikologii, 2012; pp. 354-355. (In Russian).
  18. Zhigletsova SK, Dunaitsev IA, Besaeva SG. Possibility of application of microorganisms for solving problems of ecological and food safety. *Agricultural Chemistry*. 2010;6:83-96. (In Russian).
  19. Zhigletsova SK, Starshov AA, Klykova MV, Kondrashenko TN, Antoshina OA, Dunaitsev IA, et al. The Combined application of microorganisms with phosphate solubilizing and fungicidal properties to increase yields and protect crops from fusariosis. *Agricultural Chemistry*. 2015;7:49-57. (In Russian).
  20. Illmer P, Schinner F. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. *Soil Biol Biochem*. 1992;24:389-95.
  21. Hwangbo H, Park RD, Kim YW, Rim YS, Park KH, Kim TH. 2-Ketogluconic acid production and phosphate solubilization by *Enterobacter intermedius*. *Current Microbiology*. 2003;47:87-92.
  22. Patent 2451069 Russian Federation. Fosfatrastvoryayushchii shtamm *Pseudomonas* species 181a s fungitsidnymi svoystvami. Dunaitsev IA, Klykova MV, Kondrashenko TN, Somov AN, Starshov AA, Aitov RS, Dyatlov IA; opubl. 20.05.2012. (In Russian).
  23. Patent 2451068 Russian Federation. Fosfatrastvoryayushchii shtamm *Acinetobacter* species s fungitsidnymi svoystvami. Dunaitsev IA, Klykova MV, Kondrashenko TN, Zhigletsova SK, Starshov AA, Boiko AS, Dyatlov IA. opubl. 20.05.2012. (In Russian).
  24. Altomare C, Norvell WA, Björkman T, Harman GE. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Appl Environ Microbiol*. 1999;65:2926-33.
  25. Mahamuni SV, Wani PV, Patil AS. Isolation of phosphate solubilizing fungi from rhizosphere of sugarcane & sugar beet using TCP & RP solubilization. *Asian J Biochem Pharm Res*. 2012;2:237-44.
  26. Sunantapongsuk V, Nakapraves P, Piriyaipin S, Manoch L. Protease production and phosphate solubilization from potential biological control agents *Trichoderma viride* and *Azomonas agilis* from vetiver rhizosphere. *Int. Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use, Bangkok (Thailand) 16–20 October 2006*. Thailand, 2006, pp. 1-4.
  27. Kapri A, Tewari L. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. *Brazilian J Microbiol*. 2010;41(3):253-61.
  28. Whitelaw MA. Growth Promotion of Plants Inoculated with Phosphate-Solubilizing Fungi. *Advances in Agronomy*. 1999;69:99-151.
  29. Vassilev N, Vassileva M, Nikolaeva J. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2006;71:137-44.

---

**Информация о соавторах:**

Дунайцев Игорь Анатольевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биологических технологий ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора  
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболensk, ФБУН ГНЦ ПМБ  
 Телефон: (4967) 36-0003

Жиглецова Светлана Константиновна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела биологических технологий ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора  
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболensk, ФБУН ГНЦ ПМБ  
 Телефон: (4967) 36-0003

---

**Information about co-authors:**

Igor A. Dunaitsev, PhD, leading researcher, Department of Biological Technology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор  
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
 Phone: (4967) 36-0003

Svetlana K. Zhigletsova, PhD, senior researcher, Department of Biological Technology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор  
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation  
 Phone: (4967) 36-0003