

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-103

**РОЛЬ ГЕНА СИНТЕТАЗЫ БАЦИЛЛИБАКТИНА
В PGPR-СВОЙСТВАХ ШТАММА *BACILLUS SUBTILIS****

**THE ROLE OF THE BACILLIBACTIN SYNTHETASE GENE
IN THE PGPR PROPERTIES OF THE *BACILLUS SUBTILIS* STRAIN**

А. А. Мамчур, Ю. А. Васильева, Ю. В. Данилова, М. Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) федеральный университет

A. A. Mamchur, I. A. Vasilyeva, I. V. Danilova, M. R. Sharipova

Kazan Federal University

✉ alexandramamchur5250@gmail.com

Аннотация

Исследован ризосферный штамм *B. subtilis* AM7 и производный от него с помощью CRISPR/CAS9-технологии мутантный штамм с делецией гена синтетазы бациллибактина ($\Delta dhbF$). По результатам исследования способности к колонизации корней и ингибированию роста фитопатогенных микроорганизмов не различались между ризосферным и мутантным штаммами *B. subtilis*. Однако мутантный штамм характеризовался снижением уровня формирования биопленок.

Abstract

The rhizosphere strain *B. subtilis* AM7 and its CRISPR/CAS9-derived mutant strain with a deletion of the bacillibactin synthetase gene ($\Delta dhbF$) were studied. According to the results of the study, the ability to colonize roots and inhibit the growth of phytopathogenic microorganisms did not differ between the rhizosphere and mutant strains of *B. subtilis*. However, the mutant strain was characterized by a decrease in the level of biofilm formation.

Благодаря широкому спектру метаболических путей представителей рода *Bacillus* относят к функциональной группе PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) и используют в агробиотехнологии для получения эффективных продуцентов. PGPR-штаммы оказывают положительное влияние на повышение устойчивости сельскохозяйственных культур к сложным условиям окружающей среды, благодаря эффективной колонизации, образованию протекторных биопленок на корнях растений и биосинтезу вторичных метаболитов они способствуют прямому подавлению роста фитопатогенных микроорганизмов, а также активации фитоиммунитета. Одним из важнейших метаболитов, синтезируемых *B. subtilis*, является сидерофор катехолового типа — бациллибактин, участвующий во многих моделирующих процессах, происходящих в ризосфере. В частности, бациллибактин обладает высокой хелатирующей способностью, обеспечивает конкурентное преимущество бацилл над микромицетами за биодоступные формы железа, кроме того, участвует в биоремедиации почв. Поэтому цель исследования заключалась в выяснении роли гена биосинтеза бациллибактина в проявлении PGPR-свойств ризосферного изолята *B. subtilis* AM7. В ходе работы была проведена сравнительная характеристика колонизирующей способности, биопленкообразования и антагонистических свойств ризосферного изолята *B. subtilis* AM7 и мутантного штамма *B. subtilis* AM7 $\Delta dhbF$.

Для определения колонизирующей способности были получены флуоресцентно-меченные штаммы *B. subtilis* путем химической трансформации вектора pJET::BC16::sfgfp. Образцы молодых растений картофеля сорта Жуковский ранний инокулировали трансформированными штаммами и культивировали совместно в течение 3 дней. Корни поместили на предметные стекла и рассматривали в синем фильтре конфокального флуоресцентного микроскопа при длине волны 490 нм, визуальную оценку расположения флуоресцентных бактериальных GFP-клеток относительно корневых структур. Клетки ризосферного изолята *B. subtilis* AM7 свободно адгезируются и проникают через ткани корня. В случае мутантного штамма *B. subtilis* AM7 $\Delta dhbF$ сохраняется способность клеток к колонизации и распространению по корневым волоскам (рис. 1).

Изучение динамики биопленкообразования проводилось путем измерения оптической плотности связавшегося красителя с матриксом биопленок, образованных нативным и мутантным штаммами *B. subtilis*, на протяжении 72 ч. По результатам исследования наибольшая биомасса в составе биопленки была достигнута на 48-й час инкубации в случае *B. subtilis* AM7 и на 36-й час у мутанта по гену *dhbF*. При этом плотность биопленки *B. subtilis*

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-16-00143).

© А. А. Мамчур, Ю. А. Васильева, Ю. В. Данилова, М. Р. Шарипова, 2025

АМ7 превышала плотность редактированного штамма на 12,5 %. Было установлено, что мутантный штамм характеризуется снижением уровня формирования биопленок (рис. 2).

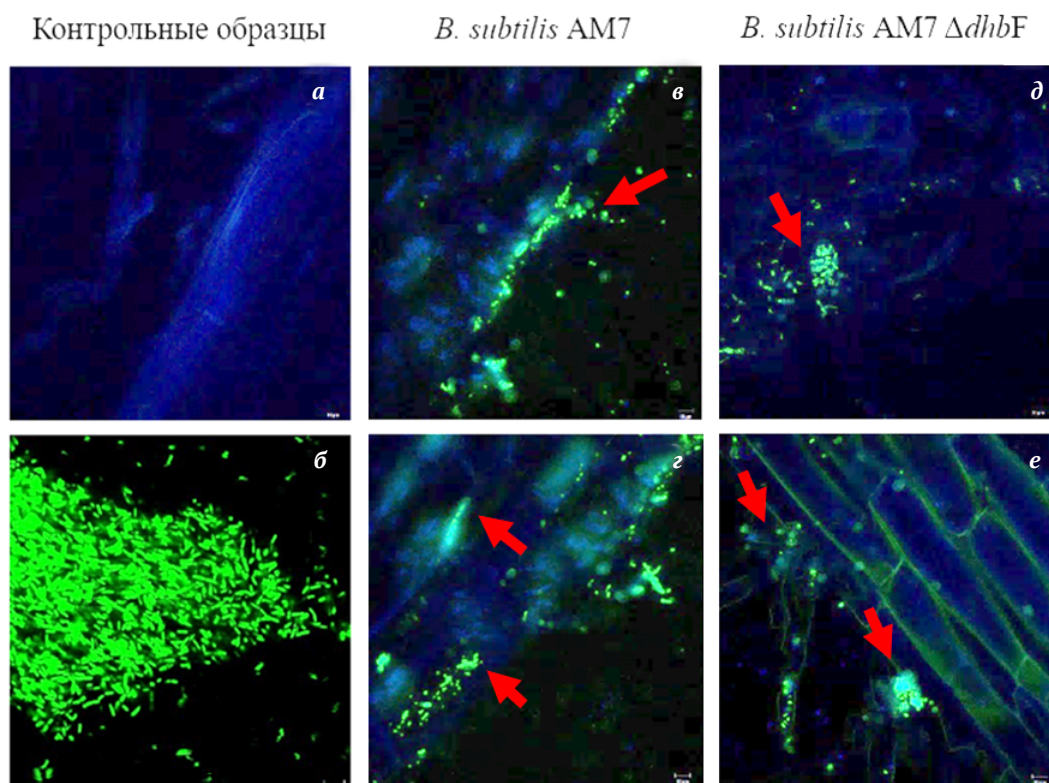


Рис. 1. Конфокальная микроскопия образцов корней картофеля с адгезированными бактериальными клетками: а — корень; б — *B. subtilis* AM7 с GFP; в, г — колонизация штаммом *B. subtilis* AM7; д, е — колонизация штаммом *B. subtilis* AM7 $\Delta dhbF$

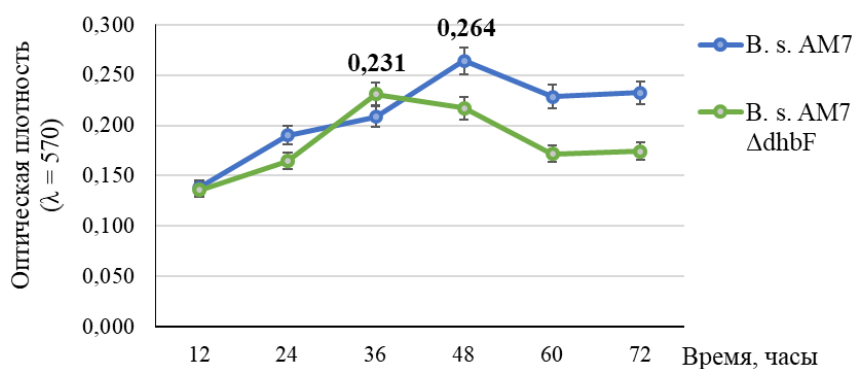


Рис. 2. Динамика формирования биопленок штаммами *B. subtilis*

Сравнение антагонистической способности исследуемых бацилл проводилось против фитопатогенных штаммов *Xanthomonas compestris* П1 и *Pectobacterium atrosepticum* Г784 на среде КГА. Во всех вариантах эксперимента способность ингибирования роста значительно не различалась между ризосферным и мутантным штаммами *B. subtilis*. Штамм *B. subtilis* AM7 эффективно сдерживал *X. compestris* П1 и *P. atrosepticum* Г784, образуя радиусы подавления роста, равные $1,85 \pm 0,2$ и $1,675 \pm 0,1$ см соответственно. В свою очередь, *B. subtilis* AM7 Δdhb подавлял рост фитопатогенов на $1,91 \pm 0,01$ и $1,46 \pm 0,05$ см. Таким образом, делеция гена биосинтеза бацил-либактина значительно не повлияла на антагонистическую активность ризосферного изолята.