

80  
лет

БЕЛОРУССКОМУ  
ГОСУДАРСТВЕННОМУ  
УНИВЕРСИТЕТУ



УДК 632.937:631.63.544

В.В. ЛЫСАК, Н.П. МАКСИМОВА

### ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ



**Лысак Владимир Васильевич** – кандидат биологических наук, доцент, декан биологического факультета. Область научных интересов – исследования в области микробиологии и биотехнологии, связанные с изучением антибиотикопродуцирующих бактерий и разработкой основ их практического использования. Автор более 80 научных статей и изобретений.



**Максимова Наталья Павловна** – кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой генетики и биотехнологии биологического факультета. Область научных интересов – исследования в области молекулярной генетики бактерий и биотехнологии. Автор более 130 научных статей и 12 изобретений, в том числе биопрепарата для защиты растений Бактоген.

The article of the scientific research of Biology Department in area of biotechnology is represented in this article. Research are connected with construction of ecological innocuous microbial biopreparation for the protection of plants from bacterial and fungal diseases.

В настоящее время для многих стран актуальна проблема снижения уровня негативного воздействия на окружающую среду ряда техногенных и антропогенных факторов. Улучшению экологической обстановки может способствовать перевод отдельных отраслей сельскохозяйственного производства на способы хозяйствования, предусматривающие частичную или полную замену химических средств защиты растений биологическими.

Действительно, в мировой практике сегодня сложилась стойкая тенденция к вытеснению химических средств защиты растений препаратами нового поколения – биологическими. При этом основу таких препаратов могут составлять как живые культуры микроорганизмов-интродуцентов, так и отдельные продукты их метаболизма (например, антибиотики, пигменты, ферменты, полисахариды и др.).

Биопрепараты на основе микроорганизмов характеризуются рядом преимуществ – биологических, экологических и биотехнологических. К числу биологических преимуществ можно отнести их безвредность для человека, животных, отсутствие фитотоксичности, мутагенной и онкогенной активности, а также широкий спектр действия в отношении различных фитопатогенов. У биологических препаратов отсутствует специфичность в отношении определенных видов или сортов сельскохозяйственных культур, они спо-



собны колонизировать ризосферу или филлосферу растений, обладают пролонгированным действием, образуя естественный щит для проникновения фитопатогенной микрофлоры. Входящие в состав препаратов микроорганизмы, помимо антимикробных соединений, могут синтезировать ростостимуляторы растений, а также переводить питательные вещества (например, фосфаты) в более усвояемую для растений форму.

К экологическим преимуществам микробных препаратов можно отнести их безвредность для окружающей среды и отсутствие угрозы загрязнения агробиоценозов, к биотехнологическим преимуществам – возможность повышения активности биопрепаратов за счет генетических, генно-инженерных усовершенствований входящих в их состав микроорганизмов, простую технологию производства и, как результат этого, низкую стоимость.

В основе антимикробной активности биопрепаратов на основе микроорганизмов лежит способность к синтезу биологически активных соединений: антибиотиков и антибиотикоподобных соединений, пигментов, некоторых ферментов (например, хитиназы), сидерофоров – соединений, способных связывать ионы железа и других металлов и переводить их в недоступную для вредных микроорганизмов форму. Как уже указывалось, микроорганизмы, помимо антимикробных агентов, могут синтезировать также ростостимуляторы растений: ауксины, гиббереллины, индол-3-уксусную кислоту (ИУК), этилен, аммиак, витамины, гидролитические ферменты, разлагающие белки и полисахариды на составляющие компоненты и др.

Наибольший вред сельскохозяйственному производству наносят фитопатогены бактериальной, грибной этиологии, а также нематода. Болезни, вызываемые этими возбудителями, являются сегодня наиболее распространенными среди сельскохозяйственных растений, поражают овощные, зерновые и бобовые культуры как в полевых условиях, так и в защищенном грунте. Распространение этих болезней приводит, как правило, к значительным потерям урожая, достигающим в отдельных случаях 50–60 %, а в защищенном грунте – 100 %.

Таблица 1  
Заболевания сельскохозяйственных культур, вызываемые фитопатогенными грибами и бактериями

Заболевание	Возбудитель
Фитофтороз	<i>Phytophthora</i>
Фомоз	<i>Phoma</i>
Аскохитоз	<i>Ascochyta</i>
Фузариоз	<i>Fusarium</i>
Мучнистая роса	<i>Sphaerotheca</i>
Антракноз	<i>Colletotrichum</i>
Парша	<i>Macrosporium</i>
Белая гниль	<i>Sclerotinia</i>
Черная парша	<i>Rhizoctonia</i>
Кладоспориоз	<i>Cladosporium</i>
Альтернариоз	<i>Alternaria</i>
Пероноспороз	<i>Pseudosporium</i>
Черная ножка, мягкие гнили	<i>Erwinia</i>
Мягкие гнили, ожоги, пятнистости	<i>Pseudomonas</i> , <i>Xanthomonas</i>
Бактериальный рак томатов	<i>Corynebacterium</i>

вызываемых *Fusarium*, *Pythium* и нематоды, *Intercept* (на основе *P. Cepacia*) – для защиты кукурузы и хлопка от *Pythium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sp.* и др.

В серии предварительных экспериментов было установлено, что бактерии *P. putida M* обладают выраженной антимикробной активностью как по

Наиболее распространенные заболевания грибной и бактериальной этиологии представлены в табл. 1.

Таким образом, создание новых эффективных средств защиты растений для борьбы с заболеваниями сельскохозяйственных культур является важной и актуальной задачей. Сегодня в мире большой интерес вызывают биопрепараты на основе ризосферных бактерий *Pseudomonas* флюоресцирующей группы. К наиболее известным среди них можно отнести следующие: препарат BioSave (на основе *P. syringae* ESC 6-10), предназначенный для защиты цитрусовых и плодовых деревьев от грибных инфекций, Blu-Circle (на основе *P. cepacia type Wisconsin*) – для защиты растений от грибных инфекций,

отношению к представителям этого же рода *Pseudomonas*, так и к некоторым другим филогенетически неродственным микроорганизмам (табл. 2).

Антагонистическая активность бактерий *P. putida M* проявлялась также в отношении близкородственных видов *Pseudomonas* (табл. 3), таких как *P. putida*, *P. fluorescens* и *P. aeruginosa*, относящихся к флюоресцирующей первой группе по классификации Паллерони и др. [1], что свидетельствовало о том, что синтезируемый клетками изучаемого штамма агент высокоактивен и отличается от ранее известных антимикробных соединений, продуцируемых представителями этой группы.

Таблица 2  
Спектр антимикробной активности бактерий  
*P. putida M*

Группа	Штамм	Число штаммов	
		проверенных	чувствительных
Бактерии	<i>Pseudomonas</i>	485	461
	<i>Erwinia</i>	248	235
	<i>Xanthomonas</i>	14	14
	<i>Agrobacterium</i>	9	9
	<i>Bacillus</i>	5	5
	<i>Staphylococcus</i>	1	1
	<i>Citrobacter</i>	1	1
	<i>Escherichia</i>	1	1
	<i>Klebsiella</i>	1	1
	<i>Sarcina</i>	1	1
	<i>Corynebacterium</i>	1	1
Грибы	<i>Fusarium</i>	3	3
	<i>Alternaria</i>	1	1
	<i>Cladosporium</i>	1	1
Всего		772	735

Феномен антимикробной активности флюоресцирующих *Pseudomonas* уже неоднократно отмечался рядом исследователей [2–9 и др.], причем в одних случаях роль антимикробного фактора отводилась исключительно сидерофорам [10, 11 и др.], а в других, наряду с сидерофорами, и антибиотикам [12–14 и др.]. Среди синтезируемых флюоресцирующими *Pseudomonas* антибиотических веществ наиболее изученными являются упоминавшиеся ранее антибиотики ароматического ряда –

обафлуорин [15, 16], феназиновые соединения [17, 18], метил- и алкилпроизводные пиррола [19], флороглucin [20, 21], производные резорцина [22], а также ряд алифатических антибиотиков – азомицин, сперабиллины и другие соединения подобного действия – псевдомоносовая кислота [23, 24], путидолюмазин [25], цианиды [26] и др.

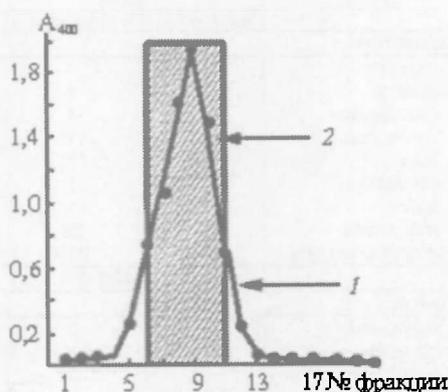
Таблица 3  
Антагонистическая активность бактерий *P. putida M*  
по отношению к близкородственным видам

Вид	Штамм	Число штаммов	
		проверенных	чувствительных
<i>P. putida</i>	B-34, B-37, B-38, B-39, B-40, AC 13, AC 29, BS, pPG1	9	9
<i>P. fluorescens</i>	B-15, B-17, B-18, B-23, B-24, B-28, B-29, B-35, ВКМВ-553, ВКМВ-561, ВКМВ-896	11	11
<i>P. aeruginosa</i>	B-1, B-2, B-4, B-5, B-6, B-7, B-9, B-10, B-11, B-12, B-19, B-26, PAO1, PAO3O1, PAT319, PAT2125	10	10

Примечание. Индексом «В» обозначены штаммы, полученные из коллекции культур микроорганизмов ИБМФ РАН; г. Пушкино; индексом «ВКМВ» – из Всесоюзной коллекции микроорганизмов и вирусов, г. Москва; штаммы *P. putida* AC 13, AC 29, BS, pPG1, *P. aeruginosa* PAO1, PAO3O1, PAT319, PAT2125 получены из ВНИИ «Генетика», г. Москва.

Для выяснения природы антимикробного агента, синтезируемого метилотрофными бактериями *P. putida M*, была проведена гель-фильтрация освобожденной от клеток культуральной жидкости этого штамма на биогеле Акрилекс Р2 (обеспечивает разделение молекул от 100 до 1800 Да) с последующим анализом каждой фракции на наличие флюоресцирующего пигмента и антибактериальной активности. В качестве индикаторной культуры использовали один из наиболее чувствительных бактериальных штаммов – *E. chrysanthemi* G261. В результате было уста-

новлено, что только содержащие пигмент фракции (для которых  $A_{400}$  была больше 0,7–0,8) обнаруживали антибактериальную активность (рисунок). Этот факт указывал на то, что ингибирующим рост индикаторных бактерий агентом является флуоресцирующий пигмент и других антибиотических веществ клетки изучаемого штамма не синтезируют. В последующих экспериментах с очищенным препаратом пигмента было показано, что антибактериальная активность начинает проявляться при его концентрации 5 мкг/мл. Дополнительным доказательством антибактериальной активности флуоресцирующего пигмента, синтезируемого клетками изучаемого штамма, явились результаты экспериментов, свидетельствующие о том, что в присутствии  $Fe^{3+}$ -ионов в среде (10 мкг/мл и выше), когда синтез пигмента подавляется, антибактериальная активность также отсутствует. Кроме того, у полученных *Flu<sup>-</sup>*, *Sid<sup>-</sup>*-мутантов, дефектных по синтезу пигмента, антибактериальная активность также не регистрировалась.



Профиль элюции флуоресцирующего пигмента бактерий *P. putida M*  
1 – элюция флуоресцирующего пигмента, 2 – фракции, в которых обнаруживалась антибактериальная активность

Все сказанное позволяет сделать вывод, что антимикробная активность бактерий *P. putida M* обусловлена синтезом флуоресцирующего пигмента (пиовердина  $P_m$ ), образование которого зависит от присутствия ионов трехвалентного железа в ростовой среде [27–29].

Механизм антимикробного действия флуоресцирующих пигментов достаточно подробно описан Клоппер и др. [30, 31], суть его заключается в следующем: молекулы пигмента обладают способностью связывать находящиеся в среде  $Fe^{3+}$ -ионы и переводить их в недоступную для других организмов форму, а возникающий при этом острый дефицит железа влечет за собой задержку роста и

развития других микроорганизмов. Можно полагать, что в основе антимикробной активности пиовердина  $P_m$  бактерий *P. putida M* также лежит подобный механизм. Причем выраженное антимикробное действие данных бактерий, проявляемое в отношении близкородственных видов *P. putida*, *P. fluorescens* и *P. aeruginosa*, способных синтезировать аналогичные флуоресцирующие пигменты, говорит о том, что:

а) пиовердин  $P_m$  обладает более высоким сродством к  $Fe^{3+}$ -ионам, нежели пигменты других известных штаммов *Pseudomonas*, и связывает их более эффективно;

б) комплексы пиовердина  $P_m$  и  $Fe^{3+}$ -ионов являются высокоспецифическими и не могут использоваться в качестве источников ионов железа клетками других штаммов *Pseudomonas* (этот феномен связан, по-видимому, с уникальным аминокислотным составом пиовердина  $P_m$ ).

Высокая специфичность пиовердина  $P_m$  может быть отнесена к разряду полезных в биотехнологическом отношении свойств бактерий *P. putida M*, в частности, открывает перспективы создания на их основе биопрепарата фитозащитного действия.

При разработке этой проблемы принимались во внимание известные факты, что бактерии *Pseudomonas*, синтезирующие желто-зеленые флуоресцирующие пигменты, способны подавлять рост фитопатогенных грибов *P. Oxy-sporum*, *G. graminis*, *G. candidum*, *R. solani*, *S. scierotium*, *P. omnivorum*, *P. me-gasperma*, *P. aphanidermatum*, *B. cinerea*, *P. beta*, *A. niger*, *P. claviforme* и бак-

терий *E. carotovora*, а также *E. coli*. Исходя из полученных в предварительной серии экспериментов результатов по антимикробной активности бактерий *P. putida M* в отношении ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий, нами было сделано предположение о высокой антимикробной активности изучаемого штамма *P. putida M*. С этой целью антагонистическая активность *P. putida M* тестировалась в отношении таких распространенных бактериальных патогенов, как *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Agrobacterium*, *Corynebacterium* и *Pseudomonas*. В экспериментах *in vitro* антибактериальная активность пиовердина  $P_m$  проявлялась в отношении 686 фитопатогенных культур из 724 проверенных (94, 73 %) (табл. 4).

Таблица 4

Спектр антибактериальной активности пиовердина  $P_m$   
по отношению к фитопатогенным бактериям рода *Pseudomonas*

Штаммы	Число штаммов		Штаммы	Число штаммов	
	проверенных	чувствительных		проверенных	чувствительных
<b>Бактерии <i>Pseudomonas</i></b>					
<i>P. syringae</i>	23	19	<i>P. cerasi</i>	1	—
<i>P. xanthochlora</i>	29	29	<i>P. aptata</i>	1	1
<i>P. fluorescens</i>	63	58	<i>P. areofaciens</i>	1	1
<i>P. vignae</i>	1	1	<i>P. faveolicola</i>	1	1
<i>P. lachrymans</i>	6	5	<i>P. folcii</i>	1	1
<i>P. maltophila</i>	39	35	<i>P. atrofaciens</i>	1	1
<i>P. pisi</i>	1	1	<i>P. lupini</i>	1	1
<i>P. cichorii</i>	6	15	<i>P. marginalis</i>	31	28
			<i>Pseudomonas spp.</i>	245	239
<b>Всего</b>				451	436 (96,7 %)
<b>Бактерии <i>Erwinia</i></b>					
<i>E. carotovora</i>	47	47	<i>E. rhapontici</i>	2	1
<i>E. aroideae</i>	67	62	<i>E. quercina</i>	1	—
<i>E. atroseptica</i>	16	15	<i>E. herbicola</i>	8	8
<i>E. chrysanthemi</i>	13	13	<i>Erwinia spp.</i>	91	85
<i>E. nimipressuralis</i>	2	2			
<b>Всего</b>				239	226 (94,6 %)
<b>Бактерии рода <i>Xanthomonas</i></b>					
<i>X. beticola</i>	1	1	<i>X. pruni</i>	1	1
<i>X. nibrilianes</i>	1	1	<i>X. barbareae</i>	1	1
<i>X. vesicatoria</i>	2	2	<i>X. campestris</i>	2	2
<i>X. atseuoxydans</i>	1	1	<i>X. desmodia</i>	1	1
<i>X. phaseoli</i>	1	1	<i>X. translucens</i>	1	1
<i>X. desmodiigangetici</i>	1	1	<i>X. carotae</i>	1	1
<b>Всего</b>				14	14 (100 %)

При этом пигмент штамма *P. putida M* подавлял рост 16 видов фитопатогенных *Pseudomonas*, *P. syringae*, *P. xanthochlora*, *P. vignae*, *P. lachrymans*, *P. maltophila*, *P. aptata*, *P. cerasi*, *P. cichorii*, *P. aureofaciens*, *P. pisi*, *P. Faveolicola*, *P. holcii*, *P. atrofaciens*, *P. lupini*, *P. marginalis*, *P. fluorescens*, а также других, неидентифицированных фитопатогенных штаммов *Pseudomonas spp.*

Не менее чувствительными к действию пиовердина  $P_m$  оказались и фитопатогенные бактерии *Erwinia* (8 видов): *E. carotovora*, *E. aroideae*, *E. atroseptica*, *E. chrysanthemi*, *E. nimipressuralis*, *E. rhapontici*, *E. uercina*, *E. herbicola*, а также штаммы неидентифицированных до вида фитопатогенных *Erwinia spp.* (см. табл. 4), *Xanthomonas* (12 видов): *X. beticola*, *X. Rubrilianes*, *X. vesicatoria*, *X. atseuoxydans*, *X. phaseoli*, *X. desmodiigangeticii*, *X. pruni*, *X. barbareae*, *X. campestris*, *X. desmodia*, *X. translucens*, *X. carotae* (см. табл. 4), *Agrobacterium* (2 вида): *A. tumefaciens* и *A. radiobacter*, одного вида *C. michiganensis*, являющегося высоковирулентным по отношению к культуре томатов.

Защитное действие бактерий *P. putida M* проявилось и в экспериментах с растительными объектами, искусственно инфицированными соответствующими фитопатогенами. В качестве растительных объектов использовали

овощные культуры, инфицированные фитопатогенами: картофель – бактериями *E. aroideae* и *E. carotovora*, свеклу – *X. beticola*, огурцы – *P. Lachrymans*, а томаты – *C. michiganensis*. Инфицирование растений осуществлялось путем обработки семенного материала культурами фитопатогенов. Обработку семян клетками штамма-протектора осуществляли перед их посадкой путем замачивания (или опрыскивания) суспензией бактерий *P. putida M*. Контролем служили инфицированные бактерии без обработки клетками штамма-протектора. Результаты учитывали через 1–2 месяца выращивания растений в светотеплице при 28 °С. Количество растений в каждом опыте соответствовало 50. Было зарегистрировано значительное снижение заболеваемости растений (их гибели, недоразвитие и пр.): томатов – на 70 %, огурцов – на 35, свеклы – на 25 %. Инфицирование картофеля осуществляли на ломтиках путем поочередного нанесения на их поверхность клеток фитопатогена и протектора. Было установлено, что бактерии *P. putida M* полностью предохраняют растительные ткани от заражения бактериями *Erwinia*.

Помимо антимикробной активности бактерии *P. putida M* обладают и другими полезными свойствами, выгодно отличающими их от других известных штаммов *Pseudomonas*. Они оказались непатогенными по отношению к растениям, о чем судили по результатам экспресс-реакции "сверхчувствительности" на листьях табака *Nicotina tabacum* (сорт Трапезунд), нефитотоксичными (по результатам реакции с культурой хлореллы *Chlorella vulgaris*), не снижали всхожести семян различных видов растений. Бактерии *P. putida M* хорошо размножаются в почве и на поверхности листьев растений.

Однако наиболее интересным биотехнологическим свойством штамма *P. putida M* является все же его мощный фитостимулирующий эффект [32, 33]. Проверяли стимулирующее действие штамма на различных сельскохозяйственных растениях после замачивания семян в суспензии бактерий *P. putida M* в течение определенного времени. Эксперименты проводили в различных вариантах: во влажной камере в светотеплице (лабораторные условия), а также в условиях закрытого грунта после высадки обработанных бактериями *P. putida M* семян непосредственно в почву, которые выращивали в течение 10–20 дней. Стимулирующее действие бактерий *P. putida M* зарегистрировано в отношении 9 технических культур: люпина, сои, фасоли, вики, льна, тыквы, клевера, рапса. При этом увеличение основных показателей роста достигало для корневой системы 1,2–3,5 раза и 1,1–3,6 раза для проростков в зависимости от вида растения (табл. 5).

Подобного рода эффект наблюдался в лабораторных условиях также для зерновых и

Таблица 5

Стимуляция роста сельскохозяйственных культур бактериями *P. putida M*

Культура, сорт	Стимуляция роста корневой системы, раз	Стимуляция роста проростков, раз
Технические и зерновые		
Люпин желтый Кастрычник	1,7	1,4
Люпин узколистный Немчиновский	1,7	1,1
Соя Кировоградская 4	3,5	3,6
Фасоль Мотольская белая	1,6	1,7
Вика яровая Белоцерковская 222	1,7	1,8
Чумиза зеленая	1,2	2,1
Тыква Мозолевская 49	1,7	1,2
Клевер Слуцкий ранний местный	1,6	1,2
Рапс яровой Кубанский	1,8	2,3
Кукуруза Гибрид Киевский 8	1,8	1,5
Овес Надежный	4,0	2,3
Пшеница яровая Белорусская	1,9	1,3
Овощные		
Томаты Русич	1,8	1,9
Редис Красный великан	2,1	1,8
Редис Рубин	6,3	3,1
Огурцы Парад	2,5	1,2
Огурцы Вязниковские	3,0	1,2
Салат Каменная головка	4,0	1,8
Свекла Бордо	1,9	1,8
Картофель Темп	–	2,6

Примечание. Здесь и в табл. 6 приведены средние значения 200 измерений относительно контроля.

овощных культур. Было протестировано три вида зерновых культур: кукуруза, овес, пшеница. Прибавка роста корневой системы в этом случае достигала 1,8–4,0 раза, а проростков – 1,3–2,3 раза в зависимости от вида растений (см. табл. 5). Для восьми овощных культур: томатов, редиса, огурцов, салата, свеклы и картофеля показатели были следующими: прибавка роста корневой системы составляла 1,8–3,3 раза, а проростков 1,2–3,1 раза в зависимости от вида растения (см. табл. 5).

Таблица 6

Стимуляция роста сельскохозяйственных культур бактериями *P. putida M* в условиях закрытого грунта

Культура, сорт	Стимуляция роста корневой системы, раз	Стимуляция роста проростков, раз
Технические и зерновые		
Люпин желтый Кастрьчник	1,5	1,4
Ячмень яровой Надя	3,1	1,3
Пшеница яровая Балорусская 80	3,4	1,3
Просо Подольское 24/237	4,1	2,2
Рожь Восход	2,4	2,2
Овес Надежный	1,3	6,1
Гречиха Искра	1,2	1,2
Овощные		
Томаты Русич	4,3	1,9
Редис Рубин	2,5	4,3
Огурцы Парад	2,4	1,8
Огурцы Вязниковские	2,8	1,5

корневой системы составляла 1,8–3,3 раза, а проростков 1,2–3,1 раза в зависимости от вида растения (см. табл. 5).

В условиях закрытого грунта в общей сложности тестировали 12 культур (табл. 6). Рост корневой системы технических и зерновых культур стимулировался в 1,2–4,1 раза, а проростков – в 1,2–6,1 раза. Наибольший стимулирующий эффект в условиях закрытого грунта наблюдался для овощ-

ных культур – прирост корневой системы составлял 2,4–4,3 раза, а проростков – 1,8–4,3 раза в зависимости от вида растения.

Таким образом, по приведенным результатам исследований можно заключить, что бактерии *P. putida M* стимулируют рост технических, зерновых и овощных культур в лабораторных условиях и в закрытом грунте, обеспечивая высокие темпы их роста. Преимущества штамма *P. putida M* по сравнению с известными штаммами состоит в том, что его клетки способны стимулировать рост широкого круга сельскохозяйственных культур, причем стимулирующий эффект в отдельных случаях достигает 6 раз (у прототипов не более 2 раз). Штамм не фитотоксичен, не патогенен по отношению к растениям, не снижает их всхожести, хорошо сохраняется в почве и ризосфере растений и может размножаться в этих условиях. Таким образом, штамм *P.*

Таблица 7

Эффективность использования биопрепарата Бактофил для защиты растений томатов от болезней

Тип заболевания	Эффективность защиты, %
Томаты	
Бактериозы	1* – 44,1
	2* – 53,6
	3* – 50,1
Серая гниль	62,0
Кладоспориоз	43,5
Мучнистая роса	58,2
Огурцы	
Корневые гнили	76,6
Стеблевой аскохитоз	72,0
Мучнистая роса	47,5
Пероноспороз	76,4
Нематода	68,9

Примечание. Цифрами со звездочкой обозначены этапы оценки биологической эффективности препаратов на стадии сеянцев (1), рассады (2) и в конце вегетации (3). Остальные результаты учитывали в конце периода вегетации.

*putida M* является универсальным биостимулятором растений и может широко использоваться для усиления роста различных сельскохозяйственных культур. Стимулирующий эффект достигается путем замачивания семенного материала в суспензии бактерий в концентрации  $1,5 \cdot 10^6$ – $1,5 \cdot 10^7$  клеток на 1 г семян.

По результатам изучения полезных свойств штамма *P. putida M* в качестве средств защиты растений от бактериозов на их основе был создан биологический препарат Бактофил, и проведены его производственные испытания [34, 35].

Была исследована эффективность использования биопрепарата в качестве средства борьбы с болезнями овощных культур: томатов (сорта Ру-

бин и Перамога) и огурцов (сорта НИИОХ-412 и ТСХА-98) в условиях защищенного грунта. Эксперименты проводили в 1996–2000 гг. с использованием стандартных методов. Полученные результаты приведены в табл. 7.

Обработка биопрепаратом привела к значительному снижению заболеваемости растений (от 47 до 85 %) и оказалась в некоторых случаях более эффективной, чем действие эталонного препарата Превикур, особенно в отношении возбудителей мучнистой росы, стеблевого аскохитоза и пероноспороза. Наиболее перспективным является использование препарата Бактофил (эффективность защиты 68,9 %) в борьбе с нематодой, что согласуется с известными данными для *P. fluorescens* [36].

Приведенные результаты свидетельствуют, что испытуемый микробный препарат Бактофил обладает защитным эффектом в отношении ряда заболеваний овощных культур бактериальной и грибной этиологии, по своему действию в ряде случаев превышает эффективность эталонного химического препарата Превикур и может быть рекомендован для использования в сельскохозяйственном производстве. Особенно перспективным является использование Бактофила для борьбы с патогенной нематодой.

1. Palleroni N., Kunisawa R., Contopoulou R., Doudorouf M. // Int. J. Syst. Bacteriol. 1973. Vol. 23. P. 333.
2. Becker J.O., Cook R.J. // Phytopathol. 1984. Vol. 78. P. 778.
3. De Freitas J.R., Germida J.J. // Can. J. Microbiol. 1990. Vol. 36. P. 265.
4. Geels F.P., Schippers B. // Phytopathol. Zeiting. 1983. Vol. 108. P. 207.
5. Ibid. P. 193.
6. Hemming B., Orser C., Jacobs D. et al. // J. Plant Nutr. 1982. Vol. 5. P. 683.
7. Kloepper J., Leong J., Teintze H., Schroth M. // Nature. 1980. Vol. 286. P. 885.
8. Ibid. // Curr. Microbiol. 1980. Vol. 4. P. 317.
9. Leong J. // Annu. Rev. Phytopathol. 1986. Vol. 24. P. 187.
10. Elad Y., Baker R. // Ecol. Epidemiol. 1985. Vol. 75. P. 1047.
11. Lockwood J., Schipper B. // Trans. Br. Mycol. Soc. 1984. Vol. 82. P. 589.
12. Howell C.R., Stipanovic R.D. // Phytopathol. 1979. Vol. 69. P. 480.
13. Ibid. 1980. Vol. 70. P. 712.
14. Weller D.M., Cook R.J. // Can. J. Plant. Pathol. 1986. Vol. 8. P. 328.
15. Herbert R.B., Knaggs A.R. // J. C. S. Perkin I. 1992. P. 103.
16. Tymiak A., Culver C., Malley M., Gougouts J. // J. Org. Chem. 1985. Vol. 50. P. 5491.
17. Gurusiddaiah S., Weller D., Sarkar A., Cook R. // Antimicrob. Agents Chemother. 1986. Vol. 29. P. 488.
18. Taraz K., Schaffner E., Budzikiewicz H. et al // Z. Naturforsch. 1990. Vol. 45b. P. 552.
19. Hildenbrand U., Budzikiewicz H. // Z. Naturforsch. 1986. Vol. 41b. P. 1161.
20. Perley J.E., Stowe B.B. // Biochem. J. 1966. Vol. 100. P. 169.
21. Shanahan Ph., O'Sullivan D., Simpson P. et al. // Appl. and Environ. Microbiol. 1992. Vol. 58. P. 353.
22. Kanda N., Ishizaki N., Inone N. et al. // J. Antibiotics. 1975. Vol. 28. P. 935.
23. Chain E.B., Mellows G. // J.C.S. Perkin I. 1977. P. 294.
24. Ibid. // J. C. S. Perkin I. 1977. P. 318.
25. Suzuki A., Goto M. // Nippon Kagakuzasshi. 1970. Vol. 91. P. 404.
26. Voisard C., Keel C., Haas D., Defago G. // EMBO J. 1989. Vol. 8. P. 351.
27. А. с. 1535893 СССР, МКИ<sup>5</sup> С 12 N 15/00, 1/20, С 12Q 1/00. Штамм бактерий *Pseudomonas* sp., используемый в качестве тест-культуры для определения никотиновой кислоты / Олехнович И.Н., Максимова Н.П., Фомичев Ю.К. № 4343600/31-13; Заявл. 14.12.87; Оpubл. 15.01.90, Бюл. № 2.
28. Максимова Н.П., Блажевич О.В., Фомичев Ю.К. // Мол. генетика микробиология и вирусология. 1993. № 5. С. 22.
29. Maksimova N.P., Lysak V.V., Ignatovich O.K. // International conference on plant pathogenic bacteria. June 9–12, 1992. Versailles, 1992.
30. Kloepper J. // Phytopathol. 1983. Vol. 73. P. 217.
31. Kloepper J., Leong J., Teintze H., Schroth M. // Curr. Microbiol. 1980. Vol. 4. P. 317.
32. Пат. 2051586 РФ. Штамм бактерий *Pseudomonas putida* – биостимулятор роста растений / Максимова Н.П., Лысак В.В., Игнатович О.В., Фомичев Ю.К. № 2051586; Заявл. 12.07.91; Оpubл. 10.01.96.
33. Пат. 3-65952 Япония, МКИ<sup>5</sup> С 12 P 7/66 (С 12 P 7/66, С 12R 1:01). Способ получения кофермента О<sub>10</sub>. № 1-16949; Оpubл. 15.10.91.
34. Максимова Н.П., Семенова И.Н., Кульба А.М., Фомичев Ю.К. // Мол. генетика. 1983. № 2. С. 29.

35. Пат. 2051586 РФ. Штамм бактерий *Pseudomonas putida* – биостимулятор роста растений / Максимова Н.П., Лысак В.В., Игнатович О.В., Фомичев Ю.К. № 2051586; Заявл. 12.07.91; Оpubл. 10.01.96.

36. Oosterdorp M., Sikora R.A. // Rev. Nematolog. 1989. Vol. 12. P. 77.

Поступила в редакцию 28.05.2001.

УДК 581.1

В.М. ЮРИН, А.И. СОКОЛИК, А.П. КУДРЯШОВ, Л.В. КАХНОВИЧ

### МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ И ФОТОСИНТЕЗ – ОСНОВА РОСТА И РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ



**Юрин Владимир Михайлович** – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и биохимии растений. Область научных интересов – ксенобиология, физиология и биофизика растительной клетки. Опубликовал около 300 научных работ, в том числе три монографии, три учебных пособия.

**Соколик Анатолий Иосифович** – кандидат биологических наук, заведующий НИЛ физиологии растительной клетки при кафедре физиологии и биохимии растений. Область научных интересов – физиология и биофизика растительной клетки. Опубликовал 151 научную работу, в том числе одну монографию.

**Кудряшов Анатолий Петрович** – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и биохимии растений. Область научных интересов – физиология и биофизика минерального питания растений, биологическое тестирование среды, радиэкология. Опубликовал 120 научных работ, в том числе одну монографию и три учебных пособия.

**Кахнович Людмила Васильевна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и биохимии растений. Область научных интересов – фотосинтез и его связь с продуктивностью растений. Опубликовала 155 научных работ, в том числе две монографии и три учебных пособия.

The main achievements, obtained as a result of investigation, carrying out at plant physiology and biochemistry department are presented. The results, concerning both the problems of regulations plasmalemma ion transport properties and photosynthetic activities of plants under varying of environmental factors are presented.

Существование растительного организма обеспечивается взаимодействием двух потоков – вещества в виде определенных минеральных элементов и энергии света, усваиваемого в процессе фотосинтеза. Для обеспечения нормального жизненного цикла растений необходимы строго определенные световые условия и минеральные элементы, функции которых в растении не могут быть заменены другими химическими агентами. В этой связи основное внимание в наших исследованиях уделяется изучению функционирования и регуляции отдельных транспортных систем, определяющих поступление в клетку ряда питательных веществ, и процесса фотосинтеза.

Изучение переноса веществ через плазматические мембраны проводится как на основе методик определения содержания исследуемого соединения в среде или внутри клетки методами ионоселективной электродметрии и