

О. В. Лагодич¹, Н. П. Максимова²

УДК 632.938; 581.2

^{1, 2} Кафедра генетики, биологический факультет,
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ PGPR НА ФОРМИРОВАНИЕ ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ У РАСТЕНИЙ *SOLANUM LYCOPERSICUM* L.

Было установлено, что обработка растений томатов культурой бактерий *P. putida* КМБУ 4308 и *P. aurantiaca* В-162, а также их внеклеточными метаболитами снижает заражаемость и степень поражения растений фитопатогенным грибом *B. cinerea*, что может свидетельствовать о формировании у растений индуцированной системной устойчивости.

Ключевые слова: PGPR, индуцированная системная устойчивость, *Pseudomonas*, томат.

Образец цитирования: Лагодич О. В., Максимова Н. П. Изучение действия PGPR на формирование защитных свойств у растений *Solanum lycopersicum* L. // София: электрон. науч.-просветит. журн. 2019. № 1. С. 16–20.

A. Lahodzich¹, N. Maximova²^{1, 2} Department of genetics, faculty of biology, Belarusian State University,
Minsk, Belarus

STUDY OF THE EFFECT OF PGPR ON THE FORMATION OF PROTECTIVE PROPERTIES IN PLANTS OF *SOLANUM LYCOPERSICUM* L.

It was found that the treatment of tomato plants with the culture of *P. putida* bacteria KMBU4308 and *P. aurantiaca* B-162, as well as their extracellular metabolites, reduces the infectivity and the extent of plant damage by the pathogenic *B. cinerea* fungus, which may indicate the formation of plant-induced systemic resistance.

Keywords: PGPR, *Pseudomonas*, tomato, induced systemic resistance.

For citation: Lahodzich, A., & Maximova, N. (2019). Study of the effect of PGPR on the formation of protective properties in plants of *Solanum lycopersicum* L. *Sophia*, 1, 16–20 (in Russ.).

Авторы:

¹ Оксана Владимировна Лагодич – ассистент кафедры генетики биологического факультета БГУ. LagodichOV@gmail.com

² Наталья Павловна Максимова – доктор биологических наук, заведующий кафедрой генетики биологического факультета БГУ. MaximovaNP@bsu.by

Authors:

¹ Aksana Lahodzich – assistant at the department of genetics of the faculty of biology, BSU.

² Natalia Maximova – doctor of biology, head of the department of genetics of the faculty of biology, BSU.

Культура томата в Беларуси – одна из самых распространенных, которая культивируется во множестве сортов. И как для многих сельскохозяйственных культур, проблема комплексной длительной устойчивости к стрессовым факторам биотической и абиотической природы является важнейшей проблемой современной агробиотехнологии [3; 4]. Важным приемом в технологии выращивания томата является защита от бактериальных и грибных болезней, среди которых наиболее вредоносны фитофтороз, септориоз



(белая пятнистость), бактериальный рак, мягкие гнили плодов и др. [5].

Существует несколько путей борьбы с патогенными организмами. Во-первых, это создание болезнеустойчивых сортов. Данный метод является самым экологически безопасным, однако из-за большого разнообразия возбудителей создать сорта со столь ши-

рокой комплексной устойчивостью к патогенам невозможно [8]. Во-вторых, применение химических пестицидов. Несмотря на высокую эффективность в подавлении численности вредных организмов, постепенное накопление синтетических химических средств защиты растений в почве, водоемах, растительной продукции отрицательно влияет на здоровье человека и животных [12]. В-третьих, повышение общей устойчивости растений к фитопатогенам путем индукции защитных механизмов растения, что возможно благодаря применению биологических средств защиты [8]. Интерес к биологическому контролю резко возрос в связи с появляющимися возможностями разработки биотехнологий и биопрепаратов, конкурентных химическим средствам защиты растений. В настоящее время в биоконтроле используют бактерии, обладающие совокупностью полезных для растений признаков – PGPR. Перспективными биоагентами микробных препаратов являются бактерии рода *Pseudomonas*, доминирующие в ризосфере умеренного климата, многие из которых оказывают положительное влияние на рост и развитие растений. Разнообразие биосинтетических и катаболических реакций, высокая скорость роста, особенности генетической организации, продукция широкого спектра метаболитов, таких, как сидерофоры, антибиотические вещества, фитогормоны, позволяют рассматривать представителей этой таксономической группы как наиболее перспективные объекты биоконтроля [1; 6]. Применение средств защиты растений, действие которых направлено на возбудителей заболеваний, рано или поздно приводит к формированию устойчивости патогенов к этим препаратам. Индукция устойчивости растений к заболеваниям не имеет такого негативного последствия [10].

В связи с этим является актуальным изучение действия PGPR на формирование защитных свойств у томатов (*Solanum lycopersicum*).

В данной работе были использованы штаммы: *Pseudomonas aurantiaca* B-162, обладающий антифунгальной и антибактериальной активностью, обусловленной синтезом феназиновых антибиотиков [11], и *Pseudomonas putida* КМБУ 4308, подавляющий рост и развитие патогенной микрофлоры вследствие синтеза сидерофоров [2].

Объектом исследования служили томаты сорта «Перамога 165», широко районированного на территории Беларуси в условиях открытого и защищенного грунта. Данный сорт чувствителен к различным заболеваниям, таким, как фитофтороз, макроспориоз, вершинная гниль и др., что дает возможность использовать его в качестве модельного объекта для изучения роли PGPR в развитии защитных свойств растений.

Культивирование бактерий осуществляли в жидких и на агаризованных питательных средах при температуре 28 °С. Культуры бактерий *P. aurantiaca* и *P. putida* засеивали в жидкую среду 4Х и минимальную среду Канедо соответственно по 100 мл каждой. Культивировали в термостате в течение 48-и часов.

Комплекс внеклеточных метаболитов получали путем освобождения от клеток культуральной жидкости, для чего 48-часовую культуру бактерий центрифугировали при 10000 об/мин в течение 20 минут дважды. Осадок удаляли, а культуральную жидкость использовали для дальнейшей работы.

Томаты выращивали в условиях искусственного освещения (16-и часовой световой день) при температуре 18–25 °С (ночь-день), семена обрабатывали суспензией клеток ризобактерий в концентрации 10^8 КОЕ/мл, а также культуральной жидкостью. После обработки семена проращивали, проростки выращивали без пересадки в течение 5 недель с последующим заражением грибным патогеном [7]. В качестве фитопатогена использовали *Botrytis cinerea* Pers, вызывающего серую гниль томатов [13]. С целью заражения грибным патогеном растения опрыскивали водной суспензией, содержащей 10^5 спор/мл. Споры получали смывом с чашек Петри, содержащих гриб, выращенный на картофельно-глюкозном агаре [9] в течение 2–3 недель при 28 °С. Концентрацию спор определяли с помощью камеры Горяева.

Было установлено, что внесение в почву ризосферных бактерий *P. putida* и *P. aurantiaca*, а также их культуральной жидкости вызывает снижение поражаемости растений томата сорта «Перемога 165» на 56–70 % в случае заражения *B. cinerea* (рис. 1).

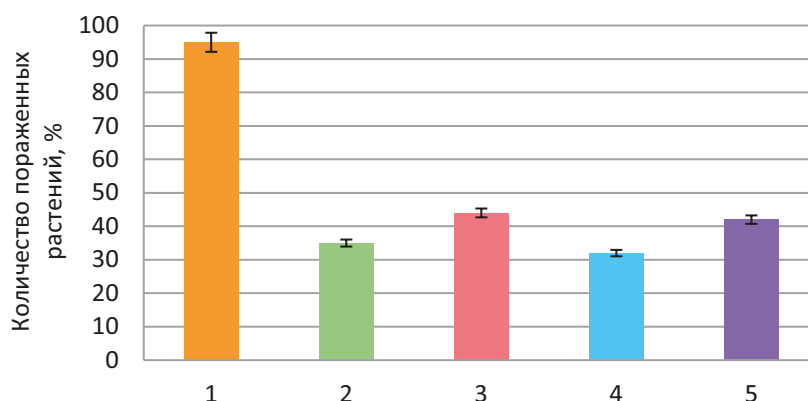


Рис. 1

Влияние ризосферных бактерий и их внеклеточных метаболитов на поражаемость растений томата сорта «Перемога 165» фитопатогеном *B. cinerea*:

- 1 – группа растений, не обработанных PGPR и зараженных *B. cinerea*;
- 2 – растения, обработанные культурой бактерий *P. putida*;
- 3 – растения, обработанные культуральной жидкостью *P. putida*;
- 4 – растения, обработанные культурой бактерий *P. aurantiaca*;
- 5 – растения, обработанные культуральной жидкостью *P. aurantiaca*

Также было изучено изменение концентрации основных пигментов фотосинтетического аппарата после обработки ризобактериями и их внеклеточными метаболитами с последующим заражением грибным патогеном.

У контрольной группы растений, обработанных водой, PGPR и их внеклеточными метаболитами, наблюдается примерно одинаковая концентрация хлорофилла *a* и *b*. У растений экспериментальной группы спустя сутки после заражения *B. cinerea* концентрация хлорофилла *a* и *b* была ниже, чем у контрольной группы, что

может говорить о некотором стрессе у растений (рис. 2, 3). Концентрация каротиноидов была примерно одинаковой у растений обработанных водой и *P. putida*, у остальных растений контрольной группы меньше (рис. 4). Спустя сутки после заражения *B. cinerea* самая высокая концентрация каротиноидов показана у растений обработанных бактериями *P. putida*, у остальных же растений из экспериментальной группы наблюдалось понижение концентрации каротиноидов (рис. 4). Значения соотношения хлорофилла *a*:*b* у контрольной и экспериментальной групп варьировали в пределах 2,0–2,5.

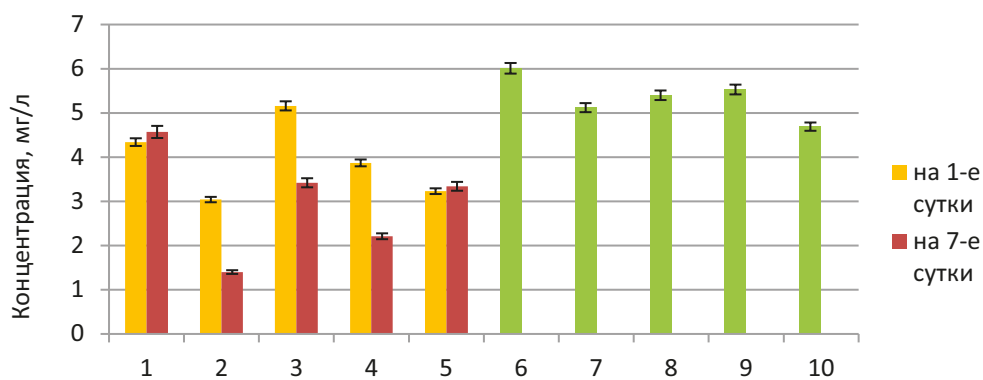


Рис. 2

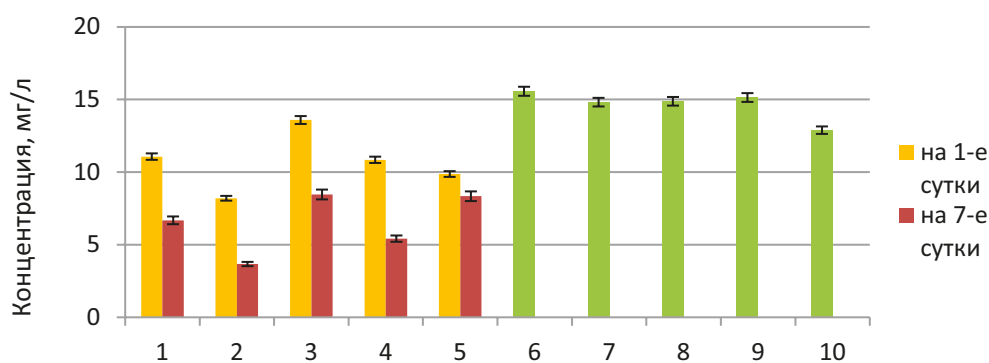
Концентрация хлорофилла *a* в растительном материале

Рис. 3

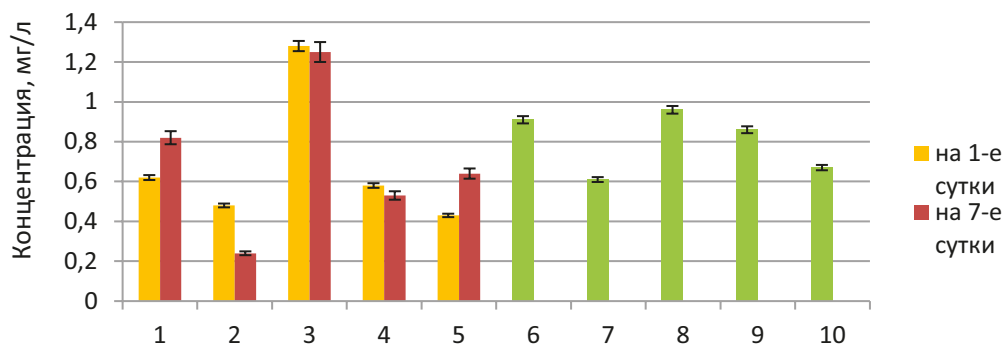
Концентрация хлорофилла *b* в растительном материале

Рис. 4

Концентрация каротиноидов в растительном материале

Примечание. На рис. 2–4 изображены группы растений: 1 – не обработанных PGPR и зараженных *B. cinerea*; 2 – обработанных культурой бактерий *P. aurantiaca* и зараженных *B. cinerea*; 3 – обработанных культурой бактерий *P. putida* и зараженных *B. cinerea*; 4 – обработанных культуральной жидкостью *P. putida* и зараженных *B. cinerea*; 5 – обработанных культуральной жидкостью *P. aurantiaca* и зараженных *B. cinerea*; 6 – не обработанных PGPR; 7 – обработанных культурой бактерий *P. aurantiaca*; 8 – обработанных культурой бактерий *P. putida*; 9 – обработанных культуральной жидкостью *P. aurantiaca*; 10 – обработанных культуральной жидкостью *P. putida*.

У растений экспериментальной группы спустя 7 суток после заражения *B. cinerea* наблюдается снижение концентрации хлорофилла *a* и *b*, чем у контрольной группы, что может говорить о некотором стрессе у растений (рис. 2–3). Спустя 7 суток после заражения *B. cinerea* самая высокая концентрация каротиноидов показана у растений, предварительно обработанных бактериями *P. putida*, у остальных же растений из экспериментальной группы наблюдается понижение концентрации каротиноидов (рис. 4). Достоверных различий в соотношении хлорофилла *a:b* у растений экспериментальных групп не выявлено. Исключение составляет группа растений, зараженных *B. cinerea* и не обработанных ризобактериями, что говорит о развитии стрессового состояния у растений данной группы и подтверждает проявление защитных свойств ризобактерий и их метаболитов.

Таким образом, в ходе исследований было показано, что внесение в почву ризосферных бактерий *P. putida* и *P. aurantiaca*, а также их культуральной жидкости вызывает снижение поражаемости растений томата сорта «Перемога 165» на 56–70 % в случае заражения *B. cinerea*.

В ходе работы не было установлено четкой зависимости изменения концентрации хлорофилла *a* и *b*, каротиноидов, поэтому нельзя однозначно сказать о возможности использования данных показателей в качестве биохимических маркеров индуцированной системной устойчивости.

Литература

1. Биологическая защита растений. URL: <http://agrosev.narod.ru/page149itemid2084number65.htm> (дата обращения: 3.04.2017).
2. Биологическая активность сидерофора пиовердина, синтезируемого непатогенными ризосферными бактериями *Pseudomonas putida* КМБУ 4308 / Ю. М. Кулешова [и др.] // Труды БГУ. 2011. Т. 6. Ч. 1. С. 224–230.
3. Боронин А. М. Биологические препараты на основе псевдомонад // АГРО XXI. 2000. 4 с.
4. Боронин А. М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas* // Соросовский образоват. журн. 1998. № 10. С. 25–31.
5. Габор Б. Руководство по болезням томата / Seminis Vegetable Seeds. 1997. 79 с.
6. Перспективные биотехнологические средства защиты растений // Коммерческая биотехнология: интернет-журн. URL: <http://cbio.ru/page/51/id/3911/> (дата обращения: 23.03.2017).
7. Малый практикум по физиологии растений / под ред. А. Т. Мокроносова. Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1994. 183 с.
8. Поликсенова В. Д. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата) // Вестн. БГУ. 2009. № 1. С. 48–60.
9. Среда для выращивания грибов // Методы фитопатологии / З. Кирай [и др.]; под ред. М. В. Горленко; пер. с англ.: С. В. Васильева [и др.]. Москва, 1974. Гл. 25. С. 186–191.
10. Тютчев С. Л. Индуцированный иммунитет новое направление в интегрированной защите растений // Материалы Всерос. науч.-практ. конф. «Индуцированный иммунитет сельскохозяйственных культур важное направление в защите растений». Большие Вяземы Моск. обл., 2006. С. 8–11.
11. Феклистова И. Н., Максимова Н. П. Синтез феназиновых соединений бактериями *Pseudomonas aurantiaca* В-162 // Вестн. БГУ. 2005. № 2. С. 66–69.
12. Штерншис М. В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестн. Томск. гос. ун-та. Биология. 2012. № 2 (18). С. 92–100.
13. Significance of leaf infection by *Botrytis cinerea* in stem rotting of tomatoes grown in non-heated greenhouses / D. Shtienberg [et al.] // Europ. J. of Plant Pathology. 1998. Vol. 104, No 8. P. 753–763.