

БИОПРЕПАРАТИВНОЕ СОПРОВОЖДЕНИЕ ПОСТУРОЖАЙНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Е.И. Кипрушкина, В.С. Колодязная, И.А. Шестопалова, С.С. Мишин, Т.В. Нагиев

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург, Россия

Ленинградский НИИСХ БЕЛОГОРКА, Ленинградская область, Россия

Успешное решение задачи сохранения плодоовощной продукции неразрывно связано с научной разработкой и внедрением в практику новых эффективных методов защиты урожая.

В решении проблем экологической безопасности и охраны окружающей среды актуальны способы защиты растительной продукции от инфекционных заболеваний, основанные на применении не химически синтезированных препаратов, а биологических средств защиты [1, 5, 6]. Картофель – одна из важнейших полевых культур, обладающая высоким потенциалом урожайности, крайне восприимчива к возбудителям грибных, бактериальных и вирусных болезней.

Хорошо известно, что микроорганизмы по-разному реагируют на изменяющиеся условия окружающей среды. Они различаются по скорости роста, наличию или отсутствию устойчивых к неблагоприятным условиям среды морфологических форм, синтезу запасных питательных веществ в начале развития или в конце, наличию или отсутствию вторичного метаболизма, эффективности использования субстрата, конкурентоспособности, особенностям популяционной динамики в природных микробиоценозах и т. д.

В разработке микробиологических средств защиты растений наибольшую важность представляет поиск активной культуры антагониста – биологической основы создаваемого препарата. Штаммы, выделенные в одном регионе, при определенных биотических и абиотических факторах в силу их сопряженной коэволюции с растением-хозяином в направлении защиты могут не выявить своих потенциальных возможностей в других условиях [2, 3].

Из потенциально полезного биоразнообразия уже на первом этапе необходимо проводить скрининг биоконтрольных микроорганизмов-колонизаторов эпифитной, ризосферной микрофлоры, которые уже адаптированы к специфическим условиям этой экологической ниши, имеют высокую комплементарность к конкретным условиям существования данного вида растительного объекта, типа почвы, реакции среды [4].

В эпифитном микробиоме картофеля, находящегося на длительном холодильном хранении, выявлено большое разнообразие бактерий различных филогенетических групп. Значительный массив прокариот представлен доминантными семействами *Micrococcaceae*, *Rhizobiaceae* и *Xanthomonadaceae* (рисунок 1). При анализе нуклеотидных последовательностей гена 16S-rРНК установлено наличие в постурожайном микробиоме клубней картофеля бактерий, принадлежащих семейству *Pseudomonadaceae*. Их доля невысока, однако, данные бактерии хорошо приспособлены к низким температурам холодильного хранения, могут расти и метаболизировать при +4°C, подавляющее большинство представителей этого семейства обладает биоконтрольными свойствами.

В ходе проведенных исследований из образцов эпифиты и ризосферы картофеля было выделено большое количество морфотипов культивируемых бактерий, которые после физиолого-биохимического тестирования распределились по 6 группам. Доминирующие виды бактерий в выделенном прокариотном сообществе были представлены граммотрицательными аэробными подвижными палочками, принадлежащими к роду *Pseudomonas*, многие из которых образовывали флюоресцирующий пигмент и сидерофоры.

Кроме направленной селекции для поиска перспективных биоконтрольных штаммов представляет интерес отбор бактерий с их дальнейшим скринингом по антагонистической активности. Проявление антагонизма бактерий в отношении к патогенам в условиях *in vitro* является критерием в отборе штаммов. Каждый определенный штамм будет эффективен в качестве средства защиты, если он правильно подобран к конкретным условиям. Температура является основным лимитирующим фактором в проявлении активности штаммов.

Тестированием микроорганизмов *in vitro* на широком спектре возбудителей патогенеза плодоовощной продукции в условиях постурожайных технологий холодильного хранения оценена комплексная антагонистическая активность выделенных штаммов и коллекционных культур.

Исследуемые штаммы бактерий-антагонистов специфичны в отношении исследуемых тест-грибов: от варьирования диаметра зоны ингибирования роста патогенов до строгой селективности, наряду с проявлением различий в характере антагонистических свойств внутри вида отчетливо проявляются и штаммовые различия. Высокая чувствительность по отношению к бактериям-антагонистам среди тестерных культур отмечена у агрессивного гриба *Fusarium solani*.

При оценке *in vitro* стабильности бактериальных суспензий при различных концентрациях наибольший антагонистический эффект оказала концентрация бактерий 10^{10} кл/мл, со снижением титра активность была ниже, но антагонистический эффект все же был значимым для всех исследуемых культур (таблица 1).

Таблица 1. – Зона ингибирования тест-гриба *Botrytis cinerea* при различных концентрациях бактериальных суспензий (метод лунок)

Титр бактериальной суспензии, кл/мл	Зона отсутствия роста тест-культур <i>Fusarium solani</i> , мм				
	<i>Ps. fluorescens Pt</i>	<i>Ps. fluorescens 228</i>	<i>B. species KR 076</i>	<i>B. species KR 083</i>	<i>B. subtilis Ч13</i>
10^7	15,8 ± 0,5	16,2 ± 0,8	20 ± 1,5	14,2 ± 0,8	16 ± 1,5
10^8	17,2 ± 1,4	22,6 ± 0,1	27 ± 2,6	17,6 ± 0,1	19 ± 2,6
10^9	22,6 ± 2,3	22,1 ± 1,1	30 ± 1,4	21,1 ± 1,1	29 ± 1,4
10^{10}	31,5 ± 2,7	24,3 ± 1,2	32,8 ± 2,4	24,3 ± 0,7	38 ± 2,2

Приспособление психрофильных микроорганизмов к пониженным температурам проявляется в изменении состава мембран (в ней повышается содержание ненасыщенных жирных кислот), ферменты имеют низкие температурные оптимумы активности. В целом белки психрофилов по сравнению с мезофильными содержат больше полярных групп, чем гидрофобных, их транспортные системы также работают лучше при низких температурах [7].

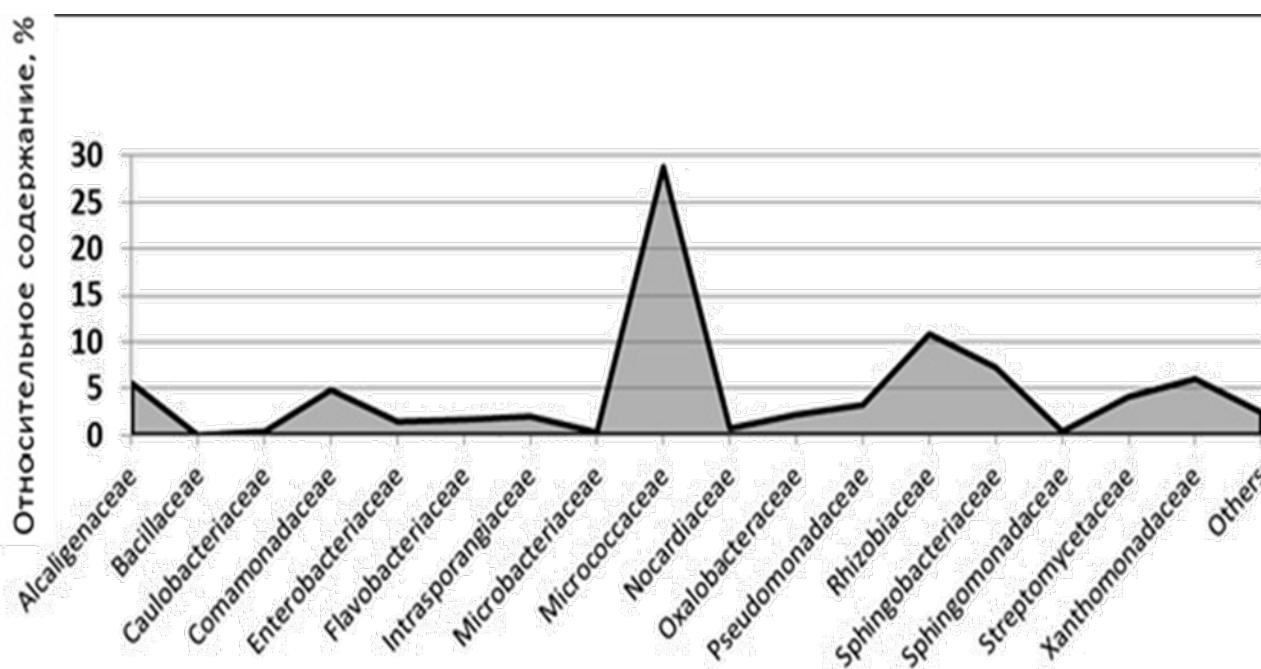


Рисунок 1 – Бактериальный консорциум эпифитного микробиома картофеля сорта Невский при холодильном хранении (3 ± 1) °C.

Выявленная адаптивность тестируемых штаммов в условиях пониженных температур на поверхности клубней позволяет характеризовать их как перспективных продуцентов защитных биопрепаратов, рекомендованных для биоконтроля картофеля при холодильном хранении.

Таким образом, по результатам изучения и оптимизации основных параметров культивирования, позволяющих получить культуры штаммов с высоким титром клеток, необходимыми колониальными, физиологическими, морфологическими, биохимическими особенностями, наибольшей антагонистической активностью отобраны эффективные штаммы с высоким уровнем проявления биоконтрольных свойств, способные координировать различные метаболические процессы в зависимости от изменений окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

Боронин А.М., Кочетков В.В // Агро XXI. – 2000. – № 3

Кипрушкина Е.И., Чеботарь В.К. Применение микробных препаратов в технологиях хранения картофеля // Достижения науки и техники АПК, № 1. Т. 29, 2015. – С. 33–35.

Кожемяков А.П., Лактионов Ю.В., Попова Т.А. и др. Агротехнологические основы создания усовершенствованных форм микробных биопрепаратов для земледелия // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т.50. – № 3. – С. 369–377.

Проворов Н.А. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия. – М.: ЛЕНАНД, 2015. – 704 с.

Соколов М.С., Литвишко Е.Б. // Защита растений. – 1993. – № 11.

Чеботарь В.К., Завалин А.А., Кипрушкина Е.И. Эффективность применения биопрепарата экстрасол. М.: Издательство ВНИИА, 2007. – 216 с.

Islam TMD, Toyota K. Effect of moisture conditions and pre-incubation at low temperature on bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* // Microbes Environ. – 2004. – № 19. – P.244–247.