
БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 579.266; 57.025.581.5

Е.Е. Акимова, О.М. Минаева

**ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS SP. B-6798*
НА ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ КАРТОФЕЛЯ
В ПОЛЕВЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ**

Аннотация. Исследовано влияние бактерий *Pseudomonas sp. B-6798* на пораженность посадок картофеля *Phytophthora infestans* (фитофтороз), клубней *Rhizoctonia solani* (ризоктониоз) и *Actinomyces sp.* (парша). Отмечено, что бактерии указанного штамма способствуют уменьшению развития ризоктониоза на клубнях картофеля на 40–80%, парши – на 30–70%. Снижение процента развития заболеваний происходит в большей степени за счет уменьшения количества больных клубней. В вегетационный период на посадках картофеля, бактеризованного *Pseudomonas sp. B-6798*, наблюдалось снижение развития фитофтороза на 40–50%.

Ключевые слова: бактеризация, *Pseudomonas sp.*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*, *Actinomyces sp.*, защита растений от фитопатогенов.

Картофель является одной из основных сельскохозяйственных культур. Вегетативное размножение картофеля определяет возможность постоянного существования возбудителей болезней на ботве в период вегетации и в клубнях во время хранения, и для получения высокого, хорошего качества урожая картофель как пропашная культура интенсивного типа требует большого количества удобрений и химических средств защиты растений. В последние годы все больше внимания уделяется развитию экологических методов борьбы с заболеваниями растений, которые рассматриваются как альтернатива химическим методам защиты, оказывающим отрицательное действие на экологию агрофитоценозов [1]. Среди них особое место занимают микробиологические препараты на основе ризосферных микроорганизмов.

Устойчивость растений к заболеваниям во многом определяется результатами взаимодействия между корневой системой растений и разнообразными населяющими ее микроорганизмами [2]. Для защиты растений от фитопатогенных грибов и бактерий используют микроорганизмы с антагонистической активностью в отношении возбудителей заболеваний. Несмотря на все видимые преимущества, в настоящее время лишь небольшое количество препаратов, основанных на применении живых бактерий и грибов, используется на практике [1]. В связи с этим проблема создания новых биопрепаратов для

борьбы с фитопатогенными микроорганизмами является весьма актуальной для сельскохозяйственной биотехнологии.

Бактерии рода *Pseudomonas* – одна из наиболее изученных групп микроорганизмов с точки зрения объектов биологического контроля бактериальных и грибных заболеваний сельскохозяйственных культур. Механизмы антагонистического взаимодействия псевдомонад и фитопатогенов включают, прежде всего, способность к синтезу широкого спектра антибиотических веществ, среди которых особое место занимают сидерофоры – вещества, хелатирующие железо и представляющие собой полипептид, связанный с флуоресцентным хромофором [3]. Ризосферные псевдомонады являются наиболее распространенными активными агентами биофунгицидов и представляют несомненный интерес для агробиотехнологии.

Цель данной работы – изучение возможности использования формальдегидутилизирующих псевдомонад в качестве защиты растений картофеля в период вегетации и клубней в период хранения от комплекса фитопатогенных грибов.

Материалы и методы

В работе использовались бактерии *Pseudomonas* sp., штамм ВКПМ В-6798, полученные из музея культур лаборатории биокинетики и биотехнологии НИИББ. Бактерии данного штамма были выделены из активного ила очистных сооружений ТНХК. Эти непатогенные факультативно метилотрофные бактерии способны использовать формальдегид в составе минеральных сред в качестве единственного источника углерода и энергии в концентрации 267 мМ (8 г/л) [4].

В качестве дополнительного контроля в экспериментах был использован биопрепарат «Планриз» на основе бактерий *Pseudomonas fluorescens* AP 33 (ТУ 92-91012-00494172–98).

Чистая культура бактерий *Pseudomonas* sp. В-6798 выращивалась на минимальной среде М9 [5] с формальдегидом в качестве единственного источника углерода и энергии в концентрации 4 г/л. Предварительно пророщенные клубни картофеля непосредственно перед посадкой бактеризовали путем замачивания на 30 мин в бактериальной суспензии титром 10^6 – 10^7 кл./мл. Контроль бактериальной численности осуществлялся путем прямого подсчета клеток в камере Горяева [6]. Контролем служили клубни, замоченные на такое же время в водопроводной воде без добавления бактериальных суспензий.

Полевые эксперименты были заложены в вегетационные периоды 2002, 2004–2005 гг. на клубнях картофеля сортов Невский, Луговской, Жуковский, Фреско.

Антагонистическую активность бактерий оценивали по снижению количества зараженных клубней и снижению степени поражения инфекцией при проведении фитопатологического анализа клубней картофеля, полученных от бактеризованных и контрольных растений, в период хранения в соответствии с ГОСТ 11856–89 (семенной материал) и ГОСТ 7194–81 (товарный картофель). Кроме того, в вегетационный период 2005 г. во второй половине веге-

тации был проведен ряд фитопатологических учетов развития на посадках фитофтороза.

Оценка степени развития парши и ризоктониоза проводилась по балльной шкале, фитофтороза – по проценту пораженной вегетативной части растений [7]. Определение процента поражения и степени развития проводилось по стандартной методике [8].

Данные, полученные в ходе экспериментов, обрабатывались с помощью пакета STATISTIC for Windows, версия 6.0. Оценка достоверности полученных результатов проводилась по непараметрическому критерию Mann–Whitney ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Болезни картофеля отличаются повышенной вредоносностью, что обусловлено особенностями биологии культуры и вегетативным размножением. Клубни являются источником сохранения инфекции почти всех возбудителей болезней. Проведение фитопатологических осмотров клубней, полученных с контрольных и опытных участков, позволило выявить влияние бактерий опытного штамма псевдомонад на распространение и развитие парши обыкновенной (лучистые грибки – *Actinomyces*) и ризоктониоза (*Rhizoctonia solani* Kuhn).

На рис. 1 представлено развитие ризоктониоза, обнаруженного в результате осеннего анализа 2002 г. клубней картофеля сорта Жуковский.

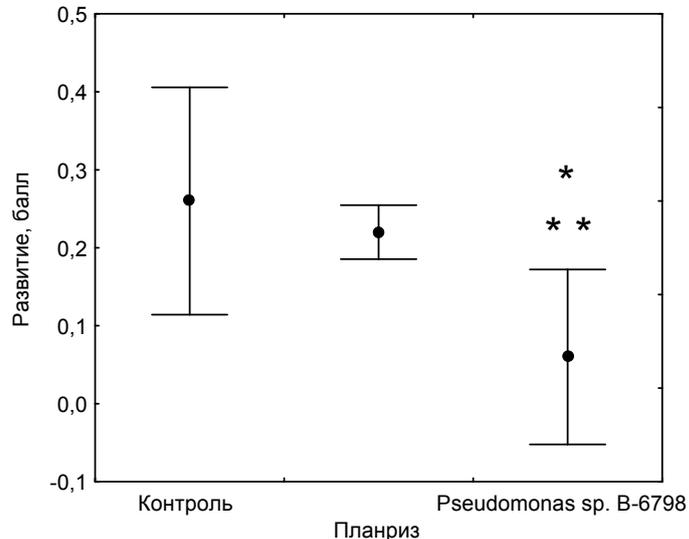


Рис. 1. Развитие ризоктониоза на клубнях картофеля сорта Жуковский.

* – статистически значимое отличие от контрольного варианта;

** – от варианта с бактеризацией планризом

Как видно из рисунка, наименьшее развитие ризоктониоз получил в варианте с обработкой клубней бактериями *Pseudomonas* sp. В-6798. Уменьшение развития заболевания связано, прежде всего, со снижением распространенности заболевания. Так, распространенность в опытном варианте оказалась в 1,8 раза меньше, чем в варианте чистого контроля, и в 1,6 раза ниже варианта с бактеризацией планризом. Кроме того, наблюдалось частичное уменьшение степени поражения больных клубней.

Следует отметить слабое влияние на представленный параметр бактеризации клубней биопрепарата «Планриз». Известно, что на эффективность биопрепаратов на основе ризосферных микроорганизмов влияет целый ряд факторов, обусловленных режимом культивирования штаммов, препаративной формой, способами и сроками хранения, свойствами почвы, на которой применяется биопрепарат, растением-хозяином. Не исключено, что широко применяемые штаммы – биологические агенты могут со временем частично или полностью утрачивать свои полезные свойства при длительном культивировании *in vitro*.

На рис. 2 представлено развитие парши, выявленное при проведении осеннего клубневого анализа картофеля сорта Жуковский.

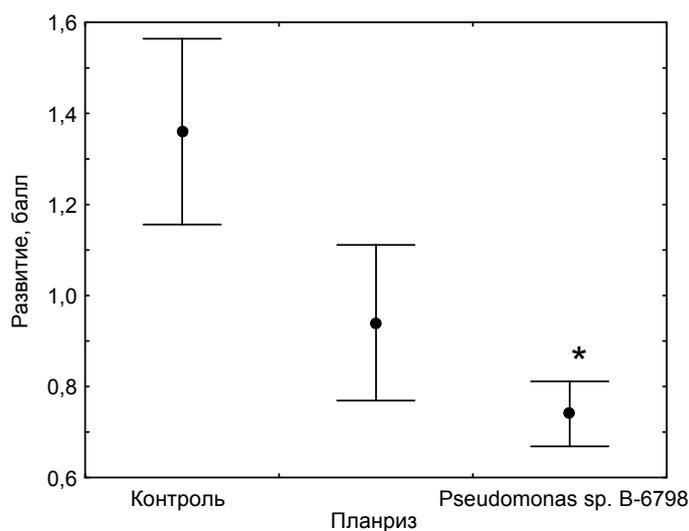


Рис. 2. Развитие парши на клубнях картофеля сорта Жуковский:

* – статистически значимое отличие от контрольного варианта;

** – от варианта с бактеризацией планризом

На развитие ризоктониоза, как и на развитие парши, наибольшее влияние оказала обработка клубней картофеля бактериями опытного штамма. Аналогичным образом снижение развития парши связано, прежде всего, с уменьшением процента клубней с признаками заболевания (в 1,3 раза по сравнению с контрольным вариантом). В отличие от представленного развития ризоктониоза, под влиянием бактеризации клубней планризом наблюдается

тенденция к снижению развития парши, однако статистически значимого уровня отличия от варианта чистого контроля достигнуть не удалось.

Данные, полученные в результате весеннего клубневого анализа, а также при анализе клубней картофеля других сортов, имеют аналогичное распределение по вариантам. Бактерии опытного штамма псевдомонад в целом способствуют снижению развития в период хранения ризоктониоза в среднем на 40–80%, парши – на 30–70%.

Как известно из литературных источников, растение, находящееся в благоприятных условиях, на фоне сбалансированного поступления питательных веществ формирует иммунитет, способный противостоять внедрению патогенов и развитию заболевания [9]. Поэтому проведение учета фитофтороза по вегетационным частям растений косвенным образом отражает их способность противостоять поражению фитопатогенными грибами и свидетельствует об уровне их иммунитета.

На рис. 3 представлено развитие фитофтороза на посадках картофеля сорта Невский в различные сроки замеров, проводимых во второй половине вегетации растений.

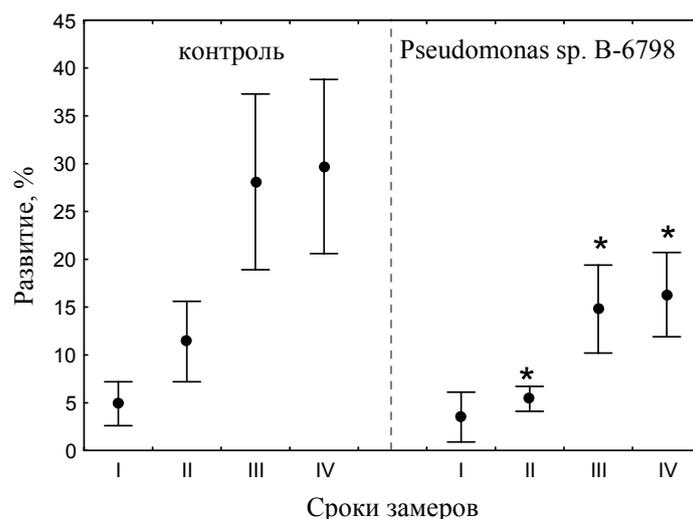


Рис. 3. Развитие фитофтороза на посадках картофеля сорта Невский в полевом эксперименте: * – достоверное отличие от контрольного варианта по критерию Mann–Whitney ($p < 0,05$)

Рисунок 3 демонстрирует, что с момента проявления на посадках картофеля фитофтороза на опытном участке болезнь получила значительно меньшее распространение. К окончанию вегетации развитие фитофтороза на опытных участках на 45–50% ниже, чем на участках контроля. Процент пораженных растений при этом в контроле и опыте достигал 100, поэтому уменьшение развития фитофтороза можно связать только со снижением степени пораженности растений.

Таким образом, полученные нами в ходе проведения полевых испытаний данные наглядно демонстрируют способность бактерий *Pseudomonas* sp. В-6798 подавлять развитие фитофтороза, парши и ризоктониоза. Бактерии по сравнению с биопрепаратом «Планриз» проявляют более высокую антагонистическую активность, что позволяет рекомендовать использование бактерий *Pseudomonas* sp. В-6798 в качестве агентов биологического контроля заболеваний картофеля.

Литература

1. Соколов М.С. Состояние, проблемы и перспективы применения экологически безопасных пестицидов в растениеводстве // *Агрохимия*. 1990. № 10. С. 124–143.
2. Сорокина Т.А., Леманова Н.Б., Липасова В.А., Хмель И.А. Антагонистическое действие двух штаммов *Pseudomonas* на фитопатогенные грибы и бактерии и перспективы их использования для биологической борьбы с заболеваниями растений // *Биотехнология*. 1998. № 2. С. 37–43.
3. Боронин А.М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений // *Соросовский образовательный журнал*. 1998. № 10. С. 25–31.
4. Патент РФ 21022474. Штамм метилотрофных бактерий *Pseudomonas* sp. ВКПМ В-6798, способный использовать формальдегид в качестве единственного источника углерода и энергии в бедной минеральной среде / Е.В. Евдокимов, М.В. Миронов, А.В. Евдокимов и др. С. 8.
5. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир, 1976. 438 с.
6. *Руководство к практическим занятиям по микробиологии* / Под ред. Н.С. Егорова. М.: МГУ, 1995. 224 с.
7. *Шкалы для оценки поражения болезнями сельскохозяйственных культур: Метод. рекомендации* / Сост. А.А. Эльчибаев. Воронеж: Изд-во ВНИИЗР, 1981. 83 с.
8. *Информационное обеспечение просмотров распространения и развития многолетних вредителей и болезней зерновых культур и картофеля*. М.: ЦНТИ, 1993. 214 с.
9. Павлюшин В.А., Вилкова Н.А., Афанасенко О.С. Первая Всероссийская конференция по иммунитету растений к болезням и вредителям, посвященная 300-летию Санкт-Петербурга. Хроника // *Вестн. защиты растений*. 2002. № 2. С. 73–75.

Akimova Elena E., Minaeva Oksana M. Research Institute of Biology and Biophysics of TSU; Tomsk state university. The effect of bacteria Pseudomonas sp. B-6798 on psychopathological state of potato in the field experiments. The effect of bacteria *Pseudomonas* sp. В-6798 on potato plants by *Phytophthora infestans* and tubers by *Rhizoctonia solani* and *Actinomyces* sp. was studied. The bacteria at this indicated strain are promoted the reduction of *Rhizoctonia solani* on potato tubers in 40–80%, *Actinomyces* sp. in 30–70%. The reduction of the percent of disease development occurs to a large extent because of the decrease in the quantity of infected tubers. The reduction of *Phytophthora infestans* development in 40–50% on potato plants, inoculated by *Pseudomonas* sp. В-6798, was observed in vegetation period in comparison with control. It was connected with the reduction of the extent of plant infection.

Key words: inoculation, *Pseudomonas* sp., *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*, *Actinomyces* sp., extent of plant infection.