

УДК 632.937.16

DOI 10.26897/978-5-9675-1762-4-2020-136

РАЗРАБОТКА БАКТЕРИОФАГОВОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ СОИ ОТ БАКТЕРИАЛЬНОГО ОЖОГА

Тараканов Рашид Ислямович, магистрант кафедры защиты растений, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

E-mail: tarakanov.rashit@mail.ru

Игнатов Александр Николаевич, д.б.н., заместитель генерального директора по научной работе, ООО «Исследовательский Центр «ФитоИнженерия»; профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»

Email: an.ignatov@gmail.com

Джалилов Февзи Сеид-Умерович, д.б.н., профессор, зав. кафедрой защиты растений, ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

E-mail: labzara@mail.ru

Аннотация:

*Описан методология разработки бактериофагового препарата для борьбы с бактериальным ожогом сои *Pseudomonas savastanoi pv. glycinea*. Биологическая эффективность препарата составила 75%, что не уступает эталонным химическим бактерицидам.*

Ключевые слова: *Pseudomonas savastanoi pv. glycinea, бактериофаги, фитопатология, бактериальный ожог сои, органическое растениеводство, биологическая защита растений.*

Соя является стратегической культурой для многих стран, включая РФ. Важность культуры связана как с широким спектром использования в качестве пищевой и технической культуры, так и с высокой рентабельностью выращивания. Учитывая, что потенциальная урожайность современных сортов культуры намного выше средних производственных значений в РФ, остро стоит задача повышения урожайности и качества получаемого зерна сои. Снижение урожайности происходит за счет конкуренции со стороны сорных растений и ущерба от повреждения вредителями и болезнями. Среди основных болезней культуры выделяют септориоз, ржавчину, корневые гнили, бактериальный ожог и др. Основная часть болезней грибной и оомицетной этиологии контролируется с помощью современных фунгицидов, однако против возбудителя бактериального ожога они не дают значимого эффекта. Для защиты от бактериозов используют препараты на основе соединений меди и антибиотиков [2]. Однако, учитывая принятие закона об органической продукции, необходимо разрабатывать технологии

производства продукции растениеводства без применения химических средств защиты растений. Наиболее перспективным в этом плане является использование вирусов, поражающих фитопатогенные бактерии – бактериофагов. Возбудителем бактериального ожога сои является *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* – флюоресцирующая аэробная гамма-протеобактерия. Патоген сохраняется и передается в основном через семена. В годы благоприятные для патогенеза болезнь способна снизить урожайность на 40%, ухудшить технологические качества зерна сои, и сделать его непригодным качестве семян для следующего года [4].

Возбудителя бактериального ожога сои выделяли из семян сои с типичными симптомами поражения, с некрозом и бактериальным экссудатом на семядолях, подсемядольном колене первичном и корешке при прорастании (Рисунок 1-А). Гомогенат пораженной ткани разводили десятикратно в стерильной дистиллированной воде и высевали на агаризованную питательную среду King B.

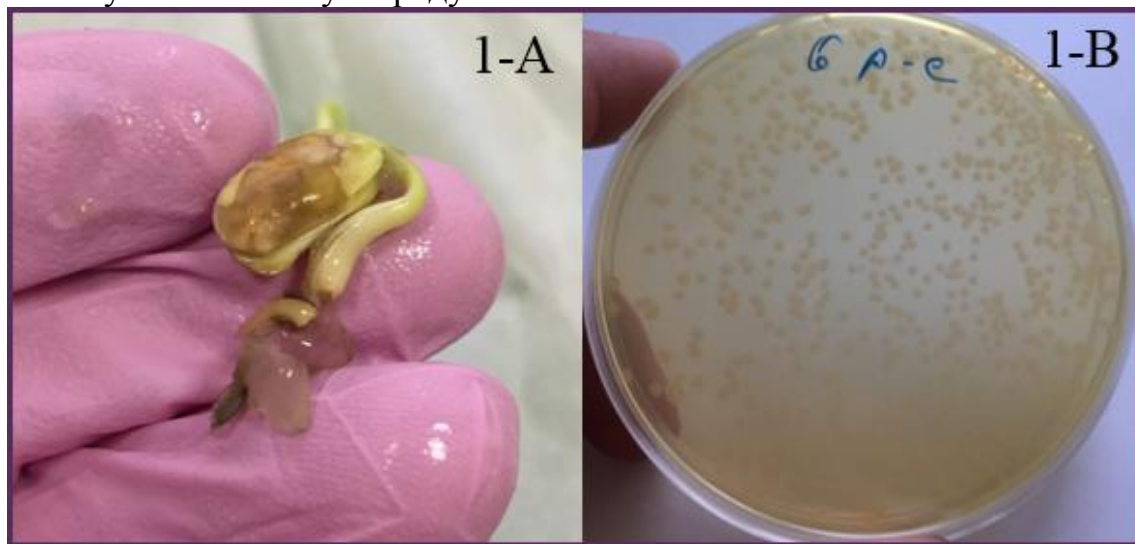


Рисунок 1-А – Проросток сои, пораженный патогеном, 5 день проращивания во влажной фильтровальной бумаге; 1-В - Чистая культура *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*, штамм 2214 (CFBP) на среде King B, 3 день культивирования

Типичные белые колонии, флюоресцирующие синим цветом при УФ освещении, проверяли по системе биохимических тестов LOPAT. Штаммы, показавшие результаты, типичные для группы видов *Pseudomonas syringae* (LOPAT +---+) анализировали специфической ПЦР с праймерами на фрагмент гена синингомицина (*syrD*). В качестве положительного контроля использовали референтный *P. savastanoi* pv. *glycinea* штамм CFBP 2214 (Французская коллекция ассоциированных с растениями микроорганизмов) (рис. 1-В). Всего, из семян сои различных сортов и разного происхождения были выделены более 50 изолятов флюоресцирующих псевдомонад (в основном из Амурской и Воронежской областей), однако положительную реакцию при ПЦР анализе и проверке вирулентности на сое показали только

четыре штамма. Остальные были отнесены к сапрофитным видам рода или к группе видов *P. fluorescens*.

Выделение фагов проводили по общепринятым методам [3]. Для этого готовили почвенную вытяжку, которую смешивали с жидкой питательной средой и бактериальной суспензией тестовых штаммов *P. savastanoi* pv. *glycinea* в соотношении 1:10:1. Смесь ставили на шейкер-инкубатор и культивировали 24 часа при температуре 27°C. По происшествии указанного времени смесь центрифугировали при 10 тыс. об/мин, обрабатывали 0,5% об. хлороформа и перемешивали в течение часа. Суспензию, предположительно содержащую фаги, хранили при +4°C. Фаготипирование проводили капельным методом [3] с использованием исходных тестовых культур.

Всего из почв Ростовской и Амурской областей, Краснодарского и Хабаровского краев были выделены 4 изолята бактериофагов, обладающих литическим действием в отношении изучаемого фитопатогена. Фаготипирование выделенных изолятов показало, что наиболее широким спектром литической активности обладал изолят фG17, способный поражать большинство штаммов патогена, используемых в работе.

Проверку биологической эффективности бактериофагового препарата проводили на растениях сои сорта Батя (ДальНИИСХ), предварительно зараженных возбудителем бактериального ожога. Опыт проводили двукратно (в июне и августе). Биологическая эффективность применения суспензии фага фG17 составила в среднем по 2-м опытам 75% при сравнении с контролем без обработки. Различия в эффективности применения бактериофага и эталонного фунгицида Стрекар, КС (карбендазим+фитобактериомицин) были статистически недостоверны.

Таким образом, нами показана возможность контроля бактериального ожога с помощью бактериофагов. Применение данного препарата позволит снизить пестицидную нагрузку в агроценозе интенсивного типа и отказаться от бактерицидных пестицидов в органическом соеводстве.

Выполнено в рамках тематического плана-задания на выполнение научно-исследовательских работ Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования "Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева" по заказу Министерства сельского хозяйства Российской Федерации за счет средств федерального бюджета в 2020 году.

Библиографический список

1. Diseases of Soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) Glen L. Hartman, collator (last update:6/25/15)<https://www.apsnet.org/edcenter/resources/commonnames/Pages/Soybean.asp>.
2. Jagtap D. Bio-efficacy of different antibacterial antibiotic, plant extracts and bioagents against bacterial blight of soybean caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* // Scientific Journal of Microbiology. 2012. 1(1) P. 1-9

3. Бактериофаги: биология и практическое применение / Под ред. Э. Каттер, А. Сулаквелидзе // Пер. с англ. коллектив переводчиков; науч. ред. А.В. Летаров. – Москва: Научный мир, 2012. - 640 с.
4. Лазарев А.М., Арел и зона вредоносности угловатой пятнистости (бактериального ожога) сои // Пути повышения эффективности использования ресурсов зернобобовых в селекции. 2016. Санкт-Петербург. с. 72-74.

Development of bacteriophage agent for soyeam bacterial blight control

Tarakanov.R.I., Undergraduate

*Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy
127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya str., 49*

Ignatov A.N., D.Sc. in Biology

LLC “Research Center “PhytoEngineering”

143880 Russia, Moscow region, Rogachevo, Moskovskaya str. 58,

Russian University of People’s Friendship

117198, Russia, Moscow, Miklukho-Maklay str., 6

Dzhalilov F.S., D.Sc. in Biology

*Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy
127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya str., 49*

Abstract: *There is a description for the method for development of bacteriophage agent to control bacterial blight of soybean caused by Pseudomonas savastanoi pv. glycinea. Biological effectiveness of bacteriophage application was about 75% that was approximately the same as for test chemical bactericides.*

Key words: *Pseudomonas savastanoi pv. glycinea, bacteriophage, soybean bacterial blight, organic farming, biological control of plant diseases.*