

5. Мочалова А.Д. Спектрометрический метод определения серы в растениях // Сельское хоз-во за рубежом. – 1975. – №4. – С.17–21.
6. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, 1985. – 255 с.
7. Седелникова Л.Л. Декоративные многолетние растения в цветниках Новосибирского Научного центра СО РАН // Вестн. ИрГСХА. – 2011. – Вып. 44. – С. 164–170.
8. Цандекова О.Л. Влияние загрязнения выбросов автотранспорта на содержание общего азота в листьях рябины сибирской // Проблемы промышленной ботаники индустриально развитых регионов: матлы II Междунар. конф. – Кемерово, 2009. – С. 88–90.



УДК 632.9

Е.П. Ланкина, С.В. Хижняк, С.П. Кулижский

### ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СМЕШАННЫХ КУЛЬТУР ПСИХРОФИЛЬНЫХ И ПСИХРОТОЛЕРАНТНЫХ БАКТЕРИЙ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ОТ БОЛЕЗНЕЙ\*

*В результате анализа перспектив использования смешанных культур психрофильных и психротолерантных бактерий в защите растений от болезней выявлено, что данные бактерии могут быть использованы для эффективной биологической защиты растений в широком диапазоне температур в течение всего вегетационного периода.*

**Ключевые слова:** психрофильные бактерии, психротолерантные бактерии, фитопатогенные грибы, карстовые пещеры, смешанная культура, биологическая защита растений.

E.P. Lankina, S.V. Khizhnyak, S.P. Kulizhskiy

### THE USE PROSPECTS OF PSYCHROPHILIC AND PSYCHROTOLERANT BACTERIA MIXED CULTURES FOR PLANT BIOLOGICAL PROTECTION FROM DISEASES

*The use prospect analysis of psychrophilic and psychrotolerant bacteria mixed cultures in plant protection from diseases revealed that these bacteria can be used for effective biological plant protection in a wide range of temperatures during the whole vegetation season.*

**Key words:** psychrophilic bacteria, psychrotolerant bacteria, phyto-pathogenic fungi, karst caves, mixed culture, plant biological protection.

**Введение.** Резкое возрастание интенсивности загрязнения окружающей среды и снижение качества сельскохозяйственной продукции в результате применения химических средств защиты растений послужили стимулом внедрения биологического метода в практику защиты растений во всех странах мира [2–4, 6–9, 14]. В связи с тем, что микроорганизмы, входящие в существующие биопрепараты, далеко не всегда оказываются конкурентоспособными в природных условиях, поиск новых штаммов антагонистов и разработка новых подходов к биологической защите растений продолжают оставаться актуальными [1, 10, 13].

Ранее авторами было показано, что холодные карстовые пещеры могут служить источником штаммов для биологической защиты растений от фитопатогенных грибов. Микробные сообщества подобных пещер представлены бактериями и грибами, находящимися на различных стадиях эволюционной адаптации к низкотемпературным условиям [13, 17, 18]. В силу малоинтенсивного и нерегулярного притока субстрата в подобных сообществах наблюдается высокая субстратная конкуренция. При этом пещерным микроорганизмам приходится конкурировать не только между собой, но и с представителями почвенной бактериальной и грибной микрофлоры, поскольку поступающий с поверхности субстрат уже инфицирован почвенными микроорга-

\* Исследование проведено при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы (соглашение № 14.В37.21.2004).

низмами, в том числе теми, которые способны к росту в условиях пещеры. В этой связи в пещерных микробных сообществах высока доля штаммов, обладающих антибиотической активностью в отношении представителей наземной микробиоты. Всё перечисленное позволяет выделять в пещерах штаммы, способные эффективно защищать растения от фитопатогенов в широком диапазоне температур, включая низкие температуры начала вегетации, при которых обычные биопрепараты малоэффективны [9, 12, 16, 19–21].

**Цель** настоящей работы состояла в анализе перспектив использования смешанных культур психрофильных и психротолерантных бактерий в защите растений от болезней.

**Объекты и методы.** Источником пещерных бактерий служили образцы грунта из карстовых известняковых пещер Водораздельная (Березовский район Красноярского края), Маячная (Манский район Красноярского края) и Женевская (Емельяновский район Красноярского края). Выделение бактерий проводили на модифицированной среде Чапека, ПД-агара и олиготрофной среде, содержащей 50 мл ПД-агара, 50 мл модифицированной среды Чапека и 15 г агара микробиологического на 1 л среды. После проверки температурных пределов роста для дальнейшей работы отбирали психрофильные (верхний температурный предел роста до +26°C) и психротолерантные (верхний температурный предел роста до +35°C) изоляты.

Скорость роста изолятов при разных температурах определяли методом микрокультур на агаровых слайдах путём подсчёта клеток в микроколониях после нескольких часов культивирования. Для построения функций зависимости скорости роста от температуры использовали типовую модель [2, 11]

$$\mu = b \cdot T - T_{\min} \cdot 1 - \exp\left[c \cdot T - T_{\max}\right]^2, \quad (1)$$

где  $T_{\min}$  и  $T_{\max}$  – соответственно минимальная и максимальная температуры роста;  $\mu$  – удельная скорость роста, равная числу генераций в час;  $b$  и  $c$  – константы.

Количественную оценку антифунгальной активности проводили по ингибированию прорастания конидий фитопатогенных грибов *Bipolaris sorokiniana* в культуральном фильтрате исследуемых изолятов. Контролем служили конидии, помещённые в неинокулированную среду [5, 6, 10, 15]. В экспериментах использовали конидии с высокой степенью жизнеспособности (90–98%), при снятии результатов просматривали под микроскопом не менее 100 конидий в каждом варианте эксперимента. Статистическую значимость подавления прорастания конидий определяли по точному критерию Фишера для таблиц 2x2. К антагонистам относили штаммы, в культуральном фильтрате которых наблюдалось статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение процента прорастания конидий *B. sorokiniana* относительно контроля после 6 часов инкубирования при 28°C (экспериментально определённое время, достаточное для прорастания всех жизнеспособных конидий). Изоляты, подавляющие прорастание конидий на 75–100%, относили к сильным антагонистам; изоляты, подавляющие прорастание тест-культуры менее чем на 75%, – к слабым антагонистам.

Для экспериментов по совместному росту изолятов в смешанной культуре подбирали изоляты, различающиеся по морфологии клеток и температурным диапазонам роста, являющиеся сильными антагонистами в отношении *B. sorokiniana*. Совместный рост изолятов при разных температурах изучали методом микрокультур на агаровых слайдах.

**Результаты и их обсуждение.** Относительная встречаемость сильных антагонистов среди выделенных из пещер психрофильных и психротолерантных изолятов варьировала от 13 до 30%. Максимальная встречаемость антагонистов отмечена в пещерных грунтах, характеризующихся исторически длительным (судя по костным останкам – с плейстоцена), но малоинтенсивным поступлением экзогенного органического вещества. Мы полагаем, что это связано с длительной эволюцией в условиях жёсткого субстратного лимитирования, когда способность продуцировать антибиотики становится важным эволюционным преимуществом.

Минимальная встречаемость антагонистов отмечена в участках пещер с высоким уровнем антропогенного загрязнения, что подтверждает ранее полученные авторами данные [20]. Можно предположить, что, благодаря высокому притоку органического вещества, в подобных участках снижается конкуренция за субстрат и создаются условия для развития штаммов, не обладающих антибиотической активностью.

Ряд пещерных изолятов, являющихся сильными антагонистами в отношении *B. sorokiniana*, проявили способность к росту в совместной культуре. При этом в случае, если температурные диапазоны роста изолятов различаются, их соотношение в культуре зависит от температуры культивирования (рис. 1).

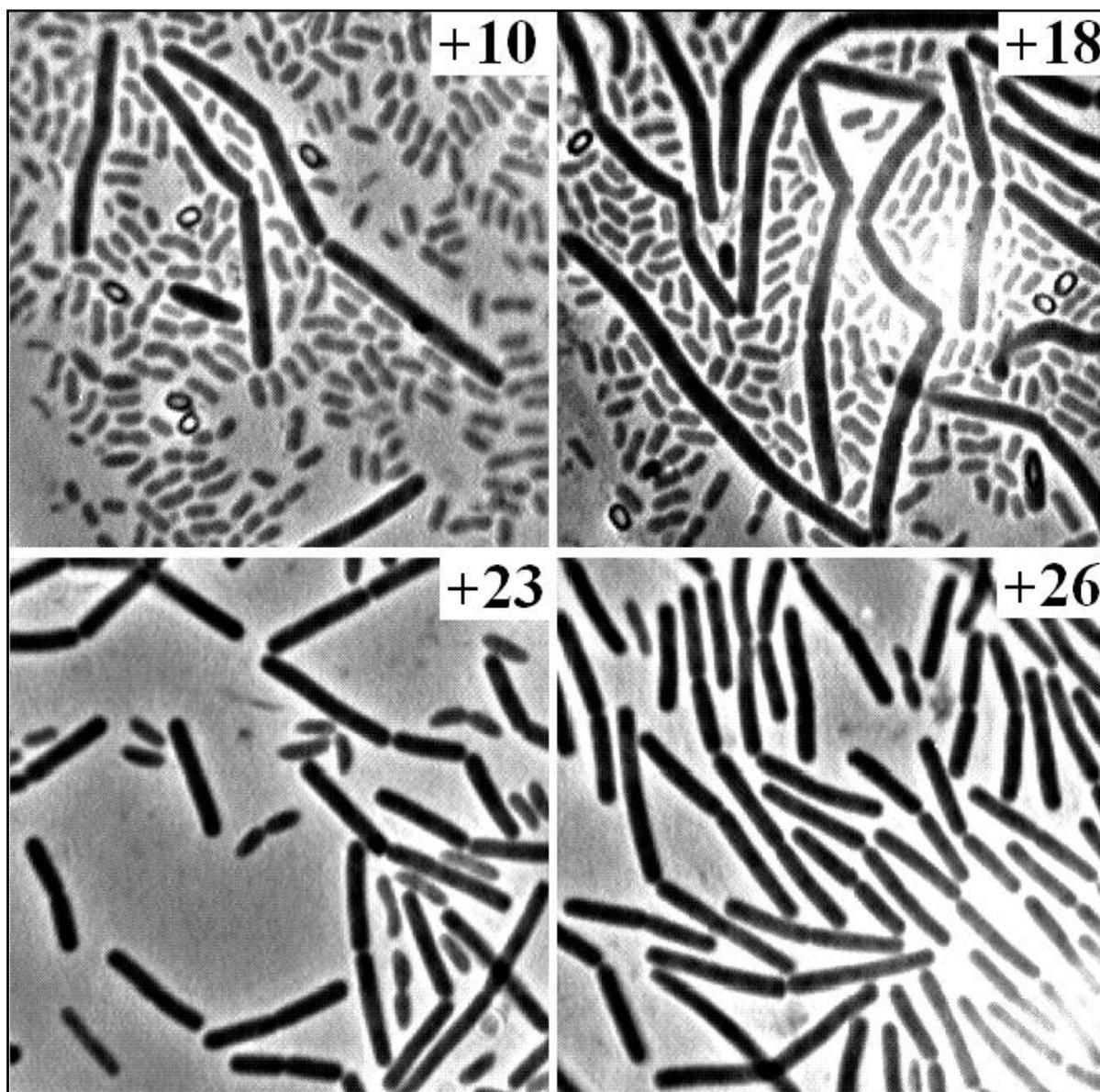


Рис. 1. Влияние температуры на соотношение психрофильного и психротолерантного изолятов в смешанной культуре на примере ВДР-5м (мелкие палочки) и ВДР-5кр (крупные палочки), 24-часовая культура на агаровом слайде

Это открывает возможность создания комбинированных биопрепаратов из психрофильных и психротолерантных изолятов, которые будут эффективны в широком диапазоне температур. Динамика роста бактерий в таком случае, при условии постоянного притока субстрата (например, за счёт корневых выделений растений), может быть описана системой уравнений:

$$\frac{dS}{dt} = S_0 - \left( \frac{1}{Y_m} \cdot \mu_{\max m}(T) \cdot \frac{S}{K_{Sm} + S} \cdot X_m + \frac{1}{Y_p} \cdot \mu_{\max p}(T) \cdot \frac{S}{K_{Sp} + S} \cdot X_p \right);$$

$$\frac{dX_m}{dt} = \mu_{\max m}(T) \cdot \frac{S}{K_{Sm} + S} \cdot X_m - \varepsilon_m \cdot X_m;$$

$$\frac{dX_p}{dt} = \mu_{\max p}(T) \cdot \frac{S}{K_{Sp} + S} \cdot X_p - \varepsilon_p \cdot X_p, \quad (2)$$

где  $S$  – количество субстрата;  $S_0$  – приток субстрата;  $X_m$  и  $X_p$  – биомассы первого и второго штаммов;  $T$  – температура;  $\mu_{\max m}(T)$  и  $\mu_{\max p}(T)$  – максимально возможные при данной температуре скорости размножения первого и второго штаммов;  $K_{Sm}$  и  $K_{Sp}$  – константы Михаэлиса;  $\varepsilon_m$  и  $\varepsilon_p$  – удельные скорости гибели первого и второго штаммов;  $Y_m$  и  $Y_p$  – экономические коэффициенты соответственно психротолерантного и психрофильного изолятов.

Компьютерный анализ модели с использованием экспериментально полученных зависимостей скоростей роста пещерных изолятов от температуры на основе (1) показал, что в условиях характерного для условий Сибири постепенного роста температуры почвы в период вегетации с  $+5^\circ\text{C}$  до  $+25\dots+30^\circ\text{C}$  смешанный препарат будет иметь преимущество перед препаратами, составленными из чистых культур. Это достигается за счёт преимущественного роста сначала психрофильного, а затем – психротолерантного изолята (рис. 2).

Как видно из результатов анализа, одновременное присутствие в биопрепарате психрофильного и психротолерантного изолятов обеспечивает высокую суммарную численность бактерий в течение всей вегетации в широких температурных пределах.

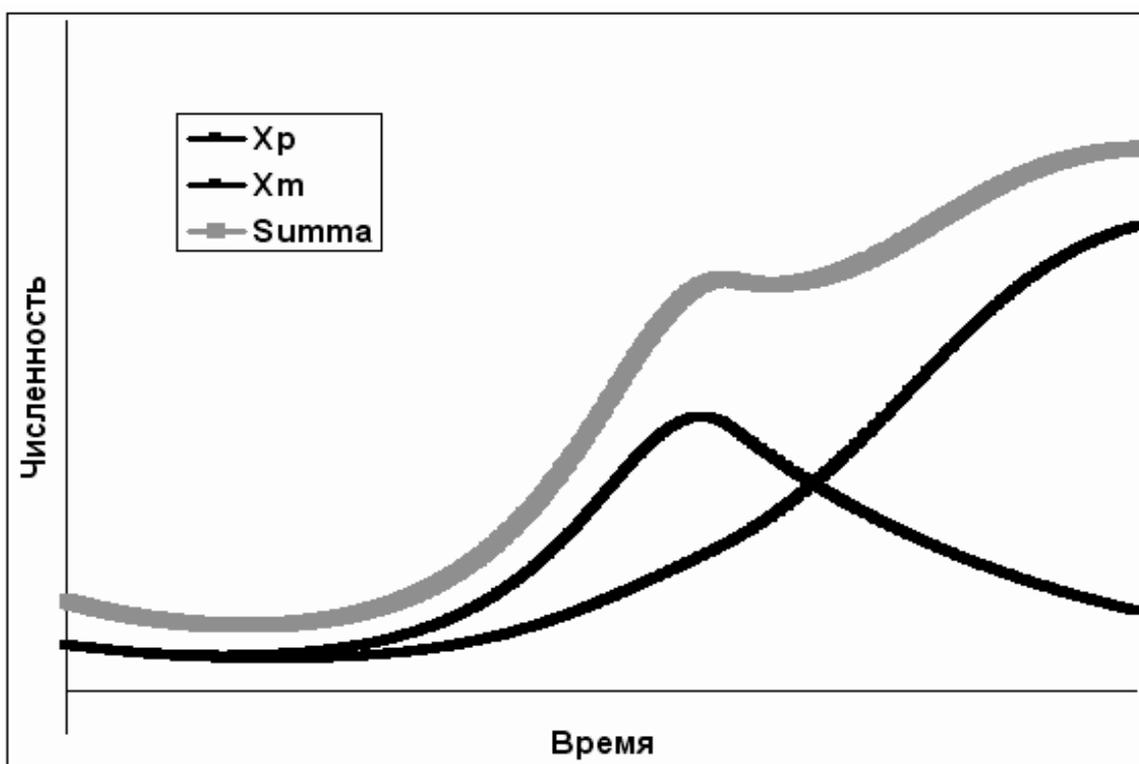


Рис. 2. Динамика численности психрофильного ( $X_p$ ), психротолерантного ( $X_m$ ) изолятов и их суммарной численности ( $Summa$ ) в условиях постоянного притока субстрата и роста температуры в течение вегетации от  $+5$  до  $+30^\circ\text{C}$

### Выводы

1. Выделенные из пещер психрофильные и психротолерантные изоляты, проявляющие высокий антагонизм в отношении фитопатогенного гриба *B. sorokiniana*, способны к росту в совместной культуре.
2. Предложена модель, описывающая динамику роста психрофильного и психротолерантного изолятов в совместной культуре в условиях меняющихся температур.

3. Одновременное присутствие в биопрепарате психрофильного и психротолерантного изолятов обеспечивает высокую суммарную численность бактерий и, как следствие, эффективную защиту растений в течение всей вегетации.

#### Литература

1. *Evans J.* Biopesticide, biocontrol and semiochemical markets. – UK, Richmond : PIB Publications Ltd. – 2004. – 123 p.
2. *Methanogenium frigidum* sp. nov., a Psychrophilic, H<sub>2</sub>-Using Methanogen from Ace Lake, Antarctica / *D.P. Franzmann, Y. Liu, L.D. Balkwill* [et al.] // *International Journal of Systematic Bacteriology*. – 1997. – Vol.47. – № 4. – P. 1068–1072.
3. *Harris I., Dent D.* Priorities in biopesticide research and development in developing countries. – UK: CABI Bioscience Centre, Ascot. CABI Publishing. – 2000. – 70 p.
4. *Hoda A. Hamed, Yomna A. Moustafa and Shadia M. Abdel-Aziz.* In vivo Efficacy of Lactic Acid Bacteria in Biological Control against *Fusarium oxysporum* for Protection of Tomato Plant // *Life Science Journal*. – 2011. – №8. – P. 462–468.
5. *Kope H.H., Fortin J.A.* Antifungal activity in culture filtrates of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* // *Canadian Journal of Botany*. – 1990. – Vol. 68. – P. 1254–1259.
6. An Antibiotic Complex from *Lysobacter enzymogenes* Strain C3: Antimicrobial Activity and Role in Plant Disease Control / *S. Li* [et al.] // *Phytopathology*. – 2008. – Vol. 98. – P. 695–701.
7. *Montesinos E.* Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection // *Int. Microbiol.* – 2003. – № 4. – P. 245–252.
8. *Perelló A.E.* Status and progress of biological control of wheat (*Triticum aestivum* L.) foliar diseases in Argentina // *Fitosanidad*. – 2007. – №11. – P. 15–25.
9. Field assessment of two strains of cold-adapted bacteria isolated from cave microbial community as biological agents for protection of cereals in Siberia / *V.K. Purlaur* [et al.] // *Найновите постижения на европейската наука – 2011: материали за vii международна научна практическа конференция*. 17–25.06.2011: Т. 32. Микробиология. Биологии / Бял ГРАД-БГ ООД. – София, 2011. – С. 79–82.
10. *Rajeswari P., Kannabiran B.* In Vitro Effects of Antagonistic Microorganisms on *Fusarium oxysporum* Infecting *Arachis hypogaea* L. // *Journal of Phytology*. – 2011. – Vol. 3. – P. 83–85.
11. Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range / *D.A. Ratkowsky, R.K. Lowry, T.A. McMeekin* [et al.] // *J. Bacteriol.* – 1983. – №154. – P. 1222–1226.
12. *Коломиец Э.И.* Средства биологического контроля патогенов растений и животных: подходы к повышению эффективности и конкурентоспособности // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр.* – 2007. – № 1. – С. 155–170.
13. *Ланкина Е.П., Хижняк С.В., Кимм А.А.* Перспективы использования пещеры Маячная в качестве источника психрофильных и психротолерантных бактерий // *Вестн. КрасГАУ*. – 2009. – № 8. – С. 69–71.
14. *Монастырский О.А.* Современные проблемы и решения создания биопрепаратов для защиты сельскохозяйственных культур от возбудителей болезней // *Агро XXI*. – 2009. – № 7. – С. 3–5.
15. *Нестеренко Е.В.* Микромицеты карстовых полостей Средней Сибири: автореф. дис. ... канд.биол. наук: 32.00.16. – Красноярск: Изд-во КрасГАУ, 2007. – 19 с.
16. *Павлюшин В.А.* Проблемы фитосанитарного оздоровления агроэкосистем // *Вестн. защиты растений*. – 2011. – № 2. – С. 3–9.
17. *Хижняк С.В.* Микробные сообщества карстовых пещер Средней Сибири: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.16. – Красноярск: Изд-во КрасГАУ, 2009. – 32 с.
18. Психрофильные и психротолерантные гетеротрофные микроорганизмы карстовых полостей Средней Сибири / *С.В. Хижняк* [и др.] // *Экология*. – 2003. – № 4. – С. 261–266.
19. *Хижняк С.В., Ланкина Е.П., Илиенц И.Р.* Оценка эффективности психрофильных пещерных микроорганизмов в биологической борьбе с обыкновенной корневой гнилью зерновых // *Вестн. КрасГАУ*. – 2009. – № 6. – С. 49–52.

20. Хижняк С.В., Илиенц И.Р., Ланкина Е.П. Связь между уровнем антропогенной нагрузки и антибиотической активностью пещерной микробиоты // Вестн. КрасГАУ. – 2009. – № 7. – С. 52–55.
21. Штерншиц М.В. Роль и возможности биологической защиты растений // Защита и карантин растений. – 2006. – № 6. – С. 14–16.



УДК 502.75

И.С. Майоров

### МЕХАНИЗМ РЕАЛИЗАЦИИ УСТОЙЧИВОГО РАЗВИТИЯ НА МОРСКИХ ПОБЕРЕЖЬЯХ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ

*Реализация концепции устойчивого развития потребовала создания механизма ее реализации, которым становится устойчивое природопользование, основанное на возобновляемых биологических ресурсах, использовании неисчерпаемых источников энергии и применении наукоемких и экофильных технологий.*

**Ключевые слова:** устойчивое природопользование, адаптивное биоресурсное природопользование, механизм реализации устойчивого развития, возобновляемые ресурсы.

I.S. Mayorov

### THE IMPLEMENTATION MECHANISM OF STEADY DEVELOPMENT ON THE SEA COASTS OF THE RUSSIAN FAR EAST

*The steady development concept implementation has demanded its realization mechanism development where the steady wildlife management based on renewed biological resources, inexhaustible energy source use, science intensive and nature protection technology application starts to be this mechanism.*

**Key words:** steady nature management, adaptive bio-resource nature management, the steady development implementation mechanism, renewed resources.

---

Анализ многочисленных работ дальневосточных ученых, исследующих береговую зону Дальнего Востока России [6,7], показал, что развитие в столь динамичной зоне контакта глобального уровня «суша-море» по прежним природопользовательским схемам невозможно. Это природопользование наносит невосполнимый ущерб уникальным ландшафтам, угрожает здоровью населения и лишает возможности дальнейшего устойчивого развития по принятым международным сообществом соглашениям. Решение проблемы, по нашему мнению, – в использовании многообразных возобновимых, и прежде всего сверхбыстрозобновимых и быстрозобновимых биологических ресурсов. Это природопользование, которое нами названо **адаптивным биоресурсным**, сможет обеспечить решение экономических, социальных и экологических проблем с сохранением природного комплекса [5].

Актуальность исследований в этой области чрезвычайно высока, поскольку эти исследования имеют исключительно важное теоретическое и прикладное значение, особенно при оценке экологического состояния территорий и акваторий, обосновании конкретных практических рекомендаций, разработке различных схем природопользования и принятии оптимальных управленческих решений.

**Цель исследования.** Обоснование механизма реализации адаптивного биоресурсного природопользования на морских побережьях Дальнего Востока России на основе разработанных нами природно-центрированных моделей.

Проанализированные материалы (литературные и фондовые источники, ресурсы Интернета) позволили выявить основные направления для получения природопользовательских схем и моделей, позволяю-