

Динамика роста *B. subtilis* БИМ В-262 при глубинном культивировании в лабораторном ферментере АН-КУМ-2М

Длительность культиви-рования, ч	Свободные РВ*, г/л	Биомасса г/л	μ, ч ⁻¹	Титр, п/мл		Диаметр зоны задержки роста, мм	
				клеток	спор	<i>Pseudomonas syringae</i> 3-3	<i>Fusicladium dendriticum</i> Str
Интенсивность аэрации 1 л/л среды/мин							
0	0,1	0,68	-	1,8·10 ⁶	-	-	-
2	0,2	1,3	-	2,3·10 ⁶	-	12,0	13,5
4	1,5	2,2	0,19	1,8·10 ⁸	1,0·10 ⁵	14,0	14,2
6	10,2	2,5	0,35	4,4·10 ⁹	1,9·10 ⁶	14,4	15,0
8	9,9	3,6	0,2	7,5·10 ⁹	3,0·10 ⁷	15,5	19,6
12	6,4	4,0	0,18	1,5·10 ¹⁰	5,0·10 ⁷	21,0	25,2
24	4,6	4,9	0,08	7,4·10 ¹⁰	2,8·10 ⁸	26,6	33,6
36	4,6	4,9	0,01	8,2·10 ¹⁰	2,4·10 ⁹	30,0	40,0
48	4,3	5,1		8,0·10 ¹⁰	3,0·10 ⁹	29,5	39,2
60	3,8	5,0		8,2·10 ¹⁰	4,1·10 ⁹	27,1	38,6
72	3,2	5,1		8,6·10 ¹⁰	4,4·10 ⁹	27,5	37,4
Интенсивность аэрации 0,5 л/л среды/мин							
0	-	0,72	-	1,6·10 ⁶	-	-	-
2	6,0	1,9	-	1,7·10 ⁶	-	-	-
4	5,2	2,9	-	1,5·10 ⁷	-	13,2	11,0
6	6,8	3,2	0,07	2,3·10 ⁸	-	13,8	12,6
8	5,7	3,5	0,15	2,4·10 ⁸	4,0·10 ⁵	14,9	15,3
12	4,4	3,8	0,25	3,7·10 ⁸	1,8·10 ⁷	18,6	18,2
24	4,6	4,1	0,17	6,7·10 ⁹	5,4·10 ⁸	23,5	28,4
36	4,3	4,4	0,005	4,8·10 ¹⁰	6,3·10 ⁸	27,4	38,5
48	3,8	4,5		8,1·10 ¹⁰	2,1·10 ⁹	27,1	36,1
60	3,2	4,5		6,3·10 ¹⁰	2,9·10 ⁹	24,2	36,0
72	2,7	4,5		6,6·10 ¹⁰	3,6·10 ⁹	23,9	35,8

*- количество общих сахаров в исходной среде (после кислотного гидролиза) составляет 15,0 г/л

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Смирнов В.В., Осадчая А.И., Кудрявцев В.А., Сафронова Л.А. Рост и спорообразование *Bacillus subtilis* в различных условиях аэрации // Микробиол. журнал. - 1993. - 55, № 3.-С. 38-44.
- Перт С.Дж. основы культивирования микроорганизмов и клеток. М.: Мир, 1978.- 331 с.

УДК 632.95+632.937.15

ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ ИНТЕГРИРОВАННОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР ОТ ПАРШИ

Коломиец Э.И., Чикилёва А.Е., Григорьевич Л.Н.*

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*Белорусский государственный технологический университет, Минск, Беларусь

Повышающийся спрос на экологически чистую сельскохозяйственную продукцию и потребность в новых более безопасных и эффективных методах борьбы с болезнями растений, делают биологические препараты перспективной альтернативой химическим средствам [1, 2]. Однако, несмотря на ряд преимуществ и фитозащитный потенциал, биопестициды не получили пока широкого распространения и не могут полностью заменить химические препараты, главным образом из-за того, что эффективность их действия не всегда стабильна. Сложность взаимодействий в системе "растение-патоген", а также влияние комплекса биотических и абиотических факторов могут стать причинами неудач при использовании биологических агентов. В частности, известны случаи инактивации биологических препаратов химическими пестицидами [3]. Между тем, интегрированные системы защиты предусматривают комплексное использование химических, биологических и агротехнических приемов для борьбы с вредоносными объектами. В связи с этим в последнее время уделяется большое внимание отбору микроорганизмов-антагонистов и энтомопатогенов, резистентных к химическим препаратам, что обеспечивает возможность совместного применения химических и биологических средств защиты растений. Такой интегрированный подход направлен на снижение пестицидной нагрузки при одновременном повышении эффективности контроля патогенов или вредителей [4, 5].

Целью настоящей работы явилась разработка принципов интегрированной защиты плодовых культур от парши с использованием биологического препарата «Биактин» (на основе *Streptomyces griseoviridis* БИМ В-264-R^{su}) и фунгицидов азофоса (65% п.с.) и вектра (100 г/л к.с.).

Исследование возможности и перспективности совместного применения биологического и химических агентов защиты проведены в лабораторных условиях на агаризованных средах и модельных опытах с почвой.

Согласно результатам, полученным при выращивании *S. griseoviridis* БИМ В-264 на агаризованных питательных средах с добавкой фунгицидов (табл. 1), последние в испытанной концентрации не оказывают выраженного ингибирующего действия на рост исследуемой культуры – размеры колоний актиномицета в опытных и контрольном вариантах отличаются незначительно. Вместе с тем, в присутствии фунгицидов отмечено некоторое угнетение спорообразования культуры. Кроме того, на средах с азофосом изменяется внешний вид колоний, они становятся менее плотными и приобретают синеватый оттенок, возможно, из-за аккумуляции сульфата меди, входящего в состав этого фунгицида.

Таблица 1

Влияние химических фунгицидов на рост *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} и *F. dendriticum* V₂₋₂ на агаризованной питательной среде *

Штамм	Диаметр колоний, мм						НСР (α=0,05)
	Контроль	1	2	3	4	5	
<i>S. griseoviridis</i>	12,3±0,7	11,25±0,4	12,4±0,4	-	-	-	0,4
<i>F. dendriticum</i>	16,7±0,5	24,7±0,7	13,4±0,9	5,5±0,6	5,5±0,6	5,5±0,6	0,9

*Контроль – среда без добавок; 1,2,3,4,5 – среда с добавками азофоса (12 мг/мл); вектры (0,3 мг/мл); азофоса (12 мг/мл) и КЖ *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} (0,05 мл/мл); вектры (0,3 мг/мл) и КЖ *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} (0,05 мл/мл); КЖ *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} (0,05 мл/мл) соответственно. Результаты учитывали на 14-е сутки.

В отношении возбудителя парши, гриба *F. dendriticum* V₂₋₂, в опытах на агаризованных средах показано, что его развитие сдерживается фунгицидом вектра на 20 %, тогда как азофос не только не ингибирует, а наоборот стимулирует рост гриба практически на 50 %. Вместе с тем, конидиальное спороношение гриба под действием азофоса полностью подавляется. Добавление в среду культуральной жидкости *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str}, как в отдельности, так и в сочетании с химическими препаратами, обеспечивает наиболее эффективный контроль патогена (размер колоний снижается на 67%).

Для оценки влияния фунгицидов на антифунгальную активность *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} культуральную жидкость актиномицета наносили в центр чашки на поверхность среды, предварительно инокулированной фитопатогенным грибом и содержащей разные концентрации фунгицидов. Согласно данным табл. 2, фунгицид вектра, не зависимо от его концентрации в среде, способствует увеличению зон лизиса патогена вокруг колоний антагониста в среднем на 30 % и приводит к подавлению развития воздушного мицелия *F. dendriticum* V₂₋₂ по всей поверхности чашки. Полученные результаты свидетельствуют, что совместное применение биологического и химического агентов может обеспечить более высокий фитозащитный эффект, чем раздельное их использование. При культивировании антагониста на агаризованной среде с азофосом, практически не ингибирующим рост возбудителя парши, статистически достоверного увеличения антифунгального действия *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} не отмечено.

Таблица 2

Зоны ингибирования роста фитопатогенного гриба *F. dendriticum* V₂₋₂ под действием *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} (1), а также при совместном действии антагониста и химических фунгицидов (2, 3)

Вариант среды	Диаметр зон лизиса фитопатогена	
	мм	%
1. Контроль (агаризованная среда без фунгицидов, инокулированная <i>F. dendriticum</i> V ₂₋₂)	17,6	100
2. Как 1, но с добавкой фунгицида вектра, мг/мл:		
0,15	22,8	130
0,30	23,0	130
3. Как 1, но с добавкой азофоса, мг/мл:		
6	18,0	104
12	18,4	102
НСР (α=0,05)	1,3	6,6

Таким образом, из данных, представленных в табл. 2, можно сделать вывод, что, испытанные фунгициды не снижают антагонистическую активность *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} в отношении фитопатогенного гриба *F. dendriticum* V₂₋₂, что свидетельствует о принципиальной возможности включения биологического препарата «Биактин» в систему интегрированной защиты яблони от парши.

Модельные опыты свидетельствуют о высокой приживаемости интродуцированной культуры *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} в почве. Причем добавление в почву азофоса способствует приросту численности актиномицета на 31-68 % по сравнению с контролем, тогда как в вариантах с фунгицидом вектра титр *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} снижается в среднем на 50%.

Сравнительный анализ действия антагониста, фунгицидов и их комбинаций на популяцию *F. dendriticum* V₂₋₂ в почве, показал, что наиболее эффективный контроль патогена (снижение титра спор гриба на 87%) достигается при совместном использовании фунгицида вектра и «Биактина», тогда как раздельное применение этих препаратов приводит к снижению их эффективности соответственно до 82 и 50 %. Азофос, как и в опытах на агаризованных питательных средах, стимулирует рост *F. dendriticum* V₂₋₂, поэтому антифунгальный эффект, наблюдаемый при комбинации указанного фунгицида с «Биактином», по всей вероятности, обусловлен только биологическим препаратом, что служит дополнительным подтверждением высокой активности *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str} и резистентности к данному фунгициду.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что азофос, несмотря на активизацию роста *S. griseoviridis* БИМ В-264-R⁺_{Str}, не оказывает заметного влияния на его антифунгальную активность. Фунгицид век-

тра, напротив, несколько ингибирует рост актиномицета, но в условиях совместного применения с биопрепаратом обеспечивает наиболее эффективный контроль возбудителя парши яблони. Таким образом, биологический препарат «Биактин» и фунгицид вектра могут быть рекомендованы для интегрированной защиты плодовых культур от парши.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Emmert E., Handelsman // J. FEMS Microbiol. Letters, 1999. – V. 171. – P.1-9.
2. Elad Y., Malathrakis N., Dik A. // Crop Protect., 1996. – V.15, N 3. – P.229-240.
3. Melero-Vara J.M., Prados-Ligero A.M., Basallote-Ureba M.J. // Eur. J. Plant Pathol., 2000. – V.106. – P.581-588.
4. McQuilker M.P., Gemmel J. // J. Phytopathol., 2001. – V.149. – P.171-178.
5. Kondoh M., Hirai M., Shoda M. // Biotechnol. Letters, 2000. – V.22. – P.1693-1697.

УДК 582.095

ЙОДИРОВАНИЕ ЦИАНОБАКТЕРИИ *SPIRULINA PLATENSIS* (GOM.) GEITLER В ПРОЦЕССЕ ЕЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В ФОТОБИОРЕАКТОРЕ ЗАКРЫТОГО ТИПА.

Котинский А.В., Чернухина Л.А., Донченко Г.В.

Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины, г. Киев, Украина

В последнее время в большинстве стран мира возрастает интерес к новым нетрадиционным источникам биологически активных веществ. В качестве продуцента этих веществ может быть с успехом использована культура цианобактерии (синезеленой микроводоросли) *Spirulina platensis* (далее спирулина). Спирулина содержит уникальный комплекс необходимых организму человека компонентов [1-3], в частности способна синтезировать йодсодержащие соединения гормональной природы – тироксин и трийодтиронин [4, 5], которые легко и эффективно усваиваются человеческим организмом.

В связи с недостаточным обеспечением населения йодопродуктами возрастает уровень йодозависимых заболеваний [6, 7]. Учитывая это, очень важной является разработка эффективной технологии получения йодированной биомассы спирулины, как естественного источника легкоусваиваемого йода и биологически активных веществ.

Культуру цианобактерии выращивали в разработанном нами горизонтальном плоскостном аэролифтомном фотобиореакторе закрытого типа [8], который обеспечивает оптимальные условия культивирования.

Процесс культивирования спирулины осуществляли на модифицированной питательной среде Заррука [9] с дробным внесением определенного количества йодида калия и нитрата кобальта при освещенности $8,0 \pm 0,2$ кЛк, температуре $31,5 - 33^{\circ}\text{C}$, pH среды $10,0 - 10,5$. В среду внесли 1,2; 6,0; 12,0; 30,0 и 60,0 мкМ йода. Количественное содержание йода в биомассе спирулины проводили согласно ГОСТ 26185-84 [10].

Результаты исследований показали, что внесение в питательную среду ионов йода в количестве 12,0 мкМ максимально интенсифицирует процесс биосинтеза спирулины. Дальнейшее увеличение концентрации ионов йода до 30,0 мкМ привело к снижению продуктивности культуры и содержания белка. Максимальное накопление йода – 112,0 мг/100 г сух.вещ. – наблюдалось при внесении 60,0 мкМ йода.

Использование только ионов йода не позволило получать биомассу спирулины с большим содержанием йода, то есть получать концентрированный источник органически связанного йода.

Изучали влияние на йодаккумуляционную способность спирулины разных концентраций йода в комбинации с источником кобальта, как одним из факторов, влияющих на синтез белка, в определенных соотношениях.

Одновременное дробное внесение в питательную среду ионов йода и кобальта способствовало адаптации спирулины к высоким концентрациям ионов йода – 30,0 мкМ. Наибольшая продуктивность культуры при данной концентрации йода была в соотношении $\text{J}^- : \text{Co}^{2+} = 1:2$ и $1:1$.

Наибольшее содержание белка – 75,0% сух.вещ. было получено при внесении в среду по 60,0 мкМ йода и кобальта (в соотношении $1:1$).

Результаты экспериментов показали, что содержание йода в биомассе спирулины в значительной мере зависит как от концентрации йода, так и от соотношения внесенных в среду ионов йода и кобальта.

При внесении йода в небольших концентрациях (1,2; 6,0 и 12,0 мкМ) наибольшее его накопление наблюдалось при соотношении $\text{J}^- : \text{Co}^{2+} = 0,5$. При внесении 12,0 мкМ йода и 24,0 мкМ кобальта максимальное содержание йода в биомассе спирулины составляло 127,1 мг/100 г сух.вещ., что почти в 2,6 раза больше, чем при использовании такой же концентрации йода, только без кобальта.

Внесение высоких концентраций йода от 30,0 до 60,0 мкМ в соотношении к кобальту $1:1$ максимально повышало йодаккумуляционную способность спирулины. Так, внесение 30,0 мкМ йода и 30,0 мкМ кобальта позволило получить биомассу с содержанием йода – 297,6 мг/100 г сух.вещ., что в 3,3 раза больше, нежели при культивировании с йодом (90,6 мг/100 г сух.вещ.).

Максимальное содержание йода в биомассе спирулины – 500,0 мг/100 г сух.вещ. – было получено при внесении в среду по 60,0 мкМ йода и кобальта, что в 4,5 раза больше, нежели при внесении только йода (112,0 мг/100 г сух.вещ.).

Таким образом, нами показано, что внесение в культуральную среду ионов йода и кобальта в определенных концентрациях и соотношениях позволяет регулировать содержание йода в биомассе спирулины.

Проведенный биохимический анализ биомассы спирулины показал, что внесение только ионов йода в концентрации 60,0 мкМ способствует увеличению содержания аскорбиновой кислоты на 12%, по сравнению с контролем, и содержанию содержания каротиноидов на 33%. Внесение кобальта в той же концентрации значительно повыша-