
БИОЛОГИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ В БОРЬБЕ С ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКИМИ НЕМАТОДАМИ, ДРУГИМИ ПАТОГЕНАМИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В XXI ВЕКЕ

**Н.Д. Романенко¹, В.Г. Заец², Н.И. Козырева¹,
И.О. Попов¹, С.Б. Таболин¹**

¹Институт паразитологии РАН
Ленинский пр., 33, Москва, Россия, 117071

²Кафедра ботаники, физиологии, патологии растений и агробиотехнологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

С целью разработки экологически безопасных и энергосберегающих способов защиты растений в последние годы интенсивно изучаются коллекции штаммов бактерий и грибов-антагонистов, обладающих комплексной фунгицидной, бактерицидной и нематодцидной активностью. Проводится их поиск в различных фитоценозах и регионах России. В результате лабораторных, вегетационных и полевых исследований впервые выделены штаммы бактерий из родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, обладающие не только фунгицидным, бактерицидным и нематодцидным эффектами, регулирующими численность нематод-вирусоносителей, но и антивирусным действием, включая вирусы, переносимые нематодами-лонгидоридами и триходоридами. Выделенные штаммы обладают стимулирующим действием на рост, вегетативную продуктивность и урожай различных видов тест-растений. Они могут рассматриваться в качестве природных регуляторов, снижающих численность и распространение в различных почвенных биоценозах нематод-вирусоносителей.

В последние десятилетия исследователи больше внимания уделяют разработке и использованию средств, обладающих полифункциональной активностью, созданных на основе микроорганизмов (бактерии, вирусы, грибы, простейшие), энтомопатогенных нематод, феромонов насекомых и др. [3; 13; 36; 37; 41; 42; 43]. Это связано с тем, что насекомые, клещи и другие вредные организмы начали приобретать устойчивость к пестицидам, что заметно снизило их эффективность. Поэтому специалисты обратили внимание на биологические пестициды широкого спектра действия, которые безопасны для человека и животных, пчел, энтомофагов и в целом для окружающей среды. Кроме того, благодаря исследованиям молекулярных механизмов взаимоотношений нематод и растений формируется перспективное направление в защите растений от нематод, направленное на повышение иммунитета растений. Это — использование природных растительных соединений с адаптогенными свойствами, элиситоров и сигнальных молекул в качестве индукторов иммунитета и конструирование трансгенных растений с повышенной устойчивостью к паразитическим нематодам [4].

В полевом опыте, проведенном в Индии при изучении влияния хитинового почвоулучшателя на динамику численности и вредоносность фитопаразитических нематод, нематод-микофагов и хищных нематод, было отмечено около 90% личинок рода *Xiphinema* и других дориламид, пораженных грибом *Rhizium* mid-

dletoni, вызвавшим их гибель. Из зараженных нематод была получена культура гриба на маисовом и молочном питательном агаре. При температуре 25 °С через 5 дней наблюдали заражение личинок *Xiphinema* spp. грибом, а уже на 10-й день все тело личинок было пронизано гифами гриба. В течение следующих 5 дней появлялись зооспорангии на верхушках гифов [14]. Полагают, что биологический метод борьбы с нематодами имеет определенные перспективы, но он не может быть полностью реализован до тех пор, пока не будет выяснена и не станет управляемой микробиологическая экология почв [14; 22; 35; 36; 41; 43; 44]. Многочисленная и разнообразная микрофлора и микрофауна содержат паразитов, хищников и патогенов фитонематод. Многократно показано, что паразиты, хищники и патогены влияют на численность фитонематод и потери от них урожая. Кроме того, установлено, что естественные враги нематод обычно размножаются и сохраняются на органическом веществе, продукты разложения которого также токсичны для нематод [14; 22; 35; 36; 41; 43; 44].

Отходы земледелия, лесоводства, рыболовства и промышленности (опилки, бумага, хитин, активированный отстой сточных вод и другие органические почвоулучшатели) подавляли нематод при заделке их в почву [14; 22; 35; 36; 43]. Очевидно, эти и другие биологически разлагаемые отходы производства, используемые в различных комбинациях и усиленные коммерческим удобрением, можно будет пропускать через почву и обеспечивать определенный уровень подавления нематод и болезней. Тем не менее, было продемонстрировано, что биологический метод сам по себе может обеспечивать высокий уровень подавления фитопаразитических нематод, включая нематод — переносчиков вирусов — лонгидорид и триходорид [21; 22]. Однако было показано, что произвольное использование агентов биологической борьбы или органических почвоулучшателей без изучения всего биологического разнообразия почвенного биоценоза не всегда способствует надлежащему подавлению нематод. Практическая биологическая борьба с нематодами должна предусматривать способность регулирования почвенного биоценоза в зависимости от его составляющих компонентов [14; 21; 22]. Специалисты предсказывают, что потребление синтетических пестицидов в сельском хозяйстве постепенно будет снижаться, а использование биологических — увеличиваться [19; 20; 21; 22; 25]. Подтвердился прогноз, сделанный учеными на конференции по защите сельскохозяйственных культур, проходившей в 1984 г. в г. Брайтоне (Великобритания), о развитии биологических методов борьбы. Предполагалось тогда, что в начале XXI века более половины всего производства и продажи средств защиты растений составят микробиологические препараты [2]. По их мнению, эта оптимистическая программа будет осуществима благодаря использованию в разработке биологических препаратов и методов генной инженерии [14]. Эти прогнозы в настоящее время полностью оправдались в ряде развитых стран мира [2]. С целью разработки экологически безопасных и энергосберегающих способов защиты растений в настоящее время интенсивно изучаются коллекции штаммов бактерий и грибов-антагонистов, обладающих комплексной фунгицидной, бактерицидной и нематодцидной активностью, проводится их

поиск в различных фитоценозах и регионах России. В результате лабораторных, вегетационных и полевых исследований впервые выделены штаммы бактерий из родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, обладающие не только фунгицидным, бактерицидным, нематодцидным эффектом, но и высоким ростостимулирующим действием на вегетативную продуктивность тест-растений черной и красной смородины, крыжовника и картофеля [18; 19; 20; 21; 22]. Были выделены штаммы бактерий-антагонистов, обладающих нематодцидной активностью, в т.ч. 4 штамма *B. Thuringiensis* (var. *israeleensis*, var. *thuringiensis*, var. *sotto*), 2 штамма *B. polymixa*, 2 штамма *Pseudomonas fluorescens* (AR-33 и 163) и 1 штамм *P. aureofaciens* [35]. Наибольшей нематодцидной активностью обладали штаммы *B. thuringiensis* — продуценты термостабильного бета-экзотоксина, вызывающие массовую гибель и резкое снижение численности нематод в ризосфере некоторых ягодных культур и картофеля [19; 20; 21; 24].

Среди различных методов борьбы с нематодными, грибными, вирусными, бактериальными и другими инфекциями в различных биоэкосистемах все больше используются другие живые организмы или продукты их жизнедеятельности. При этом используются паразиты вредных организмов, так называемые паразиты второго порядка и микробы-антагонисты, которые в процессе своей жизнедеятельности выделяют антибиотические вещества. Ярким примером использования паразитов второго порядка могут служить нематодопаразитические грибы *Paezilomyces* (*Penicillium*) *lilacinus* и бактерии *Pasteuria penetrans*, интенсивно изучаемые в качестве агентов биоконтроля в последние годы во всем мире [38]. Исследования с видом *Paezilomyces* (*Penicillium*) *lilacinus* проводились более чем в 60 странах мира (США, Франции, Индии, Перу, Бразилии и др.), где этот микроорганизм был давно известен как типичный обитатель почв и ризосферы самых разнообразных видов растений. Однако лишь в конце 70-х годов в Перу была открыта способность этого гриба паразитировать на яйцах и самках галловых нематод рода *Meloidogyne*. Впоследствии паразитирование этого гриба установлено на цистообразующих и других седентарных видах нематод. Кроме того, в последние годы выявлены высокие инсектицидные и фунгицидные свойства у данного гриба, изучен механизм заражения им галловых нематод. Первоначально инфекционные гифы внедряются в яйцевые мешки, после чего гифы обволакивают яйцо снаружи, а затем проникают внутрь его за счет выделения экзоферментов, разрушающих оболочку. Из яйцевых мешков галловой нематоды растущие гифы проникают через вульварное отверстие в тело самок. Цистообразующие и другие седентарные нематоды заражаются данным грибом через анальное и вульварное отверстия. При внесении в сильно зараженную галловой нематодой (*M. incognita*) почву зернового препарата гриба в дозе $4,6 \times 10^4$ спор/га урожайность томатов возросла в 3 раза. Применение препарата биокон, полученного на основе данного гриба, вызывало гибель 50—90% галловых нематод и увеличение урожая ряда сельскохозяйственных культур на 10—100% [1; 19; 20; 21; 22].

Среди нематодопаразитических бактерий наиболее изучена *Pasteuria penetrans*, паразитирующая на многих видах нематод. К настоящему времени парази-

тирование этой бактерии установлено в 40 странах на более 200 видах нематод из 70 родов и 10 отрядов, в том числе на галловых, цистообразующих и других особо опасных видах. Эндоспоры *Pasteuria penetrans* приклеиваются к кутикуле мигрирующих инвазионных личинок галловых нематод (от 1 до 7 эндоспор). После того как нематода проникает в корень и приступает к питанию, эндоспора формирует инфекционную гифу, которая проникает в псевдоцелом нематоды и разрастается в ветвящийся мицелий. Мицелий образует многочисленные эндоспоры, пораженные самки не формируют яйца. Каждая пораженная самка галловой нематоды может нести внутри и на поверхности тела до 1 млн спор бактерий. В процессе изучения *P. penetrans* показано, что высокие дозы препарата, полученного на основе этой бактерии, приводят к резкому снижению численности галловых нематод и повышению урожайности томатов и огурцов, особенно на второй и третий вегетационный циклы. В настоящее время проводятся широкие промышленные испытания бактерии *P. penetrans* в борьбе с корневыми галловыми нематодами на томатах в защищенном грунте в Великобритании. В Бразилии в защищенном грунте использовали *P. penetrans* против галловой нематоды *M. javanica* на сеянцах турецкого горошка [14], при этом биологическая эффективность бактерии составила 82—88%.

До недавнего времени в России и за рубежом для борьбы с фитопаразитическими нематодами использовали устойчивые сорта и нематицидные растения, корневые выделения которых также угнетали нематод. Значительные успехи в области селекции нематодоустойчивых сортов достигнуты в мире в борьбе с картофельной нематодой (*Globodera rostochiensis*), овсяной нематодой (*Heterodera avenae*), стеблевой нематодой клевера (*Ditylenchus dipsaci*), клубневой картофельной нематодой (*D. destructor*), хризантемной нематодой (*Aphelenchoides ritzema-bosi*) и другими. Однако работы в этом направлении в последние годы значительно сокращены, особенно в России. Широко проводились исследования по использованию хищных грибов [10; 28] для борьбы с нематодами. Основным фактором для проявления хищности у грибов является наличие метаболитов нематод или близких к ним белковых веществ животного происхождения. В настоящее время большинство авторов считают хищные грибы постоянными обитателями почв, для нормального развития которых необходимо: наличие органического вещества, легко доступного для развития сапрофитной микрофлоры и служащей пищей для нематод, обильное размножение нематод, невысокая численность в почве микроорганизмов-антагонистов, оптимальная влажность почвы (60—70% от полевой влагоемкости), слабокислая, слабощелочная или нейтральная среда обитания, достаточная обеспеченность среды обитания кислородом, необходимого для развития аэробной микрофлоры, в том числе хищных грибов и сапрозойных нематод, защищенность от прямого действия солнечных лучей. На основе хищных несовершенных грибов-гифомицетов *Arthrobotrys oligispora* для борьбы с галловыми нематодами разработан препарат нематофагин, применяемый на овощных культурах в условиях защищенного грунта. Данный препарат показал также высокую эффективность против цистообразующих и комплекса фитопаразитических нематод на шампиньонах [9] и против нематод-вирусо-

носителей на ряде с.х. культур [19; 21; 22]. На поверхности ловчих органов и в меньшей степени на мицелии хищного гриба концентрируются токсины, которые убивают жертву, после чего грибы развиваются уже в теле мертвых нематод. Существует мнение, что фосфолипазы хищных грибов обладают паралитическим действием на нематод. Хищные грибы широко распространены в природе и могут нападать на самые различные виды нематод. Хищные грибы хорошо растут на питательных средах и могут быть легко размножены в нужных количествах. Среди многочисленных представителей хищных грибов нематицидной активностью обладают виды родов *Narposporium*, *Catenaria*, *Phialophora*, *Anixiopsis*, *Margarinomyces* и другие. Исследования хищных грибов для биологической защиты растений в защищенном грунте на овощных культурах [6; 9] дали положительные результаты. В связи с этим эффективность хищных грибов указанных родов исследовали в борьбе с нематодами-вирусоносителями на зерновых, винограде и картофеле [19; 21; 24].

Важным направлением в биологической защите растений является использование микробов-антагонистов и продуктов их жизнедеятельности — антибиотиков. Они эффективны в очень малых концентрациях, и для защиты растений требуется небольшое количество действующего вещества. Антибиотики не ядовиты для растений, способны проникать в растения через корни, листовую поверхность, верхушки побегов и сохраняться в их тканях продолжительное время, играя роль иммунологического фактора. Это позволяет использовать их не только для профилактики и повышения болезнеустойчивости растения, но и для защиты уже заболевших растений, для их лечения. Для борьбы с семенной инфекцией и для обработки пораженных вегетирующих растений широко используются антибиотические вещества и полученные на их основе препараты. Против почвенных фитопаразитов эффективнее использовать микробы-антагонисты в виде чистых культур, компостов и сыпучих сред [32]. Для обработки семенного и посадочного материала и вегетирующих растений используются жидкие и пастообразные живые культуры грибов и бактерий-антагонистов [8; 20]. Выявлены биоактивные штаммы грибов и бактерий-антагонистов, обладающие комплексной активностью (фунгицидной, бактерицидной и нематицидной) с высокой биологической, хозяйственной и экономической эффективностью в борьбе с комплексом фитопаразитов на разных сельскохозяйственных культурах, включая нематод-вирусоносителей [19; 21; 22].

Аэробные бактерии рода *Pseudomonas* — гетерогенная группа микроорганизмов — принимают активное участие в процессах минерализации органических соединений, очистке окружающей среды от загрязнения. В то же время многие виды псевдомонад могут оказывать положительное или отрицательное влияние на развитие сельскохозяйственных культур. Некоторые виды патогенны для них, другие, например, сапрофитные псевдомонады, широко населяющие ризосферу, играют важную роль в защите растения от бактериальных и грибных заболеваний. Псевдомонады — один из немногочисленных родов бактерий, из которых получены к настоящему времени антибиотики β -лактоны. Одним из них является обافلорин, синтезируемый штаммом *P. fluorescens* Sc 12936

[26]. Литическое действие псевдомонад на почвенные грибы описано Я.П. Худяковым еще в 1935 г. Микроорганизмы, вызывающие это явление, названы миколитическими. Было показано, что *P. aeguginosa* и *P. fluorescens* — один из наиболее активных видов в группе миколитических бактерий. Одновременно была предпринята попытка использовать явление антагонизма для борьбы с грибными болезнями полезных растений. Культуры бактерий, лизирующих *Fusarium graminearum* и *Fusarium lini*, вносили в почву для борьбы с фузариозом пшеницы и льна. Позже был предложен термин «бактеризация» — обработка семян миколитическими бактериями, защищающими растение от патогенных грибов. Испытания миколитических бактерий, в первую очередь *P. aeguginosa* и *P. fluorescens*, в обработке с фузариозом различных сельскохозяйственных растений в лабораторных и вегетативных опытах дали положительные результаты [15; 16; 17; 19; 26; 27].

После продолжительного перерыва исследователи вновь проявили интерес к использованию живых культур бактерий рода *Pseudomonas* для борьбы с грибными заболеваниями растений. При этом псевдомонады проявляют способность к активной колонизации корневой системы и синтез разнообразных антифунгальных соединений. Микроорганизмы, активно размножающиеся на корнях и получившие название ризобактерий, состоят из нескольких групп: 1) «нейтральные» бактерии, не оказывающие влияния на растения; 2) вредные (их от 8 до 15%); 3) угнетающие прорастание семян; 4) уменьшающие длину корней, вызывающие на них некрозы и усиливающие инфекцию корней грибами и бактериями; 5) стимулирующие рост растений (их всего 2—5%). Показано, что вредная микрофлора сахарной свеклы, представленная родами *Enterobacter*, *Klebsiella* и *Pseudomonas*, снижала урожай на 21—49%. Бактерии, стимулирующие рост растений, вытесняли вредную микрофлору с поверхности корней и уменьшали на 21—72% количество грибов родов *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и др. При обработке семян сахарной свеклы ризобактериями их количество достигало 10^5 КОЕ (колониеобразующих единиц) на 1 см корней. В необработанных бактериями семенах эти цифры составляли 90—600 КОЕ/см. Сходные данные были получены на картофеле, пшенице и других сельскохозяйственных культурах [14; 15; 16; 26; 27].

Использование ростстимулирующих ризобактерий позволило повысить урожай картофеля на 5—33%, сахарной свеклы — на 15% (при этом выход сахара повышался на 955—1227 кг/га), пшеницы — на 26—29%, риса — на 3—16% и т.д. Установлено, что наиболее активные ризобактерии принадлежали к видам *P. putida* и *P. fluorescens*. При этом одни авторы указывают, что они гетерогенны по свойствам и не соответствуют биоварам, описанным у *P. fluorescens*; по другим данным — они чаще всего принадлежат к биоварам III и V *P. fluorescens* [15; 16; 17; 19; 26; 27].

Из бактерий рода *Pseudomonas* были выделены новые, своеобразные по структуре и спектру действия антибиотические вещества, в том числе аминогликозиды, монобактамы, псевдомононовые кислоты, эффективные в отношении антибио-

тико-резистентных возбудителей заболеваний. Использование бактерий-антагонистов из рода *Pseudomonas* для борьбы с грибными заболеваниями растений приобретает актуальность, а знание химической природы и биологической роли веществ, обуславливающих функциональное действие, знаменует новый этап этих исследований, первые попытки которых были предприняты более 10—15 лет тому назад [13; 15; 16; 17; 26; 27].

Для борьбы с возбудителями бактериальных заболеваний растений могут быть использованы псевдомонады — продуценты бактериоцинов для профилактической обработки подобно тому, как используются для этой цели штаммы *Agrobacterium*. Обработка листьев бобовых очищенным препаратом сирингацина А-4 или W-1 перед заражением их фитопатогенным штаммом *P. phaseolicola* приводила к полному исчезновению жизнеспособных клеток патогенна. Обработка семян соевых бобов препаратом сирингацина А-4 увеличивала их всхожести на 20%. При введении в стебель бобовых штамма-продуцента сирингацина W-1 совместно с чувствительным к нему фитопатогенным штаммом рост последнего тормозился, что было вызвано синтезом бактериоцина в тканях растений. По-видимому, использование сапрофитных бактериоциногенных штаммов — один из плодотворных подходов в биологической защите растений от возбудителей заболеваний [27]. Начиная с 80-х годов прошлого столетия представители флюоресцирующей группы рода *Pseudomonas*, и прежде всего *P. aeruginosa*, неоднократно описывались как антагонисты патогенных микроорганизмов.

Значительные успехи достигнуты в расшифровке механизма стимулирующего действия ризобактерий. Показано, что это действие связано с подавлением грибов и фитопатогенных бактерий антибиотиками и другими биологически активными метаболитами ризобактерий-антагонистов. Иллюстрацией может служить работа Хоуэлла и Стипановича, которые использовали для защиты хлопка штамм *P. fluorescens* PF-5. Последний синтезировал два антибиотика — пирролнитрин, угнетающий рост фитопатогенного гриба *Rhizoctonia solani*, и пиолотеорин, ингибирующий рост *Rythium ultimum* — важного патогена сеянцев хлопка. Обработка семян штаммом или антибиотиками увеличивала выживаемость растений на 28—71%. Штамм *Pseudomonas* Sp. 19 (идентифицированный затем как *P. fluorescens*) — продуцент феназин-1-карбоновой кислоты — был с успехом использован А.А. Гарагулей для защиты пшеницы от корневой гнили, вызванной *Fusarium oxysporum*. Позднее [16] сообщили о выделении из ризосферы пшеницы штамма *P. fluorescens* 2-79, эффективного в качестве борьбы с заболеваниями ячменя и пшеницы, вызванным грибом *Graeuomannomyces graminis* var. *tritici*. Антифунгальный эффект был обусловлен синтезом феназин-1-карбоновой кислоты. Мутанты, не образующие феназиновый пигмент, не обеспечивали защитного действия [15; 16; 17; 19; 26; 27].

Штаммы *P. fluorescens* были способны к синтезу значительных количеств феназин-1-карбоновой кислоты [27]. Интенсивность биосинтеза колебалась от 44 до 422 мг пигмента на 1 л культуральной среды и была непосредственно

связана со степенью антагонистической активности продуцента. Феназин-1-карбоновая кислота — сравнительно слабый антибиотик, малотоксична для животных, но обладает значительной токсичностью по отношению к некоторым растениям и водорослям.

Ряд авторов антифунгальные свойства ризобактерий связывают с образованием антибиотических веществ. Подавляющее большинство исследований в этой области посвящено сидерофорам, синтезируемым бактериями рода *Pseudomonas* и играющим огромную роль в ограничении численности патогенов. Сидерофоры — соединения, осуществляющие транспорт железа, широко распространены у различных групп аэробных микроорганизмов. Многие из них обладают антибиотической активностью либо являются факторами роста для некоторых бактерий. К сидерофорам принадлежит и псевдобактин (пиовердин) — желто-зеленый флюоресцирующий пигмент бактерий рода *Pseudomonas*. К настоящему времени установлена роль псевдобактина в транспорте железа у *P. fluorescens* и других флюоресцирующих видов. Одновременно с псевдобактином *P. fluorescens* синтезирует нефлюоресцирующий сидероф псевдобактин — А, по-видимому, являющийся его предшественником. Малоизученным является раздел экологии бактерий рода *Pseudomonas* и взаимоотношения этих микроорганизмов с фитонематодами, широко населяющими почву и снижающими урожай до 70% [15; 16; 17; 19; 26; 27].

Показано, что штаммы актиномицетов и 50% испытанных штаммов грибов благоприятствуют накоплению нематод *Rhabditis oxycerca* и *Aphelenchus parietinus* вблизи и внутри их колоний на агаризованной среде, т.е. нематоды, согласно принятой авторами терминологии, «привлекались» этими микроорганизмами. Остальные штаммы грибов не вызвали видимой реакции со стороны фитогельминтов. Фильтраты их культуральных жидкостей не обладали нематотоксичными свойствами [19].

Культуры 60-ти неидентифицированных штаммов бактерий в 85% случаев «отталкивали» нематод, т.е. вызвали их движение в направлении, обратном от колонии. Таким образом, почвенные бактерии оказывали антагонистическое действие на фитогельминты, в противоположность актиномицетам и грибам, влияние которых на фитонематод было благоприятным. Интересное исследование нематотоксичных свойств 267 штаммов бактерий было выполнено Инкуца и соавторами. Наряду с 88 видами бактерий ими было изучено 11 видов дрожжей, 19 видов грибов и 14 видов актиномицетов. Тест-объектом служила сапробиотическая нематода *Rhabditis terricola*. Позднее наблюдаемые закономерности были подтверждены на фитогельминтах *Panagrellus* и *Meloidogyne*. Наиболее сильными продуцентами нематотоксичных оказались сапрофитные бактерии рода *Pseudomonas*. В то же время фитопатогенные бактерии родов *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Erwinia* не угнетали фитогельминтов. Наблюдался синергизм в повреждающем действии на растения эндопаразитических нематод и фитопатогенных бактерий *P. viridiflava*, *P. marginalis* и *P. corrugata*. Штаммы *P. aeruginosa* и *P. aurefaciens* оказывали антагонистическое действие на фитогельминтов. *P. fluorescens* и *P. putida* иногда

вызывали слабое привлечение нематод. *P. aurantiaca* и *P. lemonieri* в большинстве случаев не оказывали на них влияния. В то же время фитопатогенные бактерии *P. syringae* вызывали слабое привлечение (*Ditylenchus destructor*) либо проявляли индифферентное отношение (*Aphelenchoides asterocaudatus*). Показано, что антибиотические вещества (пиоцианин, оксихлорографин, феназин-1-карбоновая кислота, производные флюофоглюцина), синтезируемые бактериями, не обладают нематоцидными свойствами. Можно предполагать, что нематоцидный эффект обусловлен какими-то другими биологически активными метаболитами бактерий, угнетающими нематод в условиях эксперимента. Выделение таких веществ и изучение механизма их действия на фитогельмитов представляют интерес [27]. Впервые высокое нематоцидное действие псевдоманад и их метаболитов на нематод лонгидорид и триходорид и антивирусная активность на комплекс переносимых ими вирусов были продемонстрированы в отношении комплекса картофельных и других почвенных вирусов и нематод их переносчиков на картофеле [12; 17; 21; 22]. Кроме того, ранее была доказана высокая биологическая и хозяйственная эффективность отдельных штаммов псевдоманад в борьбе с нематодами вирусоносителями на ягодных [17; 19] и затем на бобовых культурах [21; 22; 29; 30].

Ряд лет интенсивно изучалось действие хищных грибов *Arthrobotrys oligospora* Fres. на численность и видовой состав почвенных нематод. Все применяемые способы борьбы (физический, химический, агротехнический и др.) с галловой нематодой малоэффективны, а использование нематоодофаговых грибов в борьбе с галловой нематодой в условиях закрытого грунта можно применять как до посадки растений, так и в период вегетации. Хищные грибы нетоксичны для растений и человека, не требуют специальных условий для своего развития, а препарат хищных грибов прост в применении. В бывшем Советском Союзе первые исследования по применению хищных грибов против галловой нематоды начали проводиться Ф.Ф. Сопруновым с сотрудниками с 1950 года. Для работы использовали воздушно-сухой биопрепарат, а дозы внесения его в почву составляли 0,1—2%. Е.И. Кирьянова испытала препарат хищных грибов против личинок галловой нематоды на огурцах в дозах 30, 45 и 60 г/м². Затем изучали влияние трех доз (200, 450 и 900 г/м²) препарата хищного гриба селекционного штамма *Arthrobotrys oligospora* Fres. XIX 4/27 против галловой нематоды *Meloidogyne incognita*, поражающей огурцы в теплицах. Минимальное количество галлов на одном зараженном растении (11,8) наблюдали при внесении в почву сырого грибного препарата (влажность 58—62%) в дозе 900 г/м². При внесении препарата хищных грибов штамма XIX 4/27 в почву численность свободноживущих нематод в течение 15—20 дней снизилась на 74,3% [13]. В борьбе с нематодами-вирусоносителями (*X. index*) и переносимым ими вирусом короткоузлия винограда также показана высокая биологическая и хозяйственная эффективность ряда штаммов хищного гриба *Arthrobotrys oligospora* [11; 19; 22].

Использование грибов-антагонистов для борьбы с патогенами в последние годы приобретает большое значение в связи с поиском экологически безопас-

ных средств защиты растений. Из наиболее изученных грибов являются представители рода *Trichoderma*, на основе которого разработаны различные формы биопрепаратов. Нематицидная активность некоторых штаммов *Trichoderma viride* впервые опробована при выращивании картофеля, зерновых, плодово-ягодных и овощных культур. Выделенные штаммы оказывали не только сильное фунгицидное, но и нематицидное действие, в том числе на нематод — переносчиков вирусов (*L. elongates* и *T. similis*), обитающих в ризосфере растений-хозяев. В лабораторных опытах было показано, что фильтрат культуральной жидкости гриба *Aspergillus niger* van Tienghem обладает высокой токсичностью *in vitro* для нематод *Aphelenchus avenae*, *Panagrellus redivivus* и особенно личинок *Meloidogyne* sp. [21; 22].

В литературе имеются данные относительно токсичности продуктов обмена *A. niger* в отношении микроорганизмов. Установлено, что *A. niger* обладает нематицидным действием на сапробиотических нематод *Rhabditis terricola*. Показано, что фильтрат культуральной жидкости *A. niger* токсичен для *A. avenae*, а добавление гриба в почву значительно снижало в ней численность этих нематод. Вещества, выделяемые грибами группы *Aspergillus*, относятся к антибиотикам, обладающим активным подавляющим действием по отношению к ряду грам-положительных и грам-отрицательных бактерий, возбудителю сибирской язвы, а также антипротозойными и антифунгальными свойствами. Кроме того, установлено, что *A. niger* выделяет вещества, которые вызывают искривление и разрастание стеблей семян бобовых, а также вызывают искривление кукурузы. Фильтрат культуральной жидкости гриба *Aspergillus niger* культивируемого на пивном сусле испытывали на токсичность в отношении галловой нематоды. В опытах *in vitro* у огурцов, обработанных фильтратом, отмечена тенденция к снижению галлообразования по сравнению с контролем (вода) [7]. Антивирусная активность хищных грибов и грибов-антагонистов, а также их метаболитов изучена недостаточно, а их нематицидная активность была использована как один из способов Борьбы с нематодами — переносчиками непо- и тобра-вирусов на картофеле и ряде других культур [11; 12; 19; 22].

ПРИМЕЧАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 05-04-49237.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Борисов Б.А. Экологически безопасная защита тепличных растений от галловых нематод. — Аграрная Россия. Науч. произв. бюл. — 1999. — № 3. — С. 35—42.
- [2] Вайшер Б., Браун Д.Д.Ф. Знакомство с нематодами. Общая нематология. — София — М.: Пенсофт, 2001.
- [3] Данилов Л.Г. Биологические основы применения энтомопатогенных нематод (*Rhabditida*: *Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) в защите растений. Автореф. дисс. ... док. с.-х. наук. — СПб.—Пушкин, 2001.
- [4] Зиновьева С.В. Молекулярные механизмы взаимодействия растений и паразитических нематод: теоретические и прикладные аспекты / В кн.: Паразитические нематоды растений и насекомых. — М.: Наука, 2004. — С 50—85.

- [5] Кирьянова Е.С., Краль Э.Л. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. Т. 1. — Л.: Наука, 1969.
- [6] Кирьянова Е.С., Краль Э.Л. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. Т. 2. — Л.: Наука, 1971.
- [7] Курт Л.А. Действие продуктов обмена гриба *Aspergillus niger* van Tieghen на личинок галловой нематоды // Бюл. Всес. Ин-та гельминтол. — 1975. — Вып. 15. — С. 84—87.
- [8] Мартынова Г.П. Влияние триходермина на поражение растений корневыми гнилями и урожайность ячменя на северо-востоке РФ. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — М., 1998.
- [9] Мацкевич Н.В. Нематофагин в культуре шампиньона // Защита и карантин растений. — 1997. — № 7. — С. 18.
- [10] Мехтиева Н.А. Хищные нематофаговые грибы. — Баку: Наука, 1979.
- [11] Мигунова В.Д. Выбор трофической стратегии хищным нематофаговым грибом *Arthrobotrys oligospora*. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — М., 2002.
- [12] Насролланежад Саид. Вирусные и нематодные инфекции и совершенствование мер борьбы с ними на картофеле. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — М., 2002.
- [13] Павлюшин В.А. Научные основы использования энтомопатогенов и микробов-антагонистов в фитосанитарной оптимизации тепличных агробиоценозов. Дисс. в виде науч. докл. ... докт. биол. наук. — СПб.: ВИЗР, 1998.
- [14] Романенко Н.Д. Фитогельминты — вирусоносители семейства Longidoridae. — М.: Наука, 1993.
- [15] Романенко Н.Д., Буров Б.В. Разработка научных основ экологически безопасного производства посадочного материала земляники садовой // Тез. докл. научно-практического совещания «Паразитарное загрязнение мегаполиса Москвы». — М., 1994. — С. 12.
- [16] Романенко Н.Д. Фитогельминты — вирусоносители семейства Longidoridae, их взаимосвязь с неповирусами и разработка научных основ борьбы с ними на плодово-ягодных культурах и винограде (фауна, таксономия, экология, вредоносность, вирофорные свойства и защита растений). Дис. в форме научн. докл. ... докт. биол. наук. — М. 1994.
- [17] Романенко Н.Д. Изучение фауны нематод-вирусоносителей семейств Longidoridae и Trichodoridae // Систематика, таксономия и фауна паразитов. — Материалы конференции. — М., 22—24 октября, 1996. — С. 103—104.
- [18] Романенко Н.Д., Буров Б.В. К вопросу изучения ассоциаций нематод и грибов в различных фитоценозах России / В кн.: «Динамика биологического разнообразия животного мира». — Сб. докл. совещ. М., ИПЭЭ РАН, 26—28.11.1996. — М., 1997. — С. 149—156.
- [19] Романенко Н.Д., Рябченко Н.Ф. и др. Основные достижения в изучении комплекса фитопаразитов (нематоды—вирусы—грибы—бактерии) и проблемы их биоконтроля в фитоценозах России / В кн.: Теоретическ. и прикладные проблемы гельминтологии. — М., 1998. — С. 198—209.
- [20] Романенко Н.Д., Буров Б.В., Козырева Н.И., Стародубцев В.В. Изучение ассоциаций фитопаразитических нематод, грибов, вирусов и бактерий и проблемы их биоконтроля в естественных и агроценозах России // Сборник трудов международной конференции «Современные проблемы микологии, альгологии и фитопатологии». — М., 1998. — С. 103—104.
- [21] Романенко Н.Д. Изучение паразито-хозяйинных взаимоотношений нематод, вирусов, грибов и бактерий в различных биоэкосистемах — основа стратегии биологической защиты растений / В кн.: «Актуальные проблемы общей паразитологии». — М.: Наука, 2000. — С. 159—174.
- [22] Романенко Н.Д. Паразито-хозяйинные взаимоотношения микробных консорбентов агроценоза, как основа стратегии его защиты / В кн.: Паразитические нематоды растений и насекомых. — М.: Наука, 2004. — С. 152—170.

- [23] Романенко Н.Д., Стародубцев В.В., Авдиенко И.Д., Корсак И.В. К вопросу изучения нематодцидной активности бактерий-антагонистов и их механизма действия / В кн.: Успехи общей паразитологии. — М.: Наука, 2004. — С. 318—338.
- [24] Романенко Н.Д., Насроллаева С., Белошапкина О.О. Выявление комплексных вирусных и нематодных инфекций и оценка их вредоносности на картофеле в условиях Москвы и Московской области / В кн.: Паразитические нематоды растений и насекомых. — М.: Наука, 2004. — С. 171—182.
- [25] Романенко Н.Д. Нематоды — переносчики вирусов / В кн.: Прикладная нематология. — М.: Наука, 2006. — С. 122—161.
- [26] Смирнов В.В., Киприанова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas* — продуценты новых антибиотиков / Механизмы биосинтеза антибиотиков. — М.: Наука, 1986. — С. 149—161.
- [27] Смирнов В.В., Киприанова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas*. — Киев: Наукова думка, 1990.
- [28] Сопрунов Ф.Ф. Хищные грибы-гифомицеты и их применение в борьбе с патогенными нематодами. — Ашхабад: Изд. АН Турк. ССР, 1958.
- [29] Таравалли Б.Ф., Заец В.Г., Романенко Н.Д. К вопросу изучения нематофауны бобовых растений в различных биоценозах Московской области / Мат. научной конференции аграрного факультета «Достижения и перспективы в области тропического земледелия и животноводства» — М.: Изд. РУДН, 2000. — С. 53—54.
- [30] Таравалли Б.Ф. Изучение фитопатоконплексов нематод, грибов, вирусов и бактерий и совершенствование экологически безопасных способов ограничения их численности и вредоносности на бобовых культурах. Автореф. дисс. ... канд. наук. — М.: РУДН, 2001.
- [31] Трушечкин В.Г., Метлицкий О.З., Романенко Н.Д., Поликарпова Ф.Я. и др. Технология обеззараживания почвенных субстратов при выращивании безвирусного посадочного материала плодовых и ягодных культур в питомниках и маточных насаждениях. Рекомендации. — М.: Росагропромиздат, 1988.
- [32] Черемисинов Н.А. Общая патология растений. — М., 1973.
- [33] Barker K. R., Pederson G.A. and Windham G.L. (Eds). Plant and nematode interactions. — Madison, USA. — American Soc. for Agronomy, Crop Sci. Soc. of America, Soil Sci. Soc. of America, 1998.
- [34] Burrows P. and De Waele D. Engineering resistance against plant parasitic nematode using anti-nematode genes / In: Cellular and Molecular Aspects of plant-nematode interactions. Eds. Fenoll C., Grundler F.H.W., Ohl S.A., 1997.
- [35] Good N.M. Relation of plant parasitic nematodes to soil management practices / Tropical nematology. — Universe, Florida Press, Gainesville, 1968. — P. 113—138.
- [36] Ferraz L.C.C.B., Brown D.J.F. An Introduction to Nematodes. Plant Nematology. — Sofia-Moscow, Pensoft, 2002.
- [37] Romanenko N. D. The discovery of complex infections of viruses and nematodes on potatoes in conditions of plant cenosis in the Moscow region // Abstracts of XXVII International Symposium of European Society of Nematologists, Rome, 14—18 June, 2004. — Rome, 2004. — P. 84.
- [38] Stirling G.R. Biological control of plant parasitic nematodes. — 1991.
- [39] Taylor C.E., Brown D.J.F. Nematodes vectors of plant viruses. — Wallingford, UK, CAB International, 1997.
- [40] Thorne G. Principles of Nematology. — McGraw Hill Book Co., N.Y., Toronto, London, 1961.
- [41] Trudgill D. L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants // Annual Rev. of Phytopatology. — 1991. — 29. — P. 17—192.

- [42] Weischer B. Where to go in Phytonematode control // *Phytoparasitica*. — 22. — 1994. — P. 95—99.
- [43] Weischer B. and Brown D.J.F. An Introduction to Nematodes. General Nematology. — Sofia: Pensoft, 2000.
- [44] Williamson V.M. and Hussey R.S. Nematode pathogenesis and Resistance in plants // *The Plant Cell*. — 1996. — 8. — P. 1735—1745.

**BIOLOGICAL AGENTS FOR PLANT PROTECTION
AGAINST PLANT PARASITIC NEMATODES
AND OTHER PATHOGENS, AND PERSPECTIVES
OF THEIR USE IN THE 21ST CENTURY**

**N.D. Romanenko¹, V.G. Zaets², N.I. Kozereva¹,
I.O. Popov¹, S.B. Tabolin¹**

¹Institute of Parasitology (RAS)
Leninsky pr., 33, Moscow, Russia, 117071

²Department of botany, plant physiology,
plant pathology and agrobiotechnology
Russian People's Friendship University
Miklucho-Maklay str., 8/2, Moscow, Russia, 117198

Different strains of antagonistic bacteria and fungi have been actively tested for the last several years in order to discover their complex fungicidal, bactericidal and nematocidal activity in different plant communities and regions of Russia. This work is targeted for elaboration of environmentally friendly and energy-saving methods of plant protection. Bacterial strains of *Pseudomonas* and *Bacillus*, that possess not only fungicidal but also bactericidal and nematocidal effects, were revealed in the results of pot, laboratory and field experiments. These strains could regulate the number of virus-vector nematodes of Longidoridae and Trichodoridae and their associated viruses. Also, the strains could be shown to stimulate plant growth and high yield of different varieties of test-plants. They should be considered to be the natural regulators of the quantity and the distribution of parasites. This work was supported by grant RFFI 05-04-49237.