



МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ ЛЕСА

МАТЕРИАЛЫ

**Международной школы конференции молодых учёных,
посвященной 80-летию Брянской государственной инженерно-
технологической академии и профессору В.П. Тимофееву**

(12-18 сентября 2011 года)

Издательство Московского государственного университета леса

Москва – 2011

experiments provided us to reveal prospective points to induce mutations that are aimed to improve catalytic properties of the enzyme in the process of Cephalosporine C oxidation. New mutant D-amino acid oxidase forms were expressed in *E.coli* cells. At the present time the study of substrate specificity range, thermal stability evaluation and comparison to the wild-type TvDAAO are being carried out.

The work is supported by the Science and Education Ministry of Russian Federation (contract #16.512.11.2253) and Russian Foundation for Basic Research (grant #11-04-00959-a).

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

Королев А.В.¹, Иванов Ю.В.^{1,2}, Ландесман Е.О.^{1,3}, Степанова Е.В.^{1,3},
Куликова Н.А.^{1,3,4}

¹ООО «Велес», г. Москва,

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва,

³Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, г. Москва,

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия.

E-mail: dukuu1488@mail.ru.

Ключевые слова бактериальные препараты, генотипирование, экологическая токсичность, фунгицидные свойства.

В настоящее время актуальной задачей лесного хозяйства является сохранение и повышение посевных качеств семян хозяйственно ценных хвойных пород, характеризующихся периодичностью семеношения. Однако в процессе хранения снижаются посевные качества семян в результате развития патогенной микрофлоры. Поэтому, особую важность в последние годы приобретает проблема создания биопрепаратов, обладающих защитным действием. Наиболее перспективными с точки зрения создания на их основе защитных биопрепаратов являются бактерии рода *Bacillus*, уже нашедшие широкое применение в сельском хозяйстве. Целью работы было выделение и идентификация штаммов бактерий рода *Bacillus* и исследование их защитных свойств.

Из лесной подстилки были получены две бактериальные культуры, которые далее были идентифицированы методом генетического типирования как: *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (100% гомология с участком 16S-23S rDNA) и *Bacillus amyloliquefaciens* (99% гомология с участком 16S-23S rDNA).

Проведенные испытания токсичности полученных бактериальных штаммов по отношению к *Scenedesmus quadricauda*, *Paramecium caudatum*, сперматозоидам быка и *Daphnia magna* показали, что исследуемые

бактериальные штаммы (при кратности разведения 100), являются экологически безопасным.

Оценку фунгицидной активности исследуемых бактериальных штаммов проводили по методу дисков с использованием культур *F. sambucinum* и *F. avenaceum*. В качестве контрольных антибиотиков использовали левомецетин (хлорамфеникол), амоксициллин, бацитрацин и оксидиллин. Оба исследуемых штамма бацилл обладали выраженной фунгицидной активностью по отношению к патогенам – *F. sambucinum* и *F. avenaceum*. Полученные данные показали, что восприимчивость *F. sambucinum* к бациллам была выше, чем *F. avenaceum*. В частности, при совместном использовании исследуемых штаммов бацилл в случае *F. sambucinum* среднее значение зоны подавления составило 28 мм, а в случае *F. avenaceum* – около 1 мм.

Метод встречных культур показал отсутствие гиперпаразитической активности у штаммов *Fusarium avenaceum* и *Fusarium sambucinum* с обоими исследованными штаммами.

Таким образом на основании полученных данных можно сделать вывод об антагонистической активности штаммов бацилл по отношению фитопатогенам – грибам *Fusarium sambucinum* и *F. avenaceum*. Для снижения зараженности семян сосны обыкновенной фитопатогенами рода *Fusarium* бактериальными препаратами на основе *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens*, следует использовать биопрепараты на основе индивидуальных штаммов, а не их смеси.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (ГК № 16.512.11.2028 от 11 февраля 2011 г.).

THE STUDY OF PROTECTIVE PROPERTIES OF BACTERIA FROM GENUS *BACILLUS*

Korolev A.V.¹, Ivanov Yu.V.^{1,2}, Landesman E.O.^{1,3}, Stepanova E.V.^{1,3}, Kulikova N.A.^{1,3,4}

¹ «Veles» Ltd., Moscow,

² K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow,

³ A.N. Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow,

⁴ M.V. Lomonosov Moscow State University, Russia.

E-mail: dukuu1488@mail.ru.

Key words bacterial preparations, genotyping, environmental toxicity, fungicidal properties.

Preservation of conifers seeds during storage and optimization of their characteristics, remains an important task of the forest enterprise. This problem

even vexed if cone crop changes periodically. In the same time, long storage affects the seed viability by pathogenic microorganisms action. This brings up the necessity of biopreparations searching, having protective action. Thus, development and marketing of new antimicrobial preparations remains the problem of great importance. Bacteria *Bacillus* widely used in agriculture are also the most perspective microorganisms for the development of new protectants. Aim of this study was to isolate and identify perspective *Bacillus* strains and to study their antimicrobial properties.

Two bacterial strains were isolated from the forest litter. These strains were identified by PCR as *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* (100% homology with 16S-23S rDNA) and *Bacillus amyloliquefaciens* (99% homology with 16S-23S rDNA). Their toxicity was verified with the following microorganisms: *Scenedesmus quadricauda*, *Paramecium caudatum*, *Daphnia magna* and bull germ cells demonstrated that isolated strains were ecologically safe under dilution 1:100. Antifungal activity was estimated by the disk method using the cultures *F. sambucinum* и *F. avenaceum*. Chloramphenicol, amoxicillin, bacitracin and oxacillin were used as a control. Both tested strains discovered strong antifungal activity. The analysis demonstrated that *F. sambucinum* was less resistant to bacilli than *F. avenaceum*. Moreover, joint treatment of *F. sambucinum* with both isolated strains generated suppression zone 28 mm, and 1 mm in the case of *F. avenaceum*. Strains analysis by the over-under culture method suggested an absence of *Fusarium avenaceum* and *Fuzarium sambucinum* strains hyperparasitic activity, after the treatment with any of the isolated strains. Thus, to reduce contamination of pine seeds with *Fusarium* phytopatogenes, they should be treated with any of two preparations, but not their mixture.

This work was supported by Russian Ministry of Science and Education (GK #16.512.11.2028 from February 11, 2011).

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПОСЕВНЫЕ КАЧЕСТВА СЕМЯН СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Королев А.В.¹, Иванов Ю.В.^{1,2}, Филиппова О.И.^{1,3}, Куликова Н.А.^{1,3,4}

¹ООО «Велес», г. Москва,

²Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва,

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

⁴Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, г. Москва, Россия.

E-mail: dukuu1488@mail.ru.

Ключевые слова: бактериальные препараты, посевные качества, биотестирование, проростки, сосна обыкновенная.