



Институт микробиологии
НАН Беларуси

БАКТЕРИОФАГИ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS* – ОСНОВА БИОПЕСТИЦИДА МУЛЬТИФАГ

Пилипчук Татьяна Андреевна

Мандрик-Литвинкович Марина Николаевна

Коломиец Эмилия Ивановна





**БАКТЕРИОЗ ПШЕНИЦЫ,
ПРОСА ОВСА**



**БАКТЕРИАЛЬНАЯ
КРАПЧАТОСТЬ ТОМАТА**



**ЖЕЛТАЯ БОЛЕЗНЬ
ГИАЦИНТА**



БАКТЕРИОЗ ОГУРЦА



*Pseudomonas
syringae*



**ПЯТНИСТЫЙ НЕКРОЗ
ВИНОГРАДНОЙ ЛОЗЫ**



**БАКТЕРИОЗ
КОСТОЧКОВЫХ ПОРОД**



**БУРАЯ БАКТЕРИАЛЬНАЯ
ПЯТНИСТОСТЬ ФАСОЛИ**



**БАКТЕРИАЛЬНЫЙ
РАК ЯБЛОНИ**



РАК ЦИТРУСОВЫХ

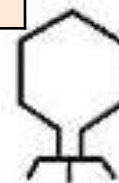


**БОЛЕЗНИ
ТАБАКА И СВЕКЛЫ**


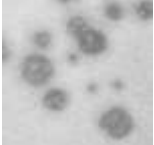



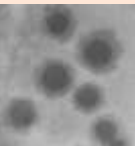
АКТИВНОСТЬ БИОПЕСТИЦИДА МУЛЬТИФАГ В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*

Бактерии рода <i>Pseudomonas</i>	Активность фагов					
	BV-45	BV-46	BV-47	BV-50	BV-53	BV-61
<i>P.syringae</i> БИМ В-86	+	+	+	+	+	+
<i>P.syringae</i> БИМ В-239	+	-	-	+	+	-
<i>P.syringae</i> БИМ В-240	+	-	+	+	+	-
<i>P.syringae</i> БИМ В-266	-	-	+	+	+	-
<i>P.syringae</i> БИМ В-267	-	-	-	-	-	-
<i>P.syringae</i> БИМ В-268	+	+	+	+	-	+
<i>P.syringae</i> БИМ В-280	+	-	-	+	+	-
<i>P.syringae</i> БИМ В-695	+	+	+	+	+	+
<i>P. fluorescens</i> БИМ В-582	+	+	+	+	+	+
Количество штаммов бактерий, лизируемые каждым фагом	7	3	6	8	7	3

Примечание: «+» - наличие лизиса, «-» - отсутствие лизиса



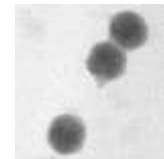
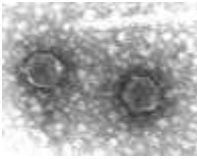
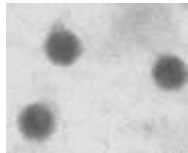
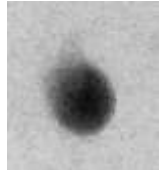


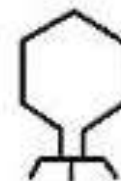
МОРФОЛОГИЯ НЕГАТИВНЫХ КОЛОНИЙ БАКТЕРИОФАГОВ БИОПЕСТИЦИДА МУЛЬТИФАГ

Бактериофаги	Источник изоляции фагов	Особенности морфологии негативных колоний фагов	
БИМ BV-45	Листья и ветви плодовых деревьев (Минская обл.)	Крупные (5–7 мм), прозрачные, с четко очерченным краем, с ореолом вокруг колонии.	
БИМ BV-46	Почва (Минская обл.)	Разных размеров (3–6 мм), прозрачные со слегка размытым краем, со слабо выраженным ореолом.	
БИМ BV-47	Почва (Минская обл.)	Крупные (4–5 мм), прозрачные со слегка размытым краем, со слабо выраженным ореолом.	
БИМ BV-50	Плоды томата (Гомельская обл.)	Крупные (5–7 мм), прозрачные, с четко очерченным краем, с ореолом вокруг колонии.	
БИМ BV-53	Ветки яблони (Гродненская обл.)	Крупные (5–7 мм), прозрачные, с четко очерченным краем и с ореолом вокруг колонии.	
БИМ BV-61	Фасоль спаржевая (Витебская обл.)	Крупные (5), прозрачные, с четко очерченным краем и с хорошо выраженным ореолом вокруг колонии	



ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ ВИРИОНОВ БАКТЕРИОФАГОВ БИОПЕСТИЦИДА МУЛЬТИФАГ

Фаги	Особенности морфологии вирионов бактериофагов	
БИМ BV-45	изометрическая головка диаметром 44 нм и короткий конусовидный отросток (TEM Libra 120)	
БИМ BV-46	изометрическая головка диаметром 38 нм и короткий конусовидный отросток (TEM Libra 120)	
БИМ BV-47	изометрическая головка диаметром 43 нм и короткий конусовидный отросток (TEM Libra 120)	
БИМ BV-50	изометрическая головка диаметром 50-55 нм и короткий, конусовидный отросток длиной 14-15 нм без базальной пластины (TEM JSM-300)	
БИМ BV-53	изометрическая головка диаметром 43-46 нм и короткий, конусовидный отросток (TEM Libra 120)	
БИМ BV-61	изометрическая головка диаметром 42 нм и короткий конусовидный отросток (TEM Libra 120)	



ТИПИРОВАНИЕ БАКТЕРИОФАГОВ БИОПЕСТИЦИДА МУЛЬТИФАГ МЕТОДОМ RAPD-PCR (RANDOM AMPLIFICATION OF POLYMORPHIC DNA)

- OPL5 (5'-ACGCAGGCAC-3'),
- P2 (5'-AACGGGCAGA-3'),
- праймер 2 (3'-GTTCGCTCC-5').

Программа амплификации

95°C – 5 мин

94°C – 45 сек

30°C – 120 сек

72°C – 60 сек

4 цикла

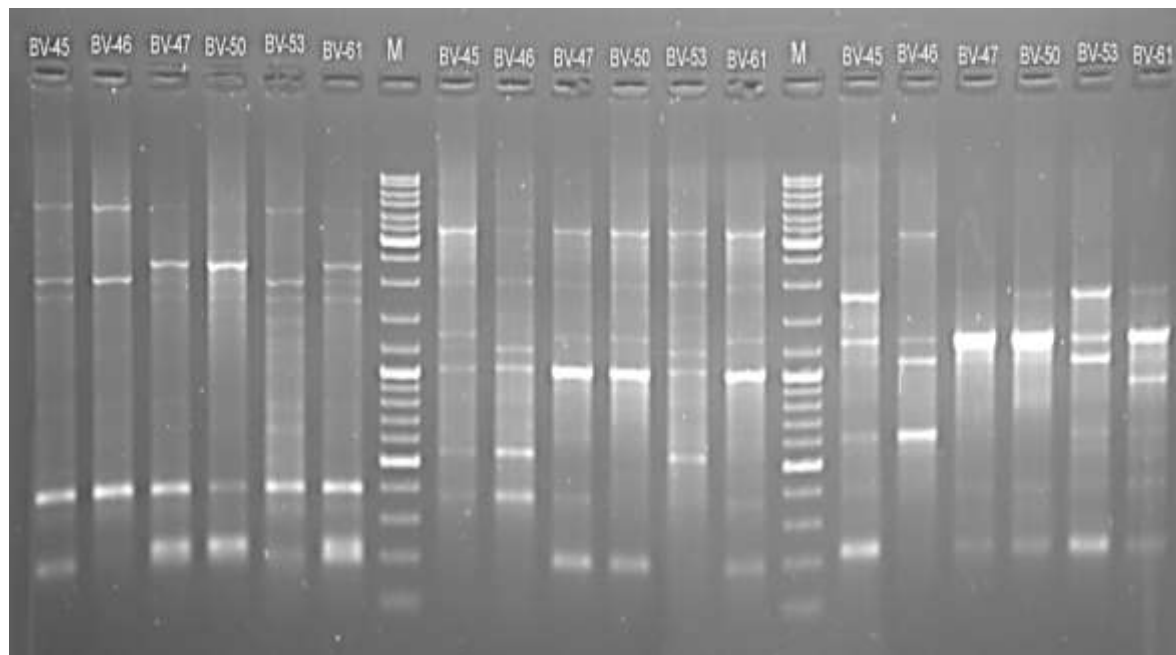
94°C – 5 сек

36°C – 30 сек

72°C – 30 сек

26 цикла

75°C – 10 мин

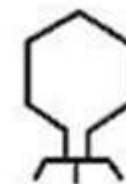


OPL5

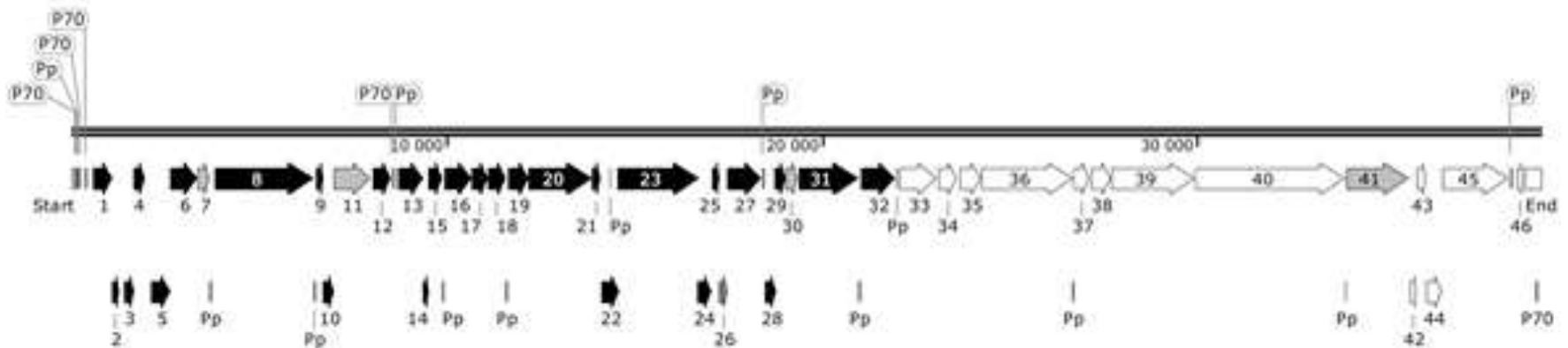
P2




праймер 2

	Количество RAPD ампликонов					
	BV-45	BV-46	BV-47	BV-50	BV-53	BV-61
OPL5	5	3	6	4	11	7
P2	7	6	6	5	5	6
Праймер 2	6	4	3	4	7	8



ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КАРТА ФАГА PF-10 (ГЕНБАНК NCBI № KP025626)



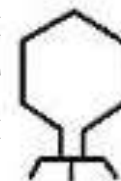
- **Pp** – специфический фаговый промотор;
- **P70** – промотор, узнаваемый бактериальной РНК-полимеразой, содержащей фактор сигма 70;
- Цифрами обозначены открытые рамки считывания;
-  - открытые рамки считывания, детерминирующие белки сходные с таковыми фага **Phi-S1** (детерминанты определяющие синтез ранних белков);
-  - открытые рамки считывания, детерминирующие белки сходные с таковыми фага **phlBB-PF7A** (детерминанты определяющие синтез ранних белков);
-  - открытые рамки считывания, детерминирующие белки, имеющие гомологию с таковыми **Phi-S1** или **phlBB-PF7A** 90 % и менее.



АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА МУЛЬТИФАГ В ОТНОШЕНИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS SYRINGAE*

Культура	Лизис фитопатогенных бактерий при опрыскивании семян (%) через		Лизис фитопатогенных бактерий при замачивании семян (%) через	
	2 часа	24 часа	2 часа	24 часа
Огурец	63,5	99,6	99,6	100,0
Томат	66,5	96,7	80,0	100,0
Капуста	69,1	86,9	75,0	100,0

Согласно проведенным испытаниям оценки биологической и хозяйственной эффективности биопестицида Мультифаг на культуре огурца (на базе РУП «Институт защиты растений») в условиях пленочной теплицы и открытого грунта, позволили установить, что трехкратная обработка растений 2% рабочей жидкостью препарата снижает пораженность листового аппарата огурца угловатой бактериальной пятнистостью в среднем на 48–50% и позволяет дополнительно получить от 12 до 16 % экологически чистой продукции.



ОСОБЕННОСТИ БИОПЕСТИЦИДА МУЛЬТИФАГ

- высокая антибактериальная активность (не менее 1 млрд БОЕ/мл);
- комплексный характер биологического действия (контроль развития бактериозов, стимуляция роста растений, повышение качества сельскохозяйственной продукции);
- технологичность применения: обработка 2% рабочей жидкостью (8 л препарата (400 л рабочей жидкости) / 1 га);
- длительный срок хранения (6 месяцев);
- низкая цена (1 л ~ 2-3\$).



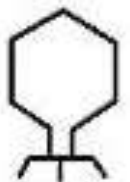
- разработана нормативно-техническая документация:
 - опытно-промышленный регламент
 - технические условия (ТУ);
- препарат зарегистрирован в ГУ «Главная государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений».



РАЗВИТИЕ КОЛЛЕКЦИИ БАКТЕРИОФАГОВ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ АГЕНТОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ



- В рамках ГП разрабатывается препарат на основе бактериофагов против бактериозов томата *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas corrugata*, *Pseudomonas syringae*, *Dickeya dadantii*
- В рамках ГПНИ ведется выделение и изучение бактериофагов фитопатогенных бактерий с широким спектром антибактериальной активности (*Clavibacter*, *Ralstonia*, *Pectobacterium*, *Dickeya*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*)



БИОПЕСТИЦИД МУЛЬТИФАГ РАЗРАБОТАН СОТРУДНИКАМИ ЛАБОРАТОРИЙ
СРЕДСТВ БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ И «КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»

ВЫРАЖАЮ БЛАГОДАРНОСТЬ ВАЛЕНТОВИЧУ ЛЕОНИДУ НИКОЛАЕВИЧУ ЗА
СЕКВЕНИРОВАНИЕ, РАСШИФРОВКУ И ДЕПОНИРОВАНИЕ ГЕНОМА
БАКТЕРИОФАГА РF-10 (БИМ BV-61) В БАЗЕ ДАННЫХ NSVI

ВЫРАЖАЮ БЛАГОДАРНОСТЬ ТИТОК МАРИНЕ АЛЕКСЕЕВНЕ ЗА ПОМОЩЬ В
МОЛЕКУЛЯРНОМ АНАЛИЗЕ ГЕНОМНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ФАГА РF-10.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

