СОЧЕТАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ PSEUDOMONAS FLUORESCENS И СТИМУЛИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ.

Соломийчук¹ М.П. , Панимарчук² О.И., Кушнір³ В.М., Никорюк¹ М.Г.

¹Украинская научно-исследовательская станция карантина растений ИЗР НААН, г. Черновцы, Украина,

²Буковинский государственный медицинский университет. г. Черновцы, Украина

³Черновицкий национальный университет, г. Черновцы, Украина,

E-mail: ukrndskr@gmail.com

Abstract: Derivatives of ammonium salts of dihydropyrimidine did not show a toxic effect on reducing the concentration of viable cells of the bacterium strain AR-33 *Pseudomonas fluorescens*. The best indicators of the weight of 100 seeds and the number of formed beans in soybeans were shown by the combination Planriz - 5 l / ha + 0.1% solution of xymedon + 0.2% solution of succinic acid + 2 ml of DMAE + 2 ml of DMSO. The use of all combinations of biocomplexes showed the effectiveness of drugs against diseases in the range of 59.31-69.63%. As a result of the use of biocomplexes, their fungicidal, immunoprotective and stimulating action, an increase in yield of 1.15 - 1.7 times relative to control was recorded. The best yield on potatoes showed a combination of Planriz, v.s. (bacteria of strain AP-33 *Pseudomonas fluorescens*, 3x10⁹ CFU / cm³) - 5 l / ha + 0.1% solution of ximedon + 0.2% solution of succinic acid + 2 ml of DMAE + 2 ml of DMSO, which was 3 , 4 t / ha. The effectiveness of the drug against late blight was 79.1%.

Key words: biological agents, pests, biological preparation, stimulant.

Введение

Для защиты растений широко применяются бактериальные препараты на основе псевдомонад спектр действия которого достаточно широк: на зерновых против корневых гнилей, помидорах и огурцах против бактериоза, фузариозу, вертицилему,

риктониозу, корневых гнилей, на капусте против черной ножки, бактериозов; в саду против парши. Бактерии хорошо усваивают различные органические субстраты, скорее других микроорганизмов колонизируют всю корневую систему, продуцируют антибиотики и сидерофоры, подавляя развитие фитопатогенных грибов. Важным аспектом в применении биологических препаратов является их возможность сочетаний с веществами стимулирующего действия для повышения вегетационных показателей растений и увеличения конкурентоспособности с химическими средствами защиты.

В сотрудничестве с Черновицким национальным университетом им. Ю. Федьковича проведена работа по синтезу и испытанию безопасных синтетических антиоксидантов на примере катиогенных производных метоксикарбонилдигидропиримидину и определения их биологической активности при защите растений на основе бактерий *Pseudomonas fluorescens*. Катиогенные производные метоксикарбонилдигидропиримидину в низких концентрациях оказывают достаточно высокую антиоксидантную свойством. Данные вещества мало токсичны, что дает возможность исследовать их использования в совокупности с биологическими препаратами. В течение двух последних десятилетий производные 3,4-дигидропиримидины-2 (1H) -ону привлекают внимание исследователей как системы с выраженным комплексом стимулирующей и антиоксидантной активности.

В связи с увеличением спроса на продукцию органического земледелия возникает потребность в изучении и внедрении технологий, обеспечивающих получение экологически чистой сельхозпродукции без применения химических средств защиты, генномодифицированных организмов, и с минимальной обработкой почвы, а также повышения активности биологических препаратов в баковых смесях и новых препаратах.

Материалы и методы

Для исследований использовались бактерии штамма AP-33 *Pseudomonas fluorescens*, с титром в рамках 3×10^9 КОЕ/см³.

Целевые объекты:

1. Соя, плесени, аскохитоз, фузариоз.
2. Картофель, фитофтороз.

Как стимулирующие вещества использовались:

- янтарная кислота - этан-1,2-дикарбоновая кислота $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ - бесцветный кристаллический порошок, влияет на активность микрофлоры почвы. Кислота содержит 99,72% основного вещества, 0,0001% - фосфатов, 0,00044% - железа, 0,0076% - оксида серы и 0,00082% хлора;
- производные группы аммонийных солей дигидропиримидину, которые включают в шестом положении цикла четвертичное аммонийное группировки и отличаются природой заместителя в четвертом положении (амин 1, амин 2, амин 3);
- соединения дигидропиримидины синтезированные на основе реакции циклоконденсации Биджинелли;
- ксемидон – гидроксипропилдиметилдигидропиримидин.

Производные группы аммонийных солей дигидропиримидина

Соединения дигидропиримидина синтезированные на основе реакции
циклоконденсации Биджинелли

Вспомогательные вещества:

- ДМАЭ - диметиламиноэтанол. Использование ДМАЭ в качестве иммунопротектора, который влияет на различные трансмембранные функции.
- Диметилсульфоксид (ДМСО) - Важный биполярные аprotонный растворитель. Обеспечивает растворение органичных веществ и проникновение их сквозь мембраны.

Результаты и обсуждение

Для анализа возможного токсического воздействия группы аммонийных солей дигидропиримидину, стимуляторов и вспомогательных веществ на состояние бактерий *Pseudomonas fluorescens*, определяли концентрацию жизнеспособных клеток, с внесением веществ в готовый препарат.

По результатам исследований отмечено, что концентрация жизнеспособных клеток бактерий *Pseudomonas fluorescens* в приготовленных продуктах в рекомендованных концентраций не приводили к снижению их концентрации ниже норм (табл. 1). Однако следует отметить, что некоторые комбинации показали снижение титра жизнеспособных клеток в препарате по сравнению с контролем.

Исследование эффективности различных сочетаний в комплексах обработки сои показало, что использование почти всех комбинаций привело к повышению ряда вегетационных и физиологических показателей в разной степени. При применении планриз, 5,0 л/га + янтарная кислота отмечено повышение количества сформированных бобов в 1,4 раза относительно контроля. Показатели массы 100 семян при применении планриз, 5,0 л/га + р-н ксимедону превышал контроль 1,6 раза и был выше комбинации с янтарной кислотой. Следует отметить, что лучшие показатели массы 100 семян и количества сформированных бобов показало сочетание планриз, 5 л/га + 0,1% раствор ксимедону + 0,2 % раствор янтарной кислоты + 2 мл ДМАЭ + 2 мл ДМСО.

Использование всех комбинаций биоконплексов показало эффективность препаратов против болезней в пределах 59,31- 69,63 %. В результате использования биоконплексов, их фунгицидные, иммунопротекторный и стимулирующему действию, зафиксировано повышение урожайности в 1,15 - 1,7 раза относительно контроля. Лучший результат показал планриз, 5 л/га + 0,1 % раствор ксимедону + 0,2 % раствор янтарной кислоты + 2 мл ДМАЭ + 2 мл ДМСО, что составляло 3,4 т/га.

Использование ДМАЭ и ДМСО, как веществ, что имеют влияние на различные трансмембранные функции, обеспечило увеличение эффективности препаратов на 8-12 % относительно комбинаций без их использования.

Аналогичную картину наблюдали и на опытах по изучению эффективности действия препаратов на основе бактерий *Pseudomonas fluorescens* в сочетании с веществами группы аммонийных солей дигидропиримидину, веществ стимулирующей природы на картофеле. Использование комбинаций обеспечивало увеличение

семенной фракции при уборке картофеля. Также обеспечило увеличение урожая в 1,7 раза относительно контроля при применении комплекса планриз, 5 л/га + 0,1 % раствор ксимедону + 0,2 % раствор янтарной кислоты + 2 мл ДМАЭ + 2 мл DMSO.

Таблица 1

Влияние препаратов группы аммонийных солей дигидропиримидину в сочетании с веществами стимулирующей природы на титр препарата при наработке бактерий *Pseudomonas fluorescens*

варианты	Концентрация жизнеспособных клеток в препарате (10 ⁹ клеток / см ³), на день		
	5	10	15
<i>Pseudomonas fluorescens</i> – 5 л/га	3,06	3,02	3,01
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ,– 5 л/га + 2 мл ДМАЭ + 2 мл DMSO	3,1	3,04	3,01
<i>Pseudomonas fluorescens</i> – 5 л/га+ Сполуки Біджинелі 0,00025%;	2,93	2,81	2,66
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ,– 5 л/га + 0,2% р-р янтарной кислоты + 2 мл ДМАЭ + 2 мл DMSO	3,07	3,03	2,96
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ,– 5 л/га производные дигидропиримидина (амин 1 – 0,5 % р-р + 2 мл DMSO);	3,08	2,96	2,85
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , – 5 л/га + производные дигидропиримидина (амин 2 – 0,25 % р-р + 2 мл DMSO);	2,90	2,75	2,52
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ,– 5 л/га + производные дигидропиримидина (амин 3 – 0,05 % р-р + 2 мл DMSO);	2,91	2,82	2,64
<i>Pseudomonas fluorescens</i> , – 5 л/га + 0,1% р-н ксимедона + 2 мл ДМАЭ + 2 мл DMSO	3,10	3,06	2,98
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ,– 5 л/га + 0,1% р-р ксимедона + 0,2% р-р янтарной кислоты + 2 мл ДМАЭ + 2 мл DMSO	3,06	3,4	2,97
НІР ₀₅	0,013	0,009	0,011

При анализе фунгицидной эффективности исследуемых комплексов, отмеченные колебания данного показателя для различных веществ что обусловлено разной эффективностью взаимодействия компонентов. Лучший результат в эффективности против фитофтороза показало сочетание планриз, 5 л/га + 0,1 % раствор ксимедону + 0,2 % раствор янтарной кислоты + 2 мл ДМАЭ + 2 мл DMSO, что составляло 79,1% эффективности препарата.

Выводы

Внесения производных группы аммонийных солей дигидропиримидина и других исследуемых стимулирующих веществ незначительно влияло на концентрацию жизнеспособных клеток бактерий *Pseudomonas fluorescens* в приготовленных продуктах

и не приводили к снижению их концентрации ниже нормы. Максимальный стимулирующий и фунгицидный эффект, при использовании на картофеле и сое, показало применение комплекса планриз, 5 л/га + 0,1 % раствор ксимедону + 0,2 % раствор янтарной кислоты + 2 мл ДМАЭ + 2 мл ДМСО. Использование ДМАЭ и ДМСО как веществ, что имеют влияние на различные трансмембранные функции обеспечило увеличение эффективности препаратов.

Бібліографія

1. Акимова Е. Е. Влияние бактерий *Pseudomonas sp.* В-6798 на фитопатологическое состояние картофеля в поле / Е. Е. Акимова // Вестник Томского государственного университета. – 2009. – № 2. – С. 42–47.
2. Березина Н. В. Биопрепараты. Система эффективного применения для защиты овощных культур. / Н. В. Березина, В. Н. Уваров // Вестник овощевода. – 2009. – № 2. – С. 49–51.
3. Вязовая А. А. Биологические свойства *Pseudomonas fluorescens* 2137 и их эффективность на растениях огурца / А. А. Вязовая, Е. В. Лимещенко, Е. С. Купцова, В. М. Бурень // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем: Мат докл. междунар. науч.-практ. конф. – Краснодар. – 2004. – Вып. 3. – С. 181–183.
4. Горбунов О. П. Совершенствование препаратов на основе *Pseudomonas aureofaciens* / О. П. Горбунов // Защита и карантин растений. – 2011. – № 5. – С. 35–36.
5. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. / Доспехов Б. А. – М.: Агропромиздат, 1985. – 416 с.
6. Курдиш І. К. Перспективи і проблеми інтродукції мікробних препаратів у агроценози / І. К. Курдиш, Л. С. Церковняк // Наук. вісн. Чернівець. ун-ту. Біологія. – 2005. – Вип. 252. – С. 126–131.
7. Патент України на корисну модель № 33738 від 10.07.2008р. Спосіб одержання 5-ароїл-3,6-діарилдигідропіримідин-2,4-1Н,3Н)-діонів / Вовк М.В., Сукач В.А., Кушнір О.В.// Офіційний бюлетень. Промислова власність. Бюл.№9.
8. Патент України на корисну модель № 48943 від 12.04.2010р. Спосіб одержання 1,6-діоксо-8-арил-1,3,4,6,7,8-гексагідро-2 Н-піразино (1,2-с)-піримідин-9-карбоксилатів / Вовк М.В., Кушнір О.В.// Офіційний бюлетень. Промислова власність. Бюл.№7.
9. Synthesis and oxidant activity of 2-thioxo-1.2.3.4-tetrahydropyrimidine-5-carbamides / O.V. Kushnir. O.N. Voloshchuk. R.I. Eften'eva. M.M. Marchenko, M.V. Vovk / Pharm. Chem. J. - 2014. – V.48, №4. – P.246-248).