

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ВНИИФ

В.Дубовой*, к.б.н., Н.Жемчужина*, С.Елизарова*, П.Горелов**, к.б.н.
gpv@awt.ru

Государственная коллекция фитопатогенных микроорганизмов (далее – Коллекция) Всероссийского научно-исследовательского института фитопатологии (ВНИИФ) предназначена для проведения фитопатологических, иммунологических, селекционных, генетических, токсикологических, паразитологических и других исследований возбудителей болезней сельскохозяйственных культур с целью выведения болезнестойчивых сортов растений. Она была создана около полувека назад в результате многолетнего изучения видовой и внутривидовой структуры популяций фитопатогенов в разных зонах страны.

В свой начальный период Коллекция формировалась в основном из штаммов, отличающихся наибольшей вирулентностью и поражающих самые экономически значимые сельскохозяйственные культуры, такие как картофель, зерновые, некоторые технические. Биоматериал в нее поступал со всего Советского Союза – из России, Украины, Белоруссии, Прибалтики, Закавказья, Средней Азии. В 1992 году ВНИИФ вошел в систему Россельхозакадемии. В результате стала шире тематика и возросло число объектов исследований. Это касается как сельскохозяйственных растений, так и возбудителей их болезней. Соответственно, резко увеличилось и количество видов микроорганизмов, поступающих в Коллекцию. Теперь в нее для изучения структуры стали включать не только высоко вирулентные штаммы и патотипы, но и все другие компоненты региональных популяций. В настоящее время здесь содержатся представители грибов, бактерий, вирусов, виридов, фитоплазм и нематод, представляющих наибольшую опасность для растениеводства.

Сегодня Коллекция является самой большой в России и единственной в растениеводстве, имеющей статус Государственной. Она насчитывает около 4000 единиц хранения патогенных микроорганизмов, поражающих основные сельскохозяйственные культуры России: пшеницу, рожь, овес, ячмень, рис, картофель, овощи, некоторые технические культуры.

В составе Коллекции присутствуют штаммы особо опасных патогенов растений и токсикогенные микроорганизмы, вызывающие тяжелые заболевания не только растительных культур, но и животных и человека. Среди собранных здесь представлены возбудители бурой, стеблевой и желтой ржавчины, септориоза и фузариоза зерновых, фитофтороза картофеля. Значительную долю (34%) фитопатогенов составляют бактерии (табл.1). Каталог коллекционных штаммов и Методические рекомендации по способам хранения фитопатогенных микроорганизмов размещены на сайте института.

Коллекция является одним из основных структурных подразделений ВНИИФ. В 2004–2013 годах ее помещения были коренным образом

* ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии".

** АНО "Аналитика и Высокие Технологии".

реконструированы и переоснащены. Установленное оборудование обеспечивает надежное хранение штаммов фитопатогенов и современный уровень проведения научно-исследовательских работ.

Коллекция находится в отдельном крыле здания. Ее внешний периметр охраны обеспечивается системами контроля доступа (электронные пропуска) и видеонаблюдения. Для биологической безопасности хранящихся штаммов и биоматериала фитопатогенов оборудован санпропускник для смены спецодежды. Изолированность помещений поддерживается герметизацией окон и системой принудительной приточно-вытяжной вентиляции, оборудованной фильтрами тонкой очистки. Для обеспечения стерильности во время проводимых работ используются бактерицидные лампы и шкафы биобезопасности 2-го и 3-го классов защиты. Возникающие в процессе исследований твердые отходы автоклавируются, а жидкие – стерилизуются.

В Коллекции установлено все необходимое оборудование для работы с грибами, бактериями и вирусными организмами*. В распоряжении работающих здесь специалистов находятся современные лабораторные столы со всей требуемой лабораторной посудой (чашки Петри, колбы, стаканы, воронки, пробирки) и микробиологическим инструментарием (петли, скальпели, спиртовки, инфракрасные стерилизаторы). Для точного взвешивания используются прецизионные и аналитические весы. Микроскопы оснащены фотовидеофиксацией.

Исследуемые микроорганизмы хранятся в низкотемпературных морозильниках и лабораторных холодильниках. Культивирование проводится в ламинарных боксах, термостатах и термостатируемых шейкерах. Для проведения молекулярных работ в Коллекции имеются амплификаторы, приборы для электрофореза, оборудование для фотофиксации результатов ПЦР**. Результаты исследований обрабатываются с помощью специальных компьютеров, оснащенных всем требуемым программным обеспечением и периферией, вплоть до принтеров для печати штрих-кодов к образцам коллекции. Авто-

Таблица 1. Количество штаммов различных групп микроорганизмов Государственной коллекции ФГБНУ "ВНИИФ"

Возбудитель	Количество штаммов
<i>Puccinia triticina</i>	1019
<i>Puccinia striiformis</i>	22
<i>Puccinia graminis</i>	123
Септориальные грибы	286
Грибы р. <i>Fusarium</i>	200
<i>Bipolaris</i>	66
<i>Alternaria</i>	33
Фитопатогенные и сапрофитные грибы других родов	78
<i>Phytophthora infestans</i>	315
Бактерии	1319
Вирусы, вириды и фитоплазмы	86
Нематоды	319
Итого	3866

клавы, дистиллятор, машина для мойки лабораторной посуды и оборудование для лиофильной сушки биоматериала установлены в отдельных специализированных помещениях.

Для хранения фитопатогенов в Коллекции используется целый набор разнообразных методов (табл.2), среди которых присутствуют как традиционные, так и специально разработанные, низкотемпературные (на фильтровальной бумаге и в глицерине при -80°C). Для подтверждения качества хранящегося материала регулярно проводится проверка его жизнеспособности, определяются патогенные и фитотоксичные свойства, проводится молекулярная идентификация штаммов.

Учет штаммов производится с помощью компьютерной системы PACS, которая позволяет отслеживать весь путь движения каждого штамма от его поступления в Государственную коллекцию до отправки заказчиком или выборки при потере им биологических свойств. На каждый хранящийся фитопатогенный штамм в Коллекции заведена компьютерная информационная карта (паспорт) с указанием различных свойств штамма.

* Авторы выражают благодарность специалистам Автономной некоммерческой организации "Аналитика и Высокие технологии" (АНО "АВТех") за поддержку оборудования и приборов Коллекции в рабочем состоянии.

** ПЦР (полимеразная цепная реакция) – высокоточный метод диагностики различных инфекций.

Таблица 2. Методы хранения штаммов фитопатогенов

№ п/п	Метод	Возбудитель	Примечание
1	Метод последовательных пересевов на агаризованную питательную среду	Факультативные фитопатогенные и сапрофитные грибы и бактерии	
2	Хранение в холодильнике при +4°C	Ржавчинные грибы	
3	Хранение под вазелиновым маслом	Бактерии	
4	Хранение под слоем стерильной воды	Бактерии и изоляты фитофторы	
5	Лиофилизация	Факультативные фитопатогенные грибы	Лиофильно высушенное состояние на полосках фильтровальной бумаги
6	Криоконсервация в низкотемпературных морозильниках при -80°C	Споровая масса изолятов ржавчины	В желатиновых капсулах в криопробирках
		Бактерии	В растворе глицерина
		Факультативные грибные фитопатогены	В виде спорово-мицелиальной массы в 50%-ном глицерине

Круг задач, решаемых сотрудниками Коллекции, весьма широк. В него входят:

- пополнение новыми видами и штаммами фитопатогенных микроорганизмов, которые выделяют из образцов пораженных растений из различных зон РФ или получают из рабочих коллекций отделов, лабораторий и групп ВНИИФ, а также по обмену из российских и зарубежных коллекций;
- ведение учета, в том числе и компьютерного, поступлений коллекционных образцов фитопатогенных культур, их движения в институте, выполнение рассылки заказчикам и выбраковки штаммов, потерявших жизнеспособность или патогенные свойства;
- консервация и централизованное хранение генетически разнообразных штаммов фитопатогенных микроорганизмов;
- поддержание в жизнеспособном и биологически чистом состоянии штаммов, взятых на учет, а также сортов и линий растений-индикаторов (дифференциаторов) патогенных штаммов;
- совершенствование методов выделения, идентификации, размножения, хранения и генотипирования фитопатогенных микроорганизмов;
- обеспечение хранящихся штаммов и другого биоматериала надежной физической защитой и системой биобезопасности;
- составление каталогов коллекционных образцов фитопатогенных микроорганизмов с характеристикой их диагностических признаков, патогенных и вирулентных свойств и других показателей, указанных в информационной карте (паспорте) коллекционного образца;
- рассылка каталогов в учреждения, являющиеся потенциальными заказчиками штаммов коллекции;
- оказание практической помощи научно-исследовательским институтам РФ, селекционным центрам и другим потребителям в их обеспечении паспортизированным, генетически тестированным биологическим материалом для проведения исследований и испытаний;
- наработка патотипов и обеспечение биоматериалом селекционных центров, научно-исследовательских учреждений и других потребителей по их заявкам для проведения фитопатологических, генетических, иммунологических, токсикологических и других, в том числе фундаментальных исследований с целью разработки современных методов мониторинга эпидемий и их контроля.