

УДК 578.85.86:579.64

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ВИРУСОВ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ (ОБЗОР)

© 2020 г. И. В. Максимов¹, *, А. В. Сорокань¹, М. Ю. Шеин¹, Р. М. Хайруллин¹

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, 450054 Россия

*e-mail: igor.mak2011@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.03.2020 г.

После доработки 24.05.2020 г.

Принята к публикации 02.07.2020 г.

Вирусные заболевания вызывают значительные потери урожая и заметное ухудшение качества сельскохозяйственной продукции. В настоящее время не существует методов защиты растений от циркулирующих в агроэкосистемах вирусов непосредственно какими-либо противовирусными препаратами, а меры борьбы сводятся к селекции устойчивых сортов, оздоровлению культивированием верхушечных меристем, а также к контролю численности насекомых-переносчиков. В обзоре описываются современные подходы в защите растений от вирусных заболеваний редактированием генома, регуляцией экспрессии генов растения-хозяина и/или вируса методами РНК-интерференции и формирования искусственного консорциума растений с ризосферными и/или эндофитными микроорганизмами, обладающими комплексной защитной активностью и иммуномодулирующим потенциалом.

Ключевые слова: вирусы, стимулирующие рост растений микроорганизмы, противовирусная активность, РНКазы, системная устойчивость растений, биопрепараты

DOI: 10.31857/S0555109920060100

Вирусы – уникальные болезнетворные агенты, способные использовать генетический аппарат хозяина для воспроизводства и рециркуляции в природе. В силу их патогенных свойств защита человека, домашних животных, культурных растений и промышленных микроорганизмов от вирусных инфекций относится к одному из важнейших вызовов современности [1]. Культурные растения поражаются не менее чем 450 видами вирусов [2], многократно уменьшая и ухудшая их биологическую продуктивность, а также товарные качества [3, 4]. Вирусная инфекция является одной из причин “вырождения сорта”, неизбежно происходящего при возделывании культур без специального семеноводства и сортообновления [5]. Аббревиатуры вирусных болезней, которые обсуждаются в обзоре, приведены в табл. 1.

Восстановлением генетически запрограммированного биологического потенциала культуры и освобождением ее от вирусов в растениеводстве занимается комплекс семеноводческой индустрии, проводящий мероприятия по химической и биологической защите растений от вирусов и их переносчиков, соблюдению агротехники (выбор сроков посадки и уборки, соблюдение севооборота, борьба с сорняками и др.), а также клонному отбору растений, биотехнологическому оздоровлению и размножению безвирусного материала в культуре *in vitro* [6]. Вместе с тем, современная тех-

нология оригинального семеноводства, например, безвирусного картофеля, основанная исключительно на выделении и регенерации безвирусных апикальных меристем, недостаточно эффективна в исключении вирусной инфекции. По мере репродукции изначально безвирусный стерильный посадочный материал в полевых условиях (3–5 лет) заражается механическим путем или посредством повреждения различными переносчиками (патогенными микроорганизмами, нематодами и насекомыми). Титр вирусных частиц в тканях растений по мере репродукции культуры неуклонно повышается. В итоге стародавние сорта в коллекциях, а также образцы, отобранные в частных хозяйствах, оказываются формирующими определенный резерват инфекции, в том числе вирусной [7].

В отличие от пестицидов, уничтожающих грибные патогены и вредных насекомых, в настоящее время отсутствуют эффективные химические средства защиты растений против вирусов в полевых условиях [8]. Вместе с тем, еще в начале 70 гг. 20 в. существенным этапом в развитии химиотерапии как метода, дополняющего биотехнологические методы оздоровления растений от вирусов, явилось открытие противовирусной активности рибавирина (1,β-D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамид) [9]. В работе [10] показано, что обработка растений томатов этим соединением полностью подавляет размножение вируса

Таблица 1. Аббревиатура вирусных болезней, упоминаемых в обзоре

Вирус бронзовости томата	ВБТ	Tomato spotted wilt virus	TSWV
Вирус мозаики томатов	ВТоМ	Tomato mosaic virus	ToMV
Вирус черной кольцевой пятнистости томатов	ВЧКПТ	Tomato black ringspot nepovirus	TBRV
Вирус желтой курчавости листьев томата	ВЖКЛТ	Tomato yellow leaf curl virus	TYLCV
Вирус крапчатой мозаики томатов	ВКМТ	Tomato mottle virus	ToMoV
Вирус хлоротичной пятнистости томатов	ВХПТ	Tomato chlorotic spot virus	TCSV
Вирус табачной мозаики	ВТМ	Tobacco mosaic virus	TMV
Вирус погремковости табака	ВПоТ	Tobacco rattle virus	TRV
Вирус некроза табака	ВНТ	Tobacco necrosis virus	TNV
Табачный вирус стрика	ТВС	Tobacco streak virus	TSV
X вирус картофеля	ХВК	Potato virus X	PVX
Y вирус картофеля	YBK	Potato virus Y	PVY
M вирус картофеля	МКВ	Potato virus M	PVM
Вирус черной кольцевой пятнистости картофеля	ВЧКПК	Potato black ringspot nepovirus	PBRV
Вирус метельчатости верхушек картофеля	ВМКВ	Potato mop-top virus	PMTV
Вирус скручивания листьев картофеля	ВСЛК	Potato leafroll virus	PLRV
Вироид веретеновидности клубней картофеля	ВВКК	Potato spindle tuber viroid	PSTV
Вирус пятнистости жилок острого перца	ВПЖОП	Chilli veinal mottle virus	ChiVMV
Вирус крапчатости перца	ВКП	Pepper mottle virus	PMV
Вирус мягкой крапчатости перца	ВМКП	Pepper mild mottle virus	PMMoV
Вирус некротического пожелтения жилок свеклы	ВНПЖС	Beet necrotic yellow vein virus	BNYVV
Вирус разрастания жилок салата-латука	ВРЖСЛ	Lettuce big-vein associated virus	LBVaV
Вирус некроза почек арахиса	ВНПА	Groundnut bud necrosis virus	GBNV
Вирус желтой мозаики фасоли	ВЖМФ	bean yellow mosaic potyvirus	BYMV
Вирус скручивания листьев маша	ВСЛМ	Urdbean leaf crinkle virus	ULCV
Вирус крапчатости клевера	ВКК	Red clover mottle virus	RCMV
Вирус вилта кормовых бобов = Вирус вилта фасоли	ВВФ	Broad bean wilt virus	BBWV
Вирус пятнистости кормовых бобов	ВПКБ	Broad Bean Strain Virus	BBSV
Вирус мозаики вигны	ВМВ	Cowpea mosaic virus	CPMV
Вирус мозаики люцерны	ВМЛ	Alfalfa mosaic virus	AMV
Вирус карликовости кукурузы	ВКК	Maize rough dwarf virus	MRDV
Вирус карликовой мозаики кукурузы	ВКМК	Maize dwarf mosaic virus	MDMV
Вирус желтой пятнистости ириса	ВЖПИ	Iris yellow Spot Virus	IYSV
Вирус огуречной мозаики	ВОМ	Cucumber mosaic virus	CMV
Вирус зеленой крапчатой мозаики огурца	ВЗКМО	Cucumber green mottle mosaic virus	CGMMV
Вирус мозаики тыквы	ВМТ	Squash mosaic virus	SMV
Вирус некротической пятнистости дыни	ВНПД	Melon necrotic spot virus	MNSV
Вирус зеленой крапчатой мозаики киури	ВЗКМК	Kyuri green mottle mosaic virus	KGMMV
Вирус некроза подсолнечника	ВНП	Sunflower necrosis virus	SNV
Вирус кольцевой пятнистости папайи	ВКПП	Papaya ringspot virus,	PRV
Вирус разрастания верхушек банана	ВРВБ	Banana bunchy top virus	BBTV

бронзовости томатов (**ВБТ**). Мишенью рибавирина является фермент, эффективно блокирующий и предотвращающий только синтез новых вирусных частиц, поэтому препарат неэффективен против уже сформировавшихся вирусных частиц. Кроме того, обнаружен тератогенный эффект рибавирина по отношению к человеку [11].

На международном рынке пестицидов существует ряд органических препаратов, которые по-

зиционируются производителями как противовирусные. Например, предложены препараты, такие как Virimox (“Gurudutt Agro Chemicals”, Индия), который содержит антиоксиданты, подобные аскорбиновой кислоте, витамины и минералы, поддерживающие иммунные реакции растений и активизирующие синтез лигнина, Virol-H (“Ambience Fertchem”, Индия), содержащий водный экстракт трав, и Viriweak (“Jaiveek Agro Biotech.”, Индия),

активными компонентами которого являются сапонины [12], а также Kobe (“Onzelivre BV”, Нидерланды), активными веществами которого являются хризофановая кислота и пигмент лишайника *Xanthoria parietina*, паритинин [13]. Механизм действия этих препаратов основан либо на индукции защитных реакций растений, либо на инсектицидной или фунгицидной активностях, но не на прямом вируцидном эффекте. Интересна работа египетских исследователей, в которой отмечается прямой, а также опосредованный активацией иммунной системы растений, антивирусный защитный эффект наночастиц оксида никеля против вируса огуречной мозаики (ВОМ) [14] и диоксида титана против вируса пятнистости кормовых бобов (ВПКБ) [15].

При разработке мероприятий по защите растений от вирусов нельзя упускать из виду традиционные химические пестициды (бактерициды, фунгициды, нематоциды и инсектициды), действующие как регуляторы численности потенциальных векторов переноса вирусных частиц. Давно известно, что эффективными векторами многих фитовирусов являются тли (надсемейство *Aphidoidea*), белокрылки (семейство *Aleyrodidae*), трипсы (отряд *Thysanoptera*), нематоды (семейство *Trichodoridae*) и др. [16–19]. Из-за повреждения почвенными нематодами *Trichodorus* sp. и *Paratrichodorus* sp. происходит заражение растений картофеля вирусом погрешности табака (ВПоТ) [20], а нематодами *Longidorus* sp. – вирусами черной кольцевой пятнистости картофеля (ВЧКПК) и томатов (ВЧКПТ) [19]. Переносчиком вируса ВОМ может быть фитопатогенный гриб *Rhizoctonia solani* [21], вируса некротического пожелтения жилок свеклы (ВНПЖС) – плазмодиюфорный псевдогриб *Phoma betae* A.V. Frank. (син. *Pleospora betae* Bjorl.). Гриб *Olpidium brassicae*, (Woronin) P.A. Dang, вызывающий ризоманию [22], может быть переносчиком вируса разрастания жилок салата-латука (ВРЖСЛ) и вируса некроза табака (ВНТ) [17, 19]. Вирус метельчатости верхушек картофеля (ВМВК) распространяется зооспорами гриба *Spongospora subterranean* (Wallr.) Lagerh. [3]. Обнаружена способность зооспор возбудителя фитофтороза *Phytophthora infestance* переносить X-вирус картофеля (ХВК) [23], а вирус табачной мозаики (ВТМ) сохранял свою вирулентность по отношению к табаку после пассирования на мицелии этого оомицета [24].

В качестве основы для антивирусных препаратов исследователями особое внимание уделяется низкомолекулярным биологически активным молекулам и пептидам, способным активировать иммунитет растений и уменьшить степень развития симптомов вирусной инфекции [25, 26]. Эти соединения по сравнению с пестицидами менее токсичны, легко утилизируются растениями и разлагаются в окружающей среде без накопления

вредных веществ [3]. Они могут долговременно усиливать в растениях иммунитет, защищающий их от заражения вирусами и другими патогенами, в том числе могут быть использованы для размножения безвирусных микрорастений. Например, имеются сведения об эффективном использовании интерферона человека для борьбы с вирусами [27, 28], в том числе ХВК, М-вируса картофеля (МВК) и Y-вируса картофеля (YВК) на растениях картофеля [29].

Хитозан и салициловая кислота (СК) нашли практическое применение в качестве средств защиты растений от вирусов [25, 30–32]. Показана эффективность хитозана в защите картофеля от ХВК, YВК, ВТМ, вируса некроза табака (ВНТ), огуречной мозаики (ВОМ), мозаики люцерны (ВМЛ), желтой мозаики фасоли (ВЖМФ), вириода веретенновидности клубней (ВВКК) и др. [30, 31]. Использование хитозана способствовало уменьшению степени развития вирусной инфекции у растений банана [33], томатов [34] и огурца [35]. Его защитный эффект зависел от концентрации, степени полимеризации, N-дезацетилирования, заряда молекулы и природы ее химической модификации [36]. Механизм защитного эффекта хитозана оказался связан с предотвращением распространения вирусов по сосудам флоэмы и плазмодесмам растений [31], в том числе благодаря отложению каллозы в порах клеток ситовидных трубок [37] и активации растительных рибонуклеаз [31, 38]. Олигомеры хитозана индуцировали устойчивость к ВТМ у растений *Arabidopsis* дикого типа и нечувствительного к жасмоновой кислоте мутанта (*jar1*), но не у растений *Arabidopsis* (*NahG*) с лимитированным синтезом СК [39].

На растениях дурмана *Datura stramonium* L. выявлено снижение степени пораженности ХВК после обработки κ/β -каррагинаном (сульфированный полисахарид) из красной водоросли *Tichocarpus crinitus* [40]. Активацией гидролитических ферментов, в том числе рибонуклеаз, объясняют защитный эффект применения динатриевой соли 2-ацетил-4-гидроксикарбонил-метилтио-5-хлороциклопент-4-ен-1,3-диона (β , β' -трикетона) для обработки листьев табака против ВТМ [41].

Под влиянием экзогенной СК обнаружена экспрессия растительных рибонуклеаз, РНК-зависимой РНК-полимеразы, участвующей в механизме антивирусной РНК-интерференции (РНКи) [38], и, соответственно, накоплении коротких интерферирующих РНК [42]. Предполагается, что это может приводить к полному исчезновению вируса в растении [43]. Например, под влиянием СК активность транскрипции РНК-зависимой РНК-полимеразы может увеличиваться более чем в 1300 раз [44], ингибируя репликацию, транспорт вирусных частиц от клетки к клетке по плазмодесмам и проводящим сосудам [45]. Обработка синтетическим аналогом СК – бензотиади-

азолом (S-метилловый эфир бензо-(1,2,3)-тиадиазол-7-карботионовой кислоты), который является основой препаратов “BION®” и “Astigard®” (Syngenta, Швейцария), эффективно уменьшала степень распространения YBK в растениях томата в течение 7 сут после обработки [46]. Обработка растений перца *Capsicum annuum* препаратом 0.5 мМ бензотиадиазола индуцировала устойчивость к ВОМ [47]. Точно также обработка аналогом СК, 2,6-дихлорникотиновой кислотой, восстанавливала у растений линии картофеля NahG-Desire устойчивость к YBK [48].

Однако несмотря на успешность использования таких препаратов, следует принимать во внимание, что описанные выше и другие подобные вещества в относительно краткий срок утилизируются и/или разбавляются в растениях, что способствует реинфекции, так как вирусные частицы постоянно присутствуют в клетках и репродуцируются, как только прекращается действие ингибирующего фактора [6, 11]. Так, например, уже к 14 сут после обработки бензотиадиазолом различия в проявлении болезни между контрольными и обработанными препаратами растениями нивелировались [46].

Одним из главных путей борьбы с вирусной инфекцией можно считать селекцию вирусостойчивых растений. Но, к сожалению, у культурных растений не так много источников генов иммунитета к вирусам с доминантным типом наследования [49, 50]. Например, анализ 178 сортов картофеля отечественной селекции, проведенный Клименко с соавт. [7], показал, что из них 78.2% не имели ни одного маркера устойчивости к YBK и только сорта, содержащие в геноме маркер STM0003, сцепленный с геном *Ry_{sto}*, были в определенной степени ценны для селекции. Гены *Ty-1* и *Ty-3*, отвечающие за устойчивость томатов к вирусу желтой курчавости листьев томата (ВЖКЛТ) оказались генами, кодирующими РНК-зависимую РНК-полимеразу [51] важный фермент РНКи.

Более эффективными по сравнению с классическими методами селекции для формирования устойчивости оказались технологии генной инженерии, когда в геном хозяйственно ценной культуры (сорта) вводятся гены [52], кодирующие синтез потенциально антивирусных белков (интерферона и/или рибонуклеаз), белков токсичных для насекомых (белков Cru и Vip бактерии *B. thuringiensis* и/или ингибиторов протеиназ) или капсидных белков (КБ) самого вируса [53, 54], а также гены, ответственные за функционирование механизмов редактирования геномов с использованием систем CRISPR/CasN и РНКи [55]. Вместе с тем, следует отметить, что эффективность таких трансформаций может быть различна и со временем неизбежно преодолевается вирусами. Так, показано, что если трансгенные линии картофеля, синтезирующие КБ YBK, проявили по-

чти полную устойчивость к соответствующему вирусу, то синтез растениями КБ вируса скручивания листьев (ВСКЛ) приводил к формированию устойчивости только у 72–96% растений [53].

Другим негативным эффектом массового выращивания в поле генно-модифицированных растений является перераспределение видовой структуры вирусов, которое может приводить к распространению других, нецелевых, но также вредоносных инфекций. Так, испанские ученые [56] показали, что на посевах традиционного сорта кукурузы преобладал вирус карликовости (ВКК), в то время как на посевах генно-модифицированной Vt-кукурузы – вирус карликовой мозаики (ВКМК).

Интересен подход к формированию защиты растений от вирусной инфекции с использованием эффекта РНКи, действующей как на транскрипционном – метилирование ДНК, так и на пост-транскрипционном уровнях посредством прямой РНКи информационной или вирусной РНК, опосредованной Dicer-подобными рибонуклеазами III класса (Dicer-like protein, DCL) и малыми (короткими) интерферирующими РНК (миРНК) [57]. Цхан с соавт. [55], показали, что в растениях линий картофеля, экспрессирующих генно-инженерную кассету CRISPR/Cas13a, содержащую миРНК, комплементарную фрагменту генома YBK, накапливалось меньше вирусной РНК, и, соответственно, уменьшалась интенсивность проявления симптомов заболевания. Вместе с тем, в некоторых случаях подобные манипуляции приводили не только к устойчивости, например, томатов к ВЖКЛТ, но и к значительному изменению транскриптома растений, у которых некоторые интегрируемые компоненты негативно влияли на продуктивность культуры [58]. В то же время бурно развивающаяся технология редактирования геномов, включающая и компоненты РНКи, позволяет считать, что использование комплексных систем редактирования на основе, например, кассеты CRISPR/Cas13 может помочь в решении задачи подавления репликации вирусного генома в растениях [59].

Перспективность борьбы с патогенами и вредителями, переносчиками вирусов, на основе РНКи обсуждается также при создании РНКи-инсектицидов [60, 61], РНКи-фунгицидов [62], РНКи-нематицидов [63], а также РНКи-вирицидов [64, 65]. Пять лет назад (2015) компания Monsanto (США) анонсировала выход на рынок первого инсектицида на основе интерферирующих РНК [66]. Авторы работы [67] считают, что необходимо создавать несколько видов таких препаратов или вводить в геном растения целую кассету, содержащую гены защитных соединений, действующих против насекомых, вирусов, и, может быть, грибных фитопатогенов. Однако такая громоздкая кассета, по нашему мнению, является

проблемной с точки зрения конструирования, ее интеграции в растительный геном и сохранности в нем, а также биобезопасности и вероятности формирования впоследствии суперрезистентности у целевых объектов. Такая схема принципиально отличается от защиты растений с помощью генетической модификации, но требует разработки методов доставки “РНКи-пестицида” в растение, защиты РНКи-молекул от ультрафиолетового излучения и смыва дождем [68]. Тем не менее, имеются удачные работы по созданию устойчивых против вирусной РНК растений, содержащих РНКи векторы. Так, был сконструирован химерный вектор экспрессии, содержащий три фрагмента генов ORF2 вируса картофеля ХВК, гена протеазы желперного компонента вируса УВК и гена КБ вируса скручивания листьев картофеля (ВСЛК) [69]. Его внедрение в картофель позволило выделить 20% растений, иммунных ко всем трем вирусам, вследствие одновременного подавления экспрессии вирусных генов.

Интересны новые идеи по доставке таких “РНКи-пестицидов”, например, с помощью микросимбионтов целевого вида насекомого [67] или ризосферных и эндофитных бактерий [70]. В работе [71] отмечается, что использование эндофитов в качестве векторов для введения в растения сигнальных молекул является более перспективным, чем возделывание генетически модифицированных растений.

Биологический контроль распространения вирусов. Создание на современном этапе противовирусных препаратов для защиты растений, которые элиминировали бы вирусные частицы, представляется сомнительным. Заявлено, что биофунгицид Serifel® (“BASF SE”, Германия) эффективно защищает растения томата от вируса бронзовости томата (ВБТ), а картофеля – от УВК [46]. На Украине созданы два биопрепарата (“Биогран” и “Бактопаслен”) с заявленной противовирусной активностью против МВК. Первый содержит бактерии *Azospirillum*, фитогормоны, аминокислоты, гуминовые кислоты, микро- и макроэлементы, а второй – бактерии *Azotobacter vinelandii*, *A. chroococcum* и лектин картофеля [72]. Известен препарат Bei Laisi, содержащий ауксин-продуцирующий штамм *B. velezensis* SNB55, депонированный в коллекции микроорганизмов Китая под номером CGMCC NO.17315 [73]. Штамм ингибировал размножение ВТМ, ВЖЛТ, а также был эффективен для защиты растений огурца от фузариоза, перца – от фитотрофоза, риса – от ризиктониоза, а также подавлял рост фитопатогенов *Rhizoctonia solani* Kuhn и *Botrytis cinerea*. Анализ российского рынка показывает, что антивирусные препараты в классификации биопестицидов Российской Федерации вообще не встречаются [8].

Одним из перспективных подходов к созданию новых противовирусных препаратов заклю-

чается в применении штаммов микроорганизмов с явными инсектицидным или другими биоцидными эффектами для контроля векторов переноса вирусов. Например, только в Китайской Народной Республике к 2013 г. 85 компаний зарегистрировали 132 биопрепарата на основе бактерий *B. thuringiensis* [74]. В Индии биопестициды для борьбы с вредителями занимают около 5% рынка подобных средств защиты растений. В состав этих препаратов входят до 15 видов и штаммов микроорганизмов. Центральный Совет по инсектицидам и регистрационный комитет Индии (Central Insecticides Board and Registration Committee) зарегистрировал в 2017 г. 970 микробиологических препаратов, из которых более 200 содержали энтомопатогенные (*Lecanicillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Hirsutella thompsonii*, *Metarhizium anisopliae* s.l.) и нематоцидные (*Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*) грибы. Основу более тридцати препаратов составляли бактерии *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, двенадцати – *B. thuringiensis* subsp. *israelensis*, трех – *B. thuringiensis* subsp. *sphaericus* (для борьбы с москитами) [75]. В США зарегистрировано 356 активных ингредиентов биопестицидов, включающих 57 видов и/или штаммов микроорганизмов или их продуктов, направленных против размножения насекомых, клещей и нематод [76]. В России зарегистрировано не менее 10 биоинсектицидов, содержащих в том числе штаммы *B. thuringiensis*, наибольшую известность из которых имеет биопрепарат “Битоксибациллин” (*B. thuringiensis* var. *thuringiensis*, “СибБиоФарм”, Россия).

Биоцидная активность ризосферных и эндофитных бактерий позволяет предположить, что эти микроорганизмы, благодаря продукции ими антибиотических веществ, проявляют антивирусную активность опосредовано, так как фитопатогенные бактерии, грибы, нематоды и насекомые-вредители, как уже отмечено выше [3, 16–23], могут быть векторами-переносчиками большого числа вирусных инфекций растений. Многократное уменьшение степени поражения растений свеклы ВМПЖС после их обработки препаратом бактерий *B. amylolequifaciens* в работе [22] объясняется снижением пораженности грибом *Phoma betae*, возбудителем зональной пятнистости или фомоза. Обнаружено, что изолят *B. subtilis* BS3A25 и его культуральный фильтрат сдерживали развитие ВОМ в растениях томата, угнетая развитие бахчевой тли *Aphis gossypi*, являющегося переносчиком этого заболевания [77], что может быть связано как с афицидностью сурфактинов, вырабатываемых бактериями [78, 79], так и с запуском под влиянием бактерий защитных механизмов растений против насекомого и/или вируса [79, 80]. Колонизация внутренних тканей лука эндофитным грибом *Hypocrea lixii* (F3ST1) достоверно уменьшала титр частиц вируса желтой пятнисто-

сти ириса (**ВЖПИ**) в растениях, снижая их поврежденность основным его переносчиком – трипсом *Thrips tabaci* Lind. [81].

Достаточно активно проводится оценка влияния стимулирующих рост растений микроорганизмов (**СРРМ**) на проявление в растительной ткани вирусной инфекции, а также распространение и накопление вирусов. В 1966 г. [82] было описано, что инъекция в ткани табака сорта Самсун NN убитых клеток *P. syringae* способствовала уменьшению симптомов мозаики, вызванной ВТМ. Обработка семян коровьего гороха (вигны) *Vigna unguiculata* суспензией клеток штаммов бактерий *B. pumilus* T4 и *B. subtilis* GBO3 увеличивала их всхожесть, уменьшала симптомы поражения растений вирусом мозаики (**ВМВ**) на 42% и 41%, соответственно, в особенности при совместном применении, а также восстанавливала их рост [83]. Совместное применение штаммов *P. putida* 89B-61 и *Serratia marcescens* 90-166 [84], а также штаммов *S. marcescens* 90-166 и *B. pumilus* SE34 [85] для обработки семян огурца и томатов развивало устойчивость у проростков к ВОМ и заметно уменьшала степень проявления болезни. Впервые системность развития защитных механизмов растений против вирусной инфекции была показана после сложной последовательной инокуляции первого и второго листьев огурца бактерией *P. lachrymans*, а третьего листа – вирусом ВОМ [86]. Обработка хлопчатника суспензионной культурой изолятов *Bacillus* spp. из ризосферы и тканей растений эффективно защищала растения от табачного вируса стрика (**ТВС**), уменьшая титр частиц вируса в тканях [87]. Ризосферные штаммы бактерий *B. amyloliquefaciens* FZB24 и FZB42 [88], а также штаммы *B. pumilus* EN16 и *B. subtilis* SW1 [89], внесенные в почву, способствовали меньшему проявлению симптомов ВТМ на листьях табака и уменьшению содержания вирусных частиц в тканях. Сотрудниками Всероссийского НИИ картофельного хозяйства РАСХН [90] предложено обрабатывать безвирусные миниклубни пред посадкой в грунт 1%-ной суспензией бактериального препарата “Экстрасол” на основе ризосферных бактерий штамма *B. subtilis* Ч13 для защиты растений, в том числе и от вирусов. В обзоре [91] подробно описан терапевтический эффект СРРМ на растения, размножающиеся клонированием, который проявлялся в лучшей их приживаемости, защите от стрессовых факторов окружающей среды абиотической и биотической природы, в том числе и от вирусной инфекции.

Обработка растений *P. fluorescens* СНАО индуцировала системную защиту табака от ВНТ [92], а черного маша (*Vigna mungo*) – от вируса скручивающей листьев маша (**ВСЛМ**) [93]. Обработка почвы и семян перца горького (*Capsicum annuum*) клетками *B. cereus* (I-35) и *Stenotrophomonas* sp. (II-10) подавляла развитие вируса ВТМ и вируса пятни-

стости жилок острого перца (**ВПЖОП**) [94]. Обработка растений перца клетками почвенных дрожжей *Pseudozyma churashimaensis* индуцировала устойчивость к ВОМ, вирусу крапчатости перца (**ВКП**), вирусу мягкой крапчатости перца (**ВМКП**) и вирусу вилта кормовых бобов (фасоли) (**ВВФ**) [95]. В условиях закрытого грунта растения томата, обработанные СРРМ, поражались ВОМ на 32–58%, тогда как контрольные – на 88–98% [96].

Предобработка почвы перед посевом табака ризосферной бактерией *P. putida* A3 уменьшала степень поражения растений ВТМ по сравнению с контрольными, также как и после посева [96]. Выявлено, что клетки *P. putida* A3 [97] и *B. pumilus* [98] разрушают частицы вируса в соке из листьев табака, инфицированных ВТМ. Таким образом, в этих работах показана не только способность стимулирующих рост растений бактерий из родов *Pseudomonas* spp. и *Bacillus* spp. подавлять непосредственно вирусную инфекцию, но и опосредовано стимулировать их защитные механизмы.

В работе [99] штамм бактерий *Bacillus* sp. SJ использовали для подавления ВТМ, внося в почву 10^8 кл./г или кл./л сухого или жидкого препарата.

Выявлено, что некоторые штаммы эндофитных бактерий имеют широкий круг растений-хозяев. Так, штамм *B. amyloliquefaciens* 5B6, выделенный из листьев вишни, защищал растения табака *Nicotiana benthamiana* и перца от ВОМ, ВВФ и ВКП [100]. Показана возможность применения препарата на основе штамма бактерий *Bacillus* DAIJU-SIID2550 или его мутанта ($4 \times 10^{9-10}$ КОЕ/г) [101] для борьбы с различными вирусными инфекциями: ВТМ, ВМКП, ВТом, вирусом некротической пятнистости дыни (**ВНПД**), вирусом зеленой крапчатой мозаики огурца (**ВЗКМО**) и вирусом зеленой крапчатой мозаики киури (**ВЗКМК**). Обработка почвы при выращивании томатов клетками штамма *Streptomyces pactum* Act12 уменьшала содержание вирусных частиц ВЖКЛТ в растениях и увеличивала урожайность культуры [102]. При обработке растений дурмана *Datura metel* препаратом, содержащим штаммы *Streptomyces*, обнаружили высокую эффективность защиты против ВТМ [103]. В работе [85] сообщается, что обработка семян томатов спорами штаммов бактерий *B. amyloliquefaciens* 937a, *B. subtilis* 937b и *B. pumilus* SE34 индуцировала устойчивость растений к ВКМТ.

Бактерии рода *Bacillus* используются для защиты растений от вирусных инфекций также в составе с другими видами микроорганизмов, или/и в смеси с биологически активными природными или химическими веществами, растительным материалом и минеральными компонентами. Например, была продемонстрирована возможность придания устойчивости растениям томатов, перца, дыни, арбуза, сахарной свеклы, табака, арабидопсиса, огурца, ладанной сосны, кайенского

перца и чой сумы (*Brassica rapa* subsp. *Chinensis*) не только к грибным и бактериальным фитопатогенам, но и к вирусам при использовании препаратов, содержащих несколько видов бактерий рода *Bacillus*: *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pasteurii*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. mycooides* и *B. sphaericus* [104]. В работе [85] было обнаружено, что комплекс *B. amyloliquefaciens* IN937a и *B. pumilus* IN937b защищал растения огурца от ВОМ. Обработка этими бактериями семян томатов перед посевом уменьшала поражение вирусом крапчатой мозаики (ВКМТ), а препаратами двойных комбинаций бактерий, включающих штаммы *B. subtilis* GB03 и *B. pumilus* SE34, или *B. amyloliquefaciens* IN937a, или *B. subtilis* IN937b, или *B. pumilus* INR7, или *B. pumilus* T4 эффективно защищала от ВОМ [85]. В работе авторы [105] показали высокую эффективность применения культуральных фильтратов консорциума бактерий *B. circulans*, *P. fluorescens* и гриба *Trichoderma harzianum* для защиты растений томатов от ВТОМ. Сообщается также, что применение препарата, содержащего консорциум штаммов *B. licheniformis* MML2501 + *Bacillus* sp. MML2551 + *P. aeruginosa* MML2212 + *S. fradiae* MML1042, существенно уменьшало поражение растений подсолнечника вирусом некроза (ВНП) [106], а дополнительное введение штаммов *Streptomyces* sp. PM5 и *Trichothecium roseum* MML005 усиливало этот защитный эффект [106]. Обработка семян папайи и томатов консорциумом штаммов *B. amyloliquefaciens* IN937a, *B. pumilus* SE34 и *B. pumilus* T4 способствовала в последующем защите растений от вирусов кольцевой пятнистости (ВКПП) и хлоротичной пятнистости (ВХПТ), соответственно. Сложный микробиологический состав с общей конечной концентрацией 10^9 кл./мл, содержащий культуральную жидкость стрептомицетов (*Streptomyces*) и гриба *Paecilomyces lilacinus*, споры цианобактерий, гриб *Aspergillus niger*, смесь в определенных пропорциях клеток и спор штаммов *Bacillus* spp. (*B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. mucilaginosus*, *B. polymyxa*, *B. cereus*, *B. laterosporus* и *B. brevis*) и энтомопатогенный гриб *Metarhizium anisoplia*, защищал растения табака от ВТМ [107].

Для защиты семян, почвы и вегетирующих растений от ВТМ предложена их обработка составом на основе штаммов бактерии *Pseudomonas* sp. C-0176A V, *Bacillus* sp. BS-0017AV и дрожжи *Schizosaccharomyces* sp. 2. [108]. Дополнительно в состав препарата могут вводиться протеаза, какой-либо органический субстрат и альгинаты. Так, препарат, содержащий клетки бактерии *P. fluorescens* (изолят о. Ява, Индонезия) и хитозан, подавлял развитие вируса мозаики тыквы (ВМТ) на растениях огурца [35], а обработка смесью хитозана с консорциумом бактерий *Pseudomonas* sp. (206(4) + В-15 + JK-16) усиливала защиту растений томатов от ВЖКЛТ [34].

Обработка в условиях закрытого грунта растений фасоли *Vicia faba* L. консорциумом из штаммов *P. fluorescens* FB11 и *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* FBG05 индуцировала у растений устойчивость к ВЖМФ [109]. В другой работе [110] применение *R. leguminosarum* bv. *viciae* уменьшала пораженность растений фасоли ВЖМФ на 36.6% по сравнению с необработанными. Использование в полевых условиях консорциума *P. fluorescens* и *Rhodotorula* sp. защищало растения картофеля от YBK и увеличивало их продуктивность [111], точно так же, как и обработка посадок картофеля суспензией клеток штамма *B. vallismortis* EXTN-1 защищала от вирусов YBK и ХВК [112]. На обработанных штаммом *P. fluorescens* СНА0 почвах растения *N. glutinosa*, *N. tabacum* 'Xanthi nc' и *N. tabacum* 'Burley 63' в течение 6-и недель были защищены от инфицирования ВТМ [113]. Выделенные из ризосферы томатов штаммы *P. fluorescens* (CoP-1, CoT-1, СНАО) в отдельности и в смеси эффективно уменьшали симптомы ВБТ на растениях томата [114], изоляты *Pseudomonas* spp. (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa* и *P. taiwanensis*) и *Bacillus* spp. способствовали защите растений папайи от вируса кольцевой пятнистости (ВКПП) [115]. Комбинирование в одном препарате хитина и штамма *P. fluorescens* СНАО позволила индуцировать у растений банана системную устойчивость к вирусу разрастания верхушек (ВРВБ) [33]. Предложен жидкий препарат, содержащий сложную смесь лизата бактерий *B. cereus*, водные экстракты различных видов шлемника (*Radix astragali*, *R. scutellariae*, *R. paeoniae rubra*, *R. glycyrrhizae*, *R. pulsatillae*, *R. rehmanniae*, *R. bupleuri*, *R. isatidis* и *R. salviae miltiorrhizae*), мушмулы (*Folium eriobotryae* и *F. isatidiss*) и жимолости (*Flos lonicerae* и *F. carthami*), а также культуральную жидкость стрептомицетов (yellow-bird streptomycete seed liquor и yellow purple streptomycete seed liquor) и *Trichoderma* spp. [116]. Указывается, что его противовирусный эффект достигается благодаря наличию протеазы и амилазы в лизате бактерий, а также различных антибиотиков, синтезируемых используемыми микроорганизмами. В другой работе [117] для защиты растений от ВТМ, а также от насекомых, грибных и бактериальных болезней предлагается использовать микробиологическое удобрение, состоящее из смеси бактерий *B. licheniformis*, *B. mucilaginosus*, *B. subtilis* и *B. thuringiensis*, включающее, в том числе, порошок из стеблей растений, спиртовую дробину, сульфат кальция, хлорид магния и дигидрофосфат калия. Для борьбы с ВОМ, ВТМ и YBK предложен многокомпонентный состав [118], содержащий наносеребро, метил- α -нафтил ацетат, фосфат калия, глицериды, цитрат железа, этефон, поверхностно активные вещества, дихлорметан, гуминовые кислоты, α -нафтилуксусную кислоту, экстракт герани и агрономически ценные штаммы бактерий, в том числе, клетки бактерий *B. licheniformis*.

Внеклеточные нуклеазы (РНказы) бактерий как эффективный компонент антивирусных биопрепаратов. Геномы большинства вирусов, поражающих растения, представлены одноцепочечной РНК [119], и можно предположить, что некоторые вырабатываемые бактериями ферменты, разрушающие РНК, будут оказывать негативное влияние на распространение вирусов в растительных тканях. В связи с этим для защиты растений от вирусной инфекции представляет интерес разработка биопрепаратов на основе ризосферных и эндофитных бактерий с высокой РНКазной активностью или же препарата самой РНКазы [98], а также создание генно-модифицированных форм микроорганизмов с внедренным геном нуклеаз [120]. В настоящее время известно более 20 внеклеточных РНКаз, продуцируемых бактериями *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. intermedius*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. circulatis* и *B. thuringiensis*, которые названы в зависимости от вида бактерий барназами, биназами, балифазами или бальназами [121–123]. Оказалось, что бактериальные РНКазы имеют практическое значение для медицины, поскольку они способны оказывать противовирусное, мутагенное и антимутагенное, мембранотропное, цитоксическое и даже противоопухолевое действия [124].

Уже более 45 лет назад было обнаружено, что обработка растений панкреатической РНКазой способствует снижению развития вирусной инфекции [125]. Затем сообщалось о возможности использования бактериальной эндонуклеазы для оздоровления картофеля от вирусов [126]. Показана положительная корреляция между активностью РНКазы в растениях разных сортов картофеля и их вирусостойчивостью [120].

Эндофитные штаммы бактерий также способны синтезировать РНКазы. Так, например, 73% эндофитных изолятов рода *Bacillus*, 27% изолятов *Paenibacillus*, 30% *Enterobacteriaceae*, а также представители *Cronobacter*, *Pantoea*, *Microbacterium* и *Staphylococcus*, выделенные из тканей растений семейства *Cucurbitacea*, обладали РНКазной активностью [127]. На основании этого применение препаратов бактерий *Bacillus* может быть перспективным для защиты растений от вирусной инфекции.

Относительно недавние исследования также демонстрируют потенциальную эффективность применения бактериальных РНКаз для инактивации РНК-содержащих вирусов в растениях [128]. Так, РНКазы *B. pumilus*, нанесенная на поверхность листьев растений картофеля, подавляла развитие симптомов, вызванных инфицированием УВК и МВК, а также уменьшала пораженность растений гороха вирусом крапчатости клевера (ВКК) [129]. При обработке растений табака раствором 100 мкг/мл РНКазы бактерии *B. pumilus* до 94% растений проявляли невосприимчивость к ХВК [98]. Фермент с молекулярной массой

75.6 кДа, выделенный из культурального фильтрата *B. cereus* ZH14 и идентифицированный как РНКазы, ингибировал репликацию ВТМ в соке растений табака [130]. В работе [131] было обнаружено, что обработка посадок картофеля сорта “Удача” суспензией клеток штаммов бактерий *B. subtilis* 26Д и *B. thuringiensis* ВКПМ-5689, продуцирующих РНКазы, уменьшала степень инфицирования растений МВК с 60% в контроле до 18% на участках, обработанных микроорганизмами. При этом наиболее эффективным было использование комбинированного биопрепарата на основе штаммов *B. subtilis* 26Д, *B. thuringiensis* ВКПМ-5689 и *B. thuringiensis* ВКПМ-6066, уменьшающего титр УВК в растениях картофеля более чем в 2 раза по сравнению с контролем [132]. Обнаружено, что сами бактериальные барназы могут защищать растения не только от вирусной инфекции, но и подавлять развитие других болезней, например, фитофтороза на растениях табака [133].

В Российской патентной базе имеется несколько патентов, в которых описано использование бактерий рода *Bacillus* или продуцируемых ими соединений для ингибирования размножения фитовирусов. Так, согласно патенту РФ № 2542480, бактерии *B. pumilus* и *B. amyloliquefaciens* предлагаются в качестве источников для выделения РНКаз, подавляющих развитие ХВК у табака [98]. Обработка вегетирующих растений или семян ферментным препаратом РНКазы, выделенной из метаболитов *B. pumilus*, увеличивала количество здоровых растений табака, картофеля и томатов при искусственном заражении их ХВК, а растений клевера, гороха, вики, люцерны и фасоли – ВКК.

Известны данные о том, что введение гена бактериальной РНКазы в геном растений подавляет развитие вирусной инфекции [134]. У растений картофеля, экспрессирующих бактериальную нуклеазу *S. marcescens*, наблюдалась высокая устойчивость к вирусам [135]. Растения сои, экспрессирующие ген рибонуклеазы *PAC1* из дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, проявляли устойчивость к широкому спектру вирусных заболеваний [136]. Введение в геном табака генно-инженерной конструкции CRISPR/Cas13a, содержащей ген VI-A рибонуклеазы II типа, способной распознавать и расщеплять одноцепочечные РНК, эффективно уменьшало степень поражения GFP-вирусом турнепса [58]. Недавние исследования демонстрируют способность искусственных РНКаз инактивировать РНК-содержащие вирусы расщеплением их РНК и нарушением формирования КБ [128]. С использованием гена барназы из бактерии *B. amyloliquefaciens* в растения табака была внедрена генная конструкция, позволившая сформировать невосприимчивость к австралийскому штамму ВЖКЛТ у более чем трети регенерантов [137].

Индукция эндофитами компонентов фитоиммунитета к вирусам. В научной литературе встреча-

ется небольшое число публикаций, посвященных индукции СРРМ системной устойчивости растений против фитовирусов. Выделяют три основных типа устойчивости растений к вирусам: полевую устойчивость, локализованную сверхчувствительность и крайнюю устойчивость [17]. Показано, что гены *Nctbr* и *Nytbr* картофеля детерминируют в растениях сверхчувствительные реакции, характеризующиеся некрозом и нарушением системного передвижения вирусных частиц УВК. Интересно, что мутация в вирусном гене *Hc-pro*, ответственном за вирулентность УВК, приводила к восстановлению устойчивости сортов картофеля, содержащих ген *Nu* [138]. Сверхчувствительность у растений с геном *Nx* и устойчивость у растений с геном *Rx* вызываются различными частями одного и того же КБ ХВК. КБ, точно также и РНК вирусов, представляют собой, так называемые, патоген (микроб)—ассоциированные молекулярные паттерны (ПАМП, МАМП, pathogen (microbe)—associated molecular patterns, PAMPs, MAMPs), связывающиеся с рецепторами клеток растений и индуцирующие иммунные реакции [139]. Впоследствии эти реакции проявляются в изменении содержания фитогормонов, активных форм кислорода и других метаболитов, а также в локальной и системной активации транскрипции генов защитных белков [140]. Этот механизм, по-видимому, связан с индукцией хозяйских генов по салицилатному сигнальному пути, что доказывалось негативной ее регуляцией под влиянием вирусного белка Hc-Pro [141]. Вместе с тем, нельзя отрицать отсутствие связи салицилатной защитной системы и механизмов РНК, так как защитный эффект антимицина-А, антибиотика, выделенного из культурального фильтрата *Streptomyces* spp., проявлялся исключительно в накоплении СК и активации с ее участием РНК-зависимой РНК-полимеразы [38].

Ответные реакции на вирусную инфекцию в растениях запускаются вследствие взаимодействия различных ПАМП, в том числе флагелина и липопептидов бактерий или КБ вирусов с белками, содержащими лейцин-богатые повторности (LRR), и обладающими, преимущественно, киназной активностью [140]. В растениях арабидопсиса эти киназоподобные белки участвуют в системной индуцированной устойчивости (СИУ), например, праймированной клетками *B. cereus* AR156, против гнили, вызываемой *P. syringae* pv. *tomato* (Pst) DC3000 [142]. При такой реакции в растениях экспрессируются гены, кодирующие защитные белки, в том числе и классов PR-4 и PR-10 с противовирусной и РНКазной активностями [100].

В работе [143] показано, что флагеллин (Flg) и фактор элонгации (EF-Tu) бактерии штамма *B. amyloliquefaciens* VB7 могут выступать в качестве МАМП. Вторичные метаболиты *B. amyloliquefaciens* VB7 на 84% по сравнению с контрольными

растениями подавляли развитие симптомов ВНТ и вируса некроза почек арахиса (ВНПА). Введение генов, кодирующих синтез этих белков, в бактерию *Agrobacterium tumefaciens* ENA105 и обработка почвы или листьев растений томата суспензией рекомбинантных бактерий сократили число пораженных вирусами растений до 15% по сравнению с контрольными (88.25%).

Сурфактин бактерий *B. subtilis* BMG02 участвует в защите растений томатов от ВТОМ, запуская активную генерацию H_2O_2 и экспрессию генов, кодирующих фенилаланинаммоний-лиазу и PR-2 [144]. В работе [92] показано, что способность *P. fluorescens* CHA0 защищать растения табака от ВТМ связана с системным накоплением в них СК, а также экспрессией защитных белков класса PR-1. Обнаружено также, что и сами бактерии *P. fluorescens* могут, наряду с такими низкомолекулярными липопептидами, как псевдобактин и пиовердин, вовлеченными в систему защиты растений [33], синтезировать СК [145]. Можно предположить, что участие псевдомонад в защите растений от вирусной инфекции происходит благодаря запускаемой СК индукции системной устойчивости, связанной с генерацией АФК. Вместе с тем использование клеток бактерий, мутантных по синтезу СК и псевдобактина, не выявило участия этих соединений в данном процессе [145].

Основываясь на полученных знаниях, предложен комплексный препарат на основе бактерий штаммов *B. mojavensis* 203-7 и *B. mycooides* VmJ для защиты растений банана, тыквы, ореха пекан, герани и пшеницы от ХВК, а также ряда бактериальных и грибных патогенов. Он запускает системную устойчивость, при этом первый индуцирует NPR1-независимый сигнальный путь, а второй — NPR1-зависимый. Этот препарат может быть использован совместно с такими фунгицидами, бактерицидами и стимуляторами роста растений, как Headnline®, Manex®, Manzate®, Sonata® и Endura® [146].

Из бактерий *B. thuringiensis* выделен фактор MF2, который в низких концентрациях индуцирует устойчивость растений к ВТМ и ХВК. Этот фактор, представляющий собой низкомолекулярный термостабильный белок с молекулярной массой 7.2 кДа, гомологичный бациллярному белку холодового шока, предполагается использовать в качестве противовирусного агента в культуре тканей растений, а также для защиты растений картофеля от фитофторы и риса от пирикуляриоза [147]. В другой работе [148] летучее соединение 3-пентанол, продуцируемое *B. amyloliquefaciens* IN937a, предлагается использовать для контроля ВОМ, а также бактериальной пятнистости перцев (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*). Препарат индуцировал устойчивость растений к вирусам, активируя гены защитных белков PR-1 и PR-4 при низких концентрациях, равных 10 мкМ и 100 нМ.

В работе [149] показано, что бактерии штамма *B. subtilis* ВЕВ-DN, изолированные из ризосферы томатов, стимулировали рост растений и запускали СИУ против вирусов, переносимых белокрылкой *Bemisia tabaci*. Индукция устойчивости проявлялась по путям, как зависимым, так и независимым от сигнальных путей, контролируемых жасмоновой кислотой (ЖК). При этом жасмонат-зависимый сигнальный путь включал механизмы защиты растений от белокрылки, контролирующиеся синтез ингибиторов протеаз, а независимый путь – регуляцию усиления экспрессии нескольких генов, участвующих в фотосинтезе, синтезе фенолпропаноидных и терпеноидных соединений, а также белка шаперонина Hsp90.

Бактерии рода *Bacillus*, ассоциированные с растениями, индуцировали развитие системной устойчивости макроорганизма к ВТМ, ингибируя синтез КБ в растительных клетках и усиливая экспрессию генов, кодирующих белки сигнальных (жасмонатного и салицилатного) путей (Coil и NPR1, соответственно), защитных белков (PR-1a и PR-1b) и клеточно-стеночных экспансинов (NtEXP2 и NtEXP6) [88]. Продуцирующий ауксины и 5-аминолевуленовую кислоту штамм бактерии *Rhodopseudomonas palustris* GJ-22 уменьшал степень поражения табака ВТМ в полевых условиях, увеличивая в растениях активность транскрипции защитных генов PR-1, PR-5, PR-3 и ингибитора протеиназы до того же уровня, что и бензотиадиазол [150]. Это в некоторой степени противоречит информации о том, что обработка томата штаммом *B. amyloliquefaciens* МВ1600 индуцировала устойчивость растений к ВБТ и УВК, сопровождающуюся экспрессией зависимых от салициловой кислоты генов [46]. Показано, что в многократном уменьшении степени поражения свеклы ризоманией, вызываемой ВВПЖС, после обработки растений бактерией *B. amyloliquefaciens*, важную роль играет экспрессия генов защитных белков PR-8 и NPR-1 [22]. Обработка растений банана смесью хитина и клеток штамма *P. fluorescens* СНАО способствовала накоплению транскриптов генов белков PR-2 (b-1,3-глюканаза) и PR-3 (хитиназа) и индуцировала устойчивость к ВРВБ [33].

Применение препарата бактерий штамма *B. amyloliquefaciens* 5В6 на растениях перца уменьшал степень их поражения ВОМ в полевых условиях [100]. Этот процесс был связан с индукцией транскрипции генов, кодирующих PR-4, PR-5 и PR-10 белки. Точно также, праймирование под влиянием бактерий *B. pumilus* EN16 и *B. subtilis* SW1 устойчивости растений перца к ВОМ и ВВФ сопровождалось системным накоплением в тканях патоген-индуцируемых белков PR-4 и PR-5 [95].

Обнаружено развитие СИУ в растениях огурца, предварительно обработанных штаммами *Streptomyces* spp., что позволяет использовать эти

микроорганизмы как основу для антивирусных препаратов [151]. Из культурального фильтрата ряда штаммов *Streptomyces* spp. были выделены антивирусные компоненты, уменьшающие на растениях мари гигантской *Chenopodium amaranticolor* развитие инфекции ВОМ на 82.6% по сравнению с контрольными [152].

Об участии проантиоксидантных ферментов и ферментов фенолпропаноидного метаболизма в защите растений от вирусов с участием регулирующих рост растений бактерий и их метаболитов свидетельствовали активация пероксидазы, полифенолоксидазы и фенилаланин-аммиаклиазы и накопление фенольных соединений в растениях банана при обработке их черенков консорциумом ризосферной бактерии *P. fluorescens* Pfl1 и эндофитного штамма *Bacillus* spp. EPB22, способствующих многократному снижению уровня пораженности растений вирусом ВРВБ с эффективностью защиты до 80% [153]. Близкие к этому изменения наблюдали при обработке отдельно или смесью хитина и клеток штамма *P. fluorescens* СНАО растений банана, инфицированных ВРВБ [33], черного маша – ВСЛМ [93] и томата – ВБТ [114]. Растения линии *A. thaliana* Col-0 и мутанта NahG (с уменьшенным содержанием СК), обработанные бактериями *S. marcescens* 90-166 и *B. pumilus* SE34, проявляли менее выраженные симптомы мозаики, чем необработанные растения. Это позволило предположить, что в данном случае системная устойчивость развивается по независимому от СК пути. Важно, что обработка данными штаммами арабидопсиса, несущего генно-инженерную конструкцию, экспрессирующую химерный белок PDF1.2:GUS, активировала транскрипцию ЖК-зависимого гена *PDF1.2* [153]. Следует отметить, что бензотиадиазол, который используется в качестве стандартного защитного препарата во многих исследованиях устойчивости растений к вирусам, в некоторых случаях подавлял рост растений при вирусной инфекции по сравнению с бактериальными культурами, несмотря на ослабление симптомов болезни [150, 154]. Как показано в работе [155], внесение в почву штамма бактерии *Paenibacillus lentimorbus* В-30488 усиливало у растений табака устойчивость к ВОМ при сохранении активности их фотосинтеза и роста. При этом падала активность антиоксидантных ферментов, увеличивалась транскрипционная активность генов, кодирующих патоген-индуцируемые белки и накопление полифенолов, что, впоследствии, препятствовало распространению вируса по тканям растений. Об отсутствии антагонистического эффекта между бактериями *Bacillus* spp. и СК в развитии защитных реакций растений против вирусов свидетельствует уменьшение симптомов ВОМ на растениях перца при совместном использовании штамма *B. pumilus* INR7 и бензотиадиазола [47].

Таким образом, в научной литературе накопилось достаточно сведений об эффективности использования ризосферных и эндофитных бактерий и их метаболитов в защите растений от вирусной инфекции. В совокупности эти сведения позволяют разрабатывать на основе различных видов микроорганизмов целевые препараты для защиты растений от вирусов.

Известные нам источники научно-технической информации свидетельствуют о том, что микроорганизмы, в особенности представители рода *Bacillus*, содержащие как живые клетки и споры, так и лизаты, культуральные жидкости или очищенные ферменты можно использовать в качестве относительно эффективной основы для создания бактериальных противовирусных препаратов. Их применение в зависимости от объекта (растение, животное, культуры клеток животных или человек) позволяет подавлять размножение (распространение) вирусов, содержащих как ДНК, так и РНК, и защищать хозяина от этой инфекции. В качестве основы препаратов для подавления вирусной инфекции у растений могут быть использованы различные штаммы непатогенных бактерий рода *Bacillus*, в том числе следующих видов: *B. amyloliquefaciens*, *B. brevis*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. laterosporus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. mojavensis*, *B. mucilaginosus*, *B. mycoides*, *B. pasteurii*, *B. polymyxa*, *B. pumilus*, *B. sphaericus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. vallismortis* и *B. velezensis*. Препараты могут содержать жизнеспособные клетки и/или споры бацилл в виде суспензий или сухой массы, либо убитые клетки. Наряду с живыми или мертвыми клетками бактерий средства защиты растений от вирусов могут включать культуральную жидкость, при этом она может быть отделена от клеток бактерий центрифугированием и/или ультрафильтрацией или иным способом. Культуральная жидкость может быть высушена и применяться отдельно или содержать также живые или мертвые клетки бактерий. Микробиологические препараты, содержащие клетки и/или метаболиты бацилл могут включать клетки или продукты других видов микроорганизмов: *P. fluorescens*, *T. harzianum*, *A. niger*, *Paecilomyces lilacinus*, *Streptomyces* sp. и цианобактерии. Действующие концентрации жизнеспособных клеток и/или спор бактерий для проявления противовирусного эффекта находятся в широких пределах — от 10^3 до 10^{13} /мл(г). Часто в качестве эффективной концентрации указывается предел от 10^6 до 10^9 /мл(г).

Экзометаболиты бактерий способны проявлять и усиливать противовирусный эффект в смеси с другими органическими и неорганическими веществами, в том числе антибиотиками и фунгицидами, а также инсектицидами, нематодицидами и гербицидами. При этом для защиты клеток или метаболитов бактерий в составе сложных смесей используют различные носители: активированный

уголь, тальк, вермикулит, перлит, доломитовую муку, мел, измельченную солому, стебли растений, спиртовую дробину и другие. При комплексном применении таких препаратов одновременно в качестве удобрений могут добавляться сульфат кальция, хлорид магния, дигидрофосфат или фосфат калия.

Действующими агентами противовирусных препаратов являются метаболиты бактерий. В качестве основных веществ, способных подавлять вирусные инфекции, как растений, так и животных, указываются ферменты и белки. К таким ферментам относят РНКазы — барназы, биназы и др. Поиск эндофитов, продуцирующих РНКазы непосредственно в растительных тканях, является перспективным направлением в разработке средств защиты растений от вирусов.

Вызывает также практический интерес возможность индукции устойчивости растений к вирусам низкомолекулярными соединениями, синтезируемыми микроорганизмами, в особенности — эндофитными. С одной стороны считается, что арахидоновая, пентадекановая, гептадекановая, октадекановая и тетрадекановая кислоты, а также 2,5-дикетопиперазин и пиролл способствуют проявлению непосредственной противовирусной активности у бактерий. С другой — вырабатываемые бактериями липопептиды также могут опосредованно через ингибирование развития вирусных переносчиков, вредителей и патогенов, а также совместно с МАМП через индукцию системной устойчивости, формировать защитные барьеры против вирусов.

Таким образом, развитие исследований в этих направлениях будет способствовать разработке экологически безопасных средств защиты растений, сочетающих комплекс свойств, повышающих устойчивость сельскохозяйственных культур к вредным биогенным и абиогенным факторам и их продуктивности. Кроме прямого противовирусного действия, подобного активности РНКаз, в качестве механизма, приводящего к повышению устойчивости растений к вирусным болезням, многие авторы относят индуцированную устойчивость, которая может регулироваться различными сигнальными молекулами, например, СК и ЖК, а также развиваться по различным NRP1-зависимым и/или NRP1-независимым сигнальным путям [156]. Для создания комплексных многофункциональных биопрепаратов тройного действия (инсектицид + фунгицид + вирицид) необходимо знать сигнальные пути растений, которые будут активироваться под влиянием такого препарата при обработке растений, чтобы исключить их интерференцию друг с другом. Основой для устойчивого развития агроэкоценозов может стать моделирование искусственного растительно-бактериального метабиома с использованием штаммов СРРМ, продуцирующих противовирус-

ные соединения и стимулирующих иммунный потенциал растений.

Работа выполнена в рамках совместного международного гранта Российского научного фонда и Департамента науки и техники (DST) правительства Индии (проект № 19-46-02004).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kunh J.H.* // Nature. 2019. V. 566. № 7744. P. 318–320.
2. *Soosaar J.L., Burch-Smith T.M., Dinesh-Kumar S.P.* // Nat. Rev. Microbiol. 2005. V. 3. № 10. P. 789–798.
3. *Макарова С.С., Макаров В.В., Тальянский М.Э., Калинина Н.О.* // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2017. Т. 21. № 1. С. 62–73. <https://doi.org/10.18699/VJ17.224>
4. *Kreuze J.F., Souza-Dias J.A.C., Jeevalatha A., Figueira A.R., Valkonen J.P.T., Jones R.A.C.* // The Potato Crop. Chapter 11 / Eds. H. Campos, O. Cham. Ortiz: Springer, 2020. P. 389–430.
5. *Анисимов Б.В.* // Защита и карантин растений. 2010. № 5. С. 12–18.
6. *Трускинов Э.В.* // Электронное периодическое издание ЮФУ “Живые и биокосные системы”. 2014. № 9. <http://www.jbks.ru/archive/issue-9/article-4>
7. *Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Желтова В.В., Фомина Н.А., Костина Л.И., Мамадбокирова Ф.Т., Гавриленко Т.А.* // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54. № 5. С. 958–969. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.5.958rus>
8. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов”, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. Часть 1. Пестициды. М.: Изд. 2017. 938 с.
9. *Sidwell R.W., Huffman I.H., Khare G.P., Witkowski I.T., Robins R.K.* // Science. 1972. V. 177. № 4050. P. 705–706.
10. *De Fazio G., Caner J., Vicente M.* // Arch. Virol. 1980. V. 63. № 3–4. P. 305–309.
11. *Бобырь А.Д.* Химиопрофилактика и терапия вирусных болезней растений. Киев: “Наукова думка”, 1976. 255 с.
12. <http://www.redoxagro.com/viricide-3639616.html>
13. <https://onzelivre.nl/disease-management.php>
14. *Derbalah A.S.H., Elsharkawy M.M.* // J. Biotechnol. 2019. V. 306. № 12. P. 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.10.003>
15. *Elsharkaway M., Derbalah A.* // Pest Management Sci. V. 75. № 3. P. 835–843. <https://doi.org/10.1002/ps.5185>
16. https://studme.org/77445/agropromyshlennost/rasprostranenie_virusov_rasteniy
17. *Мэтьюс Р.* Вирусы растений / Ред. И.Г. Атабеков. М.: Мир. 1973. 600 с.
18. *Roossinck M.J.* // Virology. 2015. V. 479–480. P. 271–277.
19. *Рогозина Е.В., Мироненко Н.В., Афанасенко О.С., Мацухито Ю.* // Вестник защиты растений. 2016. Т. 4. № 90. С. 24–33.
20. *Holeva R., Phillips M.S., Neilson R., Brown D.J.F., Young V., Boutsika K., Blok V.C.* // Mol. Cel. Probes. 2006. V. 20. № 3–4. P. 203–211.
21. *Andika I.B., Wei S., Cao C., Salaipeth L., Kondo H., Sun L.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2017. V. 114. № 46. P. 12267–12272.
22. *Desoignies N., Schramme F., Ongena M., Legrève A.* // Mol. Plant Pathol. 2013. V. 14. № 4. P. 416–421.
23. *Али Х.Х., Келдыш М.А., Помазков Ю.И.* // Агрономия и животноводство. 2010. Т. 3. С. 18–23.
24. *Mascia T., Labarile R., Doohan F., Gallitelli D.* // Sci. Rep. 2019. V. 9. Art. 2657. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39162-w>
25. *Тютеев С.Л.* Научные основы индуцированной болезнестойчивости растений. СПб.: Издательство ВИЗР, 2002. 328 с.
26. *Palukaitis P., Yoon J.-Y., Choi S.-K., Carr J.P.* // Curr. Opin. Virol. 2017. V. 26. P. 141–148.
27. *Rosenberg N., Reichman M., Gera A., Weisback A., Sela I.* // Virology. 1985. V. 140. № 1. P. 173–178.
28. *Vicente M., De Fasio G., Menezec M.E., Golgher R.R.* // Phytopathology Z. 1987. V. 119. № 1. P. 25–31.
29. *Огарков В.И., Каплан И.Б., Тальянский М.Э., Атабеков И.Г.* // Докл. АН СССР. 1984. Т. 276. № 3. С. 743–745.
30. *Pospieszny H., Struszczyk H., Cajza M.* Chitin Enzymology. / Ed. R.A.A. Muzzarelli. Ancona, Italy: Atec Edizioni, 1996. V. 2. P. 385–389.
31. *Чирков С.Н.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2002. Т. 38. № 1. С. 5–13.
32. *El Hadrami A., Adam L.R., Daayf F.* // Marine Drugs. 2010. V. 8. № 4. P. 968–987. <https://doi.org/10.3390/md8040968>
33. *Kavino M., Harish S., Kumar N., Saravanakumar D., Samiyappan R.* // Eur. J. Plant Pathology. 2008. V. 120. P. 353–362.
34. *Mishra S., Jagadeesh K. S., Krishnaraj P. U., Prem S.* // Australian J. Crop Science. 2014. V. 8. № 3. P. 347–355.
35. *Firmansyah D., Hidayat S.H.* // Asian J. Plant Pathol. 2017. V. 11. № 3. P. 148–155.
36. *Куликов С.Н., Чирков С.Н., Ильина А.В., Лопатин С.А., Варламов В.П.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2006. Т. 42. № 2. С. 224–228.
37. *Knoblauch M., Van Bel A., J.E.* // Plant Cell. 1998. V. 10. P. 35–50. <https://doi.org/10.1105/tpc.10.1.35>
38. *Gilliland A., Singh D.P., Hayward J.M., Moore C.A., Murphy A.M., York C.J., Slatore J., Carr J.P.* // Plant Physiol. 2003. V. 132. № 3. P. 1518–1528. <https://doi.org/10.1104/pp.102.017640>
39. *Jia X., Meng Q., Zeng H., Wang W., Yin H.* // Sci. Rep. 2016. V. 6. Art. 26144. <https://doi.org/10.1038/srep26144>
40. *Нагорская В.П., Реунов А.В., Лапушина Л.А., Ермак И.М., Барабанова А.О.* // Известия РАН. Сер. Биол. 2010. № 6. С. 756–761.
41. *Лапушина Л.А., Реунов А.В., Нагорская В.П., Шестаков О.П., Новиков В.Л.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2013. Т. 49. № 1. С. 67–71.
42. *Hunter L.J.R., Westwood J.H., Heath G., Macaulay K., Smith A.G., Macfarlane S.A., Palukaitis P., Carr J.P.* // PLoS ONE. 2013. V. 8. Art. e66530. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066530>
43. *Singh K.P., Mohon D., Sinha S., Dalwani R.* // Chemosphere. 2004. V. 55. № 2. P. 227–255. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.10.050>

44. Leibman D., Kravchik M., Wolf D., Haviv S., Weissberg M., Ophir R., Paris H.S., Palukaitis P., Ding Sh.-W., Gaba V., Galon A. // *Mol. Plant Pathol.* 2018. V. 19. № 2. P. 300–312.
<https://doi.org/10.1111/mpp.12518>
45. Kachroo P., Yoshioka K., Shah J., Dooner H.K., Kleszig D.F. // *Plant Cell.* 2000. V. 12. № 5. P. 677–690.
<https://doi.org/10.1105/tpc.12.5.677>
46. Beris D., Theologidis I., Skandalis N., Vassilakos N. // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. Art. 10320.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-28677-3>
47. Whitham S.A. Hajimorad M.R. Current Research Topics in Plant Virology. / Eds. A. Wang, X. Zhou. Springer AG Switzerland. 2016. P. 87–111.
<https://doi.org/10.1007/978-3-319-32919-2>
48. Baebler S., Stare K., Kovac M., Blejcek A., Prezelj N., Stare T., Kogovsek P., Pompe-Novak M., Rosahl S., Ravnikar M., Gruden K. // *PLoS ONE.* 2011. V. 6. № 12. Art. e29009.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029009>
49. Yi H.-S., Yang J.W., Ryu C.-M. // *Frontier of Plant Science.* 2013. V. 4. Art. 122.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00122>
50. Nicaise V. // *Curr. Opin. Virol.* 2017. V. 26. P. 112–119.
51. Verlaan M.G., Hutton S.F., Ibrahim R.M., Kormelink R., Visser R.G.F., Scott J.W., Edwards J.D., Bai Y. // *PLoS Genet.* 2013. V. 9. Art. e1003399.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003399>
52. Prins M., Laimer M., Noris E., Schubert J., Wassenegger M., Tepfer M. // *Mol. Plant Pathology.* 2008. V. 9. № 1. P. 73–83.
53. Chung B.N., Yoon J.Y., Palukaitis P. // *Virus Genes.* 2013. V. 47. № 1. P. 86–92.
54. Cillo F., Palukaitis P. // *Advances in Virus Research.* 2014. V. 90. P. 35–146.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801246-8.00002-0>
55. Zhan X., Zhang F., Zhong Z., Chen R., Wang Y., Chang L., Bock R., Nie B., Zhang J. // *Plant Biotechnol. J.* 2019. V. 17. № 9. P. 1814–1822.
56. Achon M.A., Alonso-Dueñas N. // *Transgenic Research.* 2009. V. 18. № 3. P. 387–397.
<https://doi.org/10.1007/s11248-008-9231-2>
57. Pooggin M.M. // *Curr. Opin. Virol.* 2017. V. 26. P. 28–35.
58. Fuentes A., Carlos N., Ruiz Y., Callard D., Sánchez Y., Ochagavía M.E., Seguin J., Malpica-López N., Hohn T., Lecca M.R. // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2016. V. 29. № 3. P. 197–209.
59. Aman R., Ali Z., Butt H., Mahas A., Aljedaani F., Khan M.Z., Ding S., Mahfouz M. // *Genome Biology.* 2018. V. 19. № 1. Art. 1.
<https://doi.org/10.1186/s13059-017-1381-1>
60. Mamta B., Rajam M.V. // *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2017. V. 23. № 3. P. 487–501.
<https://doi.org/10.1007/s12298-017-0443-x>
61. Vogel E., Santos D., Mingels L., Verdonck T.-W., Broeck J.V. // *Frontiers of Physiology.* 2019. V. 9. Art. 1912.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01912>
62. Johnson E.T., Proctor R.H., Dunlap C.A., Busman M. // *Mycotoxin Res.* 2018. V. 34. № 1. P. 29–31.
63. Jaubert-Possamai S., Noureddine Y., Favery B. // *Frontiers of Plant Science.* 2019. V. 10. Art. 1180.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01180>
64. Mitter N., Worrall E.A., Robinson K.E., Li P., Jain R.G., Taochy Ch., Fletcher S.J., Carroll B.J., Lu G.Q. (Max), Xu Z.P. // *Nature Plants.* 2017. V. 3. Art. 16207.
<https://doi.org/10.1038/nplants.2016.207>
65. Kaldis A., Berbati M., Melita O., Reppa Ch., Holeva M., Otten P., Voloudakis A. // *Mol. Plant Pathol.* 2018. V. 19. № 4. P. 883–895.
66. <http://www.motherjones.com/tom-philpott/2015/08/coming-farm-field-near-you-gene-silencing-pesticides-RNAi>
67. Whitten M.M.A., Facey P.D., Sol R.D., Fernández-Martínez L.T., Evans M.C., Mitchell J.J., Bodger O.G., Dyson P.J. // *Proc. R. Soc. B.* 2016. V. 283. № 1825. Art. 20160042.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0042>
68. <http://gogreenpestcontrol.ca/rna-insecticide-could-target-specific-pests>
69. Arif M., Azhar U., Arshad M., Zafar Y., Mansoor S., Asad S. // *Transgenic Res.* 2012. V. 21. № 2. P. 303–311.
70. Goodfellow S., Zhang D., Wang M.-B., Zhang R. // *Plants.* 2019. V. 8. Art. 572.
<https://doi.org/10.3390/plants8120572>
71. Bouizgarne B. Bacteria in Agrobiotechnology: Disease Management. /Ed. D.K. Maheshwari, Chapter 2. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer, 2013. P. 15–46.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-33639-3_2
72. Кучерявенко О.А., Будзанивская И.Г., Пирог А.В., Дмитрук О.А. // *Вестник Алтайского государственного университета.* 2018. № 4. С. 22–28.
73. Патент КНР. 2019. CN109868250.
74. Han S. // *AGROW World Protection News.* P. 16–18.
https://agrow.agribusinessintelligence.informa.com/-/media/agri/agrow/ag-market-reviews-pdfs/supplements/agrow-biopesticides_2013.pdf
75. Kumar K.K., Sridhar J., Murali-Baskaran R.K., Senthil-Nathan S., Kaushal P., Dara S.K., Arthurs S. // *J. Invertebr. Pathol.* 2019. V. 65. P. 74–81.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.10.008>
76. Arthurs S., Dara S.K. // *J. Invertebr. Pathology.* 2019. V. 165. P. 13–21.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2018.01.008>
77. Sudhakar N., Thajuddin N., Murugesana K. // *Biocontrol Science and Technology.* 2011. V. 21. № 3. P. 367–386.
78. Rodríguez M., Marín A., Torres M., Béjar V., Campos M., Sampedro I. // *Frontiers Microbiol.* 2018. V. 9. Art. 3114.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03114>
79. Maksimov I.V., Blagova D.K., Veselova S.V., Sorokan A.V., Burkhanova G.F., Cherepanova E.A., Sarvarova E.R., Rumyantsev S.D., Alekseev V. Yu., Khayrullin R.M. // *Biological Control.* 2020. V. 144. Art. 104242.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104242>
80. Zarate S., Kempema L., Walling L.L. // *Plant Physiol.* 2007. V. 143. № 2. P. 866–875.
81. Muvea A.M., Subramanian S., Maniania N.K., Poehling H.-M., Ekesi S., Meyhöfer R. // *Frontiers Plant Sci.* 2018. V. 9. Art. 1785.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01785>
82. Loebenstein G., Lovrekovich L. // *Virology.* 1966. V. 30. № 4. P. 587–591.
[https://doi.org/10.1016/0042-6822\(66\)90162-0](https://doi.org/10.1016/0042-6822(66)90162-0)
83. Shankar A.C. Udaya, Nayaka S. Chandra, Niranjan-Raj S., Kumar H. Bhuvanendra, Reddy M.S., Niranjan-

- na S.R., Prakash H.S.* // Pest Manag. Sci. 2009. V. 65. № 10. P. 1059–1064.
84. *Raupach G.S., Liu L., Murphy J.F., Tuzun S., Kloeper J.W.* // Plant Disease. 1996. V. 80. № 8. P. 891–894.
85. *Murphy J.F.* Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses, Chapter 1. / Eds. G. Loebenstein, J. P. Carr. Netherland: Springer, 2006. P. 1–11.
86. *Bergstrom G.C., Johnson M.C., Kuc J.* // Phytopathology. 1982. V. 72. № 7. P. 922–926.
87. *Vinodkumar S., Nakkeeran S., Renukadevi P., Mohankumar S.* // Agric. Ecosyst. Environ. 2018. V. 267. P. 42–51.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.08.008>
88. *Wang S., Wu H., Qiao J., Ma L., Liu J., Xia Y., Gao X.* // J. Microbiol. Biotechnol. 2009. V. 19. № 10. P. 1250–1258.
<https://doi.org/10.4014/jmb.0901.008>
89. *Lian L., Xie L., Zheng L., Lin Q.* // Biocontrol Sci. Technol. 2011. V. 21. № 3. P. 281–292.
90. Патент РФ. 2003. № 2206976. БИ 2003. № 18.
91. *Самарина Л.С., Маляровская В.И., Розожина Е.В., Малокова Л.С.* // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. № 5. С. 917–927.
<https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.5.917rus>
92. *Maurhofer M., Reimann C., Sacherer S.P., Heeb S., Haas D., Defago G.* // Phytopathology. 1998. V. 88. № 7. P. 678–684.
93. *Karthikeyan G., Doraisamy S., Rabindran R.* // Archives Phytopathol. Plant Protect. 2009. V. 42. № 3. P. 201–212.
94. *Damayanti T.A., Katerina T.* // J. ISSAAS. 2008. V. 14. № 1. P. 92–100.
95. *Lee G., Lee S.H., Kim K.M., Ryu C.M.* // Scientific Reports. 2017. V. 10. № 7. Art. 39432.
<https://doi.org/10.1038/srep39432>
96. *Zehnder G.W., Yao C., Murphy J.F., Sikora E.J., Kloeper J.W.* // Biological Control. 2000. V. 45. P. 127–137.
97. *Yang J., Guo C., Zhai X., Shen L., Qian Y., Wang F.* // African J. Microbiol. Res. 2012. V. 6. P. 6300–6307.
98. *Шарипова М.Р., Балабан Н.П., Марданова А.М., Тойменцева А.А.* Патент РФ. 2015. № 2542480 // БИ. 2015. № 5.
99. *Zhai X., Shan J., Song H., Qiao L., Zhang J.* Патент КНР. 2013. CN103289931B.
100. *Lee G.H., Ryu C.M.* // Plant Disease. 2016. V. 100. № 10. P. 2099–2105.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-16-0314-RE>
101. *Itsuki D., Itsuki A.* Патент ЕС 2006. EP1719410A1.
102. *Li Y., Guo Q., Li Y., Sun Y., Xue Q., Lai H.* // Biol. Fertil. Soils. 2019. V. 55. P. 149–169.
<https://doi.org/10.5897/AJMR12.1123>
103. *Ara I., Bukhari N.A., Aref N.M., Shinwari M.M.A., Bakir M.A.* // African J. Biotechnol. 2012. V. 11. № 8. P. 2130–2138.
104. *Choudhary D.K., Johri B.N.* // Microbiol. Res. 2009. V. 68. № 5. P. 1754–1759.
105. *Megahed A.A., El-DougDoug Kh.A., Othman B.A., Lashin S.M., Ibrahim M.A., Sofy A.R.* // Pak. J. Biol. Sci. 2013. V. 16. № 8. P. 385–390.
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.385.390>
106. *Srinivasan K., Mathivanan N.* // Biological Control. 2009. V. 51. № 3. P. 395–402.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.07.013>
107. *Yang C., Fu Y., Wang L., Cheng Y., Li P.* Патент КНР. 2016. CN105875652A.
108. *Ikegashira Y., Kinooka Y., Noguchi K.* Патент Японии. 2005. JP2005000145.
109. *Elbadry M., Taha R.M., EldougDoug K.A., Gamal-El-din H.* // J. Plant Disease Protect. 2006. V. 113. № 6. P. 247–251.
110. *Sofy A.R., Attia M.S., Sharaf A.M.A., El-DougDoug Kh.A.* // Nature and Science. 2014. V. 12. № 10. P. 67–82.
111. *Al-Ani A.R., Adhab A.M., Matny N.O.* // Int. J. Microbiol. Mycol. 2013. V. 1. № 1. P. 1–6.
112. *Park K.S., Paul D., Ryu K.R., Kim E.Y., Kim Y.K.* // Plant Pathol. J. 2006. V. 22. P. 360–363.
113. *Maurhofer M., Hase C., Meuwly Ph., Mettraux J.-P., Defago G.* // Phytopathology. 1994. V. 84. № 2. P. 139–146.
114. *Kandan A., Ramaiah M., Vasanthi V.J., Radjacomtare R., Nandakumar R., Ramanathan A., Samiyappan R.* // Biocontrol. Sci. Tech. 2005. V. 15. № 2. P. 553–569.
<https://doi.org/10.1007/BF02817669>
115. *Ranasinghe C., De Costa D.M., Basnayake B.M.V.S., Gunasekera D.M., Priyadharshani S., Navagamuwa N.V.R.* // Trop. Agric. Res. 2018. V. 29. № 4. P. 271–283.
116. *Jiang Ch., Hu Y.* Патент КНР. 2017. CN106359473.
117. *Lu Sh.M.* Патент КНР. 2015. CN105036986.
118. *Wang M., Zhang Q.* Патент КНР. 2017. CN106818901A.
119. *Жирнов И.В., Трифонова Е.А., Кочетов А.В.* // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2013. Т. 17. № 3. С. 558–567.
120. *Трифопова Е.А., Ибрагимова С.М., Волкова О.А., Шумный В.К., Кочетов А.В.* // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2018. Т. 22. № 8. С. 987–991.
<https://doi.org/10.18699/VJ18.441>
121. *Ulyanova V., Mahmud R.Sh., Dudkina E., Vershinina V., Domann E., Ilinskaya O.* // J. Gen. Applied Microbiology. 2016. V. 62. № 4. P. 181–188.
122. *Ilinskaya O., Ulyanova V., Lisevich I., Dudkina E., Zakharchenko N., Kusova A., Faizullin D., Zuev Y.* // BioMed Research International. V. 2018. Art. 4837623.
<https://doi.org/10.1155/2018/4837623>
123. *Bechhofer D.H., Deutscher M.P.* // Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 2019. V. 54. № 3. P. 242–300.
<https://doi.org/10.1080/10409238.2019.1651816>
124. *Rakesh K., Singh K.S.* Biotechnological Production of Bioactive Compounds. / Eds. L. Verna, Anuj K. Chandel. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2020. P. 963–989.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64323-0.00012-6>
125. *Мартынова П.В.* Биологические исследования на Дальнем Востоке. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1975. С. 149–152.
126. *Леонова Н.С., Салганик П.И.* // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 1991. № 5. С. 25–28.
127. *Khalaf E.M., Raizada M.N.* // Frontiers Microbiol. 2018. V. 9. Art. 42.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00042>
128. *Fedorova A.A., Azzami K., Ryabchikova E.I., Spitsyna Y.E., Silnikov V.N., Ritter W., Gross H.J., Tautz J., Vlassov V.V., Beier H., Zenkova M.A.* // Antiviral Research. 2011. V. 91. № 3. P. 267–277.
129. *Sharipova M., Rockstroh A., Balaban N., Mardanova A., Toymentseva A., Tikhonova A., Vologin S., Sta-*

- shevsky Z. // *Agricultural Sci.* 2015. V. 6. P. 1357–1366. <https://doi.org/10.4236/as.2015.611130>
130. Zhou W.W., Niu T.G. // *Biotechnol. Letters.* 2009. V. 31. № 1. P. 101–105.
131. Бурханова Г.Ф., Сорокань А.В., Черепанова Е.А., Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М., Максимов И.В. // *Вавиловский журн. генетики и селекции.* 2019. Т. 23. № 7. С. 873–878. <https://doi.org/10.18699/VJ19.561>
132. Хайруллин Р.М., Бурханова Г.Ф., Сорокань А.В., Сарварова Е.Р., Веселова С.В., Черепанова Е.А., Вологин С.Г., Замалиева Ф.Ф., Максимов И.В. // *Теоретическая и прикладная экология.* 2019. № 4. С. 115–120. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-4-130-135>
133. Natsoulis G., Boeke J.D. // *Nature.* 1991. V. 352. № 6336. P. 632–635. <https://doi.org/10.1038/352632a0>
134. Cao X., Lu Y., Di D., Zhang Z., Liu H., Tian L., Zhang A., Zhang Y., Shi L., Guo B., Xu J., Duan X., Wang X., Han C., Miao H., Yu J., Li D. // *PLOS ONE.* 2013. V. 8. № 4. Art. e60829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060829>
135. Жирнов И.В., Трифонова Е.А., Романова А.В., Шумный В.К. // *Генетика.* 2016. Т. 52. № 11. С. 1256–1261.
136. Yang X., Niu L., Zhang W., He H., Yang J., Xing G., Guo D., Zhao Q., Zhong X., Li H., Li Q., Dong Y. // *Transgenic Research.* 2019. V. 28. № 1. P. 129–140. <https://doi.org/10.1007/s11248-018-0108-8>
137. Pakniat-Jahromy A., Behjatnia S.A., Dry I.B., Izadpanah K., Rezaian M.A. // *J. Virol. Methods.* 2010. V. 170. № 1–2. P. 57–66.
138. Tian Y.P., Valkonen J.P. // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2013. V. 26. № 3. P. 297–305.
139. Zvereva A.S., Golyaev V., Turco S., Gubaeva E.G., Rajeswaran R., Schepetilnikov M.V., Srour O., Ryabova L.A., Boller T., Poogin M.M. // *New Phytology.* 2016. V. 211. № 3. P. 1020–1034.
140. Macho A.P., Lozano-Duran R. // *Mol. Plant Pathol.* 2019. V. 20. № 9. P. 1191–1195.
141. Poque S., Wu H.W., Huang C.H., Cheng H.W., Hu W.C., Yang J.Y., Wang D., Yeh S.D. // *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2018. V. 31. № 1. P. 86–100.
142. Wang N., Wang L., Zhu K., Hou S., Chen L., Mi D., Gui Y., Qi Y., Jiang C., Guo J.H. // *Frontiers Microbiol.* 2019. V. 10. Art. 98. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00098>
143. Vanthana M., Nakkeeran S., Malathi V.G., Renukadevi P., Vinodkumar S. // *Microbial Pathogenesis.* 2019. V. 137. Art. 103757. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103757>
144. Hussein W., Awad H., Fahim S. // *American J. Microbiological Research.* 2016. V. 4. № 5. P. 153–158. <https://doi.org/10.12691/ajmr-4-5-5>
145. Djavaheri M., Mercado-Blanco J., Versluis C., Meyer J.M., Loon L.C., Bakker P.A. // *Microbiology Open.* 2012. V. 1. № 3. P. 311–325. <https://doi.org/10.1002/mbo3.32>
146. Jacobsen B., Zidack N.K., Larson R. Патент США. 2011. US2010092442A1.
147. Djavakhia V., Batchikova N., Korpela T., Khomutov R., Nikolaev O. Патент США. 2003. US6528480B1.
148. Ryu Ch.-M., Chun-Soo, Choi H.-K. Патент Респ. Корея. 2012. WO2012086881A.
149. Valenzuela-Soto J.H., Estrada-Hernández M.G., Ibarra-Laclette E., Délano-Frier J.P. // *Planta.* 2010. V. 231. № 2. P. 397–410.
150. Su P., Tan X., Li Ch., Zhang D., Cheng J., Zhang S., Zhou X., Yan Q., Peng J., Zhang Z., Liu Y., Lu X. // *Microbial Biotechnol.* 2017. V. 10. № 3. P. 612–624.
151. Galal A.M. // *Plant Pathol. J.* 2006. V. 5. № 3. P. 343–349.
152. El-DougDoug Kh.A., Ghaly M.F., Taha M.A. // *Int. J. Virol.* 2012. V. 8. № 2. P. 151–164.
153. Harish S., Kavino M., Kumar N., Saravanakumar D., Soorianathasundaram K., Samiyappan R. // *Appl. Soil Ecology.* 2008. V. 39. № 2. P. 187–200.
154. Ryu C.M., Murphy J.F., Mysore K.S., Kloepper J.W. // *Plant J.* 2004. V. 39. № 3. P. 381–392.
155. Kumar S., Chauhan P.S., Agrawal L., Raj R., Srivastava A., Gupta S., Mishra S.K., Yadav S., Singh P.C., Raj S.K., Nautiyal C.S. // *PLoS ONE.* 2016. V. 11. № 3. Art. e0149980. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149980>
156. Jacobsen B., Bradley C., Zidack N.K., Larson R. Патент США. 2012. US 2012/0003197A1.

Biological Methods of Plant Protection Against Viruses: Problems and Prospects

I. V. Maksimov^{a,*}, A. V. Sorokan^a, M. Yu. Shein^a, and R. M. Khairullin^a

^aInstitute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia

*e-mail: igor.mak2011@yandex.ru

Viral diseases cause significant crop losses and a decline in the quality of agricultural products. Currently, there are no direct methods to protect plants from viruses circulating in agroecosystems by any antiviral agents. Control measures focus on the selection of resistant to viral diseases varieties, improvement of varieties by cultivation of apical meristems, and controlling the number of insect vectors. The review paper describes modern approaches to plant protection against viruses by editing the genome, regulating the expression of the host plant and/or virus genes by RNA interference, forming an artificial consortium of plants with rhizospheric and/or endophytic microorganisms that combine protective activity and immunomodulating potential.

Keywords: plant viruses, plant-growth promoting microorganisms, antiviral activity, RNase, systemic acquired resistance, biocontrol