

УДК 581.2

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОМИЦЕТОВ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ФУЗАРИОЗА ТОМАТА

С. Г. СИДОРОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

В лабораторных модельных экспериментах изучена антифунгальная активность штаммов актиномицета рода *Streptomyces* из коллекции кафедры микробиологии БГУ в отношении возбудителя фузариозного увядания томата – микромицета *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen. Проанализированы динамика роста колоний, их морфология и окраска, интенсивность спороношения микромицета. Скрининг тестируемых штаммов на предмет их антифузариозной активности показал, что штамм 10 оказывал сильное (более 60 %) ингибирующее действие на все изучаемые изоляты фузариума: высокопатогенный (Fol 1), среднепатогенный (Т 2) и слабопатогенный (Т 11), останавливая рост их колоний начиная с 4-х суток совместного культивирования. Штамм 11 явился антагонистом для изолятов Fol 1 и Т 2, а штамм 20 – для изолята Т 11. Штаммы 18 и 35 не обладают антифунгальной активностью в отношении всех изученных изолятов *F.oxysporum* f. *lycopersici*.

Ключевые слова: фузариум; томат; актиномицеты; фитопатология.

THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF RAY FUNGUM AGAINST THE FUSARIUM WILT CAUSAL AGENT OF TOMATO

S. G. SIDOROVA^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

The antifungal activity of genus *Streptomyces* strains (from collection of department of microbiology, Belarusian State University) against the fusarium wilt causal agent of tomato micromycetes *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen were studied in laboratory model experiments. Dynamic of micromycete colonies growth, morphology, color and fruiting intensity were analyzed. The screening of tested strains of genus *Streptomyces* for their anti-wilt activity has showed that the strain 10 influences the inhibiting (more than 60 %) effect on all fusarium isolates: high-pathogenic (Fol 1), middle-pathogenic (Т 2) and low-pathogenic (Т 11). Their colonies growth were blocked from the 4th day of joint cultivation. The strain 11 has been an antagonist for the isolates Fol 1 and Т 2, and the strain 20 – for the isolate Т 11. Strains 18 and 35 demonstrate no antifungal activity to all *F.oxysporum* f. *lycopersici* isolates under study.

Keywords: fusarium; tomato; ray fungum; phytopathology.

Образец цитирования:

Сидорова С.Г. Антифунгальная активность актиномицетов в отношении возбудителя фузариоза томата. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019; 3:21–32.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-21-32>

For citation:

Sidorova SG. The antifungal activity of ray fungum against the fusarium wilt causal agent of tomato. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;3:21–32. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-21-32>

Автор:

Светлана Георгиевна Сидорова – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры ботаники биологического факультета.

Author:

Svetlana G. Sidorova, PhD (biology), docent; associate professor at the department of botany, faculty of biology.
sidorova@bsu.by
<https://orcid.org/0000-0002-9808-4809>

Введение

Выращивание томатов – одна из важных составляющих продовольственного ресурса Республики Беларусь. Эта культура отличается ценными пищевыми качествами и разнообразным использованием (в свежем, соленом и консервированном виде). Однако успешному возделыванию томата препятствует подверженность его заболеваниям, которые могут быть обусловлены комплексом возбудителей, в том числе и грибной этиологии. Среди наиболее вредоносных патологий этой культуры можно выделить фузариозное увядание, вызываемое микромицетом *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen.

В 1990-х гг. фузариоз томатов в Беларуси был отмечен во всех культуурооборотах как в пленочных, так и в остекленных теплицах. При этом имели место значительные потери урожая [1–4]. В этой связи разработка мероприятий по защите томата является актуальной и практически значимой.

Экологизация современного производства растениеводческой продукции базируется на использовании биологического метода защиты растений от болезней. Этот метод заключается в применении потенциальных агентов среди различных групп микроорганизмов, обитающих в почве (грибов, бактерий, цианобактерий, актиномицетов), в целях использования их для защиты от фитопатогенных грибов. Поиск таких организмов, а также совершенствование знаний их биологии позволяют расширить границы применения биологического метода [5].

Мицелиальные прокариоты обладают, с одной стороны, способностью синтезировать антибиотики (в первую очередь аминогликозиды, макролиды и новые антибиотики – макваримициды), а также другие биологически активные вещества [6]. С другой стороны, актиномицеты являются продуцентами хитиназ [7] и глюканаз [8], что дает возможность рассматривать этих агентов в качестве естественной защиты растения от фитопатогенных грибов. Негативным свойством актиномицетов, которое немало важно для организмов-антагонистов, является неспособность мицелиальных прокариот к быстрому росту, что позволяет отнести их к представителям так называемых К-стратегов. Вместе с тем широкий метаболический потенциал актиномицетов, эффективность расселения спор, устойчивость к высушиванию и временному отсутствию питательных веществ открывают возможность создания биопрепаратов как на основе актиномицетов [9], так и в комплексе с другими организмами, в частности цианобактериями [10; 11].

В последнее время в ряде работ показана принципиальная возможность использования актиномицетов как основы для препаратов комплексного действия, применяемых на различных культурах в качестве экологически безопасных средств защиты [12–20]. Такие биопестициды проявляют антагонизм к фитопатогенным грибам и бактериям. Они обладают избирательностью действия и безопасны для здоровья животных и человека.

Цель настоящего исследования – выявить антагонистов фитопатогенного микромицета *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen, характеризующегося внутривидовой неоднородностью, среди почвенных актиномицетов рода *Streptomyces*.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования выполнены на базе кафедры ботаники биологического факультета БГУ. Объектами изучения служили 3 изолята возбудителя фузариозного увядания томата – Fol 1, T 2 и T 11, полученные из коллекции чистых культур указанной выше кафедры. Данные изоляты характеризуются разной степенью патогенности: Fol 1 – высокопатогенный (вызывает поражение восприимчивого к фузариозному увяданию сорта томата Перамога 165, оцениваемое 5 баллами); T 2 – среднепатогенный (2,2 балла) и T 11 – слабопатогенный (1,6 балла) [2; 3]. Штаммы (10, 11, 18, 20, 35) актиномицета рода *Streptomyces*, используемые в экспериментальных исследованиях, взяты из коллекции культур микроорганизмов кафедры микробиологии БГУ.

Культивирование изолятов патогена осуществляли по общепринятой методике [21]. Изучение культуральных свойств (динамика роста колоний, интенсивность спороношения) возбудителя фузариоза томата проводили согласно методикам, изложенным в руководствах [21; 22]. В эксперименте по изучению взаимоотношений между патогенами использовали метод встречных колоний [22]. Ежедневно учитывали диаметр колоний фитопатогена, описывали их морфологию, отмечали изменение окраски колонии и субстрата. Показатель ингибирования фитопатогена актиномицетами определялся в процентах (как разность диаметров колонии в контрольном и опытном вариантах, деленная на диаметр колонии в контроле и умноженная на 100). Значение этого показателя рассчитывали на 4-е и 8-е сутки, а интенсивность спорообразования микромицета – на 8-е сутки [22]. Повторность опыта (n) восьмикратная для каждой экспериментальной серии и контроля. Данные представляли в следующем виде: среднее \pm ошибка среднего. Статистическая обработка проводилась с использованием программы *Statistica 6.0*. Достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Для получения данных, характеризующих антифузариозную активность актиномицетов, и последующего отбора активных штаммов исследовали их влияние на фитопатогенный микромицет в условиях чистой культуры. Результаты оценки показали неоднозначную реакцию изучаемых изолятов *F. oxysporum* f. *lycopersici*, проявившуюся в прекращении или замедлении роста фитопатогена. Так, для изолята Fol 1 показатель ингибирования его ростовой активности по прошествии 4 сут в вариантах культивирования со штаммами 10 и 11 актиномицета рода *Streptomyces* был равен 45,3 и 50,4 % соответственно (табл. 1). Все остальные изучаемые штаммы актиномицета не оказали сильного антифунгального воздействия в отношении возбудителя фузариоза томата. Учитываемый параметр колебался в пределах от 25,3 до 32,5 % (срок культивирования 4 сут) (см. табл. 1).

Таблица 1

Показатель ингибирования изолята
Fol 1 *F. oxysporum* f. *lycopersici*
штаммами актиномицета рода *Streptomyces*, %

Table 1

The inhibition index of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Fol 1
by genus *Streptomyces* actinomycetes strains, %

Вариант опыта	Длительность культивирования, сут	
	4	8
Fol 1 + A 10	45,3	67,3
Fol 1 + A 11	50,4	66,8
Fol 1 + A 18	30,3	20,8
Fol 1 + A 20	32,5	22,0
Fol 1 + A 35	25,3	18,8

Примечание. Здесь и в табл. 2–5, на рис. 1, 3 и 5 обозначено: A 10, A 11, A 18, A 20, A 35 – штаммы 10, 11, 18, 20, 35 актиномицета соответственно.

С увеличением длительности культивирования наблюдалось дальнейшее усиление ингибирующего влияния штаммов 10 и 11 актиномицета, проявившееся в увеличении показателя ингибирования примерно до 67 %. Степень угнетающего воздействия штаммов 18, 20 и 35 составляла 19–22 %.

Анализируя динамику роста изолята Fol 1 в присутствии исследуемых штаммов актиномицета рода *Streptomyces*, можно заключить, что в вариантах применения штаммов 10 и 11 отмечалось снижение диаметра колоний микромицета в 1,8 и 2,0 раза соответственно при 4-суточном культивировании (рис. 1, а). В остальных опытных вариантах оцениваемый показатель уменьшился в 1,3–1,5 раза (см. рис. 1, б). Учет диаметра колоний изолята Fol 1 фузариума остроспорового на 8-е сутки культивирования позволил выявить статистически достоверное ($p \leq 0,05$) снижение этого показателя примерно в 3 раза в случае совместного культивирования с актиномицетами. Этот параметр составил ($3,3 \pm 0,16$) и ($3,35 \pm 0,18$) см для штаммов 10 и 11 соответственно, а в контроле – ($10,1 \pm 0,04$) см (см. рис. 1, а). Степень влияния штаммов 18, 20 и 35 актиномицета на рост изолята Fol 1 проявилась в уменьшении диаметра колоний в 1,2–1,3 раза (см. рис. 1, б).

Рост исследованных изолятов фитопатогенного микромицета описывается логарифмическими уравнениями, анализ которых позволяет сделать вывод о том, что штаммы 10 и 11 актиномицета рода *Streptomyces* подавляют, а штаммы 18, 20 и 35 замедляют рост изолята Fol 1 фузариума остроспорового. В пользу этого говорит практическая неизменность размера колоний микромицета начиная с 4-х суток в вариантах совместного культивирования со штаммами 10, 11. В вариантах культивирования изолята Fol 1 фузариума остроспорового в присутствии штаммов 18, 20 и 35 актиномицета рода *Streptomyces* было отмечено увеличение диаметра колоний микромицета в период с 4 до 8 сут.

Описание характера роста изолята Fol 1 фузариума остроспорового свидетельствует о том, что при совместном его культивировании со штаммами 10 и 11 актиномицета рода *Streptomyces*, которые проявляли высокую антифузариозную активность, в месте посева образовывался белый пушистый мицелий, который формировал кольцо диаметром 1,0–1,5 см. Затем он становился изреженным и частично погруженным в субстрат (вблизи кольца актиномицета) (рис. 2).

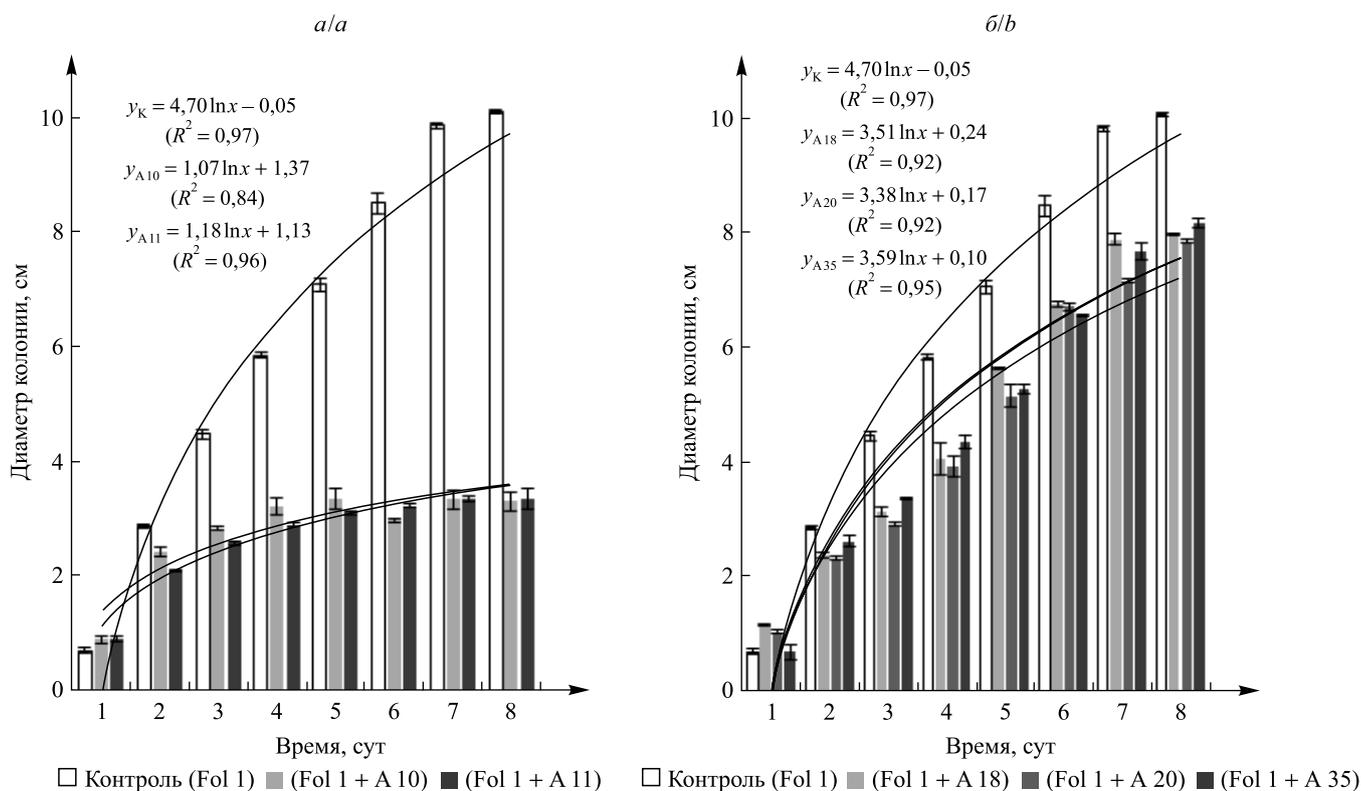


Рис. 1. Динамика роста изолята Fol 1 *F. oxysporum* f. *lycopersici* в присутствии подавляющих (а) и замедляющих (б) его активность штаммов актиномицета рода *Streptomyces*.

Представлены данные (столбцы) и линия тренда, построенная на основании уравнения регрессии (y), а также величина достоверности такой аппроксимации (R^2).

Для множественной регрессии статистические различия с контролем составили: $t = 10,37$ ($p < 0,0001$), $t = 15,49$ ($p < 0,0001$), $t = 1,68$ ($p = 0,0981$), $t = 1,17$ ($p = 0,2450$) и $t = 1,29$ ($p = 0,2030$) для штаммов 10, 11, 18, 20 и 35 актиномицета соответственно

Fig. 1. The dynamics of the *F. oxysporum* f. *lycopersici* Fol 1 isolate growth in the presence of inhibiting (a) and slowing down (b) genus *Streptomyces* actinomycetes strains. Data presented by columns, trend lines are based on regression equations (y) and significantly approximate by R^2 coefficient. For multiple regression results significance vs control are:

$t = 10.37$ ($p < 0.0001$), $t = 15.49$ ($p < 0.0001$), $t = 1.68$ ($p = 0.0981$), $t = 1.17$ ($p = 0.2450$) and $t = 1.29$ ($p = 0.2030$) for actinomycetes strains 10, 11, 18, 20 and 35 respectively

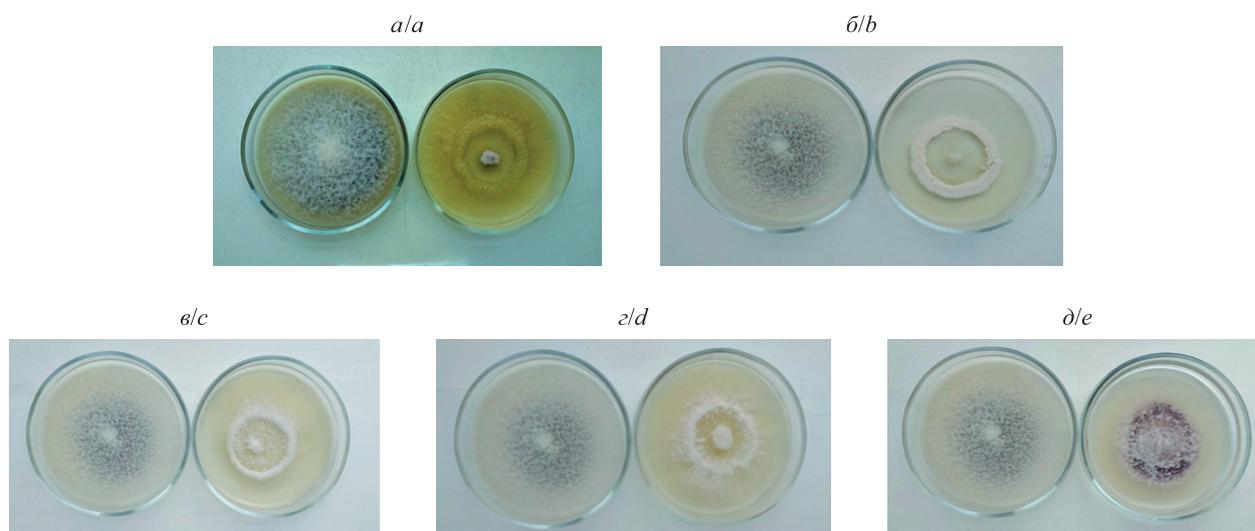


Рис. 2. Взаимоотношения изолята Fol 1 *F. oxysporum* f. *lycopersici* и штаммов 10 (а), 11 (б), 20 (в), 35 (г), 18 (д) актиномицета рода *Streptomyces* (8-е сутки).

Слева на фотографии – контроль, справа – опытный вариант

Fig. 2. The relationship of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Fol 1 and genus *Streptomyces* actinomycetes strains 10 (a), 11 (b), 20 (c), 35 (d), 18 (e) (8th day). On the left on the photo is the control variant, on the right – experimental variant

Наблюдаемое снижение плотности грибного мицелия в присутствии антагониста может быть рассмотрено как конкуренция за питательные вещества. К аналогичному заключению пришла О. К. Струникова (с соавторами) [23], изучая развитие грибного мицелия *Fusarium culmorum* в присутствии микробов-антагонистов, в частности *Pseudomonas fluorescens*, а также Л. И. Домрачева (с соавторами) [16], исследуя взаимоотношения фитопатогенных грибов рода *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. nivale*) с актиномицетами и цианобактериями.

Анализ интенсивности спорообразования показал снижение этого показателя от центра колонии к ее краю практически во всех опытных вариантах в сравнении с контрольным. Так, при совместном культивировании Fol 1 и штаммов 10 и 11 актиномицета рода *Streptomyces* наблюдалось статистически достоверное ($p \leq 0,05$) уменьшение (в 7,3 и 4,0 раза соответственно) количества спор на единицу спороносящей поверхности по сравнению с контролем (табл. 2). Это может быть связано с наблюдаемым изреживанием и усыханием грибного мицелия.

Таблица 2

Интенсивность спорообразования изолята Fol 1 *F. oxysporum* f. *lycopersici* в присутствии штаммов актиномицета рода *Streptomyces*, $\times 10^6$ см⁻²

Table 2

The spore formation intensity of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Fol 1 in presence of genus *Streptomyces* actinomycetes strains, $\times 10^6$ cm⁻²

Вариант опыта	Участок колонии	
	Центр	Край
Контроль (изолят Fol 1)	18,3 ± 0,16	6,7 ± 0,11
Fol 1 + A 10	2,5 ± 0,24*	–
Fol 1 + A 11	4,6 ± 0,32*	2,0 ± 0,14*
Fol 1 + A 18	19,4 ± 0,56	6,5 ± 0,48
Fol 1 + A 20	33,7 ± 1,15*	22,3 ± 1,19*
Fol 1 + A 35	34,3 ± 0,98*	24,2 ± 1,43*

*Достоверно ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем для аналогичного места измерения (центр или край колонии).

Наряду с угнетающим действием на ростовые процессы и спорообразование изучаемых изолятов фитопатогенного микромицета выявлен и обратный эффект. Так, в вариантах культивирования изолята Fol 1 и штаммов 20 и 35 актиномицета рода *Streptomyces* отмечено статистически достоверное ($p \leq 0,05$) стимулирование процесса спорообразования. Этот показатель в центре колоний был в 1,8 раза выше по сравнению с контрольным вариантом. Воздействие штамма 18 актиномицета выразилось в формировании спор на единице спороносящей поверхности в пределах контроля (см. табл. 2).

Количество спор, приходящихся на единицу спороносящей поверхности, у края колоний описывается аналогичным образом: полное их отсутствие и уменьшение в вариантах культивирования со штаммами 10 и 11 актиномицета, стимуляция данного процесса под воздействием штаммов 20 и 35. Это может быть связано с тем, что актиномицеты, как и грибы, способны к синтезу большого спектра биологически активных веществ различной химической природы – антибиотиков, токсинов, ферментов и ингибиторов ферментов, геосминов, соединений гуминовой природы, витаминов и др. [10; 11; 24]. Результаты, полученные в проведенных нами исследованиях, указывают на то, что продуцируемые актиномицетами метаболиты, по-видимому, могут оказывать контрастное воздействие на развитие изучаемых штаммов фузариума остроспорового. Поэтому возникает необходимость их предварительного тестирования.

Изучение антифузариозной активности тестируемых штаммов актиномицета рода *Streptomyces* в отношении изолята T 2 фузариума остроспорового позволило выявить такой же, как и для изолята Fol 1, характер воздействия. Наиболее сильный ингибирующий эффект отмечен при совместном культивировании со штаммами 10 и 11 актиномицета (на 47,6 и 50,8 % соответственно при 4-суточном культивировании и на 62,9 и 64,5 % – при 8-суточном выращивании). Для штаммов 18 и 20 актиномицета выявлено также достаточно сильное угнетающее воздействие на 4-е сутки культивирования. Однако в конце наблюдения это влияние заметно ослабевало. Показатель ингибирования снизился более чем в 3 раза (табл. 3).

Таблица 3

Показатель ингибирования изолята Т 2 *F. oxysporum* f. *lycopersici* штаммами актиномицета рода *Streptomyces*, %

Table 3

The inhibition index of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Т 2 by genus *Streptomyces* actinomycetes strains, %

Вариант опыта	Длительность культивирования, сут	
	4	8
Т 2 + А 10	47,6	62,9
Т 2 + А 11	50,8	64,5
Т 2 + А 18	47,9	13,0
Т 2 + А 20	49,5	15,8
Т 2 + А 35	27,7	20,1

Существенно отличающееся ингибирование ростовой активности изолята Т 2 *F. oxysporum* f. *lycopersici* проявилось в конце учета. Анализируя измерения величины колоний, можно отметить, что при совместном культивировании со штаммами 10 и 11 актиномицета рода *Streptomyces* в период наблюдения с 4 до 8 сут происходило незначительное (от 3,25 до 3,65 см для штамма 10 и от 3,05 до 3,49 см для штамма 11) увеличение размера колоний изолята Т 2 (рис. 3, а, и 4, а, б). Это может быть связано со способностью актиномицетов выделять в окружающую среду антибиотические вещества, подавляющие рост фузариума остроспорового. Вместе с тем угнетающий эффект штаммов 18, 20 и 35 был слабее. Диаметр колоний изолята Т 2 фузариума остроспорового увеличился в 2,6 раза в период культивирования с 4 до 8 сут в вариантах совместного культивирования со штаммами 18 и 20 актиномицета и в 1,8 раза – со штаммом 35 (рис. 3, б, и 4, в, г, д).

Как и в случае предыдущего изолята *F. oxysporum* f. *lycopersici*, анализ логарифмических уравнений временной зависимости увеличения диаметра его колоний показал, что штаммы 10 и 11 полностью подавляют дальнейший рост изолята Т 2 микромицета по прошествии 8 сут после начала совместного культивирования, а штаммы 18, 20, 35 лишь замедляют ростовую активность (рис. 3).

Подсчет интенсивности спороношения показал, что воздействие штаммов 10 и 11 актиномицета характеризовалось значительным угнетающим эффектом. Количество спор, приходящихся на единицу спороносящей поверхности в центре колонии, снизилось в 18 раз при совместном культивировании со штаммом 10 и в 2,6 раза – со штаммом 11. Двухкратное уменьшение интенсивности спороношения зафиксировано в варианте применения штамма 18 актиномицета рода *Streptomyces*. Для штаммов 20 и 35 количество спор, приходящихся на единицу спороносящей поверхности, существенно не отличалось от аналогичного показателя контрольного варианта (табл. 4).

Таблица 4

Интенсивность спорообразования изолята Т 2 *F. oxysporum* f. *lycopersici* в присутствии штаммов актиномицета рода *Streptomyces*, $\times 10^6$ см⁻²

Table 4

The spore formation intensity of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Т 2 in the presence of genus *Streptomyces* actinomycetes strains, $\times 10^6$ cm⁻²

Вариант опыта	Участок колонии	
	Центр	Край
Контроль (Т 2)	28,5 ± 0,33	15,3 ± 2,09
Т 2 + А 10	1,55 ± 0,09*	–
Т 2 + А 11	10,8 ± 0,07*	1,2 ± 0,03*
Т 2 + А 18	14,1 ± 0,29*	–
Т 2 + А 20	34,4 ± 2,19*	14,5 ± 2,56
Т 2 + А 35	32,3 ± 3,13	19,1 ± 1,94

*Достоверно ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем для аналогичного места измерения (центр или край колонии).

Результаты, приведенные в табл. 4, указывают на снижение спорообразовательной способности у края колонии изолята Т 2 по сравнению с центральной частью во всех опытных вариантах. Кроме того, при совместном культивировании изолята Т 2 со штаммами 10 и 18 актиномицета установлено полное отсутствие спор. Существенное ингибирование (в 12,8 раза) спорносыщей активности отмечено для варианта с применением штамма 11. Для штаммов 20 и 35 актиномицета числовое выражение спорносыщей способности находилось на уровне контроля (см. табл. 4).

Анализ экспериментальных данных, отражающих ростовую активность изолята Т 11 *F. oxysporum* f. *lycopersici*, показал, что наиболее сильный угнетающий эффект отмечен при его совместном культивировании со штаммами 10 и 20 актиномицета рода *Streptomyces*, когда показатель ингибирования по истечении 4 сут составил 44,8 и 48,0 % соответственно (табл. 5). В период культивирования с 4 до 8 сут наблюдалось дальнейшее усиление антифузариозного влияния штаммов 10 и 20. Показатель ингибирования в конце наблюдения достигал 62,4–63,7 %. Ростовая активность изолята Т 11 выразилась в снижении диаметра его колоний в 1,8–1,9 раза в сравнении с контрольным вариантом при выращивании в течение 4 сут в присутствии штаммов 10 и 20 актиномицета (рис. 5, а). Влияние штамма 11 актиномицета рода *Streptomyces* проявилось в снижении размера колоний изолята Т 11 фузариума остроспорового в 1,6 раза по сравнению с контролем. Воздействие остальных тестируемых штаммов на формирование колоний изолята Т 11 выразилось в уменьшении их диаметра в 1,2–1,3 раза (см. рис. 5, б).

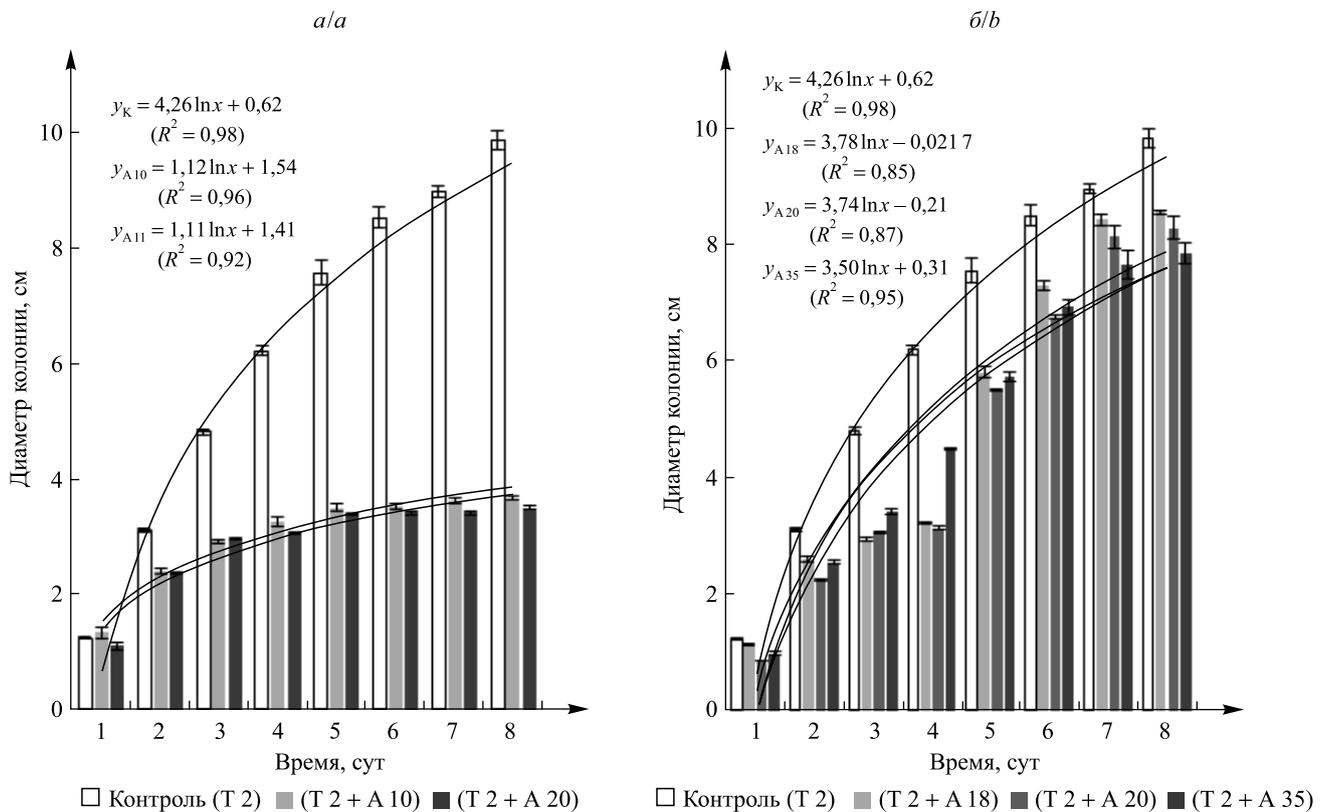


Рис. 3. Динамика роста изолята Т 2 *F. oxysporum* f. *lycopersici* в присутствии подавляющих (а) и замедляющих (б) его штаммов актиномицета рода *Streptomyces*.

Представлены данные (столбцы) и линия тренда, построенная на основании уравнения регрессии (у), а также величина достоверности такой аппроксимации (R^2).

Для множественной регрессии статистические различия с контролем составили: $t = 16,46$ ($p < 0,0001$), $t = 13,90$ ($p < 0,0001$), $t = 2,52$ ($p = 0,0143$), $t = 3,17$ ($p = 0,0024$) и $t = 1,98$ ($p = 0,0526$) для штаммов 10, 11, 18, 20 и 35 актиномицета соответственно.

В отношении штаммов 18 и 20 отмеченные различия обусловлены аномальной задержкой роста колоний на 4-е сутки после начала культивирования и вызванного этим изменением хода кривой регрессии

Fig. 3. Dynamics of the *F. oxysporum* f. *lycopersici* T 2 isolate growth in presence of inhibiting (a) and slowing down (b) genus *Streptomyces* actinomycetes strains. Data presented by columns, trend lines are based on regression equations (y) and significantly approximate by R^2 coefficient. For multiple regression results significance vs control are: $t = 16.46$ ($p < 0.0001$), $t = 13.90$ ($p < 0.0001$), $t = 2.52$ ($p = 0.0143$), $t = 3.17$ ($p = 0.0024$) and $t = 1.98$ ($p = 0.0526$) for actinomycetes strains 10, 11, 18, 20 and 35 respectively.

For strains 18 and 20 significant differences are due to the abnormal growth delay on the 4th day of incubation which results in variables of regression curves course

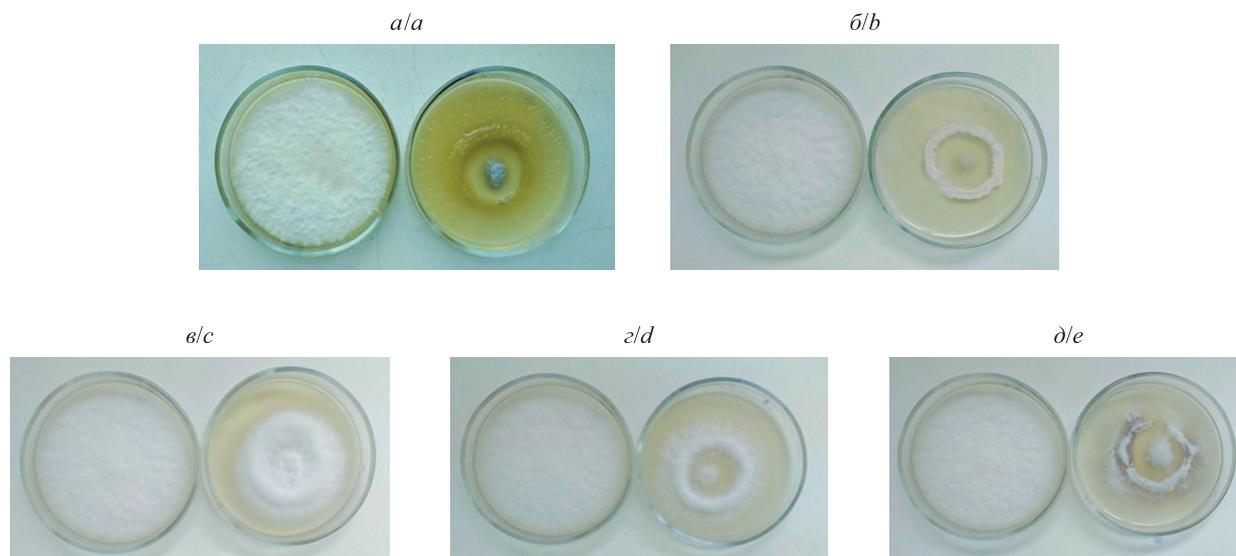


Рис. 4. Взаимоотношения изолята Т 2 *F. oxysporum* f. *lycopersici* и штаммов 10 (а), 11 (б), 20 (в), 35 (г), 18 (д) актиномицета рода *Streptomyces* (8-е сутки). Слева на фотографии – контроль, справа – опытный вариант

Fig. 4. The relationship of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Т 2 and genus *Streptomyces actinomycetes* strains (8th day) 10 (a), 11 (b), 20 (c), 35 (d), 18 (e). On the left on the photo is the control variant, on the right – experimental variant

Таблица 5

Показатель ингибирования изолята Т 11 *F. oxysporum* f. *lycopersici* штаммами актиномицета рода *Streptomyces*, %

Table 5

The inhibition index of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Т 11 by genus *Streptomyces actinomycetes* strains, %

Вариант опыта	Длительность культивирования, сут	
	4	8
Т 11 + А 10	44,8	63,7
Т 11 + А 11	37,8	26,9
Т 11 + А 18	18,3	20,7
Т 11 + А 20	48,0	62,4
Т 11 + А 35	21,1	8,3

Анализ роста изолята Т 11 фузариума остроспорового в период с 4 до 8 сут выявил усиление угнетающего воздействия штаммов 10 и 20 актиномицета рода *Streptomyces*. Отмечено практически одинаковое (в 2,8 и 2,7 раза) статистически достоверное ($p \leq 0,05$) уменьшение размера колонии фитопатогенного микромицета (см. рис. 5, а). Видимо, это проявилось в остановке роста фитопатогена, т. е. его подавлении под воздействием актиномицета. Снижение диаметра колонии изолята Т 11 фузариума остроспорового в вариантах совместного культивирования со штаммами 11, 18 и 35 актиномицета рода *Streptomyces* колебалось в диапазоне 0,8–2,0 см и проявлялось в замедлении его роста (см. рис. 5, б).

Анализ логарифмических уравнений роста изолята Т 11 показал, что подавление этого роста ассоциируется с действием штаммов 10 и 20 актиномицета рода *Streptomyces* (прекращение увеличения размеров колоний микромицета по сравнению с таковым для предыдущих суток) начиная с 4-го дня

совместного культивирования. Штаммы 11, 18, 35 лишь замедляют рост данного изолята *F. oxysporum* f. *lycopersici*, оцениваемый по сохранности увеличения диаметра колонии в каждый из дней экспериментальных наблюдений.

Для штаммов 11, 18 и 35 отмеченное увеличение диаметра колоний до конца наблюдения внешне проявлялось в чередовании воздушного и субстратного мицелия: в месте посева формировался белый воздушный мицелий (диаметром около 1,7 см). Затем он уходил в субстрат, перерастал кольцо актиномицета и вновь становился белым пушистым (рис. 6, з, д) либо паутинистым (рис. 6, в).

Подсчет интенсивности спороношения показал, что наиболее сильное статистически достоверное ($p \leq 0,05$) снижение этого показателя, в сравнении с контрольным вариантом, отмечено при культивировании изолята Т 11 и штамма 10 актиномицета. Данный показатель в центре колонии был в 14 раз, а по краю – в 2,8 раза ниже, чем в контроле (табл. 6).

Воздействие штаммов 11 и 35 актиномицета рода *Streptomyces* на способность формирования спор изолятом Т 11 выразилось в снижении их количества на единице спороносящей поверхности в центре колонии в 1,4 и 2,1 раза соответственно по сравнению с контролем ($(40,2 \pm 0,28) \cdot 10^6$ штук на сантиметре квадратном).

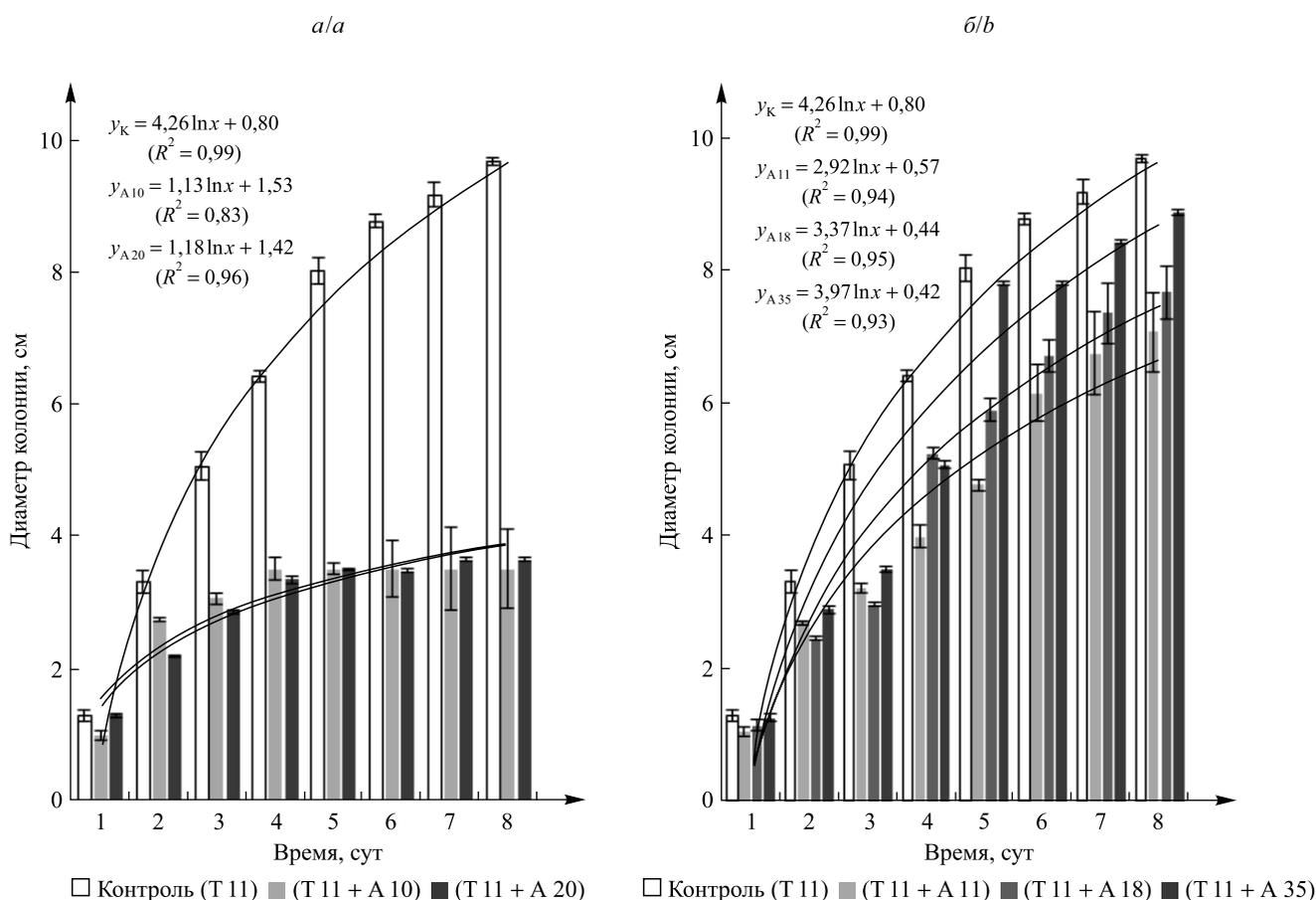


Рис. 5. Динамика роста изолята Т 11 *F. oxysporum* f. *lycopersici* в присутствии подавляющих (а) и замедляющих (б) его штаммов актиномицета рода *Streptomyces*.

Представлены данные (столбцы) и линия тренда, построенная на основании уравнения регрессии (y), а также величина достоверности такой аппроксимации (R^2).

Для множественной регрессии статистические различия с контролем составили:

$t = 10,61$ ($p < 0,0001$), $t = 17,34$ ($p < 0,0001$), $t = 0,00$ ($p = 0,9999$), $t = 0,88$ ($p = 0,3813$)

и $t = 1,98$ ($p = 0,0518$) для штаммов актиномицета 10, 20, 11, 18 и 35 соответственно

Fig. 5. The dynamics of the *F. oxysporum* f. *lycopersici* T11 isolate growth in the presence of inhibiting (а) and slowing down (б) genus *Streptomyces* actinomycetes strains.

Data presented by columns, trend lines are based on regression equations (y)

and significantly approximate by R^2 coefficient. For multiple regression results significance vs control are:

$t = 10.61$ ($p < 0.0001$), $t = 17.34$ ($p < 0.0001$), $t = 0.00$ ($p = 0.9999$), $t = 0.88$ ($p = 0.3813$)

and $t = 1.98$ ($p = 0.0518$) for actinomycetes strains 10, 20, 11, 18 and 35 respectively

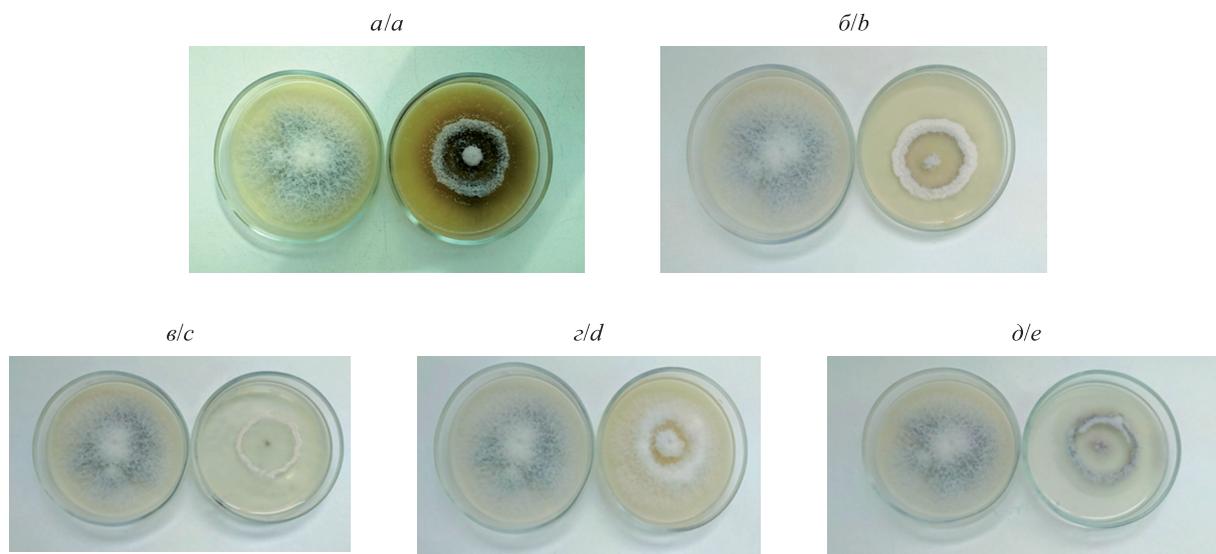


Рис. 6. Взаимоотношения изолята Т 11 *F. oxysporum* f. *lycopersici* и штаммов 10 (а), 11 (б), 20 (в), 35 (г), 18 (д) актиномицета рода *Streptomyces* (8-е сутки).

Слева на фотографии – контроль, справа – опытный вариант

Fig. 6. The relationship of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Т 11 and genus *Streptomyces* strains 10 (a), 11 (b), 20 (c), 35 (d), 18 (e) (8th day). On the left on the photo is the control variant, on the right – experimental variant

Таблица 6

**Интенсивность спорообразования изолята Т 11
F. oxysporum f. *lycopersici* в присутствии штаммов
актиномицета рода *Streptomyces*, $\times 10^6$ см⁻²**

Table 6

**The spore formation intensity
of *F. oxysporum* f. *lycopersici* isolate Т 11
in the presence of genus *Streptomyces* actinomycetes strains, $\times 10^6$ cm⁻²**

Вариант опыта	Участок колонии	
	Центр	Край
Контроль (Т 11)	40,2 ± 0,28	3,1 ± 0,04
Т 11 + А 10	2,8 ± 0,06*	1,1 ± 0,09*
Т 11 + А 11	28,3 ± 0,44*	–
Т 11 + А 18	5,25 ± 0,34*	3,1 ± 0,02
Т 11 + А 20	14,9 ± 1,07*	1,95 ± 0,12*
Т 11 + А 35	19,5 ± 0,08*	1,3 ± 0,21*

*Достоверно ($p \leq 0,05$) по сравнению с контролем для аналогичного места измерения (центр или край колонии).

Данные, приведенные в табл. 6, свидетельствуют о том, что в варианте применения штамма 18 актиномицета рода *Streptomyces* учитываемый показатель был примерно в 8 раз ниже, чем в контроле. Как указывалось ранее, подобное может быть связано с тем, что актиномицеты способны выделять в окружающую среду вещества различной химической природы, в том числе и негативно влияющие на спорообразовательный процесс микромицета. Количество спор на единицу спороносящей поверхности у края колонии статистически достоверно ($p \leq 0,05$) уменьшалось вплоть до полного исчезновения практически во всех (за исключением варианта совместного культивирования со штаммом 18 актиномицета рода *Streptomyces*) вариантах наблюдения.

Заключение

Скрининг тестируемых штаммов актиномицета рода *Streptomyces* на предмет их антифузариозной активности позволил установить, что штамм 10 оказывает ингибирующее воздействие на все изучаемые изоляты *F. oxysporum* f. *lycopersici* и может быть рекомендован для практического применения в качестве антагониста возбудителя фузариоза томата. Штамм 11 является антагонистом для изолятов фузариума Fol 1 и T 2, а штамм 20 – для изолята T 11.

В ходе проведенных нами исследований не выявлено зависимости антифузариозной активности исследуемых штаммов актиномицета рода *Streptomyces* от уровня патогенности изолятов фузариума остроспорового. Это, вероятно, может свидетельствовать о большей значимости биохимической активности изолятов возбудителя фузариозного увядания для проявления их антагонистических свойств. Следовательно, при тестировании штаммов актиномицета рода *Streptomyces* на антифунгальную активность целесообразно иметь представление и о фитотоксической способности изолятов фузариума остроспорового с учетом внутривидовой неоднородности [2; 3].

Библиографические ссылки

1. Поликсенова ВД. Фузариозное увядание томатов. *Защита растений*. 1987;6:51–52.
2. Пискун СГ, Поликсенова ВД, Анохина ВС. Внутривидовая дифференциация возбудителя фузариозного увядания томатов. *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География*. 2002;3:36–41.
3. Пискун СГ, Поликсенова ВД, Анохина ВС. Фитотоксичная активность возбудителя фузариозного увядания томата. *Вестник БГУ. Серия 2. Химия. Биология. География*. 2003;2:87–89.
4. Поликсенова ВД. *Микозы томата: возбудители заболеваний, устойчивость растений*. Минск: БГУ; 2008. 159 с.
5. Соколов МС, Монастырский ОА, Покушова ЭА. *Экологизация защиты растений*. Пушкино: ОНТИ ПНЦ РАН; 1994. 462 с.
6. Tarkka M, Hampp R. Secondary metabolites of soil streptomycetes in biotic interaction. In: Karlovsky P, editor. *Secondary Metabolites in Soil Ecology. Volume 14. Soil biology*. Berlin: Springer; 2008. p. 107–126.
7. Hoster F, Schmitz JE, Daniel R. Enrichment of chitinolytic microorganisms: isolation and characterization of a chitinase exhibiting antifungal activity against phytopathogenic fungi from a novel *Streptomyces* strain. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005;66(4):434–442. DOI: 10.1007/s00253-004-1664-9.
8. Chater KF, Biro S, Lee KJ, Painer T, Schrempf H. The complex extracellular biology of streptomycetes. *FEMS Microbiology Reviews*. 2010;34(2):171–198. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00206.x.
9. Strap JL. Actinobacteria – plant interactions: A boon to agriculture. In: Maheshwari DK, editor. *Bacteria in agrobiology: plant growth responses*. Berlin: Springer; 2011. p. 285–307.
10. Goodfellow M, Simpson KE. Ecology of streptomycetes. *Frontiers in Applied Microbiology*. 1987;2:97–125.
11. Звягинцев ДГ, Зенова ГМ. *Экология актиномицетов*. Москва: ГЕОС; 2001. 257 с.
12. Широких ИГ. Антифунгальный потенциал актиномицетов в ризосфере ячменя на дерново-подзолистых почвах. *Почвоведение*. 2003;4:458–464.
13. Виноградова КА, Шаркова ТС, Александрова АВ, Кожевин ПА. Анализ межпопуляционных взаимодействий почвенных грибов и актиномицетов. *Микология и фитопатология*. 2005;39(3):28–40.
14. Новикова ИИ, Бойкова ИВ, Шенин ЮД. Биологические особенности и компонентный состав активного комплекса штамма *Streptomyces chrysomallus* P-21 – антагониста фитопатогенных грибов. *Вестник защиты растений*. 2006;3:13–21.
15. Омарова ЕО, Зенова ВК, Орлеанский ВК, Карпов ГА, Жегалло ЕА. Экологические особенности взаимодействия синезеленых водорослей (цианобактерии) и стрептомицетов как компонентов альгобактериальных ассоциаций. В: *Грибы и водоросли в биоценозах. Материалы международной конференции, посвященной 75-летию биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова; 31 января – 3 февраля 2006 г.; Москва, Россия*. Москва: МАКС Пресс; 2006. с. 116–117.
16. Домрачева ЛИ, Широких ИГ, Фокина АИ. Антифузариозное действие цианобактерий и актиномицетов в почве и ризосфере. *Микология и фитопатология*. 2009;43(2):157–165.
17. Белявская ЛА, Копылов ЕП, Шаховнина ЕА, Козырицкая ВЕ, Иутинская ГА. Стрептомицеты – перспективные продуценты биопестицидов. В: Дьяков ЮТ, редактор. *Современная микология в России. Том 3. Тезисы докладов 3-го съезда микологов России*. Москва: Национальная академия микологии; 2012. с. 332–333.
18. Широких ИГ, Рябова ОВ, Харина АВ, Коряковцева ЛА, Широких АА. Влияние штамма *Streptomyces hygrosopicus* A-4 на комплекс микромицетов – патогенов яровой мягкой пшеницы. *Микология и фитопатология*. 2013;47(6):410–416.
19. Бурцева СА, Бырса МН, Березюк ЮН, Васильчук АВ. Способность задерживать рост фитопатогенных грибов у стрептомицетов почв Молдовы. В: Дьяков ЮТ, Сергеев ЮВ, редакторы. *Современная микология в России. Том 7. Тезисы докладов 4-го съезда микологов России*. Москва: Национальная академия микологии; 2017. с. 20–22.
20. Раткевич ЕБ, Сидорова СГ. Антифунгальная активность грибов рода *Trichoderma* Pers.: Фг. и актиномицетов в отношении возбудителя фузариоза томата. В: Смолич ИИ, Демидчик ВВ, Падутов ВЕ, редакторы. *Клеточная биология и биотехнология растений. Тезисы докладов II Международной научно-практической конференции; 28–31 мая 2018 г.; Минск, Беларусь*. Минск: Издательский центр БГУ; 2018. с. 73–74.
21. Дудка ИА, Вассер СП, Элланская ИА, Коваль ЭЗ, Горбик ЛТ, Никольская ЕА и др. *Методы экспериментальной микологии*. Киев: Наукова думка; 1982. 52 с.
22. Поликсенова ВД, Храмов АС, Пискун СГ. *Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» для студентов 4-го курса дневного отделения специальности G 31 01 01 «Биология»*. Минск: БГУ; 2004. 38 с.
23. Струнникова ОК, Шахназарова ВЮ, Вишневецкая НА. Развитие и взаимоотношение фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* и антагонистической бактерии *Pseudomonas fluorescens* в почве, ризосфере и на корнях ячменя. В: *Фитосанитарное оздоровление экосистем. Материалы II Всероссийского съезда по защите растений; 10 декабря 2005 г.; Санкт-Петербург, Россия*. Санкт-Петербург: ВИЗР; 2005. с. 193–194.
24. Зенова ГМ. *Почвенные актиномицеты*. Москва: МГУ; 1992. 78 с.

References

1. Poliksenova VD. [Fusarium wilt of tomato]. *Zashchita rastenii*. 1987;6:51–52. Russian.
2. Piskun SG, Poliksenova VD, Anokhina VS. Intraspecific differentiation of the causative agent of fusarium wilting of tomatoes. *Vestnik BGU. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2002;3:36–41. Russian.
3. Piskun SG, Poliksenova VD, Anokhina VS. Phytotoxic activity by fusarium wilt of tomato causal agent. *Vestnik BGU. Seriya 2. Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2003;2:87–89. Russian.
4. Poliksenova VD. *Mikozy tomata: vzbuditeli zabolevaniy, ustoichivost' rastenii* [Tomato mycosis: pathogens, plants resistance]. Minsk: Belarusian State University; 2008. 159 p. Russian.
5. Sokolov MS, Monastirskiy OA, Pokushova YeA. *Ekologizatsiya zashchity rastenii* [Ecologization of plant protection]. Pushchino: ONTI PNTs RAN; 1994. 462 p. Russian.
6. Tarkka M, Hampp R. Secondary metabolites of soil streptomycetes in biotic interaction. In: Karlovsky P, editor. *Secondary Metabolites in Soil Ecology. Volume 14. Soil biology*. Berlin: Springer; 2008. p. 107–126.
7. Hoster F, Schmitz JE, Daniel R. Enrichment of chitinolytic microorganisms: isolation and characterization of a chitinase exhibiting antifungal activity against phytopathogenic fungi from a novel *Streptomyces* strain. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005;66(4):434–442. DOI: 10.1007/s00253-004-1664-9.
8. Chater KF, Biro S, Lee KJ, Painer T, Schrepf H. The complex extracellular biology of streptomycetes. *FEMS Microbiology Reviews*. 2010;34(2):171–198. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00206.x.
9. Strap JL. Actinobacteria – plant interactions: A boon to agriculture. In: Maheshwari DK, editor. *Bacteria in agrobiology: plant growth responses*. Berlin: Springer; 2011. p. 285–307.
10. Goodfellow M, Simpson KE. Ecology of streptomycetes. *Frontiers in Applied Microbiology*. 1987;2:97–125.
11. Zvyagintsev DG, Zenova GM. *Ekologiya aktinomitsetov* [Ecology of actinomycetes]. Moscow: GEOS; 2001. 257 p. Russian.
12. Shirokikh IG. [Antifungal potential of actinomycetes in the rhizosphere of barley on sod-podzol soils]. *Pochvovedenie*. 2003;4:458–464. Russian.
13. Vinogradova KA, Sharkova TS, Aleksandrova AB, Kozhevin PA. [Analysis of interpopulation interactions of soil fungi and actinomycetes]. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2005;39(3):28–40. Russian.
14. Novikova II, Boykova IV, Shenin YuD. [Biological features and component composition of the active complex of the strain *Streptomyces chrysomallus* P-21 an antagonist of phytopathogenic fungi]. *Vestnik zashchity rastenii*. 2006;3:13–21. Russian.
15. Omarova EO, Zenova VK, Orleanskiy VK, Karpov GA, Zhegallo EA. [Environmental features of the interaction of cyanobacteria and streptomycetes as components of algobacterial associations]. In: *Griby i vodorosli v biotsenozakh. Materialy mezhdunarodnoi konferentsii, posvyashchennoi 75-letiyu biologicheskogo fakul'teta MGU im. M. V. Lomonosova; 31 yanvarya – 3 fevralya 2006 g.; Moskva, Rossiya* [Fungi and algae in biocenoses. Materials of the international conference dedicated to the 75th anniversary of the faculty of biology of Lomonosov Moscow State University; 2006 January 31 – February 3; Moscow, Russia. Moscow: MAKSS Press; 2006. p. 116–117. Russian.
16. Domracheva LI, Shirokikh IG, Fokina AI. Cyanobacteria and actinomycetes influence against fusarium species in soil and rhizosphere. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2009;43(2):157–165. Russian.
17. Belyavskaya LA, Kopylov EP, Shakhovkina EA, Kozlytskaya VE, Iutinskaya GA. [Streptomycetes are promising producers of biopesticides]. In: D'yakov YuT, editor. *Sovremennaya mikologiya v Rossii. Tom 3. Tezisy dokladov 3-go s'ezda mikologov Rossii* [Modern mycology in Russia. Volume 3. Abstracts of the 3rd Congress of mycologists of Russia]. Moscow: National Academy of Mycology; 2012. p. 332–333. Russian.
18. Shirokikh IG, Ryabova OV, Kharina AB, Korjakovtseva LA, Shirokikh AA. Impact of *Streptomyces hygrosopicus* A-4 strain on microfungus complexes in the wheat rhizosphere. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2013;47(6):410–416. Russian.
19. Burtseva SA, Byrsa MN, Berezyuk YuN, Vasilchuk AV. [Ability to inhibit the growth of phytopathogenic fungi in streptomycetes of Moldavian soils]. In: D'yakov YuT, Sergeev YuV, editors. *Sovremennaya mikologiya v Rossii. Tom 7. Tezisy dokladov 4-go s'ezda mikologov Rossii* [Modern mycology in Russia. Volume 7. Abstracts of the 4th Congress of mycologists of Russia]. Moscow: National Academy of Mycology; 2017. p. 20–22. Russian.
20. Ratkevich EB, Sidorova SG. [Antifungal activity of fungi of the genus *Trichoderma* Pers.: Fr. and actinomycetes against the causative agent of tomato fusarium wilt. In: Smolich II, Demidchik VV, Padutov VE, editors. *Kletochnaya biologiya i biotekhnologiya rastenii. Tezisy dokladov II Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii; 28–31 maya 2018 g.; Minsk, Belarus'* [Cell biology and plant biotechnology. Abstracts of the II International scientific and practical conference; 2018 May 28–31; Minsk, Belarus]. Minsk: BSU Publishing Center; 2018. p. 73–74. Russian.
21. Dudka IA, Vasser SP, Ellanskaya IA, Koval' EZ, Gorbik LT, Nikol'skaya EA, et al. *Metody eksperimental'noi mikologii* [Experimental mycology methods]. Kiev: Naukova dumka; 1982. 52 p. Russian.
22. Poliksenova VD, Khrantsov AK, Piskun SG. *Metodicheskie ukazaniya k zanyatiyam spetspraktikumuma po razdelu «Mikologiya. Metody eksperimental'nogo izucheniya mikroskopicheskikh gribov» dlya studentov 4-go kursa dnevnogo otdeleniya spetsial'nosti G 31 01 01 «Biologiya»* [Methodical instructions for special workshop in the section «Mycology. Methods of experimental study of microscopic mushrooms» for 4th year students of the full-time department of speciality G 31 01 01 «Biologiya»]. Minsk: Belarusian State University; 2004. 38 p. Russian.
23. Strunnikova OK, Shakhnazarova VYu, Vishnevskaya NA. Development and relationship of the phytopathogenic fungus *Fusarium culmorum* and the antagonistic bacterium *Pseudomonas fluorescens* in soil, rhizosphere and on the roots of barley. In: *Fitosanitarnoe ozdorovlenie ekosistem. Materialy II Vserossiiskogo s'ezda po zashchite rastenii; 10 dekabrya 2005 g.; Sankt-Peterburg, Rossiya* [Phytosanitary rehabilitation of ecosystems. Materials of the II All-Russian Congress on plant protection; 2005 December 10; Saint Petersburg, Russia]. Saint Petersburg: All-Russian Institute of Plant Protection; 2005. p. 193–194. Russian.
24. Zenova GM. *Pochvennye aktinomitsety* [Soil actinomycetes]. Moscow: Lomonosov Moscow State University; 1992. 78 p. Russian.

Статья поступила в редакцию 07.10.2019.
Received by editorial board 07.10.2019.