

## ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР ОТ БОЛЕЗНЕЙ

Купцов В.Н.<sup>1</sup>, Мандрик-Литвинкович М.Н.<sup>1</sup>, Шмыга Е.Ю.<sup>1</sup>,  
Коломиец Э.И.<sup>1</sup>, Sanchez I.<sup>2</sup>, Moran R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии НАНБ, Минск, [kuptsov@hotmail.com](mailto:kuptsov@hotmail.com)

<sup>2</sup>Center for Genetic Engineering and Biotechnology of Camaguey, Cuba

Учитывая тот факт, что распространение ряда заболеваний носит взрывной характер, а эпифитотии крайне тяжело поддаются контролю в промышленном растениеводстве проблема быстрой и своевременной обработки посевного материала, вегетирующих растений и продуктов растениеводства различными биопестицидами выдвигается на первый план. Существенную роль в биологическом контроле фитопатогенов играют микробные препараты. Благодаря избирательности действия и экологической безопасности они удачно вписываются в интегрированные системы защиты растений и обеспечивают возможность создания высокопродуктивных агроэкосистем с управляемыми популяционными отношениями фитопатогенов и их антагонистов.

Особый интерес представляют собой бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Streptomyces*, продуцирующие вторичные метаболиты (антибиотики, ферменты, пигменты), обеспечивающие антимикробную активность в отношении возбудителей болезней сельскохозяйственных культур [1-3]. В связи с тем, что в настоящее время зарегистрированные в Республике Беларусь микробные препараты предназначены для контроля отдельных заболеваний овощных культур, представляется целесообразным разработку комплексного биопрепарата с широким спектром фитозащитного действия.

В лаборатории молекулярной диагностики и биологического контроля фитопатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси в опытах *in vitro* установлено, что штаммы микроорганизмов, выделенные на территории Беларуси и Кубы, различались как по спектру действия, так и по степени подавления фитопатогенных грибов *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* и бактерий *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris* – возбудителей болезней овощных культур (таблица 1).

В результате проведенного скрининга отобран изолят К-1, проявляющий наибольшую комплексную ингибирующую активность в отношении грибных (зона задержки роста мицелия составляла 16-35 мм) и бактериальных (зона отсутствия роста клеток достигала 25-35 мм) патогенов. На основании изучения морфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков бактериальный изолят К-1 был отнесен к роду *Bacillus*. Для уточнения идентификации бактерий использовали метод времяпролетной масс-спектрометрии MALDI-TOF MS. Сравнительный анализ полученных белковых

спектров с эталонными спектрами из базы данных Bruker Database Version 3.3.1.0 показал, что штамм бактерий с высокой вероятностью относится к виду *Bacillus mojavensis*. По результатам исследований, проведенных в Институте экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, штамм бактерий *B. mojavensis* К-1 не является патогенным, токсичным и токсигенным и может использоваться в микробиологическом производстве в качестве основы микробного препарата для защиты овощных культур от комплекса болезней.

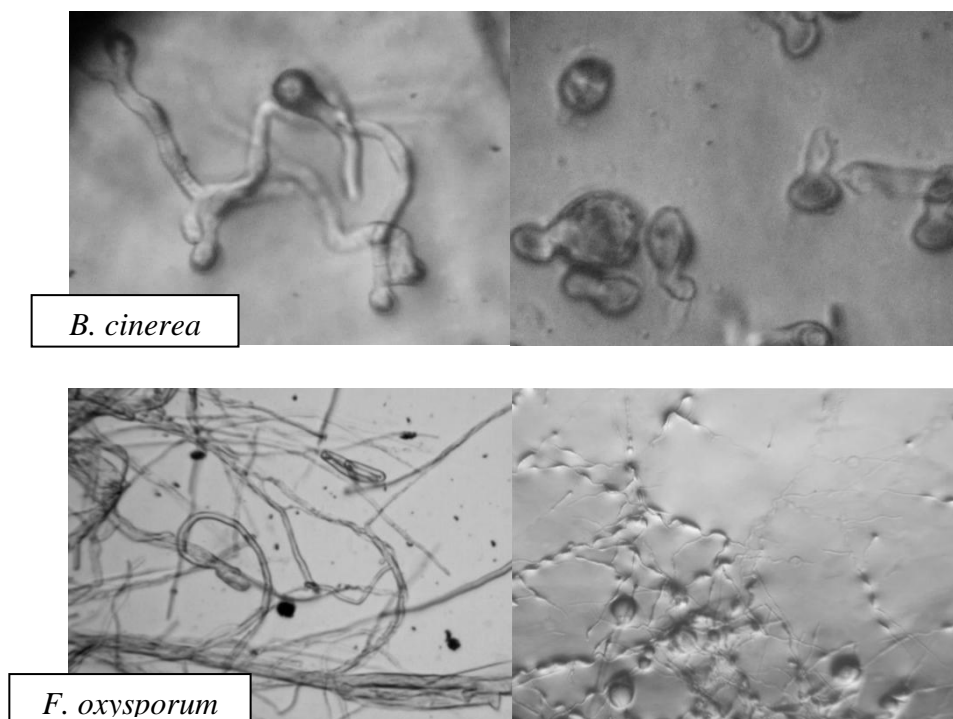
**Таблица 1** – Антимикробное действие штаммов микроорганизмов в отношении фитопатогенов овощных культур

Штаммы микроорганизмов	Диаметр зоны ингибирования роста фитопатогенов, мм					
	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Xanthomonas campestris</i>	<i>Clavibacter michiganensis</i>
<i>Brevibacterium celere</i> C924 (Куба)	15±0,2 <sup>1</sup>	0	23±0,3 <sup>1</sup>	0	0	0
<i>Sphingobacterium</i> sp. CIGBTb (Куба)	14±0,1 <sup>1</sup>	0	18±0,2 <sup>1</sup>	0	0	15±0,2 <sup>2</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> C1Y5 (Куба)	12±0,1 <sup>1</sup>	0	0	0	16±0,2 <sup>1</sup>	18±0,3 <sup>1</sup>
<i>Candida magnolia</i> C1K6 (Куба)	20±0,3 <sup>2</sup>	12±0,1 <sup>1</sup>	21±0,3 <sup>1</sup>	24±0,4 <sup>2</sup>	15±0,2 <sup>2</sup>	20±0,3 <sup>2</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i> C1Y7 (Куба)	16±0,2 <sup>2</sup>	17±0,3 <sup>2</sup>	0	0	18±0,3 <sup>1</sup>	18±0,2 <sup>1</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> БИМ В-262 (РБ)	18±0,2 <sup>1</sup> /32±0,5 <sup>2</sup>	18±0,3 <sup>1</sup>	30±0,4 <sup>2</sup>	14±0,1 <sup>1</sup> /28±0,3 <sup>2</sup>	34±0,6 <sup>1</sup>	28±0,4 <sup>1</sup>
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> БИМ В-858 (РБ)	18±0,3 <sup>1</sup> /50±0,7 <sup>2</sup>	20±0,2 <sup>1</sup>	30±0,4 <sup>2</sup>	15±0,1 <sup>1</sup> /28±0,3 <sup>2</sup>	35±0,5 <sup>1</sup>	26±0,4 <sup>1</sup>
<i>Bacillus mojavensis</i> К-1 (РБ)	16±0,2 <sup>1</sup> /35±0,7 <sup>2</sup>	20±0,3 <sup>1</sup>	32±0,5 <sup>2</sup>	25±0,3 <sup>1</sup>	35±0,4 <sup>1</sup>	35±0,6 <sup>1</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> 9/6 (РБ)	18±0,3 <sup>1</sup> /45±0,7 <sup>2</sup>	18±0,3 <sup>1</sup>	30±0,5 <sup>2</sup>	27±0,4 <sup>1</sup>	35±0,6 <sup>1</sup>	30±0,3 <sup>1</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> 10/19 (РБ)	16±0,1 <sup>1</sup> /40±0,5 <sup>2</sup>	18±0,2 <sup>1</sup>	30±0,4 <sup>2</sup>	15±0,2 <sup>1</sup> /28±0,3 <sup>2</sup>	33±0,5 <sup>1</sup>	27±0,4 <sup>1</sup>

Примечание: 1 – полное ингибирование; 2 – частичное ингибирование

Микроскопические наблюдения, проведенные с использованием метода агаровых пластинок, выявили ингибирование прорастания спор и развития мицелия фитопатогенных грибов под действием метаболитов исследуемого штамма бактерий. Установлено, что под воздействием бактерий происходит

разрыв клеточных стенок и вакуолизация гиф мицелия, деформация спор и ростовых трубок грибов, сопровождающаяся появлением опухолеобразных структур (рисунок 1).



**Рисунок 1** – Ингибирование прорастания спор *B. cinerea* и образование шаровидных вздутий на гифах мицелия *F. oxysporum* под действием метаболитов бактерий (слева – контроль без антагониста, справа – гриб под воздействием антагониста)

Ингибирование прорастания спор варьирует от 80 до 100%, задержка развития субстратного и воздушного мицелия патогенов составляет 40 - 100% (таблица 2). Показано, что метаболиты бактерий-антагонистов способны оказывать бактерицидное действие на фитопатогенные бактерии. Так, высев на питательный агар фитопатогенных бактерий из зон задержки роста, полученных методом лунок, выявил отсутствие роста бактерий *P. syringae*, *S. michiganensis*, *X. campestris*.

Таким образом, бактериальная культура *B. mojavensis* К-1 оказывает ингибирующее влияние на рост и развитие возбудителей фитопатогенов овощных культур, что может быть использовано в дальнейшем для снижения инфицирования растений и контроля развития болезней.

Проведена оценка фитотоксичности культуральной жидкости (КЖ) бактерий *B. mojavensis* К-1, основы микробного препарата для защиты овощных культур от болезней, в отношении растений редиса. Установлено, что всхожесть семян редиса, обработанных 5% КЖ бактерий, не отличалась от контрольных семян, обработанных водой. Длина 7-ми дневных проростков, выросших из бактериализованных семян, превышала контрольные показатели на

15%. На основании полученных данных, следует, что бактерии *B. Mojavensis* К-1 не обладают фитотоксичностью и оказывают ростстимулирующий эффект.

Таблица 2 – Влияние метаболитов бактерий *B. Mojavensis* К-1 на рост мицелия и прорастание спор фитопатогенных грибов

Наименование гриба	Ингибирование радиального роста мицелия, %	Ингибирование прорастания спор, %
<i>Alternaria alternata</i>	70	80
<i>Alternaria brassicae</i>	73	85
<i>Botrytis aclada</i>	90	95
<i>Botrytis cinerea</i>	100	100
<i>Colletotrichum coccodes</i>	82	100
<i>Didymella bryoniae</i>	80	-
<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	65	90
<i>Rhizoctonia solani</i>	40	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	55	83
<i>Fusarium solani</i>	57	85

Фитозащитное действие бактерий изучали на 2-х недельных проростках огурца и капусты, выращенных во влажных камерах из семян, предварительно обработанных 10% КЖ бактерий *B. Mojavensis* К-1 с последующим искусственным инфицированием споровой суспензией фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum* ( $1 \times 10^6$  спор/мл). Согласно полученным результатам, бактериальная обработка семян снижает поражение фузариозной гнилью проростков огурца на 52%, а проростков капусты – на 49%. Таким образом, бактерии *B. Mojavensis* К-1 способны оказывать фитозащитное действие в отношении одного из наиболее распространенных возбудителей болезней овощных культур.

Полученные данные свидетельствуют о потенциальной ценности бактерий *B. Mojavensis* К-1 в качестве основы биопрепарата для стимуляции роста и защиты овощных культур от болезней.

Кубинскими исследователями установлена нематоцидная активность штаммов *Brevibacterium celere* С924, *Sphingobacterium sp.* С1GBТb в отношении вредителей *Meloidogyne spp.*, *Radopholus similis*, *Pratylenchus spp.* на огурце, томате и салате. Совместно с кубинскими партнерами планируется создание консорциума штаммов, обладающих комплексной антимикробной и нематоцидной активностью.

Данная работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № Б18КУБГ-001).

## Литература

1. Protection of cucumber against *Pythium* root rot by fluorescent pseudomonads: predominant role of induced resistance over siderophores and antibiosis / M. Ongena [et al.] // *Plant Pathology*. – 1999. – Vol. 48. – P. 66–76.
2. Formulation of a *Streptomyces* Biocontrol Agent for the Suppression of *Rhizoctonia* Damping-off in Tomato Transplants / Siva Sabaratnam, James A. Traquair // *Biological Control*. – 2002. – Vol. 23, Issue 3. – P. 245-253.
3. Szczech, M. Biocontrol of *Rhizoctonia* damping-off of tomato by *Bacillus subtilis* combined with *Burkholderia cepacia* / M. Szczech, M. Shoda // *J. Phytopathology*. – 2004. – № 152. – P. 549–556.