

АНТИФУНГАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОМИЦЕТОВ РОДА *STREPTOMYCES* В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ СЕРОЙ ГНИЛИ ТОМАТА

С. Г. Сидорова, С.А. Бадытчик

Белорусский государственный университет
Минск, Беларусь, Sidorova@bsu.by

Проведен скрининг штаммов актиномицета рода *Streptomyces* на предмет их антиботритиозной активности. Протестированные штаммы дифференцированы на: подавляющие (17с и 84) – показатель ингибирования составляет более 60 % и замедляющие (45 и 35) – показатель ингибирования равен порядка 20 %, развитие возбудителя серой гнили томата.

Ключевые слова: ботритиоз; томат; актиномицеты; взаимоотношения.

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF THE GENUS *STREPTOMYCES* ACTINOMYCETES AGAINST THE TOMATO GRAY ROT'S CAUSATIVE AGENT

S.G. Sidorova, S.A. Badytchik

Belarusian State University,
Minsk, Republic of Belarus. E-mail: Sidorova@bsu.by

Strains of actinomycetes of the genus *Streptomyces* were screened for their anti-botrytiosis activity. The tested strains are differentiated into: suppressing (17c and 84) - the inhibition index is more than 60 % and slowing (45 and 35) – the inhibition index is about 20% of the development of the pathogen of gray rot of tomato.

Key words: gray rot; tomato; ray fungum; relations.

В решении проблемы круглогодичного обеспечения населения Республики Беларусь свежими овощами первостепенное значение отводится таким культурам, как томат и огурец. Это, с одной стороны обуславливается технической возможностью производства названных культур, с другой – их питательной ценностью и возможностью использования в свежем, соленом и консервированном виде. Однако успешному возделыванию томата препятствует подверженность его целому ряду болезней, в том числе и грибной этиологии.

По данным В. Д. Поликсеновой [1] за 35 лет наблюдений, на томатах было отмечено 22 вида грибов в качестве возбудителей инфекционного процесса; из них в защищенном грунте зарегистрировано 19, в открытом – 11 видов.

Биологический метод защиты растений от болезней выступает в качестве альтернативы химическому, поскольку позволяет значительно снизить давление пестицидной нагрузки, уменьшить содержание в сельскохозяйственной продукции вредных элементов и тем самым экологизировать современное производство растениеводческой продукции. Суть его заключается в использовании потенциальных агентов среди различных групп микроорганизмов, обитающих в почве (грибов, бактерий, цианобактерий, актиномицетов) с целью защиты от фитопатогенных грибов. В этой связи поиск таких организмов, а также совершенствование знаний их биологии позволяет расширить границы применения биологического метода [2].

Возможность применения мицелиальных прокариот в качестве организмов-антагонистов фитопатогенных микромицетов обуславливается, с одной стороны, их способностью синтезировать антибиотики (в первую очередь, аминогликозиды, макролиды, новые антибиотики макваримициды) [3], а так же другие биологически активные вещества [4]. С другой стороны, актиномицеты являются продуцентами хитиназ [5] и глюканаз [6], что дает возможность рассматривать этих агентов в качестве естественной защиты растения от фитопатогенных грибов.

Представленные в ряде работ [7-17] сведения указывают на возможность использования актиномицетов в качестве основы для препаратов комплексного действия, которые проявляют антагонизм к фитопатогенным грибам и бактериям. Избирательность действия и безопасность таких биопестицидов для здоровья животных и человека являются положительным критерием возможности их безвредного практического применения. В этой связи целью настоящей работы явилось выявление антагонистов фитопатогенного микромицета *Botrytis cinerea* Pers. среди почвенных актиномицетов рода *Streptomyces*.

Экспериментальные исследования выполнены на кафедре ботаники биологического факультета Белорусского государственного университета. Объектом исследования служили: возбудитель серой гнили томата микромицет *Botrytis cinerea* Pers., который был выделен нами из пораженных плодов томата по методике, изложенной в руководстве [18] и штаммы (17с; 35, 45, 84) актиномицета р. *Streptomyces*, полученные из коллекции чистых культур микроорганизмов кафедры микробиологии биологического факультета Белорусского государственного университета.

Изучение влияния актиномицетов на рост и спорообразование микромицета *B. cinerea* проводили в условиях чистой культуры по методике, приведенной в руководстве [18]. Постановку опыта осуществляли в четырехкратной повторности. Табличные данные представлены в виде среднее $\pm$ ошибка среднего. Статистическая обработка проведена с использованием программы *Statistica 6.0*.

Анализ экспериментальных данных позволил выявить неоднозначную реакцию исследуемого патогена в отношении штаммов актиномицета р. *Streptomyces*. Результаты, представленные в таблице 1, показали, что для *B. cinerea* наибольшее подавление его ростовой активности на 4-е сутки было обнаружено в вариантах совместного культивирования со штаммами 17с и 84. Для остальных изучаемых штаммов достаточно сильного антифунгального воздействия в отношении возбудителя серой гнили отмечено не было (табл. 1).

Таблица 1 – Развитие фитопатогенного микромицета *B. cinerea* в присутствии штаммов актиномицета рода *Streptomyces*
Table 1 – Development of phytopathogenic micromycete *B. cinerea* in the presence of actinomycete strains of the genus *Streptomyces*

Вариант опыта	Показатель ингибирования, %	
	Время расчета, сут	
	4	8
Контроль (<i>B. cinerea</i>)	0	0
<i>B. cinerea</i> + штамм 17с	43,9	65,7
<i>B. cinerea</i> + штамм 84	50,6	66,8
<i>B. cinerea</i> + штамм 45	23,2	21,5
<i>B. cinerea</i> + штамм 35	24,8	22,4

С увеличением длительности культивирования (с 4-х до 8-ми суток) наблюдалось дальнейшее усиление ингибирующего воздействия штаммов 17с и 84. Это проявилось в росте значения показателя ингибирования до 67 %. Для остальных изучаемых штаммов почвенного актиномицета р. *Streptomyces* сохранилась аналогичная, с предыдущим периодом наблюдения тенденция. Это проявилось в незначительном (до 22 %) уменьшении численного выражения показателя ингибирования ростовой активности возбудителя ботритиоза в вариантах совместного культивирования со штаммами 35 и 45 (см. табл. 1).

Анализ данных, отражающих репродуктивную активность микромицета *B. cinerea* при совместном культивировании его со штаммами актиномицета р. *Streptomyces* показал снижение интенсивности спорообразования от центра колонии к ее краю практически во всех опытных вариантах. Так, при совместном культивировании возбудителя серой гнили томата и штаммов 17с и 84 наблюдалось уменьшение количества спор на единице спороносящей поверхности по сравнению с контролем в 2 и 6 раз соответственно. Эта разница была статистически достоверна ($P \leq 0.05$). Вместе с тем, в ходе проведенного тестирования было обнаружено стимулирование (на 79 %) процесса спорообразования в случае применения штамма 35 (табл. 2). Вероятно, это может быть обусловлено тем, что актиномицеты способны синтезировать вещества различной химической природы, в том числе витамины и иные биологически активные вещества, которые способствуют активизации ростовых процессов и репродуктивной активности [4]. В варианте культивирования гриба *B. cinerea* и штамма 45 этот показатель находился на уровне контроля.

Таблица 2 – Репродуктивная активность фитопатогенного микромицета *B. cinerea* в присутствии штаммов актиномицета рода *Streptomyces*

Table 2-Reproductive activity of phytopathogenic micromycete *B. cinerea* in the presence of actinomycete strains of the genus *Streptomyces*

Вариант опыта	Интенсивность спороношения, $\times 10^6$ шт/см ²	
	Место измерения интенсивности спорообразования	
	Центр колонии	Край колонии
Контроль (<i>B. cinerea</i>)	11,4 $\pm$ 0,12	4,8 $\pm$ 0,08
<i>B. cinerea</i> + штамм 17с	5,8 $\pm$ 0,14*	2,7 $\pm$ 0,03*
<i>B. cinerea</i> + штамм 84	1,9 $\pm$ 0,19*	–
<i>B. cinerea</i> + штамм 45	11,8 $\pm$ 0,39	5,2 $\pm$ 0,13
<i>B. cinerea</i> + штамм 35	20,5 $\pm$ 0,63*	13,9 $\pm$ 0,52*

Примечание* – достоверно ($P \leq 0.05$) по сравнению с контролем для одноимённого места измерения (центр или край колонии); знак «–» означает отсутствие спороношения.

Результаты, отражающие интенсивность спорообразования микромицета *B. cinerea* у края колонии, показывают аналогичную тенденцию воздействия тестируемых штаммов почвенного актиномицета р. *Streptomyces* на этот процесс. Отмечено статистически достоверное ($P \leq 0.05$) снижение (в 1,8 раза) учитываемого показателя при совместном культивировании со штаммом 17с, полное отсутствие спор в варианте культивирования со штаммом 84, почти 3-х кратное стимулирование – под воздействием актиномицета 35 и находящееся на уровне контрольного измерения – в присутствии актиномицета 45 (см. табл. 2).

Наблюдение за характером роста возбудителя серой гнили томата в присутствии тестируемых штаммов актиномицета р. *Streptomyces* позволило выявить либо полное подавление роста микромицета, либо замедление его ростовой активности. Так, в вариантах совместного выращивания со штаммами, которые вызывают практически полное подавление роста возбудителя ботритиоза, гриб в месте посева формирует пушистый воздушный мицелий серо-белой окраски, который по мере приближения к кольцу актиномицета становился паутинистым и практически полностью прекращал свой рост.

В случае совместного культивирования со штаммами актиномицета, которые замедляют рост *B. cinerea* (показатель ингибирования составляет порядка 20 %) наблюдается чередование воздушного (в месте посева гриба и за кольцом актиномицета) и субстратного (под и вблизи кольца актиномицета) мицелия.

Следовательно, конкуренция за питательные вещества в присутствии антагониста может приводить к снижению плотности грибного мицелия. Аналогичные выводы содержатся в работе О. К. Струнниковой и соавт. [19], которые изучали развитие грибного мицелия *Fusarium culmorum* в присутствии микробов-антагонистов, в частности *Pseudomonas fluorescens*. В исследованиях, проведенных Л. И. Домрачевой с соавт. [9], и посвященных изучению взаимоотношений фитопатогенных грибов р. *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. nivale*) с актиномицетами и цианобактериями, отмечена аналогичная закономерность. Данные, полученные С. Г. Сидоровой [11-13] при анализе возможности применения штаммов актиномицета р. *Streptomyces* в качестве антагонистов изолятов возбудителя фузариозного увядания томата микромицета *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Snyder and Hansen и других видов фузариума (*F. culmorum* и *F. sulphureum*), подтверждают выявленную закономерность.

Таким образом, скрининг тестируемых штаммов почвенного актиномицета р. *Streptomyces* на предмет их антиботритиозной активности позволил дифференцировать штаммы на: подавляющие и замедляющие развитие возбудителя серой гнили томата. Установлено, что штаммы 17с и 84 оказали наибольшее (более 60 %) ингибирующее воздействие на фитопатогенный микромицет *B. cinerea*. Это открывает возможность применения их в качестве антагонистов для микромицета *B. cinerea*.

Библиографические ссылки

1. Поликсенова В.Д. Микозы томата: возбудители заболеваний, устойчивость растений. Минск: БГУ, 2008. 159 с.
2. Коновалов Ю.Б. Селекция растений на устойчивость к болезням и вредителям. М: Высшая школа, 1999. С. 11–13.
3. Tarkka M., Hampp R. Secondary Metabolites of Soil Streptomycetes in Biotic Interaction // Secondary Metabolites in Soil Ecology / Ed. P. Karlovsky. Soil biology 14. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2008. P. 107–126.
4. Зенова, Г.М. Почвенные актиномицеты. М.: МГУ, 1992. 81 с.
5. Hoster F., Schmitz J., Daniel R. Enrichment of chitinolytic microorganisms: isolation and characterization of a chitinase exhibiting antifungal activity against phytopathogenic fungi from a novel *Streptomyces* strain // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2005. V. 66. P. 434–442.
6. Chater K.F., Biro S., Lee K.J., Painer T., Schrempf H. The complex extracellular biology of streptomycetes // FEMS Microbiol. rev. 2010. V. 34. P. 171–198.

7. Способность задерживать рост фитопатогенных грибов у стрептомицетов почв Молдовы / Бурцева С.А. [и др.] // Современная микология в России. Ред.: Ю.Т. Дьяков, Ю.В. Сергеев. М.: Нац. акад. микол. 2017. Т. 7. С. 20–22.
8. Виноградова, К.А. Анализ межпопуляционных взаимодействий почвенных грибов и актиномицетов // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39, вып. 3. С. 28–40.
9. Домрачева Л.И., Широких И.Г., Фокина А.И. Анализ межпопуляционных взаимодействий почвенных грибов и актиномицетов // Микология и фитопатология. 2009. Т.43, вып. 2. С. 157–165.
10. Раткевич Е.Б., Сидорова С.Г. Антифунгальная активность грибов рода *Trichoderma* Pers.: Фг. и актиномицетов в отношении возбудителя фузариоза томата // Тезисы докладов II Международной научно-практической конференции «Клеточная биология и биотехнология растений». (Минск, 28-31 мая, 2018 г.). – Мн.: Издательский центр БГУ, 2018. С 173–174.
11. Сидорова С.Г. Антифунгальная активность актиномицетов в отношении возбудителя фузариоза томата // Журнал Белорусского государственного университета. Биология, 2019, №3. С. 21–32.
12. Сидорова С.Г. Фитопатогенные грибы рода *Fusarium* Link.: взаимоотношения с актиномицетами рода *Streptomyces* // Биотехнология микроорганизмов. Материалы Международной научно-практической конференции, посвящённой проф. Ю.К. Фомичёву (1929-2015). (Минск, 27-29 ноября 2019 г.). – Мн.: Экоперспектива, 2019. С. 198–201.
13. Сидорова С.Г. Антифунгальная активность почвенных актиномицетов в отношении микромицетов рода *Fusarium* Link // Овощеводство (сборник научных трудов), 2019. Т. 27. С. 144–152.
14. Широких И.Г. Антифунгальный потенциал актиномицетов в ризосфере ячменя на дерново-подзолистых почвах // Почвоведение. 2003. №4. С. 458–464.
15. Широких И.Г., Мерзаева О.А. Комплекс актиномицетов в ризосфере озимой ржи на дерново-подзолистой почве // Микробиология. 2005. Т. 74. №2. С. 458–464.
16. Широких И.Г., Мерзаева О.А. Биологическая активность *Streptomyces hygroscopicus* против фитопатогенного гриба *Fusarium avenaceum* в ризосфере // Микология и фитопатология. 2008. Т. 42, вып.6. С. 586–591.
17. Влияние штамма *Streptomyces hygroscopicus* А-4 на комплекс микромицетов – патогенов яровой мягкой пшеницы / Широких И.Г. [и др.] // Микология и фитопатология. 2013. Т 47, вып. 6. С. 410–416.
18. Поликсенова В.Д. Методические указания к занятиям спецпрактикума по разделу «Микология. Методы экспериментального изучения микроскопических грибов» / Сост. В.Д. Поликсенова, А.К. Храмцов, С.Г. Пискун. Мн.: БГУ, 2004. 36с.
19. Струнникова О.К., Шахнозаров В.Ю., Вишневская Н.А. Развитие и взаимоотношение фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* и антагонистической бактерии *Pseudomonas fluorescens* в почве, ризосфере и на корнях ячменя // Фитосанитарное оздоровление экосистем: Матер. II Всерос. съезда по защите растений (Санкт-Петербург, 10 декабря 2005). Спб., 2005. Т. 2. С.193–194.