

УДК 579.264

## ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРА АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БАЦИЛЛЯРНОГО КОНСОРЦИУМА ИЗ НОВОГО ОПЫТНОГО БИОПРЕПАРАТА

*А.В. Малкова*

*ИЦ «Промбиотех», Алтайский государственный университет,  
Барнаул, Российская Федерация*

В работе представлены сведения по оценке антагонистического действия микробной композиции на основе 3-х штаммов *Bacillus pumilus* из состава нового биопрепарата для растениеводства по отношению к фитопатогенным микромицетам. Антифунгальное действие бациллярного консорциума определяли методами параллельных штрихов и колодцев. В результате проведенных исследований установили антимикотическое действие бактериальной композиции из опытного препарата по отношению к 82 % исследуемых тест-культур (9 из 11 штаммов) – *Fusarium solani*, *Pythium sp.*, *Alternaria solani*, *F. graminearum*, *A. tenuissima*, *Penicillium sp. 1*, *Botrytis sp.*, *Penicillium sp. 2* и *A. brassicae*.

**Ключевые слова:** антифунгальная активность, антагонизм, *Bacillus*, биопрепарат, микромицеты.

## STUDY OF THE SPECTRUM OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF BACILLARY CONSORTIUM FROM A NEW EXPERIMENTAL BIOPREPARATION

*A.V. Malkova*

*Prombiotech Engineering Center, Altai State University, Barnaul, Russian Federation*

The paper presents data on the evaluation of antagonistic effect of microbial composition based on 3 strains of *Bacillus pumilus* from the composition of a new biopreparation for crop production in relation to phytopathogenic micromycetes. The antifungal effect of the bacillary consortium was determined by parallel stroke and well methods. As a result of the conducted studies, the antimycotic effect of the bacillary composition from the experimental preparation was established against 82 % of the tested test cultures (9 out of 11 strains) - *Fusarium solani*, *Pythium sp.*, *Alternaria solani*, *F. graminearum*, *A. tenuissima*, *Penicillium sp. 1*, *Botrytis sp.*, *Penicillium sp. 2* and *A. brassicae*.

**Keywords:** antifungal activity, antagonism, *Bacillus*, biopreparation, micromycetes.

### Введение.

Инфекционные болезни растений наносят огромный ущерб агропромышленному комплексу Российской Федерации. В годы эпифитотий потери урожая от микробных заболеваний могут составлять более 50 %. Возбудители болезней растений в основном распространяются через почву и с семенным материалом. А заражение семян может произойти как при хранении, так и в ходе вегетации или уборки урожая [3, 5].

В зависимости от инфектанта болезни растений подразделяются на грибные (микозы), бактериальные (бактериозы) и вирусные (вириозы). При этом зафиксировано, что более 80 % инфекционных заболеваний растений по своей природе являются грибковыми. Основными возбудителями микозов являются грибы родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Penicillium*, *Aspergillus* и пр. [8, 10, 11].

Для защиты растений от болезней разработан целый ряд мероприятий, который включает агротехнические, химические, карантинные и прочие меры для профилактики и борьбы с распространением инфекций. И в последние годы в сельском хозяйстве активно внедряются биологические методы защиты растений, в частности связанные с применением микробных препаратов [1, 9].

В отечественных и зарубежных исследованиях многократно подтверждены экологическая безопасность и эффективность биопрепаратов при борьбе с возбудителями инфекционных заболеваний растений. Основные механизмы действия микробных препаратов связаны с антагонистической активностью бактерий или микромицетов из их состава по отношению к фитопатогенным микроорганизмам, а также способностью увеличивать устойчивость растений к возбудителям инфекций [2, 7].

Цель работы – изучить спектр антимикотической активности бациллярного консорциума из нового опытного биопрепарата для предпосевной обработки семян.

#### **Материалы и методы.**

В качестве объекта исследования использовали опытный биопрепарат «Фитопумилин» (каталожный лист продукции № 080.007967) для предпосевной обработки семян, содержащий в своей основе микробную композицию на основе 3-х ризосферных штаммов бацилл: *B. pumilus* RCAM05516, *B. pumilus* RCAM05517 и *B. pumilus* ВКПМ В-13250 (Патент РФ № 2797825, Патент РФ № 2797699, Патент РФ № 2694522). Тест-культуры были предоставлены Всероссийским научно-исследовательским институтом сельскохозяйственной микробиологии в количестве 11 штаммов фитопатогенных микромицетов: *F. solani*, *Pythium sp.*, *A. niger*, *A. solani*, *F. graminearum*, *A. tenuissima*, *Penicillium sp. 1*, *F. sporotrichioides*, *Botrytis sp.*, *Penicillium sp. 2* и *A. brassicae*.

Антагонистическое действие бациллярного консорциума устанавливали методами параллельных штрихов [6] и колодцев [4]. Предварительно готовили 1 %-ный рабочий раствор биопрепарата из лиофилизированного концентрата бактерий с титром не менее  $1 \times 10^{11}$  КОЕ/г и стерильной дистиллированной воды. Оба эксперимента проводили с использованием питательной среды PDA (Potato Dextrose Agar, картофельно-декстрозный агар).

В случае с методом параллельных штрихов в центре чашки с агаризованной средой устанавливали блок с тест-культурой. Далее на расстоянии 2–3 см от центра проводили 2 вертикальных штриха бацилл из рабочего раствора биопрепарата. При постановке метода колодцев микромицеты глубинно засеивали в толще среды. После застывания агара в опытных чашках при помощи микробиологического пробойника делали колодцы и вносили в них по 100 мкл рабочего раствора опытного биопрепарата. В качестве контроля использовали чашки, в которые засеивали только блоки или газоны микроскопических грибов. Экспериментальные чашки культивировали в течение 10–14 суток при 25 °С с периодическим отслеживанием особенностей роста микроорганизмов в опыте и контроле.

Результаты с применением метода колодцев выражали в зонах подавления роста микромицетов (мм). В случае с методом параллельных штрихов результаты выражали через показатель подавления роста микромицетов  $A$  (%), определяемый по формуле (1):

$$A = \frac{Sk - So}{Sk} \times 100 \%, \quad (1)$$

где  $Sk$  – площадь мицелия микромицета в контроле;

$So$  – площадь мицелия микромицета в опыте.

#### **Результаты и обсуждение.**

В связи с особенностями роста мицелия исследуемых микромицетов антагонизм бактериальной композиции из нового опытного биопрепарата методом колодцев устанавливали по отношению к штаммам *F. solani*, *Pythium sp.*, *A. niger*, *A. solani*, *F. graminearum*, *A. tenuissima*, *Penicillium sp. 1* и *F. sporotrichioides*. А методом параллельных штрихов – по отношению к штаммам *Botrytis sp.*, *Pythium sp.*, *Penicillium sp. 2*, *F. graminearum* и *A. brassicae*. Численные результаты представлены на рисунках 1 и 2.

Для опытного биопрепарата зафиксировали антимикотическую активность почти ко всем исследованным штаммам грибов (кроме *A. niger* и *F. sporotrichioides*). При этом этот эффект проявился по-разному – в виде образования зон отсутствия роста микромицетов (*F. solani*, *A. solani*, *F. graminearum*, *A. tenuissima*, *Penicillium sp. 1*), уменьшения размера их колоний (*Botrytis sp.*, *Pythium sp.*, *A. brassicae*), снижения интенсивности окраски грибов (*Penicillium sp. 2*).

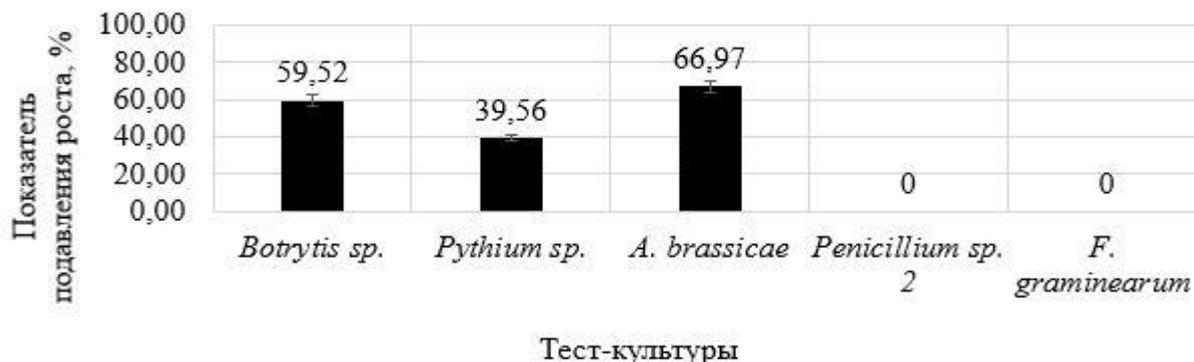


Рис. 1. Антимикотическая активность опытного биопрепарата, установленная методом параллельных штрихов

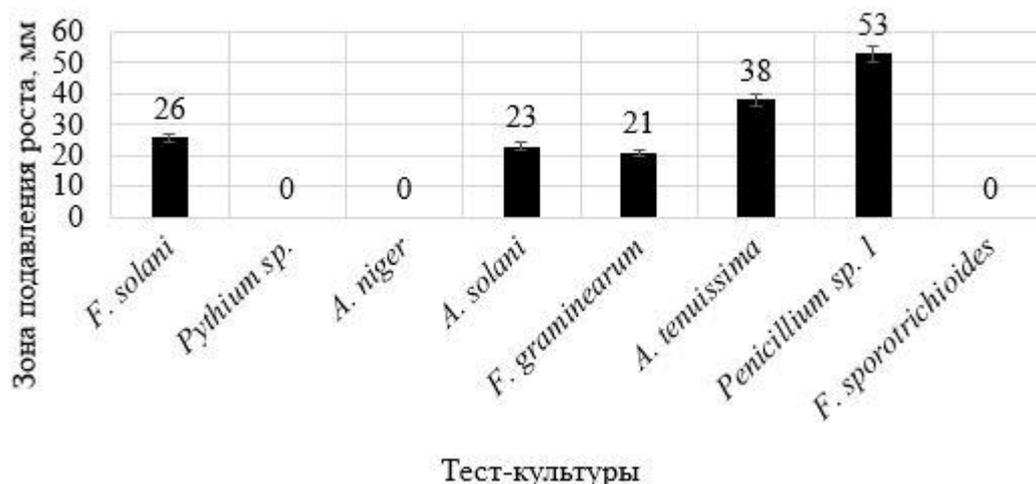


Рис. 2. Антимикотическая активность опытного биопрепарата, установленная методом колодцев

Методом колодцев для прототипа препарата зафиксировали самый сильный антагонистический эффект по отношению к *Penicillium sp. 1* (зона подавления роста микромицета – 53 мм в среднем), а методом параллельных штрихов – по отношению к *A. brassicae* (показатель подавления роста микромицета – почти 67 %).

Кроме того, в опытных чашках с *A. brassicae* отметили изменение окраски штрихов бактерий в непосредственной близости с микромицетом – с бело-кремовой на желтую (рис. 3), что вероятно связано с продукцией антифунгальных или защитных соединений.

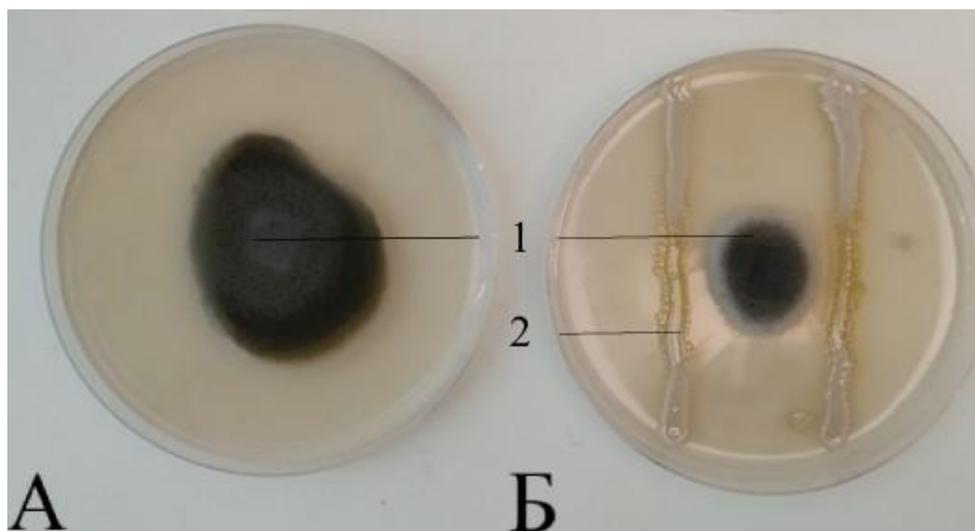


Рис. 3. Экспериментальные чашки с *A. brassicae* через 14 суток культивирования:  
А – контрольная, Б – опытная: 1 – микромицет, 2 – штрих бацилл

Со штаммами *Pythium sp.* и *F. graminearum* зафиксировали антагонистическое действие бацилл из нового биопрепарата только при использовании одного метода. Что подтверждает необходимость в использовании различных техник и штаммов тест-культур при определении спектра антагонистической активности микроорганизмов.

#### **Заключение.**

Таким образом, разработанный поликомпонентный биопрепарат на основе бактерий рода *Bacillus* обладает достаточно широким спектром антагонистической активности по отношению к фитопатогенным микромицетам. В рамках данного исследования выявили антимицотическое действие бациллярного консорциума из нового опытного препарата против 82 % исследуемых тест-культур (9 из 11 штаммов) – *Penicillium spp.* (2 штамма), *Alternaria spp.* (3 штамма), *Fusarium spp.* (2 штамма), *Pythium sp.* и *Botrytis sp.* Однако для составления более полной картины о возможной эффективности исследуемого биопрепарата необходимы дальнейшие исследования.

#### **Библиографический список**

1. Дорохов А.С., Старостин И.А., Ещин А.В. Перспективы развития методов и технических средств защиты сельскохозяйственных растений // *Агроинженерия*. – 2021. – № 1 (101). – С. 26–35.
2. Минаева О.М., Акимова Е.Е., Зюбанова Т.И., Терещенко Н.Н. Биопрепараты для защиты растений: оценка качества и эффективности. – Томск: Издательство ТГУ. – 2018. – 130 с.
3. Сокирко В.П., Горьковенко В.С., Зазимко М.И. Фитопатогенные грибы (морфология и систематика). – Краснодар: Издательство КГАУ. – 2014. – 178 с.
4. Чеботарь В.К., Ерофеев С.В., Щербаков А.В., Чижевская Е.П. Патент 2551968 Российская Федерация МПК51 С 12 N 1/20, С 12 R 1/07. Штамм бактерий *Bacillus pumilus* А 1.5, в качестве средства повышения продуктивности растений и их защиты от болезней, вызываемых фитопатогенными микроорганизмами. – 2015. – Бюл. № 16. – 12 с.
5. Черткова В.В. Болезни, передающиеся семенами яровой пшеницы в зауралье // Сборник статей по материалам XIII всероссийской (национальной) научно-практической конференции молодых ученых «Развитие научной, творческой и инновационной деятельности молодежи». – Курган. – 2021. – С. 114–117.
6. Anith K.N., Nysanth N.S., Natarajan C. Novel and rapid agar plate methods for in vitro assessment of bacterial biocontrol isolates' antagonism against multiple fungal phytopathogens // *Letters in Applied Microbiology*. – 2021. – Vol. 73. – Is. 2. – P. 229–236. doi:10.1111/lam.13495

7. Caulier S., Gillis A., Colau G., Licciardi F., Liepin M., Desoignies N., Modrie P., Legreve A., Mahillon J., Bragard C. Versatile Antagonistic Activities of Soil-Borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and Other Potato Pathogens // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. 9. – Ar. 143.
8. Johnston-Monje D., Gutierrez J.P., Lopez-Lavalle L.A.B. Seed-Transmitted Bacteria and Fungi Dominate Juvenile Plant Microbiomes // *Frontiers in Microbiology*. – 2021. – Vol. 12. – Ar. 737616.
9. Maciag T., Koziel E., Rusin P., Otulak-Koziel K., Jafra S., Czajkowski R. Microbial Consortia for Plant Protection against Diseases: More than the Sum of Its Parts // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – Is. 15. – Ar. 12227. doi: 10.3390/ijms241512227
10. Tkalec V., Mahnic A., Gselman P., Rupnik M. Analysis of seed-associated bacteria and fungi on staple crops using the cultivation and metagenomic approaches // *Folia Microbiologica*. – 2022. – Vol. 67. – P. 351–361.
11. Zhang N.A., Yang G., Pan Y., Yang X., Chen L., Zhao C. Review of Advanced Technologies and Development for Hyperspectral-Based Plant Disease Detection in the Past Three Decades // *Remote Sensing*. – 2020. – Vol. 12, N 19. – Ar. 3188.