

УДК 632.9:635.342

ВОЗДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОАГЕНТОВ
И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА ВОЗБУДИТЕЛЯ КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ
ОГУРЦА *FUSARIUM OXYSPORUM*

И.В. КОРСАК, Н.Н. СЕНАТОРОВА, М.А. СМОРОДИНОВА, А.В. ПОНОМАРЕВ

(Кафедра фитопатологии РГАУ - МСХА имени КА. Тимирязева)

Оценена антагонистическая активность биоагентов по отношению к возбудителям корневой гнили огурца. Рассмотрена возможность их совместного применения с регуляторами эпином экстра и цирконом.

Ключевые слова: биоагенты, штаммы, изоляты, антагонизм, регуляторы роста, циркон, эпин экстра.

Выращивание огурца в теплицах сопряжено с развитием самых разных заболеваний, среди которых наиболее вредоносными являются корневые гнили, вызываемые фитопатогенными грибами, в т.н. представителями рода *Fusarium* [1]. Они относятся к факультативным паразитам и поражают в первую очередь ослабленные из-за нарушения агротехники и режима выращивания растения. Патогены сначала заселяют погибшие участки корней как сапротрофы, затем переходят к паразитированию на здоровых тканях [1].

Для борьбы с этим заболеванием следует выполнять комплекс защитных мероприятий, в который входит и использование фунгицидов. Применение химических препаратов в защищенном грунте ограничено. Большое значение имеет поиск и внедрение в производство биологических средств защиты. Одними из перспективных объектов в этой области являются бактерии-антагонисты родов *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Serratia* [2,

7, 8]. Кроме того, при выращивании культур часто используют регуляторы роста, которые основаны на биологических гормонах, оказывающих ростостимулирующее действие на растения. Они также способствуют повышению устойчивости к болезням и увеличению урожайности культур.

В последнее время все чаще рассматривается возможность совместного использования биологических препаратов и регуляторов роста. Фунгицидное и иммуностимулирующее действие при таком сочетании может оказать положительное влияние на физиологическое состояние растений и в то же время способствовать повышению их устойчивости к болезням. Одновременно будет сдерживаться развитие патогенной микрофлоры. Такой способ может служить основой для усовершенствования приемов защиты огурца закрытого грунта от корневых гнилей. Это новое направление является весьма перспективным в защите растений [3].

Цель исследования: оценить влияние бактерий-антагонистов, регуля-

торов роста и их совместного применения на возбудителей корневых гнилей огурца в чистой культуре.

Материалы и методы

В 2007-2010 гг. на кафедре фитопатологии РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева были проведены исследования, направленные на выявление бактериальных биоагентов, обладающих высокой антагонистической активностью по отношению к возбудителям корневых гнилей тепличного огурца — грибам рода *Fusarium*.

В опытах были использованы: коллекция штаммов и изолятов бактерий-антагонистов родов *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Serratia*, регуляторы роста циркон и эпин экстра. Культуры биоагентов и патогенов поддерживали на искусственных питательных средах (ИПС): картофельно-глюкозный агар (КГА), Кинг Б и картофельный агар бактериальный (КА₆).

Возбудителей корневых гнилей — грибы рода *Fusarium* — выделяли с корней огурца и из почвы, идентифицировали общепринятыми в фитопатологии методами и переносили на соответствующую ИПС.

Взаимоотношения между патогенами и антагонистами испытывали *in vitro* методом одновременного посева и отсроченного антагонизма в чашках Петри на ИПС с добавлением и без добавления регулятора (циркон и

эпин экстра). В каждом варианте было по 5 повторностей.

Конкурентную способность антагонистов оценивали по скорости роста на питательной среде в чистой культуре, антибиотическую активность — в двойной культуре с патогенным грибом. Метод двойных культур заключается в том, что антагонист и патоген высевают в чашки Петри с агаризованной средой одновременно или спустя время (одновременный и отсроченный антагонизм) [2]. Засеянные чашки инкубировали при 25~27°C.

Радиус колоний патогенов и антагонистов определяли начиная с 3-го дня после посева. Было проведено 3 серии опытов, в каждом варианте — по 3 повторности. По аналогичной схеме проводили опыты с добавлением в питательные среды регуляторов роста растений в рекомендованной концентрации (циркон — 1,25 мл/100 мл ИПС; эпин экстра — 0,025 мл/100 мл ИПС). Полученные данные были математически обработаны.

Результаты

При оценке антагонистической активности бактериальных биоагентов в чистой культуре на искусственной питательной среде (ИПС) по отношению к возбудителям корневых гнилей — грибам рода *Fusarium* использовали методы одновременного посе-

Схема опыта

Вариант	КГА (без регуляторов)	Регуляторы (0,125 мл/л)	
		циркон	эпин экстра
Патоген — <i>Fusarium oxysporum</i> изолят FO-12	+	+	+
<i>Бактерии-антагонисты</i>			
<i>Pseudomonas fluorescens</i> шт. AP33 (эталон)	+	+	+
<i>Pseudomonas</i> sp. изолят PX ₂	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i> изолят З(11)	+	+	+
<i>Serratia marcescens</i> изолят Sb 1	+	+	+

Примечание. + совместное применение бактериальных биоагентов и регуляторов роста.

ва и отсроченного антагонизма. Полученные данные представлены на рисунках 1 и 2.

При совместном культивировании (см. рис. 1) на ИПС картофельный агар бактериальный (КА₆) па-

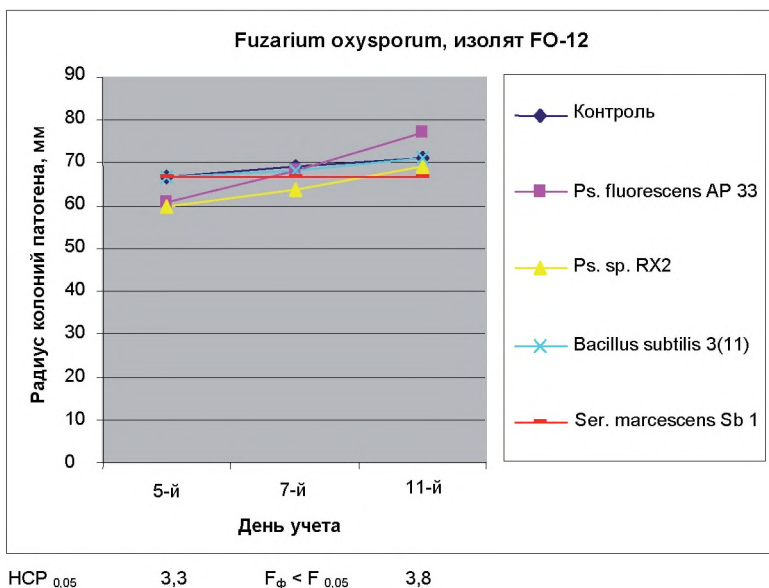


Рис. 1. Влияние биоагентов на рост колоний патогенного фузариума при одновременном посеве (мм; каф. фитопатологии, 2007-2009 гг.)

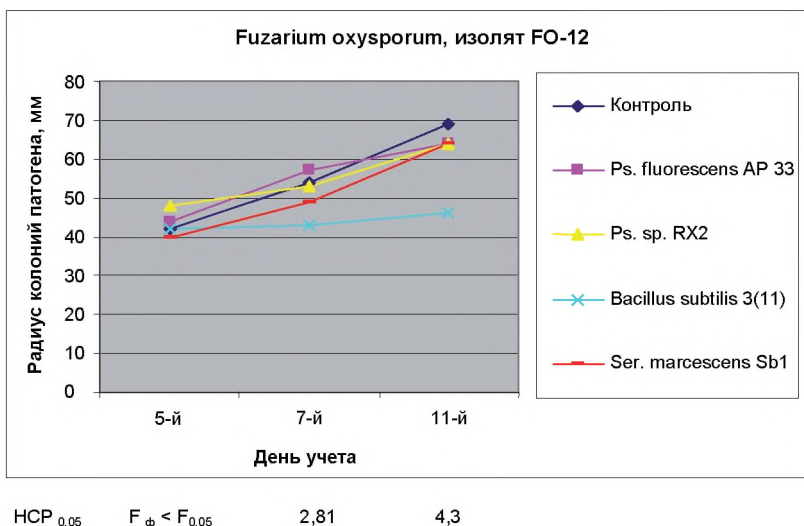


Рис. 2. Влияние биоагентов на рост колоний патогенного фузариума при отсроченном антагонизме (мм; каф. фитопатологии, 2007-2009 гг.)

тогенного фузариума и бактерий-антагонистов было установлено, что *Serratia marcescens* (изолят Sb 1) на протяжении всех проводимых наблюдений удерживала рост колоний патогена на одном уровне. Остальные биоагенты не оказывали сдерживающего воздействия на фузариум.

При отсроченном антагонизме лучше всего рост и развитие колоний патогена сдерживал биоагент *Bacillus subtilis* изолят 3(11). Размер колонии фузариума в данном варианте в разные дни учета составлял 42-47 мм, размер стерильной зоны — от 7 до 12 мм. При осуществлении дальнейших наблюдений (в течение 3 недель) отмечалась гибель более 80% мицелия колонии патогена. Остальные бактерии-антагонисты, в т.ч. и *Serratia marcescens* (изолят Sb 1), в данном случае не сдерживали рост фузариума. Тем не менее в этих вариантах было отмечено значительное осветление цвета колонии патогена: от насыщенно-розового к практически белому. Кроме того, снижалось спороношение фузариума, а на границе с посевом бактерий-антагонистов конидии обнаружены не были. Фузариум, выделенный с этих участков в чистую культуру, прошел проверку на патогенность, т.е. был создан искусственный инфекционный фон: на 1 кг стерильного субстрата вносили 1/2 чашки Петри 10-дневной культуры патогена. Через трое суток высевали семена огурца. Определяли всхожесть семян, количество погибших растений. В контроле (изолят фузариума FO-12) всхожесть была 62-70%, на 25-й день после посева погибло более 90% растений. В вариантах с изолятами фузариума FO-12, выделенными из чашек с бактериями-антагонистами, отмечалось значительное снижение паразитических свойств патогена: всхожесть семян была практически такой же, как в контроле (без патогена) и составляла 89-96%, количество погибших расте-

ний — 12,3-26,5%, что в 3,4-7,3 раза меньше, чем у исходного изолята. Таким образом, все бактериальные биоагенты по-своему проявили антагонистические свойства и были отобраны для дальнейшей работы.

В условиях защищенного грунта все чаще применяются регуляторы роста, обладающие антистрессовым и иммуномодулирующим действием, для повышения устойчивости с.-х. культур к болезням и неблагоприятным факторам окружающей среды. Возможно, совместное применение биопрепаратов с регуляторами роста приведет к положительным результатам: растение будет защищено от болезней и в то же время его рост и развитие не будут угнетены, что положительно скажется на урожайности культур.

Для изучения воздействия регуляторов роста на биоагентов и патогена *in vitro* был поставлен ряд опытов. На рисунке 3 показано влияние регуляторов циркона и эпина экстра на рост колоний фузариума и антагонистов. Для данного определения был проведен посев фузариума и антагонистов штрихом. Начиная с 3-го дня измеряли ширину штриха. Приведены данные, полученные на 11-й день учета.

Циркон и эпин экстра способствовали снижению скорости роста колонии патогенного фузариума, соответственно на 22,7 и 27,9% по сравнению с контролем (без регуляторов). На бактерии-антагонисты *Pseudomonas fluorescens* штамм AP33 (эталон) и *Serratia marcescens* изолят Sb 1 регуляторы оказывали ростостимулирующее действие: соответственно 134,2 и 39,4%; 62,5 и 95,8%. Радиус колоний *Pseudomonas* sp. изолят PX., во всех вариантах практически не отличался от контроля (без регуляторов). На *Bacillus subtilis* изолят 3(11) циркон оказывал подавляющее действие — 48,2%, эпин экстра — стимулирующее — 32,8%. Таким образом, наблюдается различное воздействие регуля-

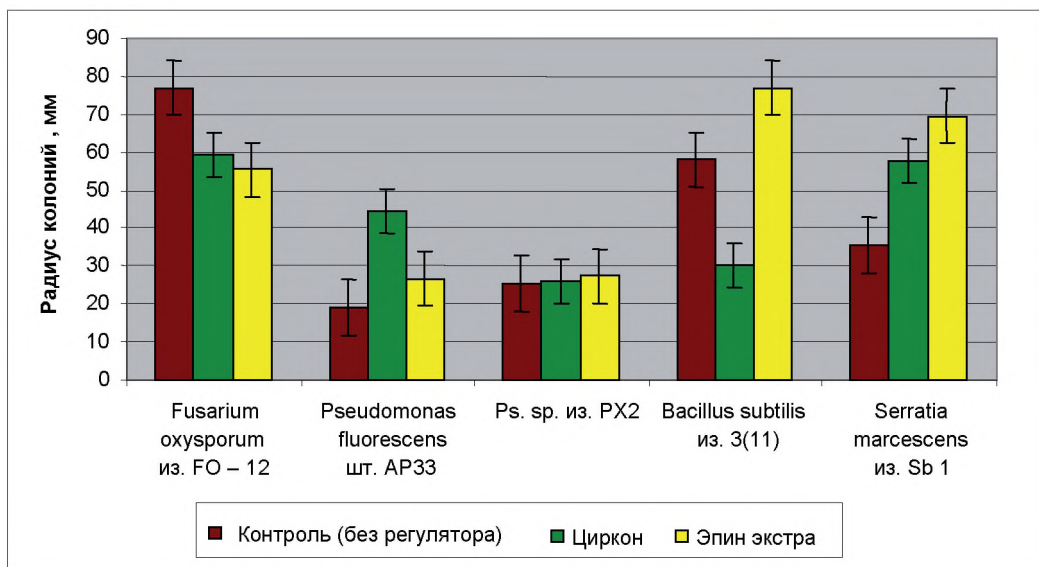


Рис. 3. Влияние регуляторов циркона и эпина экстра на рост колоний фузариума и антагонистов (11-й день учета; радиус колонии, мм; каф. фитопатологии, 2008-2009 гг.)

торов роста на изучаемые микроорганизмы.

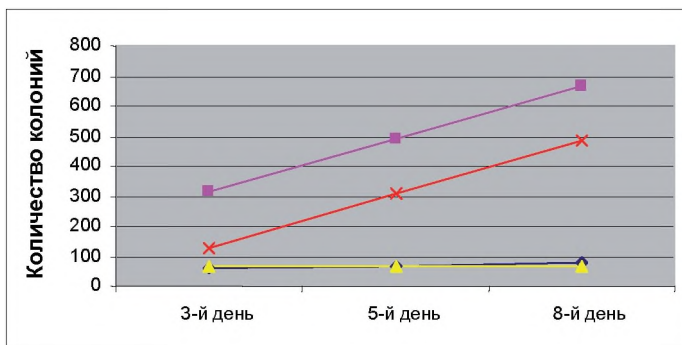
В опытах по определению воздействия циркона и эпина экстра на количество колоний бактериальных биоагентов в пробирках на соответствующей ИПС выращивали культуры бактерий в течение 48 ч. Затем готовили смыв, проводили последовательные разведения бактериальных суспензий и посев в чашки Петри на КА₆ по 0,1 мл из 8, 9 и 10-го разведений. Чашки инкубировали при температуре 28–30°C. Подсчитывали количество колоний. В каждом варианте было по 5 повторностей. Полученные результаты показаны на рисунке 4.

Введение в питательную среду регуляторов роста циркон и эпин экстра способствовало изменению количества колоний бактерий-антагонистов. В вариантах с *Pseudomonas fluorescens* шт. AP33 (эталон) и *Bacillus subtilis* изолит 3(11) отмечалось снижение числа колоний по отношению к кон-

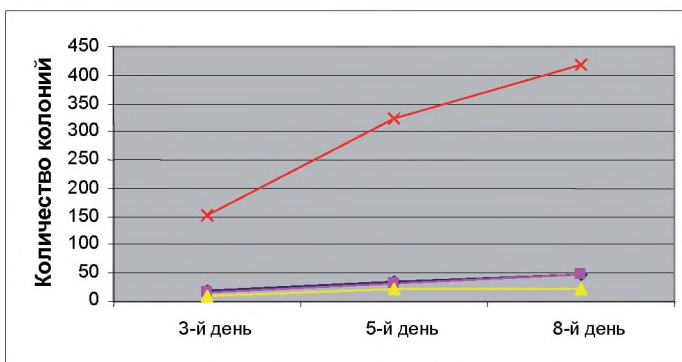
тролю (без стимуляторов): в разные дни учета соответственно 42,3-64,8% и 10,9-15%, 68-85,5% и 63,5-66,3%. В варианте с *Pseudomonas sp.* изолит PX_2 было самое сильное воздействие регуляторов: количество колоний по сравнению с контролем снизилось на 91-92,7% и в том, и в другом случае. На бактерии-антагонисты *Serratia marcescens* изолит *Sb 1* циркон и эпин экстра в разные дни учета оказывали слабое ростостимулирующее действие— 4,2-16,3%.

Таким образом, регуляторы роста циркон и эпин экстра стимулируют рост колоний исследуемых антагонистов и в то же время способствуют некоторому снижению количества колоний большинства бактериальных биоагентов.

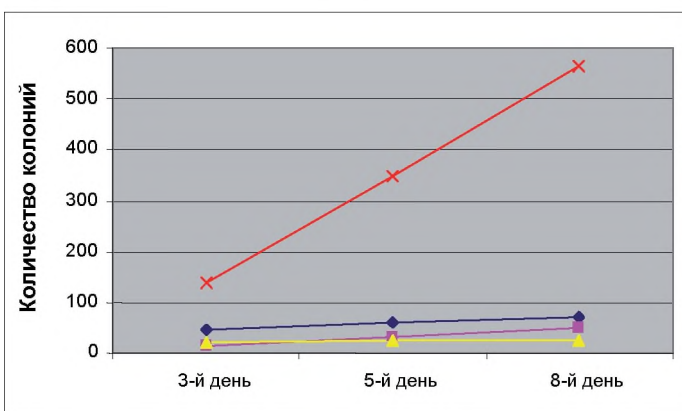
Данные о изучении влияния регуляторов циркона и эпина экстра на антагонистическую активность испытуемых биоагентов представлены на рисунке 5.



а



б



в

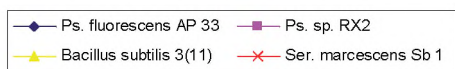
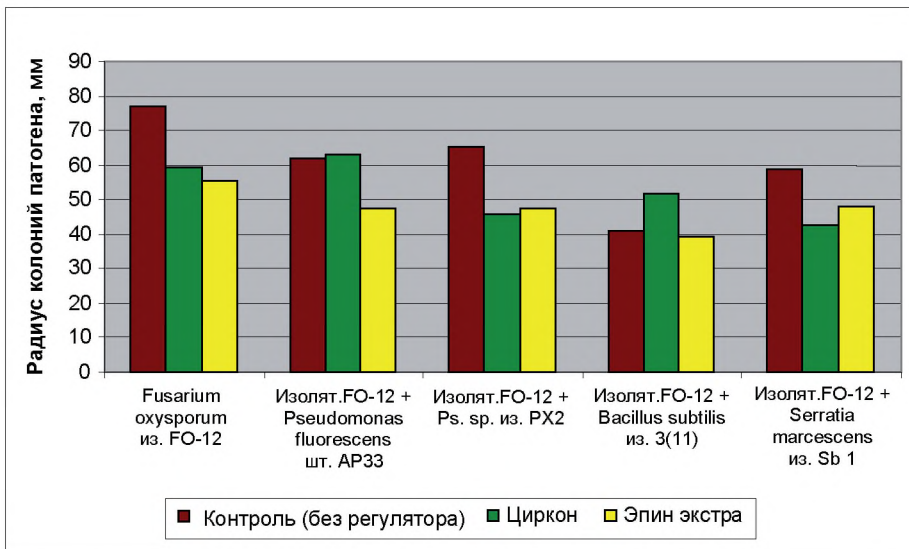


Рис. 4. Количество колоний бактерий-антагонистов в разные дни учета: а — без регуляторов (контроль); б — регулятор роста циркон; в — регулятор роста эпин экстра (шт., ИПС КА₆ с добавлением и без добавления регуляторов роста; 2008-2010 гг.)



$HCP_{0,05}$ (ч. разл.) — 4,24; $HCP_{0,05}$ (Ф-Р В) — 1,89; $HCP_{0,05}$ (Ф-Р А) — 2,45; $HCP_{0,05}$ (Ф-ры АВ) — 2,45. (фактор А — регуляторы; фактор В — биоагенты)

Рис. 5. Совместное влияние регуляторов и биоагентов на рост колоний фузариума (радиус колонии, мм; каф. фитопатологии, 2009-2010 гг.)

В вариантах на ИПС с добавлением и без добавления регуляторов все бактериальные биоагенты в большей или меньшей степени проявили свои антагонистические свойства по отношению к патогенному фузариуму. Наилучшие результаты были получены в вариантах с использованием *Bacillus subtilis* изолят 3 (11), в которых подавление патогена по сравнению с контролем составило 42,0-48,7%.

Таким образом, согласно полученным данным, возможно совместное применение регуляторов циркона и эпина экстра с биоагентами против патогенного фузариума и эта работа будет продолжена в условиях производственного опыта.

Выводы

1. Биоагент *Serratia marcescens* (изолят Sb 1) сдерживал рост колоний фузариума при совместном культивировании, а при отсроченном антагонизме — *Bacillus subtilis* изолят 3(11): размер

колонии фузариума в разные дни учета составлял 42-47 мм, стерильной зоны — от 7 до 12 мм и в последующие 3 недели отмечалась гибель более 80% колонии патогена.

2. *Pseudomonas fluorescens* штамм AP33 (эталон), *Ps. sp.* изолят PX₂ и *Serratia marcescens* изолят Sb 1 при отсроченном антагонизме не сдерживали рост колонии фузариума, но способствовали снижению его агрессивности по отношению к растениям огурца в 3,4-7,3 раза.

3. Регуляторы роста циркон и эпин экстра сдерживали рост колонии патогенного фузариума на 22,7 и 27,9% по сравнению с контролем (без регуляторов). На рост колоний бактерий-антагонистов *Pseudomonas fluorescens* штамм AP33 (эталон) и *Serratia marcescens* изолят Sb 1 оказывали ростостимулирующее действие: 134,2 и 39,4%; 62,5 и 95,8% соответственно. В варианте с *Pseudomonas sp.* изолят PX₂ снижение количества колоний по сравнению с контролем составило 91-92,7%.

На остальных биоагентов влияние было незначительным.

4. Совместное применение *Bacillus subtilis* изолят 3 (11) с регуляторами

роста способствовало подавлению роста колоний патогенного фузариума на 42,0-48,7%, что значительно выше, чем в других вариантах.

Библиографический список

1. Ахатов А.К., Джалилов Ф.С., Белошапкина О.О., Стройков Ю.М., Чижов В.Н., Трусевич А.В. Защита овощных культур и картофеля от болезней. М., 2006. С. 45-60, 70-114.
2. Корсак И.В. Применение биологических препаратов против корневых гнилей огурца. М.: ТСХА, 2002.
3. Кульнев А.И., Соколова Е.А. Многоцелевые стимуляторы защитных реакций, роста и развития растений. Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1997. С. 10-35, 67—78, 82-90.
4. Рекомендации по применению средств биологического происхождения в системе защиты плодово-ягодных, овощных культур и картофеля от вредителей и возбудителей болезней / Под ред. Борисова Б.А. М., 2001.
5. Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. Справочное издание, 2009.
6. Штерншис М.В., Джалилов Ф.С., Андреева И.В., Томилова О.Г. Биологическая защита. М.: КолосС, 2004. С. 181-188, 192-198, 238-244.
7. Hammerschmidt R., Kuc J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber // *Physiological Plant Pathology*, 1982. V. 20 P. 61-71.
8. Howell C.R. // *Phytopathology*, 1987. № 7. P. 77.
9. Stein B.D. *et al.* Histochemistry and ultrastructure of the induced resistance response of cucumber//*Journal of Phytopathology*, 1993. V. 137. P. 177-188.

Рецензент — к. с.-х. н. Г.Ф. Монахос

SUMMARY

Bio-agents' antagonistic activity towards cucumber root rot causative agents has been evaluated. Possibility of their combined application with regulators: Epin Extra and Zircon is considered in the article.

Key words: bio-agents, strains, isolates, antagonism, growth regulators, Epin Extra, Zircon.

Корсак Ирина Владимировна — к. б. н. Тел. (499) 976-03-78.

Сенаторова Наталья Николаевна — асп. каф. защиты растений РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева. Тел. 8(495) 580-53-20.

Смординова Мария Алексеевна — магистр кафедры фитопатологии РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева.

Пономарев Алексей Владимирович — студент 3 — 51 — ЗР РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева.