

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Известия ТСХА, выпуск 3, 2010 год

УДК 632.9:635.342

### ИСПЫТАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ ОГУРЦА В ЗАЩИЩЕННОМ ГРУНТЕ

И.В. КОРСАК, Н.Н. СЕНАТОРОВА

(Кафедра фитопатологии РГАУ - МСХА имени КА. Тимирязева)

**Проведена оценка антагонистической активности биоагентов по отношению к возбудителям корневых гнилей огурца. Установлены наиболее эффективные штаммы и изоляты триходермы. Получены данные по их ростостимулирующему действию на растения. Производственные опыты подтверждают полученные результаты.**

*Ключевые слова:* антагонисты, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, биоагенты, *Trichoderma*, отсроченный антагонизм, ростостимулирующее действие.

Наиболее привлекательная альтернатива химическим пестицидам — природные агенты, регулирующие численность возбудителей болезней растений в естественных биоценозах. В последнее время наметилась тенденция возрастания роли биометода в общей системе интегрированной защиты растений. Особенность современного развития биологической защиты растений состоит в расширении сети региональных государственных биолaborаторий и коммерческих фирм, обеспечивающих производство и применение биологических средств в защите растений [14, 15].

Выращивание здоровых растений и получение высоких урожаев хорошего качества в условиях защищенного грунта, невозможно без планомерной борьбы с болезнями, в т.ч. с корневыми гнилями [6]. Важную роль в подавлении развития болезней растений играют грибы-антагонисты, большинство из которых относится к так называемым несовершенным грибам (отдел Anamorphic fungi) [2]. Они

обладают широким спектром антагонистических свойств: высокой конкурентной способностью за питательный субстрат, паразитизмом, гиперпаразитизмом, хищничеством, кроме того, они способны продуцировать антибиотики, угнетающие жизнедеятельность фитопатогенов и рядом других свойств [13, 14, 15]. Использование бактериальных биоагентов основано в большинстве случаев на механизме антибиоза, который играет главную роль в зоне ризопланы. Их использование направлено на существенные ограничения развития и снижение вредоносности популяции фитопатогенов, в первую очередь — возбудителей корневых гнилей культурных растений [4, 6, 8].

В последние годы все более перспективным становится применение грибов-антагонистов рода *Trichoderma*, бактерий родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia* и ряд других. Они давно обратили на себя внимание фитопатологов большим разнообразием антагонистических свойств [6, 7]. В данной

работе была поставлена цель изыскать микроорганизмы-антагонисты, способные подавлять развитие корневых гнилей огурца, оказывающих ростостимулирующее действие на растение и способствующих повышению урожайности и качества культуры.

### Объекты и методы

Опыты проводили на кафедре фитопатологии РГАУ - МСХА имени КА. Тимирязева, в биологической лаборатории ЗАО АФ «Косино» на гибриде огурца Fj Эстафета. Была использована коллекция штаммов и изолятов грибов рода *Trichoderma*, бактерий родов *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Serratia*. Культуры грибов поддерживали на среде КГ А, бактерий — на картофельном агаре и среде Кинг Б. Возбудители корневой гнили огурца — грибы родов *Rhizoctonia* и *Fusarium* — были выделены с корней огурца и из субстрата, идентифицированы общепринятыми в фитопатологии методами и перенесены на картофельно-глюкозный агар (КГА). Взаимоотношения между патогенами и антагонистами испытывали *in vitro* методом одновременного посева и отсроченного антагонизма в чашках Петри на КГА. Засеянные чашки инкубировали при 22~24°C. Размер колоний патогенов и антагонистов, стерильной зоны определяли начиная с 5-го дня после посева.

В вегетационных опытах сравнивали способность испытуемых биоагентов подавлять развитие корневых гнилей огурца, изучали их воздействие на рост и развитие растений. В варианте было три повторности по 10 растений в каждой.

Производственные опыты проводили в биологической лаборатории ЗАО АФ «Косино». Схема опыта включала контроль (без обработки), бактерии-антагонисты родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia* и разные штаммы и изоляты грибов рода *Trichoderma*.

Опыт проводили на естественном инфекционном фоне.

Комплексное применение биоагентов включало внесение в лунку при посеве семян и 2-кратное — под каждое растение в период вегетации (200 мл 0,5%-й суспензии). Первое внесение — через месяц после высадки на постоянное место, второе — через 2,5-3 недели после первого. Определяли энергию прорастания и всхожесть семян, биометрические показатели: количество и площадь листьев, высоту растений. Регулярно, с интервалом в 1—1,5 недели, проводили учеты распространения и развития корневых гнилей, в дальнейшем определяли урожайность культуры [6]. В каждом варианте имелось 3 повторности по 15 растений в каждой.

По общепринятым формулам рассчитывали распространенность и развитие болезни. Полученные данные обработаны дисперсионным методом при НСР<sub>05</sub>.

### Результаты исследований

Нормальный рост, развитие и состояние растений определяется в первую очередь сложными конкурентными взаимодействиями между разнообразными микроорганизмами, заселяющими семена, надземные вегетирующие органы и, разумеется, корни растений. В свою очередь, почва, пронизанная корневой системой, представляет собой сложную экологическую нишу, заселенную нейтральными, полезными и вредными для растений микроорганизмами [6, 15]. Большинство патогенов, против которых применяются грибы рода *Trichoderma*, принадлежат числу почвенных микроорганизмов. К такому относятся многочисленные возбудители корневых гнилей, в т.ч. грибы родов *Fusarium* и *Rhizoctonia* [2, 12]. Существует большое количество штаммов триходермы, среди кото-

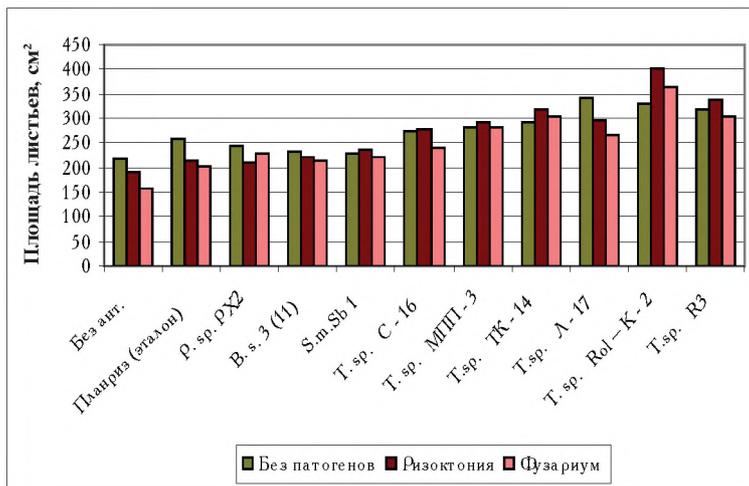
рых нам необходимо было отобрать наиболее эффективные на определенной культуре (на огурце) против конкретных возбудителей болезни (фузариума и ризиктонии). Кроме того, широкое распространение в практике получают биопрепараты на основе различных штаммов бактерий рода *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Serratia*. Была отмечена их способность выделять в окружающую среду несколько антибиотиков антигрибного и антибактериального действия. В течение нескольких лет на кафедре фитопатологии и лаборатории защиты растений РГАУ - МСХА проводили опыты по отбору и испытанию некоторых штаммов грибов и бактерий-антагонистов по отношению к одним из основных возбудителей корневых гнилей огурца — грибам р. *Fusarium* и *Rhizoctonia*. С этой целью проводили совместный посев в чашки Петри на КГА антагонистов и патогенов. Таким образом, было установлено, что наибольшую антагонистическую активность проявили штаммы и изоляты: триходермы — МПП-3, Л-17, С-16, ТК-14, Ro1-K-2hR<sub>3</sub>; бактерий — *Bacillus subtilis-3(II)*, *Pseudomonas fluorescens* AP33, *Ps. sp. PX<sub>2</sub>* и *Serratia marcescens* Sb 1. Следует отметить, что по отношению к ризиктонии достаточно высокую антагонистическую активность показали многие биоагенты. Наблюдение за их дальнейшим взаимодействием показало, что наибольший подавляющий эффект был именно в этих вариантах.

В дальнейшем изучали влияние отобранных биоагентов на посевные качества семян, рост, развитие и зараженность растений корневыми гнилями. Для решения этой проблемы были поставлены вегетационные опыты на кафедре фитопатологии РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева.

По данным вегетационного опыта, перечисленные выше антагонисты

способствовали некоторому повышению энергии прорастания и всхожести семян. При испытании на искусственном инфекционном фоне в контроле гибель растений от корневых гнилей составляла более 91%. Применение вышеперечисленных биоагентов позволило снизить этот показатель в 5,5-7,3 раза. Кроме того, отмечалось более быстрое развитие растений: увеличивались высота, количество и площадь листьев, особенно в варианте с внесением штаммов и изолятов триходермы Л-17, Ro1-K-2 и R<sub>g</sub>. Опыты, проведенные в теплице биолaborатории ЗАО АФ «Косино», подтверждают ранее полученные результаты (рис. 1). Установлено существенное различие между вариантами при 0,05%-м уровне. На естественном инфекционном фоне (без внесения патогенов в почву) НСР<sub>05</sub> составила 0,9, при внесении ризиктонии — 1,04 и фузариума — 0,99. Кроме того, в большинстве вариантов с применением биопрепаратов отмечалось более мощное развитие корневой системы и надземной части (рис. 2). Таким образом, применяемые биоагенты не только не угнетают рост и развитие растений, но и обладают некоторым ростостимулирующим действием, кроме того, способны длительное время сохраняться на корнях растений. На основании полученных данных возможно было предположить использование всех испытываемых штаммов и изолятов для борьбы с корневыми гнилями огурца в условиях производства.

В опытах применяли жидкую препаративную форму. Титр бактериальных препаратов составлял 2,7—5,8x10<sup>9</sup> бактериальных клеток в 1 мл. Биопрепараты на основе триходермы, полученные при глубинном культивировании, содержали хламидоспоры, обрывки мицелия, некоторое количество конидий, остатки питательной среды и биологически активные



**Рис. 1.** Биометрические показатели развития растений огурца (гибрид F., Эстафета, лаборатория защиты растений РГАУ - МСХА, 2007-2008 гг.)

вещества (БАВ); титр —  $4,1-5,5 \times 10^8$  КОЕ/мл.

В нашу задачу входило исследование возможности комплексного применения биоагентов: регулярно проводился учет их приживаемости на корнях растений, зараженности огурца в теплице корневыми гнилями и урожайности культуры.

При учете появления, распространения и развития корневых гнилей выяснялись причины ее появления (выделяли патогенов в чистую культуру). Было выявлено, что основными возбудителями данного заболевания в теплицах хозяйства являлись грибы рода ризоктония — их численность из всего видового состава корневых патогенов составляла более 59,5%; количество фузариума и питиума — 23, 3 и 12,8% соответственно. Отмечены: *Pythium debarianum*, единичные колонии альтернаний, бактерий рода *Pectobacterium* и др. (рис. 3).

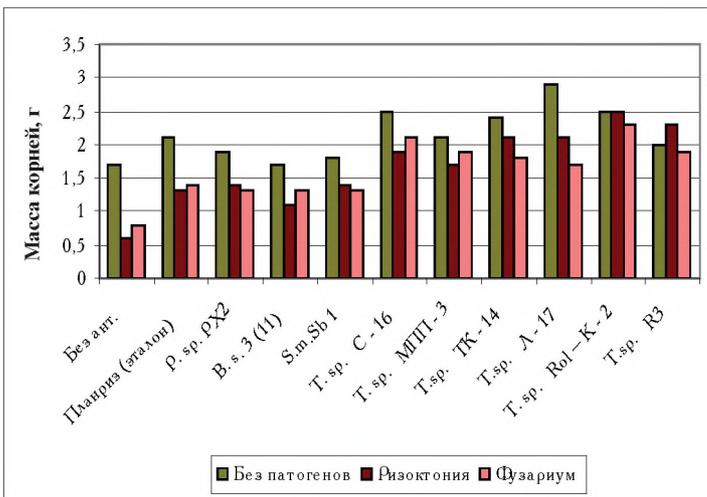
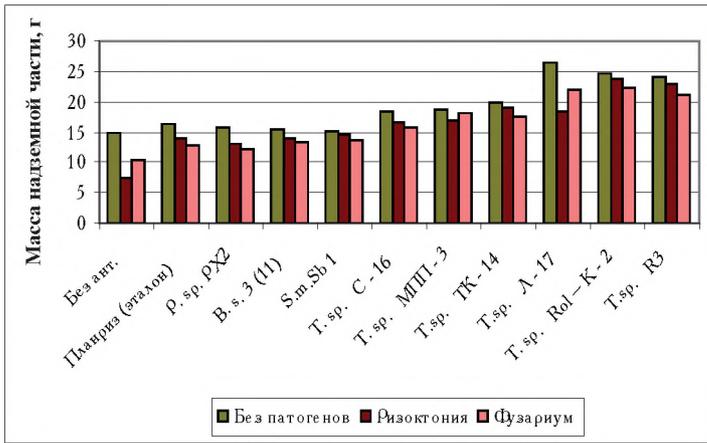
При выращивании рассады огурца в теплице хозяйства были получены показатели, сходные с таковыми в вегетационном опыте. Данные по учету

распространенности и развития корневых гнилей представлены на рисунке 4.

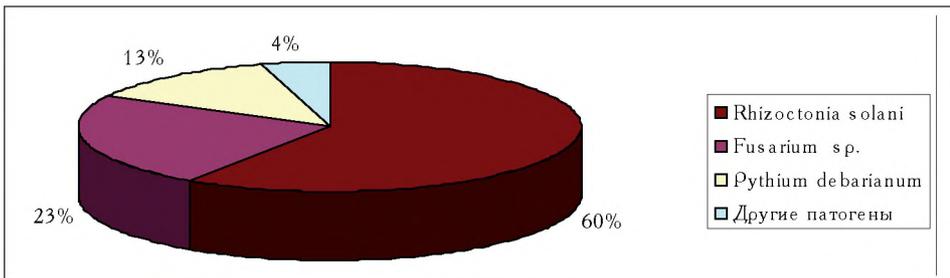
Во всех вариантах с применением биоагентов наблюдалось снижение распространенности и развития корневых гнилей. Наибольшую эффективность показали штаммы и изоляты грибов рода триходерма, особенно Rol-K-2, ТК-14 и Л-17: по сравнению с контролем, развитие болезни снизилось в разные дни учета в 3,97-10,68, 2,87-8,91, 3,47-7,54 раза соответственно. Биологическая эффективность применения этих штаммов составляла соответственно 74,8-90,6%, 65,2-88,8%, 71,2-86,7%, что значительно выше, чем в других вариантах.

Проведение статистической обработки данных подтвердило существенные различия и позволило нам рассмотреть возможность их применения на огурце с целью защиты данной культуры от корневых гнилей.

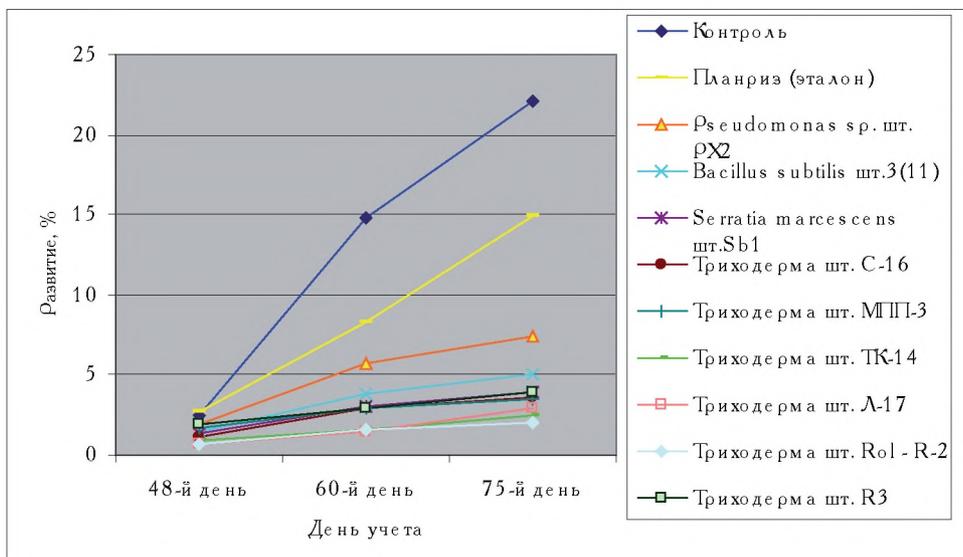
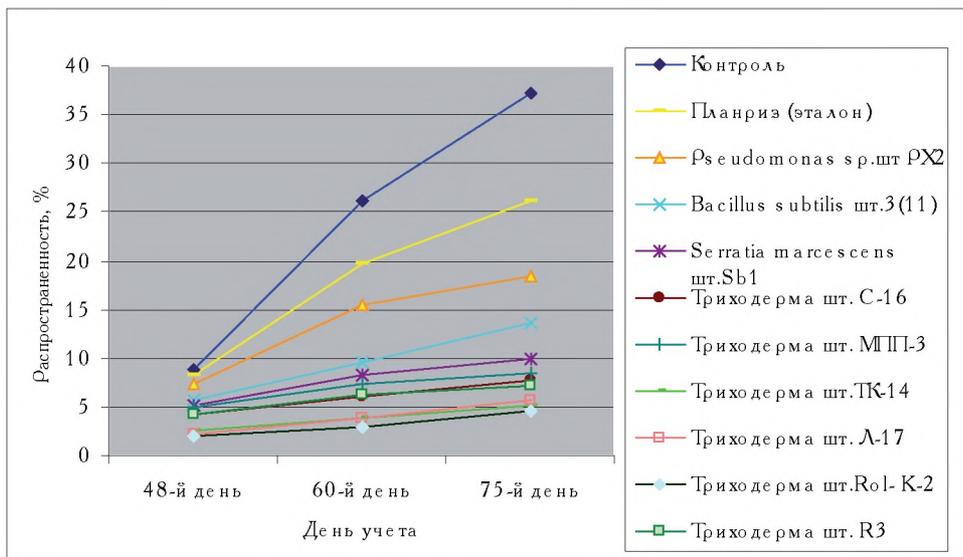
Урожайность при использовании штаммов триходермы Rol-K-2, ТК-14 и Л-17 по сравнению с контролем повысилась на 12,7-17,5%.



**Рис. 2.** Сырая масса растений огурца в разных вариантах обработки (гибрид F<sub>1</sub>, Эстафета, лаборатория защиты растений РГАУ-МСХА, 2007-2008 гг.)



**Рис. 3.** Соотношение основных почвенных патогенов в субстрате (теплица биолaborатории ЗАО АФ «Косино», 2007-2008 гг.)



**Рис. 4.** Распространенность и развитие корневых гнилей огурца (гибрид F<sub>1</sub>, Эстафета; биолaborатория ЗАО АФ «Косино», 2007-2008 гг.)

Во всех вариантах с применением биоагентов отмечалась их приживаемость и длительное сохранение на корнях испытуемых растений огурца.

Таким образом, высокая биологическая эффективность по отношению

к возбудителям корневых гнилей, способность к ростостимулирующему воздействию на растения, приживаемость и длительное сохранение на корнях, легкость применения позволяют рекомендовать штаммы и изоляты триходермы Л-17, Rol-K-2 и

ТК-14 против корневых гнилей огурца в условиях производства.

### Выводы

1. Наиболее перспективными по отношению к возбудителям корневых гнилей огурца являются биоагенты: *Pseudomonas fluorescens* AP33, *Pseudomonas sp.* PX<sub>2</sub>, *Bacillus subtilis* 3(11), *Serratia marcescens* Sb 1, грибы-антагонисты рода *Trichoderma*: МПП-3, С-16, Л-17, ТК-14, Rol-K-2, R<sub>3</sub>.

2. Vegetационные опыты 2007 — 2008 гг. подтвердили высокую антагонистическую активность указанных штаммов и изолятов как на естественном, так и на искусственном инфекционных фонах, а также их способность приживаться и сохраняться в течение длительного времени на корнях растений.

3. Основными возбудителями корневых гнилей в теплицах хозяйства являлись грибы рода ризоктония — их

численность из всего видового состава корневых патогенов составляла более 59,5%; количество фузариума — 23,3% и питиума — 12,8%. Отмечались единичные колонии альтернарии, бактерий рода *Pectobacterium* и др.

4. Производственными испытаниями показана высокая эффективность комплексного применения, включающего внесение в лунку при посеве семян и 2-краное внесение под каждое растение в период вегетации (200 мл 0,5%-й суспензии), штаммов и изолятов триходермы Rol-K-2, ТК-14 и Л-17 против корневых гнилей огурца: по сравнению с контролем развитие болезни снизилось в разные дни учета в 3,97-10,68, 2,87-8,91, 3,47-7,54 раза соответственно. Биологическая эффективность применения этих штаммов составляла соответственно 74,8-90,6%; 65,2-88,8%; 71,2-86,7%. Кроме того, прибавка урожайности при использовании данных штаммов по сравнению с контролем составляла 12,7-17,5%.

### Библиографический список

1. Актуальные вопросы биологизации защиты растений / Под ред. М.С. Соколова, Е.П. Угрюмова. Пушино, 2000.
2. 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.
3. Бондаренко Н.В. Биологическая защита растений. М.: Агропромиздат, 1987.
4. Джалилов Ф.С., Корсак И.В., Перебитюк А.Н. Использование флуоресцирующих псевдомонад для защиты капусты от бактериальных болезней // Известия ТСХА, 1994. Вып. 2. С. 93-98.
5. Захаренко В.А. Биологическая защита растений как фактор оптимизации фитосанитарного состояния растениеводства // Актуальные вопросы биологизации защиты растений. Пушино, 2000. С. 11-25.
6. Корсак И.В. Применение биологических препаратов против корневых гнилей огурца. М.: ТСХА, 2002.
7. Николаева С.И., Харбур М.В. Применение триходермина в борьбе с корневыми гнилями / Сб. Болезни сельскохозяйственных культур и их антагонистов. Киев: Штиинца, 1982. С. 41-46.
8. Рекомендации по применению средств биологического происхождения в системе защиты плодово-ягодных, овощных культур и картофеля от вредителей и возбудителей болезней / Под ред. Б.А. Борисова. М., 2001.
9. Смирнов В.В., Киприанова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas*. Киев: Наукова Думка, 1990.
10. Соколов М.С., Монастырский О.А., Пикушова Э.А. Экологизация защиты растений. Пушино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1994.

11. Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. Справочное издание, 2009.
12. Твердюков А.П., Никонов П.В., Юценко Н.П. Биологический метод борьбы с вредителями и болезнями в защищенном грунте. М.: Колос, 1993.
13. Чекалова К.В., Марквичев Н.С. Сравнительная оценка биологических препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* // Гавриш, 2005. С. 23-24.
14. Штерниус М.В., Джалилов Ф.С., Андреева И.В., Томилова О.Г. Биопрепараты в защите растений. Новосибирск, 2000.
15. Штерниус М.В., Джалилов Ф.С., Андреева И.В., Томилова О.Г. Биологическая защита растений. М.: КолосС, 2004.
16. Экологически безопасные и беспестицидные технологии получения растениеводческой продукции / Материалы Всероссийского науч.-пр. совещания. Пушкино, 1994. Ч. I. Ч. II.
17. Cubeta M.A., Mozley S.E., and Porter D. Laboratory Exercises with Zoosporic Fungi. Eds. R. Trigiano and M. Windham, CRC Press, 2001.
18. Cubeta M.A., and R. Vilgalys. Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex // Phytopathology, 1997. V. 87. P. 480-484.

#### SUMMARY

Evaluation of antagonistic activity of bioagents towards cucumber root rot causative agents has been made. The most effective trichoderm strains and isolates have been found. Data on their growth stimulating effect on crops have been gathered. Field experience confirms the results obtained.

*Key words:* antagonists, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, *Trichoderma*, bio-agent, delayed antagonism, growth-stimulating effect.

**Корсак Ирина Владимировна** — к. б. н. Тел. (495) 976-03-78.

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