

УДК 635.648:632.4:577.19

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ
КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ БАМИИ

И.В. КОРСАК, Ю.М. СТРОЙКОВ, ХУСЕЙН АЛЬ-ДАХИЛЬ

(Кафедра защиты растений РГАУ - МСХА имени КА. Тимирязева)

Антагонистическую активность испытуемых биоагентов по отношению к возбудителям корневых гнилей бамии оценивали *in vitro* в чашках Петри на ИПС КГА. Наибольшей эффективностью характеризовались: штамм Rol-K-2 и изолят FM-1 грибов-антагонистов рода *Trichoderma*, из бактерий — *Bacillus subtilis* изолят 3 [11]. В вегетационных опытах на искусственном инфекционном фоне при использовании данных биоагентов отмечалось повышение энергии прорастания, всхожести семян и значительное снижение зараженности бамии корневыми гнилями. По воздействию на энергию прорастания, всхожесть семян и зараженность растений корневыми гнилями биоагенты практически не отличались от таковых в вариантах с применением фундазола.

Ключевые слова: антагонисты, грибы рода *Trichoderma*, бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, биоагенты, естественный инфекционный фон, искусственный инфекционный фон, штаммы, изоляты.

Сельскохозяйственные культуры повсеместно поражаются большим количеством болезней, развитие которых приводит к значительному снижению урожая и при сильном развитии заболевания к преждевременной гибели растений. В настоящее время все более серьезной проблемой становятся корневые гнили, одним из возбудителей которых являются грибы рода *Fusarium* и *Rhizoctonia*. Они широко распространены в самых разнообразных субстратах и вызывают заболевания многих видов растений [2, 18].

Выращивание здоровых растений и получение высоких урожаев хорошего качества невозможно без планомерной борьбы с болезнями. Одним из самых эффективных приемов всегда являлось применение химических препаратов [12]. Однако в связи с

остро встающими проблемами охраны окружающей среды от загрязнений и отрицательного воздействия химических средств на микрофлору все большее значение приобретает поиск и внедрение в производство приемов биологической защиты растений от болезней [4, 9, 11, 15].

В последние годы перспективными объектами для агроботехнологии являются грибы-антагонисты рода *Trichoderma*, бактерии родов *Bacillus* и *Pseudomonas* [3, 5, 6, 7, 8, 16]. Они давно обратили на себя внимание фитопатологов большим разнообразием антагонистических свойств [10].

В течение нескольких лет на кафедре фитопатологии и лаборатории защиты растений РГАУ - МСХА проводятся опыты по испытанию некоторых штаммов и изолятов микроорганизмов-антагонистов отношению к воз-

будителям корневых культур, в т.ч. к грибам рода *Fusarium* и *Rhizoctonia* [4].

В данной работе была поставлена цель: изыскать наиболее эффективный способ подавления развития возбудителей корневых гнилей бамии (ризоктонии и фузариума).

Материалы и методы исследования

Исследования проводили на кафедре фитопатологии РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева в 2009 г. Были использованы штаммы и изоляты микроорганизмов-антагонистов: грибов рода *Trichoderma*, бактерии родов *Bacillus* и *Pseudomonas*; возбудители корневых гнилей — изоляты Rh-7 гриба *Rhizoctonia solani* и FO-12 — *Fusarium oxysporum* [13, 14, 17].

Взаимоотношения между патогенами и антагонистами испытывали *in vitro* методом одновременного посева и отсроченного антагонизма в чашках Петри на КГА. Засеянные чашки ин-

кубировали при 22~24°C. Размер колоний патогенов измеряли начиная с 3-го дня после посева.

В вегетационных опытах на искусственном инфекционном фоне сравнивали способность испытуемых антагонистов подавлять развитие корневых гнилей овощной культуры бамия, изучали их воздействие на энергию прорастания и всхожесть семян. В качестве эталона был химический фунгицид фундазол. В опыте присутствовали варианты совместного применения данного препарата с биоагентами. При создании инфекционного фона чистые культуры почвенных патогенов (изоляты Rh-7 гриба *Rhizoctonia solani* и FO-12 — *Fusarium oxysporum*) выращивали в чашках Петри на КГА. В стерильный питательный субстрат вносили патогенов из расчета 2 г сырого мицелия на 1 кг субстрата. Через трое суток начинали закладку опыта по соответствующей схеме:

Антагонист	Патогены	
	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
Контроль	+	+
<i>Trichoderma harzianum</i> штамм RoI-K-2	+	+
<i>Tr. sp.</i> изолят FM-1	+	+
<i>Bacillus subtilis</i> изол. З(11)	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i> штамм AP 33	+	+
<i>Ps. sp.</i> изолят PX ₂	+	+

Определяли энергию прорастания и всхожесть семян. В каждом варианте было три повторности по 10 растений в каждой.

В ходе эксперимента возникла необходимость рассмотреть воздействие фундазола на рост и развитие колоний изучаемых антагонистов. Для этой цели в пробирках моделировали баковые смеси данного фунгицида с культурами биоагентов, выдерживали их в течение 1 ч. Затем проводили последовательные разведения и посев в чашки Петри на КГА (для триходермы) и на бактериальный картофель-

ный агар (для бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas*) по 0,1 мл суспензии из 7, 8 и 9-го разведения. После 48-часовой инкубации при температуре 28~30°C (для бактерий) и 22~24°C (для грибов) подсчитывали количество колоний антагонистов. В каждом варианте было по три повторности.

Результаты исследований

Полученные данные приведены в таблицах 1 и 2. В проведенных опытах *in vitro* было установлено, что при одновременном посеве наибольшую антагонистическую активность по от-

Подавление роста и развития колоний *Rh. solani* биоагентами (2009)

Вариант	День учета			
	4-й		8-й	
	радиус колоний патогена, мм	подавление роста колоний патогена, %	радиус колоний патогена, мм	подавление роста колоний патогена, %
Контроль (<i>Rh. solani</i>)	76,0	—	76,6	—
<i>Tr. harzianum</i> штамм Rol-K-2	0,44	99,4	0,6	100,0
<i>Tr. sp.</i> изолят FM-1	0,47	99,4	0,6	100,0
<i>B. subtilis</i> изолят 3 (11)	45,4	40,3	37,3	51,3
<i>Ps. fluorescens</i> штамм AP 33	50,2	33,9	75,9	0,91
<i>Ps. sp.</i> изолят PX ₂	74,7	1,7	76,3	0,39
HCP _{0,01}	12,6	—	22,8	—

Таблица 2

Подавление роста и развития колоний *F. oxysporum* биоагентами (2009)

Вариант	День учета			
	4-й		8-й	
	радиус колоний патогена, мм	подавление роста колоний патогена, %	радиус колоний патогена, мм	подавление роста колоний патогена, %
Контроль (<i>F. oxysporum</i>)	73,1	—	79,8	—
<i>Tr. harzianum</i> штамм Rol-K-2	20,7	71,6	20,4	75,8
<i>Tr. sp.</i> изолят FM-1	21,7	70,3	49,9	74,4
<i>B. subtilis</i> изолят 3(11)	45,3	37,9	78,4	41,2
<i>Ps. fluorescens</i> штамм AP 33	45,4	37,7	79,8	1,7
<i>Ps. sp.</i> изолят PX ₂	53,1	27,3	79,8	0,0
HCP _{0,01}	13,4	—	16,8	—

ношению к ризиктонии и фузариуму проявила триходерма: штамм Rol-K-2 и изолят FM-1. При отсроченном антагонизме были получены аналогичные результаты. Как видно из таблицы 1, уже на 4-й день учета в вариантах с триходермой наблюдается почти полное подавление ризиктонии. По отношению к фузариуму (см. табл. 2) подавление несколько меньше: в зависимости от дня учета оно составляло от 70,3 до 76,0%. Из бактериальных биоагентов наибольшую антагонистическую активность показала *Bacillus subtilis* изолят 3 (11). По отношению к ризиктонии и фузариуму подавление

к восьмому дню учета составило соответственно 51,3 и 41,2%. В течение последующих двух недель было отмечено дальнейшее подавление патогенов.

Совместное применение пестицидов, особенно биологических и химических, требует большой осторожности, так как каждый из них представляет собой сложную, хорошо сбалансированную по различным показателям систему и предназначен в основном для индивидуального применения. В смеси же действующие, а часто и вспомогательные вещества химического препарата вступают во

взаимодействие с живым объектом — продуцентом биопрепарата. Взаимодействие такого характера может привести к потере активности или гибели антагонистов в результате содержания в химических препаратах токсичных для данных микроорганизмов веществ.

Известно, что совместимыми считаются такие препараты, которые при смешивании с другими веществами не изменяют свойств последних и показывают такую же эффективность, как и при раздельном применении. Препаратами, совместимыми с испытуемыми биоагентами, являются те, у которых процент колониеобразующих единиц по отношению к контролю выше 80. Это означало бы, что данные препараты либо не оказывали отрицательного влияния на продуценты биопрепаратов, либо это влияние было незначительным. Точно предсказать взаимодействие химических и биологических препаратов можно только опытным путем. Чтобы понять, какое воздействие на антагонистов оказывал фундазол достаточно рассмотреть результаты, приведенные в таблице 3. Во всех вариантах показано, что фундазол в значительной степени подавляет развитие антагонистов.

Параллельно велась работа по определению воздействия различных способов обработки на возбудителя корневой гнили бамии (ризоктонии) в вегетационном опыте по схеме, при-

веденной в таблице 4. Вначале была отработана необходимая концентрация патогена, которая вызывала бы гибель как минимум 90% растений. Она составила 2 г сырого мицелия на 1 кг почвы. В вазоны, за три дня до посева, вносили гомогенизированный мицелий ризоктонии. В опытах применяли жидкую препаративную форму. Биопрепарат триходермин при глубинном культивировании содержит хламидоспоры, обрывки мицелия, некоторое количество конидий, остатки питательной среды и биологически активные вещества [1]. Бактериальные препараты содержат живую культуру соответствующих бактерий.

Согласно полученным данным, энергия прорастания и всхожесть семян бамии в контроле без внесения антагонистов и ризоктонии составила соответственно 68,9 и 89,5%. Внесение патогена способствовало снижению данных показателей на 24,7 и 41,7%. Во всех вариантах обработки семян, почвы, комплексного применения (семян и почвы) энергия прорастания семян практически не отличалась от таковой в контроле (без патогенна), т.е. они не оказывали отрицательного воздействия на данный показатель. Всхожесть семян при внесении антагонистов и фундазола в почву была несколько ниже, чем при обработке семян и комплексном применении препаратов. Кроме того, комплексное применение всех препаратов способствовало значительному снижению

Т а б л и ц а 3

**Выживание антагонистов в баковой смеси с фундазолом
(0,1%-й раствор фундазола; 2009 г.)**

Вариант	Концентрация антагонистов в рабочей суспензии (КОЕ/мл) — контроль	% КОЕ в баковой смеси с фундазолом (по отношению к контролю)
<i>Ps. fluorescens</i> штамм AP 33 (планриз)	$2,3 \times 10^6$	27,5
<i>Ps. sp.</i> Изолят PX ₂	$3,1 \times 10^6$	19,3
<i>B. subtilis</i> изолят З(11)	$2,1 \times 10^6$	31,8
<i>Trichoderma sp.</i> Изолят РК-1	$4,3 \times 10^6$	11,7
<i>Tr. harzianum</i> штамм Rol-K-2 (эталон)	$5,1 \times 10^6$	10,1

Энергия прорастания семян и зараженность рассады бамии корневыми гнилями (%) в разных вариантах обработки на искусственном инфекционном фоне (2009)

Вариант	Энергия прорастания семян	Всхожесть семян	Зараженность рассады	Эффективность обработки
Контроль (без патогена)	68,9	89,5	0,0	—
Контроль (<i>Rh. solani</i>)	44,2	47,8	59,6	—
<i>Обработка семян</i>				
<i>Trichoderma harzianum</i> штамм RoI-K-2 эталон	66,7	85,4	13,5	77,3
<i>Trichoderma sp.</i> изолят РК-1	64,6	84,5	13,8	76,8
<i>Bac. subtilis</i> изолят З(11)	63,9	82,5	17,9	69,9
Фундазол (4 г/кг семян)	68,6	86,6	12,7	78,6
<i>Внесение препаратов в почву</i>				
<i>Trichoderma harzianum</i> штамм RoI-K-2 эталон	64,8	76,2	20,8	65,1
<i>Trichoderma sp.</i> изолят РК-1	65,3	76,8	22,6	62,1
<i>Bac. subtilis</i> изолят З(11)	63,3	73,6	26,2	56,0
Фундазол (4г/кг семян)	65,3	78,9	24,7	58,5
<i>Обработка семян и внесение препаратов в почву</i>				
<i>Trichoderma harzianum</i> штамм RoI-K-2 эталон	67,9	88,9	7,6	87,2
<i>Trichoderma sp.</i> изолят РК-1	65,8	90,8	8,3	86,1
<i>Bac. subtilis</i> изолят З(11)	65,6	86,4	13,4	77,5
Фундазол (4 г/кг семян)	64,7	91,7	8,3	86,1
НСП _{0,05}	5,8	7,9	3,6	4,4

зараженности растений корневыми гнилями, чем их раздельное использование. Эффективность обработки в случае составляла от 77,5 до 87,2%. Следует отметить, что воздействие биоагентов на энергию прорастания, всхожесть семян и зараженность растений корневыми гнилями практически не отличалось от вариантов с применением химического препарата фундазол. Таким образом, возможно, используемые в наших опытах биоагенты могут явиться альтернативой данному препарату в защите бамии от корневых гнилей и дадут возможность соблюдать принцип охраны окружающей среды от чрезмерного загрязнения ядохимикатами.

Выводы

1. При одновременном посеве и при отсроченном антагонизме патогенов с грибами рода *Trichoderma*, бактериями ро-

дов *Bacillus* и *Pseudomonas* наибольшую антагонистическую активность проявили грибы рода триходерма: во всех вариантах уже на 4-й день учета наблюдалось почти полное подавление ризоктонии. По отношению к грибу рода фузариум подавление несколько меньше: в зависимости от дня учета оно составляло от 70,3 до 76,0%.

2. Биоагент *Bacillus subtilis* изолят З(11) из всех бактериальных биоагентов показал наибольшую антагонистическую активность: по отношению к ризоктонии и фузариуму: подавление к 8-му дню учета составило соответственно 51,3 и 41,2%. В течение последующих двух недель было отмечено практически полное подавление патогенов.

3. Энергия прорастания и всхожесть семян бамии в контроле без внесения антагонистов и ризоктонии составила соответственно 68,9 и 89,5%. Внесение патогена способствовало снижению данных показателей на 24,7 и 41,7%. Биологические препараты и фундазол

не оказывали отрицательного воздействия на энергию прорастания и всхожесть семян. Комплексное применение всех препаратов на искусственном инфекционном фоне способствовало значительному снижению зараженности растений корневыми гнилями. Эффек-

тивность обработки в данном случае составляла от 77,5 до 87,2%.

4. Воздействие биоагентов на энергию прорастания, всхожесть семян и зараженность растений корневыми гнилями практически не отличалось от таковых в вариантах с применением фундазола.

Библиографический список

1. Алимova Ф.К., Захарова Н.Г., Егорова С.Ю., Лецинская И.Б., Литвинова Л.И. Кинетика *Trichoderma harzianum* Rifai Г-432 в тепличном грунте // Микология и фитопатология, 1966. Т. 30. Вып. 3. С. 48-54.
2. Ахатов А.К., Джавлилов 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. 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.
4. Корсак И.В. Применение биологических препаратов против корневых гнилей огурца. М.: Изд-во МСХА, 2001.
5. 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.
6. Рубан Е.Л. Физиология и биохимия представителей рода *Pseudomonas*. М.: Наука, 1986.
7. Смирнов В.В., Киприанова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas*. Киев: Наукова Думка, 1990.
8. Твердюков А.П., Никонов П.В., Ющенко Н.П. Биологический метод борьбы с вредителями и болезнями в защищенном грунте. М.: Колос, 1993.
9. Чекалова К.В., Марквичев Н.С. Сравнительная оценка биологических препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* // Гавриш, 2005. С. 23-24.
10. Штерниис М.В., Джалилов Ф.С., Андреева И.В., Томилова О.Г. Биологическая защита растений. М.: КолосС, 2005.
11. Экологические безопасные и бесpestицидные технологии получения растениеводческой продукции / Матер. Всерос. науч.-прак. совещания. Пущино, 1994. Ч. I, II.
12. Chet I., Inbar J., Hadar. Fungal antagonists and mycoparasites. In: Wicklow DT, Soderstrom B (eds) *The Mycota IV: Environmental and microbial relationships*. Springer-Verlag, Berlin. 1997. P. 165-184
13. Grondona I., Hermosa R., Tejada M., Gomis M.D., Mateos P.F., Bridge P.D., Monte E., Garcia-Acha. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. 63:3189-3198.
14. Hermosa M.R., Grondona I., Iturriaga E.A., Diaz-Minguez J.M., Castro C., Monte E., Garcia-Acha I. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. 66: 1890-1898.
15. Kloepper J.W., Leong J., Teinze M., Schroth M.N. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria // *Nature*. 286, 1980. P. 885-886.
16. Lemanceau P. Effets benefiques de rhizobacteries sur les plantes: exempl des *Pseudomonas* spp. *Fluorescens* // *Agronomie*, 1992. V. 12. № 6. P. 413-437.

17. *Monte E.* Understanding Trichoderma: between biotechnology and microbial ecology. *Int Microbiol*, 2001. 4: 1-4.

18. *Moussa T.A.A.* Studies on biological control of sugarbeet pathogen *Rhizoctonia solani* Kuhn.// *J. Biol. Sci.*, 2002. 2(12): 800-804.

Рецензент — д. с.-х. н. Ю.А. Юлдашбаев

SUMMARY

Antagonistic activity of bio - agents under test, against okra root rot causative agents has been estimated in vitro, in Petri dish. Both Rol - K - 2 and isolate FM - lof fungi antagonists against Trichoderma genus are characterized as the most efficient; from *Bacillus subtilis* - isolate 3 (11). During vegetative tests, against artificial infectious background, use of these bio - agents results in both germination rate increase and considerable drop in okra infection rate. As to effect on both germination rate and on infectiousness with root rots, these bio - agents, practically, do not differ from those including Fundazol use.

Key words: antagonists, Trichoderma fungi, Pseudomonas, Bacillus bacteria, bio - agents, natural infectious background, artificial infectious background, strains, isolates.

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

Стройков Юрий Михайлович — к. б. н. Тел. (499) 976-03-78.

Эл. почта: ystrojkov@yandex.ru.

Хусейн Аль-Дахиль — к. б. н. Университет Альфурат г. Дейр Эззор; Сирия.