

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. Алимова 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.