

## АКТИВНОСТЬ *VACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* MBI600 В ОТНОШЕНИИ БАКТЕРИОЗОВ СОИ

**Тараканов Рашид Ислямович**, аспирант, ассистент кафедры защиты растений, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» E-mail: tarakanov.rashit@mail.ru

**Васильев Павел Александрович**, руководитель направления «Решения для обработки семян», ООО «БАСФ» E-mail: pavel.vasilyev@basf.com

**Трошин Константин Сергеевич**, студент 3 курса кафедры защиты растений, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» E-mail: konstantinetr@gmail.com

**Джалилов Февзи Сеид-Умерович**, д.б.н., профессор, заведующий кафедрой кафедры защиты растений, ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» E-mail: dzhalilov@rgau-msha.ru

**Аннотация:** в статье приведены данные эффективности биологических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в отношении возбудителей бактериозов сои. Результаты показывают высокую активность препарата на основе *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600 как *in vitro*, так и в вегетационном опыте против бактериального ожога.

**Ключевые слова:** соя, биологическая защита растений, бактериоз сои, бактериальный ожог, *Pseudomonas savastanoi*, обработка семян органическое земледелие.

**Введение.** Сою поражает несколько бактерий, наиболее вредоносными из которых являются *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (возбудитель бактериального ожога сои) и *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (возбудитель ржаво-бурой бактериальной пятнистости). Оба патогена могут передаваться семенами, поэтому поиск эффективных средств защиты от них, в т.ч. в технологиях органического земледелия является актуальной задачей. Препарат на основе *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600 производится компанией BASF и зарегистрирован в ЕС и США для обработки семян сои и рапса против фомоза, серой гнили и других болезней под торговыми названиями Integral Pro, Vault HP и ХайКоут Турбо Соя.

**Целью** исследования являлась оценка активности *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600 на возбудителей бактериозов сои.

**Материалы и методы.** Опыты проводили на базе кафедры и лаборатории защиты растений РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева в 2021 году.

Искусственный инфекционный фон на семенах создавали по методике [1] с некоторыми модификациями. Трехсуточную культуру *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (далее Psg) штамм CFBP 2214 выращивали при 18°C на агаризованной среде King B. Бактерии ресуспендировали в стерильном 10 мМ буфере MgCl<sub>2</sub> до OD600~0,2. Семена сои сорта Касатка промывали в растворе 75%-ного этанола в течение 2 минут, сливали этанол, добавляли стерилизующий раствор (50% отбеливатель «Белизна», в/в вода), 0,002% твин 20), перемешивали 8-10 минут, сливали стерилизующий раствор и промывали семена в воде, чтобы удалить остатки отбеливателя. После стерилизации семена оставляли во влажной камере на 2 часа для набухания. По прохождении указанного времени прокалывали стерильной зубочисткой в 2 местах каждого семени и заливали бактериальной суспензией до полного погружения всех семян. Колбу помещали в камеру, подключенную к вакуумному насосу ME 4C NT (VACUUBRAND GMBH) и при -1 атмосфер давления оставляли на 10 минут, после чего семена высушивали на бумажной салфетке для удаления капель суспензии и готовили к обработке препаратами.

Изучали 3 варианта в каждом из которых обрабатывали по 40 семян в трехкратной повторности (таблица 1). Опыты проводили на сорте Касатка. Растения выращивали в рассадных кассетах с торфяным субстратом с добавлением 10% перлита (ООО «Велторф») в теплице при средней температуре 25/20°C (день/ночь) и естественном освещении.

Показатель заболеваемости регистрировался как процент растений, у которых наблюдались симптомы на листьях. Оценку развития болезни в опыте с заражением семян проводили при достижении стадии V3 (через 35 дней после посева) с помощью приложения LeafDoctor (<https://www.quantitative-plant.org/software/leaf-doctor>), установленного на iPhone SE 2. Для этого все листья со всех растений были индивидуально сфотографированы и проанализированы путем перемещения ползунка порога до тех пор, пока только симптоматические ткани не будут преобразованы в синий оттенок и расчета процента заболевшей ткани согласно рекомендациям разработчика [4, 5].

**Таблица 1. Характеристика вариантов опыта с обработкой семян сои**

Вариант	Действующее вещество	Расход на 1 т	Расход рабочей жидкости на 1 т, л
Контроль (без обработки)	-	-	-
Витаплан, СП	Bacillus subtilis штаммы ВКМ-В-2604D + ВКМ-В-2605D	30 г	10 л
ХайКоут Турбо Соя	Bacillus amyloliquefaciens MBI600	1,6 л [2]	10 л

Оценку препаратов *in vitro* проводили методом двухслойного агара на среде YD. Для этого на нижний агар с содержанием агар-агара 1,5 % наслаивали верхний агар с содержанием агар-агара 0,7 %, в который предварительно вносили 200 мкл суспензии бактерий *Pseudomonas savastanoi*

pv. *glycinea* штамм CFBP 2214 и *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* штамм CFBP 3418 с  $OD_{600} \approx 0,4$ . После застывания наносили на поверхность верхнего агара 10 мкл суспензий препаратов в исходной концентрации. В контрольном варианте капали такое же количество стерильной дистиллированной воды. Диаметр зоны ингибирования фитопатогенных бактерий измеряли с помощью линейки.

**Результаты и их обсуждение.** Вегетационный опыт, проведенный с искусственным заражением семян сои показал высокий защитный эффект препарата ХайКоут Турбо Соя на основе *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600. На контрольном варианте опыта наблюдалось эпифитотийное развитие бактериального ожога при доле зараженных растений 65 % и развитии болезни в 22,5 %. В вариантах с применением биологических препаратов распространенность и развитие были ниже почти в 2 раза по сравнению с контролем.

**Таблица 2. Эффективность препаратов против бактериозов сои в условиях *in vitro* и вегетационном опыте**

Вариант	Вегетационный опыт на инфекционном фоне бактериального ожога		Диаметр зоны ингибирования в условиях <i>in vitro</i> , мм	
	Развитие бактериального ожога, %	Распространенность бактериального ожога, %	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i>	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>
Контроль	22,5	65,0	0	0
Витаплан, СП	14,2	31,4	14 ± 2	10 ± 1
ХайКоут Турбо Соя	12,5	18,8	19 ± 4	16 ± 1

Опыт в условиях *in vitro*, проведенный с использованием коллекционных штаммов, также показал высокую антибактериальную активность препаратов. Диаметр зоны ингибирования препарата ХайКоут Турбо Соя достигал 1,9 см, что больше на 26,3 % показателя эталонного препарата Витаплан, СП. При этом, против возбудителя ржаво-бурой бактериальной пятнистости сои препараты показали меньшую активность в сравнении с бактериальным ожогом.

**Заключение.** Таким образом, в ходе проведенных опытов показана высокая активность *Bacillus amyloliquefaciens* MBI600 в отношении возбудителей бактериального ожога и ржаво-бурой бактериальной пятнистости сои. Применение данного антагониста может стать приемом управления бактериозами сои в системах интегрированной защиты.

### Библиографический список

1. W. Rooney, J. Laird, M. Chowdhury, C. MacIntosh, X. Deng, P. McBride, J. Milner, protocols.io 2021. Pseudomonas syringae seed infections. <https://dx.doi.org/10.17504/protocols.io.bhwhj7b6>.
2. <https://www.agricentre.basf.co.uk/en/Products/Product-Search/Diverse/Integral-Pro.html#section-details>
3. S. Pethybridge, S. Nelson. Leaf Doctor: A New Portable Application for Quantifying Plant Disease Severity. Plant Disease, 2015, № 99, vol. 10, pp.1310-1316.
4. Sibiya M., Sumbwanyambe M. An Algorithm for Severity Estimation of Plant Leaf Diseases by the Use of Colour Threshold Image Segmentation and Fuzzy Logic Inference: A Proposed Algorithm to Update a “Leaf Doctor” Application. AgriEngineering, 2019, vol. 1, pp. 205-219. <https://doi.org/10.3390/agriengineering1020015>

#### *Activity of Bacillus amyloliquefaciens MBI600 against soybean bacteriosis*

*Tarakanov R.I., postgraduate student, Russian Timiryazev State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy*

*Vasilyev P.A., head of the direction "Solutions for seed treatment", LLC "BASF"*

*Troshin K.S., undergraduate student, Russian Timiryazev State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy*

*Dzhalilov F.-S. U., D.Sc. in Bio Sciences, head of the department plant protection Russian Timiryazev State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy*

**Abstract:** *the article presents data on the effectiveness of biological preparations based on bacteria of the genus Bacillus against pathogens of soybean bacteriosis. The results show high activity of the biofungicide based on Bacillus amyloliquefaciens MBI600 both in vitro and in the vegetative experiment against bacterial blight.*

**Key words:** *soybean, biological plant protection, soybean bacteriosis, bacterial blight, Pseudomonas savastanoi, seed treatment, organic farming.*