

УДК 579.64

ВЛИЯНИЕ КОНСОРЦИУМА МИКРООРГАНИЗМОВ НА РАЗВИТИЕ ФИТОПАТОГЕНОВ

С.А. Ибрагимова

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П. Огарёва, Саранск, Россия

В настоящее время отмечается все большее распространение известных заболеваний растений, а также появление новых форм возбудителей. Массовое применение химических препаратов приводит к уничтожению не только патогенной, но и полезной микрофлоры, что негативно отражается на окружающей среде. В связи с этим остро встает вопрос о создании полифункциональных биопрепаратов, позволяющих стимулировать рост растений, обеспечить их защиту от фитопатогенов и снизить химическую нагрузку на почву.

Наиболее часто с заболеваниями растений широко используются микроорганизмы родов *Bacillus* и *Pseudomonas*. Расширение спектра действия биопрепаратов возможно за счет создания консорциума на основе микроорганизмов, обладающих разными функциональными свойствами.

Ранее на кафедре биотехнологии, биоинженерии и биохимии был выделен новый высокоэффективный штамм *Pseudomonas aureofaciens* В-11634, для которого было показано наличие ростостимулирующих и фунгицидных свойств [1, 2, 3]. Целью данной работы явилось получение уникального консорциума микроорганизмов на основе бактерий родов *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Rhodococcus* и *Bacillus* и исследование его влияния на развитие фитопатогенов.

Объектом исследования служили бактерии: *Pseudomonas aureofaciens* В-11634, *Pseudomonas putida* В-4492, *Bacillus subtilis* В-2918, *Azotobacter vinelandii* В-5787 и *Rhodococcus erythropolis* Ас 858 Т. В качестве тест объектов использовали фитопатогены *Alternaria alternata*, *Fusarium culmorum*, *Botrytis cinerea*.

Консорциум микроорганизмов получали путём добавления маточных растворов в различных соотношениях, оценивая количество вносимого посевного материала путём фильтрации, промывки и высушивания образца. Консорциум выращивали на мелассной среде, г/л: меласса – 40, KH_2PO_4 – 0.2, K_2HPO_4 – 0.8, NaNO_3 – 1.

Совместное глубинное культивирование консорциума бактерий и фитопатогенов проводили на минеральной среде без источника углерода следующего состава, г/л: KH_2PO_4 – 1; $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0.2, NaCl – 0.1, K_2HPO_4 – 0.1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0.1.

Грибной мицелий и консорциум микроорганизмов вносили в соотношении 1:5. При использовании спорового материала проводили, смыв стерильной водой с 1 пробирки скошенного агара. Количество вносимых спор составляло 10^5 в 1 мл. Колбы выдерживали 24 ч в динамических условиях на качалке при 100 об/мин, 28 °С, затем в статистических условиях при 25 °С в течение 20 суток. Периодически проводили микроскопирование исследуемой суспензии для определения степени разрушения грибного мицелия под воздействием бактерий.

Для определения степени ингибирования роста грибов в присутствии микробного сообщества использовали метод блоков. Диаметр колонии гриба измеряли на 3 и 10 сутки. Расчет ингибирующей активности микроорганизмов проводили по формуле Эббота (1) как процент ингибирования роста колонии гриба:

$$100 (Дк - Дo) / Дк, \quad (1)$$

где Дк – диаметр колонии гриба в контроле, мм; Дo – диаметр колонии гриба в опыте, мм.

Антагонистические свойства бактерий определяются широким спектром синтезируемых ими первичных и вторичных метаболитов, к которым можно отнести антибиотики, аминогликозиды, монолактамы, сидерофоры, ферменты (в частности, глюконазы и хитиназы), псевдомоновые кислоты и др. [4,5].

На первом этапе было исследовано влияние исследуемых бактерий в составе консорциума на развитие грибного мицелия в условиях глубинного культивирования. В качестве тест-объекта использовали гриб *Fusarium culmorum*, мицелий которого имел разветвленную, сегментированную структуру с выраженной базофилией (рисунок 1а). Исследуя микропрепарат контрольного образца фитопатогена на протяжении 20 суток, были отмечены изменения в структуре, характерные для старения грибного мицелия (рисунок 1б).

При культивировании на минеральной среде без источника углерода в присутствии бактерий были выявлены структурные изменения мицелия: вздутые лизированные участки гиф, наличие непроросших спор, мицелий слабоокрашенный и частично разрушенный (рисунок 2).

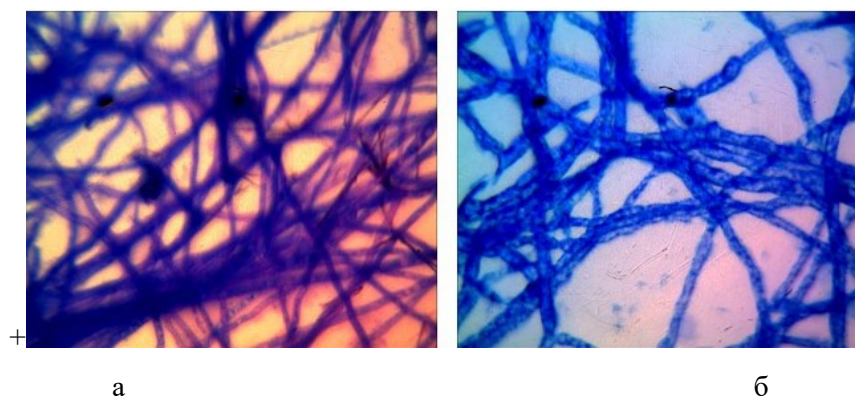


Рисунок 1 – Мицелий фитопатогена *F. culmorum* на 1-е (а) и 15-е (б) сутки роста x 1000

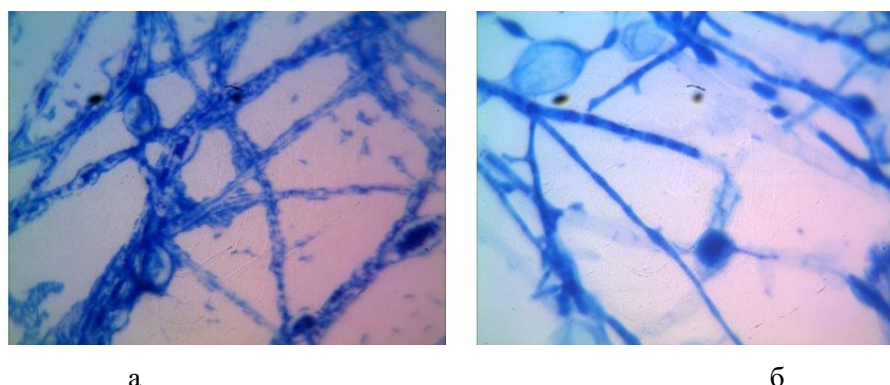


Рисунок 2 – Мицелий фитопатогена *F. culmorum* при воздействии бактерий на 6-е (а) и 15-е (б) сутки роста x 1000

Таким образом, уже на ранних сроках совместного культивирования наблюдалось антагонистическое воздействие консорциума микроорганизмов на фитопатоген. При увеличении сроков культивирования споры гриба практически не развивались, разрушение мицелия происходило наиболее интенсивно, вдоль гиф в большом количестве наблюдалось скопление бактериальных клеток. К концу периода наблюдения было отмечено полное разрушение грибного мицелия, что свидетельствует о высокой фунгицидной активности исследуемого консорциума бактерий.

На втором этапе работы был определен процент ингибирования роста фитопатогенов в присутствии микробного консорциума при поверхностном культивировании. В качестве тест-объектов использовали грибы *Fusarium culmorum*, *Alternaria alternata* и *Botrytis cinerea*. Было отмечено, что степень антагонистического воздействия бактерий различна в зависимости от вида фитопатогена. На 3 сутки культивирования процент ингибирования роста грибов составил в отношении *Fusarium culmorum* – 84 %, *Alternaria alternata* – 90 %, *Botrytis cinerea* – 85 %.

Несмотря на антагонистическое влияние бактерий, на 10-е сутки процент ингибирования роста снизился и составил в отношении *Fusarium culmorum* – 78 %, *Alternaria alternata* – 86 %, *Botrytis cinerea* – 70 %, что вызвано ростом фитопатогенов. По сравнению с контролем в опыте наблюдалось наличие слаборазветвленного рыхлого мицелия, стелющегося по поверхности агара (рисунок 3).

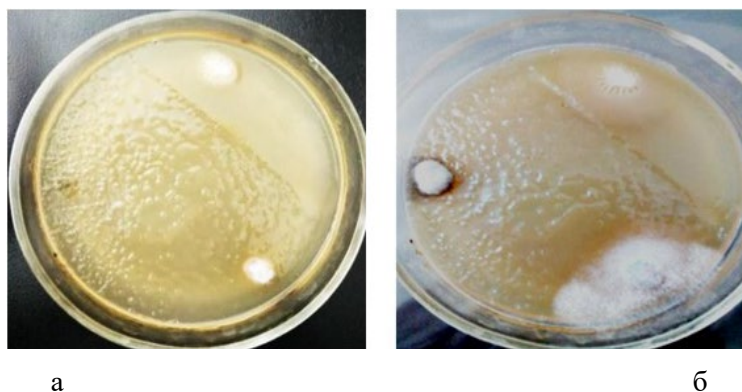


Рисунок 3 – Колонии фитопатогенов в присутствии бактериального консорциума на 3-и (а) и 10-е (б) сутки роста

Результаты проведенного опыта еще раз свидетельствуют о высокой антагонистической активности исследуемого консорциума, включающего бактерии разных таксономических групп. На основании этого можно заключить, что данные микроорганизмы могут являться основой для создания биопрепарата, обладающего ростостимулирующими, фунгизащитными и биodeградирующими свойствами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-416-130003.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Лукаткин А.А. Исследование антифунгальных свойств *Pseudomonas aureofaciens* 2006 / А.А. Лукаткин, С.А. Ибрагимова, В.В. Ревин // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. – № 6 (100). – С. 211–213.
2. Бурова Ю.А. Развитие фитопатогенных грибов при совместном культивировании с *Pseudomonas aureofaciens* 2006 / Ю.А. Бурова, А.С. Захаркина, Д.С. Королёв [и др.] // В сборнике: Проблемы лесной фитопатологии и микологии. Сборник материалов VIII Международ. конф. – 2012. – С. 120–124.
3. Захаркина А.С. Изучение развития семян кукурузы при обработке бактериальными суспензиями на основе ризосферных бактерий *Pseudomonas aureofaciens* и *Azotobacter vinelandii*. / А.С. Захаркина, С.А. Ибрагимова, В.В. Ревин // В сборнике: Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции. Лапшинские чтения: Материалы IX Международ. науч.-практ. конф. – 2013. – С. 68–71.
4. Логинов О.Н. Роль бактерий-антагонистов фитопатогенов в защите сельскохозяйственных растений от болезней / О.Н. Логинов, Н.Н. Силищев, А.И. Мелентьев. – Уфа: Гилем, 2001. – 66 с.
5. Штерншис М.В. Биологическая защита растений / М.В. Штерншис, Ф.С. – У. Джалилов, И.В. Андреева [и др.] – М. : Колос, 2004. – 264 с.