

10 2011 ОКТЯБРЬ  
Достижения  
науки  
и техники

АПК

Центр биотехнологии  
и молекулярной диагностики  
животных ВИЖ Россельхозакадемии



**Выводы.** Ингибирующая активность штаммов *Bacillus subtilis* ВПКМ В-10641, *B. amyloliquefaciens* ВПКМ В-10642 и *B. amyloliquefaciens* ВПКМ В-10643, выявленная в отношении чистых культур *Didymella applanata* и *Botrytis cinerea*, подтвердилась в полевых испытаниях.

#### Литература.

1. Смирнов В.В., Резник С.Р., Василевская И.А. Спорообразующие азробные бактерии – продуценты биологически активных веществ. - Киев: Наукова думка, 1982. - 280 с.
2. Белов Л.П., Шкалик В.А., Дунаева Ю.С. Возможности использования препаратов на основе *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* в растениеводстве // *АгроXXI*. - 2008. - № 4-6. - С.58-59.
3. Штерншиш М.В., Шпатова Т.В., Леляк А.А., Леляк А.И. Действие бактерий рода *Bacillus* на возбудителей болезней малины // *Вестник НГАУ* – 2010. – № 3. - С.48-53.
4. Рудаков О.Л. Микофильные грибы, их биология и практическое значение. - М.: Наука, 1981. - 157 с.
5. Соколова М.В. Хитинолитическая и антигрибная активность трех штаммов бактерии рода *Serratia* // *Современная биотехнология в решении проблем защиты растений*. СПб. – 1995. – С.214-224.
6. Shternshis M.V., Beljaev A.A., Shpatova T.V., Duzhak A.B., Panfilova Z.I. The effect of chitinase on *Didymella applanata*, causal agent of raspberry cane spur blight // *BioControl*. – 2006. – V.51. – P.311-322.
7. Сорокопудов В.Н., Мелькумова Е.А. Биологические особенности смородины и крыжовника при интродукции / *РАСХН. Сиб. отд.-ние. -Новосибирск, 2003. -296 с.*

### BACTERIAL STRAINS OF BACILLUS GENUS AS POTENTIAL BASIS OF BIOPREPARATIONS FOR SOFT DISEASE CONTROL

M.V.Shternshis, A.A.Belyaev, T.V. Shpatova, V.I. Lutov, A.A. Leliak

**Summary.** Antagonistic activity of three bacterial strains (*Bacillus subtilis* ВПКМ В-10641, *B. amyloliquefaciens* ВПКМ В-10642 and *B. amyloliquefaciens* ВПКМ В-10643) towards pure cultures of the raspberry cane spur blight and black currant septoria causal agents preceded 70%. The results of field testing in 2008-2010 showed that strain В-10641 suppressed the raspberry cane spur blight and black currant septoria development with biological efficiency 65 and 56 percent respectively. In 2010 all strains suppressed raspberry, black currant and strawberry diseases. In addition, flooding strawberry roots before seeding by bacterial suspension increased plant survival and biomass. The strains studied here could be promising biocontrol agents for disease control on soft fruit.

**Key words:** antagonistic activity, bacterial strains, biological efficiency, biopreparations, diseases of soft fruit

УДК 579.26+632.937

## ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА ФИТОП 8.67 НА ВОЗБУДИТЕЛЯ КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ГАЗОННОЙ ТРАВЫ

О.Н. УСОВА, аспирант

М.В. ШТЕРНШИШ, доктор биологических наук, профессор

Новосибирский ГАУ

А.А. ЛЕЛЯК, кандидат биологических наук, зав. лабораторией

Научно-производственная фирма «Исследовательский центр»

E-mail: onik.u@mail.ru

**Резюме.** Исследования проводили с целью оценки ингибирующей активности бактериального препарата фитоп 8.67 на основе бактерий *Bacillus subtilis* и *B. amyloliquefaciens* в отношении возбудителя корневой гнили мятлика лугового – *Fusarium oxysporum*, выделенного из пораженных растений мятлика лугового.

Использование фитоба 8.67 с концентрации суспензии препарата  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл на 7-е сутки обеспечивает уменьшение роста колоний патогена. Ингибирующая активность биопрепарата достигает 20 и 60 % соответственно.

При обработке семян мятлика лугового перед посевом в искусственно зараженную возбудителем болезни почву фитобом 8.67 на 15-е сутки их всхожесть в вариантах с концентрацией суспензии  $10^6$ ,  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл достоверно увеличивается на 13,3...22,2 %. Одновременно по мере повышения концентрации биопрепарата увеличивается длина проростков. Наибольшая величина этого показателя отмечена при обработке суспензией с концентрацией микроорганизмов  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл, где она выросла, по сравнению с контролем, на 0,45 и 0,74 см соответственно.

Всхожесть семян во влажной камере повышается (в 2 раза) при концентрации препарата  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл. Дальнейшее ее увеличение обеспечивает лишь незначительный рост величины изучаемого показателя на уровне тенденции. На длину проростков в этом случае препарат практически не влияет.

Препарат фитоп 8.67 можно рассматривать как перспективное средство для биологического контроля фитопатогенного гриба *F. oxysporum*, вызывающего корневую гниль газонных трав.

**Ключевые слова:** газон, мятлик луговой, фитоп 8.67, ингибирующая активность, *Fusarium oxysporum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*.

Сегодня все большую роль в озеленении городов и приусадебных участков играют газоны. Лимитирующий фактор в их поддержании – поражение трав, в том числе мятлика лугового (*Poa pratensis* L.), комплексом болезней. Как правило, развитие заболеваний связано с длительным выращиванием травостоев на одном месте и накоплением инфекционного начала на растительных остатках и в почве [1].

Более 80 лет для борьбы с болезнями газонных трав использовали синтетические фунгициды. Их экологически безвредной альтернативой могут стать биологические препараты [2].

Интенсивные исследования по биоконтролю болезней газонных трав проводили зарубежные ученые в конце 90-х годов XX века. Они установили, что использование микроорганизмов, обладающих антаго-

стическими свойствами по отношению к возбудителям болезней, эффективно. Среди них широко распространены бактерии родов *Pseudomonas* и *Bacillus*, грибы рода *Trichoderma* и др. [3,4]. Кроме того, в последние годы в России для подавления болезней газонных трав предложено использование биопрепарата алирин Б на основе *Bacillus subtilis* [5].

Цель наших исследований – оценить ингибирующую активность бактериального препарата фитоп 8.67 в отношении возбудителя корневой гнили мятлика лугового.

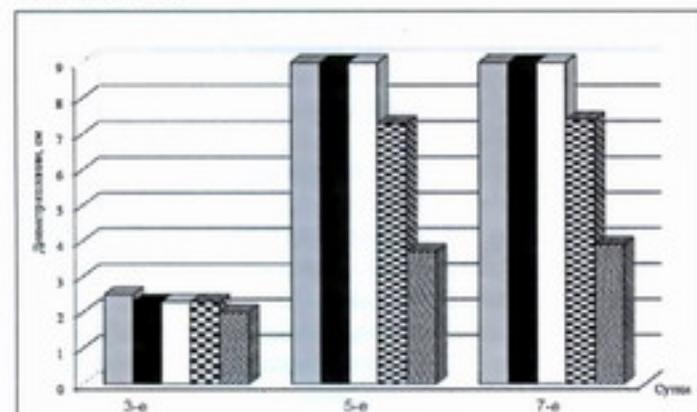
**Условия, материалы и методы.** Исследования проводили в лабораторных условиях. В качестве объектов использовали сорт Балин мятлика лугового (*Poa pratensis* L.), чистую культуру гриба *Fusarium oxysporum* Schlecht. Fr. – возбудителя корневой гнили, биологический экспериментальный препарат фитоп 8.67 (титр  $11^6$  КОЕ/мл) на основе споровой биомассы бактерий *Bacillus subtilis* шт. ВКПМ В-10641, шт. ВКПМ В-10642, *B. amyloliquefaciens* шт. ВКПМ В-10643, разработанный научно-производственной фирмой «Исследовательский центр».

Оценку антагонистической активности биопрепарата проводили на чистой культуре гриба с использованием методики агаровых блоков [6]. Активность препарата определяли по изменению диаметра колонии гриба, в сравнении с контролем. [7].

Чистую культуру гриба *Fusarium oxysporum* получали путем посева пораженных частей растений мятлика лугового на питательные среды Чапека и картофельно-глюкозный агар. Видовую принадлежность патогена определяли по классификации, предложенной Е. Б. Нельсоном [8].

Модельный опыт по искусственному заражению почвы проводили в лаборатории кафедры энтомологии и биологической защиты растений НГАУ. В контейнеры со стерильной почвой вносили суспензию *Fusarium oxysporum* (120 конидий на 1 г почвы) и равномерно распределяли по поверхности семена мятлика лугового, предварительно обработанные препаратом фитоп 8.67 в концентрации  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл. В качестве второго варианта обработанные семена закладывали во влажную камеру (чашки Петри с влажной фильтровальной бумагой). Учитывали всхожесть семян и длину проростков. Все опыты проводили в четырех повторностях.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли методом дисперсионного анализа [9] с использованием пакета программ Snedecor для Windows.



**Рисунок.** Диаметр колоний *Fusarium oxysporum* под влиянием препарата: фитоп 8.67: ■ – в концентрации  $10^4$  КОЕ/мл; □ –  $10^5$  КОЕ/мл; ▨ –  $10^6$  КОЕ/мл; ▩ – контроль (HCP<sub>05</sub> на 3-е сутки составляет 0,73, на 5-е – 2,37, на 7-е – 2,68 см).

**Результаты и обсуждение.** Из больных растений мятлика лугового, как основного компонента газонных трав, мы выделили в чистую культуру местный штамм возбудителя корневой гнили – гриб *Fusarium oxysporum*.

Использование фитоп 8.67 с концентрации суспензии препарата  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл на 5-е и 7-е сутки обеспечило уменьшение роста колоний патогена. Причем в случае применения в максимальной из используемых концентраций их диаметр уменьшился более чем в 2 раза (см. рисунок). Ингибирующая активность (ИА, %) биопрепарата в этих вариантах на 7-е сутки составила около 20 и 60 % соответственно.

При обработке семян мятлика лугового фитопом 8.67 в опыте с искусственным заражением почвы возбудителем болезни газонной травы на 15-е сутки всхожесть семян в вариантах с концентрацией суспензии  $10^5$ ,  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл достоверно увеличилась на 13,3...22,2 % (см. табл.). При этом длина проростков возрастала по мере повышения концентрации биопрепарата. Наибольшая ее величина отмечена при об-

Таблица. Влияние препарата на всхожесть семян и длину проростков при искусственном инфицировании почвы грибом *F. oxysporum*

Вариант	Всхожесть, %		Длина проростков, см	
	9-е сутки	15-е сутки	9-е сутки	15-е сутки
Контроль	6,67	11,1	0,4	2,13
фитоп, $10^4$	3,3	7,8	0,2	2,24
фитоп, $10^5$	4,4	24,4	0,2	2,38
фитоп, $10^6$	15,6	33,3	0,4	2,58
фитоп, $10^7$	12,2	30,0	0,3	2,87
HCP <sub>05</sub>	8	10	0,2	0,7

работке суспензией с концентрацией микроорганизмов  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл, где длины проростков увеличились на 0,45 и 0,74 см.

Всхожесть семян газонной травы во влажной камере возрастала при концентрации препарата  $10^4$  и  $10^5$  КОЕ/мл (в 2 раза). Дальнейшее ее повышение обеспечивало лишь незначительный рост величины этого показателя на уровне тенденции. На длину проростков в этом опыте препарат практически не влиял. Это, на наш взгляд, свидетельствует о том, что в условиях высокой влажности и отсутствия инфекционного фона зависимость эффективности препарата от концентрации изменяется.

**Выводы.** Ингибирующая активность (до 60 %) биологического препарата фитоп 8.67 на основе бактерий рода *Bacillus* по отношению к чистой культуре штамма фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum*, выделенного из биоциноза газонных трав, проявляется при использовании суспензии препарата в концентрациях  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл.

Кроме того, препарат оказывает ростстимулирующее влияние на растения мятлика лугового. При его использовании на инфекционном фоне и средней влажности увеличивается всхожесть и длина проростков. Наилучший эффект обеспечивают высокие концентрации препарата ( $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/мл), в случае обработки которыми всхожесть на 15-е сутки достигает 30,0...33,3 %, длина проростков – 2,58...2,78 см. При высокой влажности и отсутствии инфекционного фона стимулирующее влияние оказывают более низкие концентрации –  $10^4$  и  $10^5$  КОЕ/мл.

Биологический препарат фитоп 8.67 перспективен для биологического контроля фитопатогенного гриба *F. oxysporum*, вызывающего корневую гниль газонных трав, что требует дальнейших исследований в полевых условиях.

## Литература.

1. Лаптев А. А. Газоны. – Киев: Наукова думка, 1983. 243 с.
2. Nelson E. B. Biological control of turfgrass diseases // *Advances Plant Disease management* (eds. Hung – Chang Huang, S. N. Acharya). 2003. Res. Signpost, Kerala India. – P. 19-51.
3. Nelson E. B., Craft C. V. A miniaturized and rapid bioassay for the selection of soil bacteria suppressive to *Pythium* blight of turfgrass // *Phytopathology*. – 1992. – V. 82. – P. 206-210.
4. Lo C. N. Biological control of turf diseases using *Trichoderma harzianum* // *Plant Prot. Bulletin*. – 1997. – V. 39. – P. 207-225.
5. Алирин, Гамаир, глиокладин // ЗАО Агробиотехнология / [http://selhozservis.ru/index.php?id\\_menu=43](http://selhozservis.ru/index.php?id_menu=43)
6. Рудаков О. Л. Микофильные грибы, их биология и практическое значение. – М.: Наука, 1981. – 157 с.
7. Соколова М. В. Хитиноподобная и антигрибная активность трех штаммов бактерии рода *Serratia* // *Современная биотехнология в решении проблем защиты растений*. – СПб., 1995. – С. 214-224.
8. Nelson E. B. Biological control of turfgrass diseases. // *Inform. Bul. Cornell Coop. Extension*. – 1992. – V. 220. – P. 1 – 12.
9. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. 350 с.

## THE INFLUENCE OF BIOPREPARATION PHYTOP 8.67 ON CAUSING AGENT OF TURFGRASS ROOT ROT

O. N. Usova, M. V. Shternshis, A. A. Lelak

**Summary.** Antagonistic activity of biological preparation Phytop 8.67 based on bacteria *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* towards *Fusarium oxysporum* Shlecht. Fr., causing agent of turfgrass root rot, isolated from damaged plants of *Poa pratensis* L., has been estimated. It was shown that inhibitory (antagonistic) activity of the Phytop 8.67 displayed at the concentrations 106 and 107 CFU/ml. The influence of the preparation on sprouting seeds and shooting length of turfgrass *Poa pratensis* L. as a basic component has been noticed. At high humidity without infection lesser concentrations of Phytop 8.67 appeared to be more active. The results pointed out that the preparation is promising one for turfgrass protection against root rot.

**Key words:** turfgrass, *Poa pratensis*, Phytop 8.67, inhibitory activity, *Fusarium oxysporum*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*.

УДК 634.22:631.54:581.1

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ОТДАЛЁННЫХ ГИБРИДОВ ПОДСЕМЕЙСТВА *PRUNOIDEAE* В КАЧЕСТВЕ ПОДВОЕВ СЛИВЫ

Д. С. ГАРАПОВ, младший научный сотрудник  
И. А. ПУЧКИН, кандидат сельскохозяйственных наук,  
руководитель селекционного центра  
НИИ садоводства Сибири имени М. А. Лисавенко  
Россельхозакадемии  
E-mail: niilisavenko@hotmail.ru

**Резюме.** Основная причина слабого распространения сливы в Сибири – выпревание коры и камбия корневой шейки и нижней части штамба. В многоснежных районах этот вид зимнего повреждения проявляется ежегодно. Решить проблему можно прививкой растений сливы на устойчивые к выпреванию штамбообразователи, которые одновременно должны быть и морозоустойчивыми. В качестве устойчивых к выпреванию интеркалярных подвоев-штамбообразователей для сливы сибирского сорта изучали пригодность 10 отдалённых гибридов. Недостаточно морозоустойчивы 18-119 с-ц Тёрна № 3 (2n = 48), *Microcerasus tomentosa* × *M. erythrosargra*, 4 бригада (альча гибридная). Неустойчивы к выпреванию 7-92-21 Пчёлка × тёрн (2n = 32) и *Microcerasus tomentosa* × *M. erythrosargra*. В качестве интеркалярных подвоев-штамбообразователей можно рекомендовать гибриды 61-2, 61-5 афлатунья × слива уссурийская, 3-10 св. оп. 141-2 вишня песчаная × афлатунья, 18 квартал (св. оп. гибрида вишня песчаная × афлатунья), 11-73 тёрн × слива уссурийская (2n = 24), 8-3-21 с-ц 1-50 Заря × альча, сочетающие высокую морозостойкость и устойчивость к выпреванию.

**Ключевые слова:** слива, отдалённые гибриды, устойчивость, подмерзание, выпревание, снежный покров, подвой-штамбообразователи.

Европейские сорта сливы в Сибири не возделывают из-за низкой зимостойкости. В районированный

сортимент входят сорта, созданные на основе сливы уссурийской (*Prunus salicina* ssp. *ussuriensis* (Koval. et Kost.) Erem.). Они обладают хорошим вкусом плодов и высокой потенциальной урожайностью, которая, однако, не реализуется из-за слабой приспособленности культуры к местным условиям. Наибольший вред растениям наносит выпревание [1], которое служит основной причиной низкой урожайности и слабого распространения сливы в сибирском регионе.

Выпревание проявляется в побурении коры и гнили камбия у корневой шейки и на штамбе до высоты 30...40 см от уровня почвы. Древесина под отмершей корой остаётся неповреждённой. Существует так называемое «типичное» (первый тип) выпревание, проявляющееся ежегодно, и «нетипичное» (второй тип), которое обусловлено ранними морозными повреждениями [2].

Степень повреждения от выпревания зависит от высоты снежного покрова, а также связана с возрастом, состоянием растений и агротехникой. Взрослые деревья с развитым толстым штамбом более устойчивы к выпреванию, чем молодые 2-4-хлетние.

Кроме того, характер зимних повреждений зависит от условий предшествующего вегетационного периода. Выпреванию способствуют обильные дожди во второй половине лета и осенью, которые затягивают рост и вызревание тканей.

Решить обозначенную проблему можно, прививая растения сливы на штамбообразователи, устойчивые