



АНТАГОНИСТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*

Конурбаева М.У.

Биолого-почвенный институт НАН КР, Бишкек, Кыргызстан

E-mail: tinatin2252@gmail.com

Доолоткельдиева Т.Д.

Кыргызско-Турецкий университет «Манас», Инженерный факультет, Бишкек, Кыргызстан

E-mail: tdoolotkeldieva@gmail.com

Аннотация

Изучены антагонистические свойства бактерий рода *Pseudomonas* по отношению к ряду фитопатогенов сельхозкультур. В лабораторных условиях, была определена биологическая активность коллекционных штаммов бактерий *Pseudomonas* по отношению к каждому виду фитопатогенов. Из исследованных штаммов ярковыраженным, широким спектром антибиотического действия обладали штаммы: *Pseudomonas fluorescens* 7 – ISS, Kd – 5 -3.

Ключевые слова: бактерии *Pseudomonas*, антагонизм, фитопатоген, агробиотехнология.

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *PSEUDOMONAS* BACTERIA TO PHYTOPATHOGENIC FUNGI

Abstract

The antagonistic activity of *Pseudomonas* bacteria against the phytopathogen fungi of agricultural plants was studied. The laboratory collection of *Pseudomonas* bacteria has been tested for a biological activity to different species of phytopathogen fungi.

P. fluorescens, 7-ISS and *P. fluorescens*, KD -5 -3 strains have shown a high effective and broad spectrum antibiotic activity to phytopathogen fungi of agricultural plants.

Key words: bacteria, antagonism, phytopathogen, agro biotechnology.

Введение

Эффективность использования в практике растениеводства биологических, и в частности микробиологических объектов для защиты растений от фитопатогенов исследуется около 70 лет [1]. В начале 80-х годов интерес к биологическому контролю резко возрос в связи с расширением возможностей получения биопрепаратов, конкурентоспособных химическим средствам защиты растений.

В настоящее время бактерии, обладающие совокупностью полезных для растений свойств, принято обозначать как PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – ризобактерии, способствующие росту растений). Исследования этой перспективной для практики группы ризобактерий вызывают большой интерес, чем обусловлено регулярное проведение международных симпозиумов по проблеме изучения и практического использования PGPR. Среди PGPR различных таксономических групп широким набором полезных для растений свойств выделяются ризосферные *Pseudomonas*. Они являются потенциальными объектами агробиотехнологии для разработки на их основе биологических средств защиты растений от фитопатогенов, а также биопрепаратов, стимулирующих рост и повышающих продуктивность растений [1, 2].

Целью работы является отбор эффективных штаммов бактерий рода *Pseudomonas* с антагонистическими свойствами в отношении фитопатогенов сельхозкультур.

Материал и методы исследований

Объектом исследований служила рабочая лабораторная коллекция бактерий рода *Pseudomonas* (всего 21 штамм), выделенные из разных экосистем Кыргызстана (табл.1). Антибиотическая активность штаммов изучалась следующими методами:

1. *Методом перпендикулярных штрихов*, на мясо-пептонном агаре и на среде Чапека. Испытуемые штаммы наносились в виде штриха по диаметру, после инкубации 2-3-х суток к штаммам перпендикулярно подсевались тест-объекты. Активность определялась по зонам угнетения роста тест-объектов, в мм.
2. *Метод агаровых блочков*. На одних чашках Петри выращивали сплошным газоном испытуемые штаммы, в других - тест-объекты. Из хорошо развитых штаммов стерильной полый трубкой вырезали агаровые блочки диаметром 10 мм и переносили их в чашки с тест-культурами.

В качестве тест-объектов использовали 5 культур фитопатогенных грибов, выделенных из разных сельскохозяйственных растений.

Пшеница яровая (*Triticum aestivum*) сорта “Икарда” (опытное поле с.Селекционное, летний период). Заболевание растения проявлялось в форме увядания; пораженные растения быстро увядают, на срезе стебля заметно потемнение сосудов, наблюдается побурение и отмирание листьев, пустоколосость и щуплость зерна. Макроконидии веретеновидно-серповидные, эллиптически изогнутые, с 3-5 перегородками. Из стеблей и листьев пшеницы, был выделен грибок, идентифицированный как, *Fusarium oxysporum* (рис.1).

Огурцы (*Cucumis sativus*), сбор проводился в осенний период, на крестьянских полях ж/м Ак-Орго. Заболевание растения, проявлялось в виде полуувядших стеблей, с недоразвитыми плодами, корневая шейка бурая или черного цвета. На пораженных тканях беловатый паутинистый налет, из корневой шейки был выделен гриб, идентифицированный как, *Pythium de Baryanum* (рис.2).

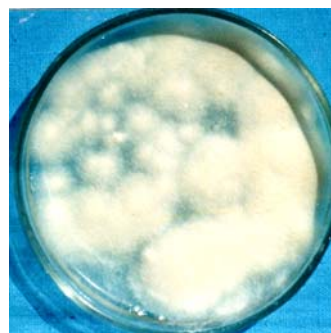


Рис. 1. Чистая культура *Fusarium oxysporum* **Рис. 2.** Чистая культура *Pythium de Baryanum*

Кукуруза (*Zea mays*), образцы отбирались в летний период в с. Селекционное. Стебли растения с черными пятнами; на влагалищах листьев и на початках заметен черный, тонко распыленный порошачий налет. Споры крупные, одноклеточные, шаровидно-приплюснутые, черного цвета, 15 μ в диаметре. Гриб идентифицировали как *Nigrospora oryzae*.

Картофель (*Solanum tuberosum*). Сбор проводился в летний период, на приусадебном участке с.Кой-Таш. Клубни картофеля покрыты темно-бурыми пятнами, по краям долек листьев также темно-бурые пятна. Конидиеносцы одиночные, извилистые, с перегородками, оливково-коричневые. Гриб идентифицировали как *Alternaria solani* (рис.3).



А

Б

Рис. 3. А- Чистая культура, колонии, Б- Конидии Увел. 40x15 *Alternaria solani*

Таблица 1. Источники выделения бактерий рода *Pseudomonas*.

№	Коллекционные номера штаммов	Источник выделения
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		
1.	A –11.12	Речная микрофлора
2.	П- 4.7	Почва
3.	Пш – 2	Ризосфера пшеницы
4.	A – 12.9	Речная микрофлора
5.	7 – ISS	Почва
6.	NR – 4(10)	Почва
7.	1 – ISS	Почва
8.	A - 9.13	Речная микрофлора
9.	Kd – 5 -3	Почва
10.	A -12.10	Речная микрофлора
11.	A – 9.11	Речная микрофлора
12.	A -13.3	Речная микрофлора
13.	16 – ISS	Почва
14.	NR – 2(4)	Почва
<i>Pseudomonas putida</i>		
15.	№ 4/4	Речная микрофлора
16.	№5.2	Речная микрофлора
17.	№14. 21	Почва
18.	№5.3	Речная микрофлора
<i>Pseudomonas aurantiaca</i>		
19.	Л – 1.5	Ризосфера люцерны
20.	Пш – 3	Ризосфера пшеницы
21.	Л-1.6	Ризосфера люцерны

Результаты и обсуждение

Полученные данные показали, что 3 штамма *Pseudomonas fluorescens*, из всех испытанных проявляют выраженную антибиотическую активность в отношении той или иной тест – культуры. Так, штамм 7 – ISS проявил различную степень антибиотической активности в отношении всех испытываемых тест культур фитопатогенов. Тогда как другой штамм NR – 4(10) был активным только в отношении двух патогенов - *Fusarium oxysporum* и *Pythium de Baryanum*, при этом антифунгальная активность сильнее проявилась в отношении *Fusarium oxysporum*, так зона подавления составляла $9\pm 0,4$ мм. Штамм Kd – 5 -3 также был активным в отношении вышеуказанных двух патогенов, особенно его активность проявилась в отношении *Fusarium oxysporum*, зона подавления достигла до $12\pm 0,6$ мм.. Он

также губительно воздействовал на *Pythium de Baryanum*, зона подавления роста составляла $7\pm 0,4$ мм.

Из штаммов вида *Pseudomonas putida*, только 2 штамма - №14 и №5.3. проявили антагонистическую активность в отношении 2-х тест-объектов, хотя зоны подавления были незначительными - $5\pm 0,5$ и $3\pm 0,3$ мм.

Из вида бактерий *Pseudomonas aurantiaca* более выраженным антибиотическим свойством обладал штамм- Л-1.6. Так зона ингибирования в отношении *Fusarium oxysporum* составляла 10 мм, *Pythium de Baryanum* – 8мм, на *Alternaria solani* – 4мм (табл.2).

Таблица 2. Антагонистическая активность штаммов псевдомонад в отношении тест-микроспор.

№	Коллекционные номера штаммов <i>Pseudomonas</i>	Зона подавления роста, мм			
		<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Pythium de Baryanum</i>	<i>Nigrospora oryzae</i>	<i>Alternaria solani</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>					
1.	А -11.12	-	-	$2\pm 0,3$	-
2.	П- 4.7	-	-	-	-
3.	Пш – 2	$3\pm 0,1$	$1\pm 0,1$	-	-
4.	А – 12.9	$3\pm 0,2$	-	-	-
5.	7 – ISS	$7\pm 0,3$	$4\pm 0,4$	$2\pm 0,1$	$5\pm 0,2$
6.	NR – 4(10)	$9\pm 0,4$	$3\pm 0,5$	-	$3\pm 0,2$
7.	1 – ISS	-	-	-	-
8.	А - 9.13	$4\pm 0,5$	-	-	-
9.	Kd – 5 -3	$12\pm 0,6$	$7\pm 0,4$	-	-
10.	А -12.10	-	-	-	-
11.	А – 9.11	$2\pm 0,2$	-	-	-
12.	А -13.3	$4\pm 0,3$	-	-	-
13.	16 – ISS	-	-	-	-
14.	NR – 2(4)	-	-	-	-
<i>Pseudomonas putida</i>					
15.	№ 4/4	-	-	-	-
16.	№5.2	-	-	-	-
17.	№14.	$5\pm 0,5$	$3\pm 0,3$	-	-
18.	№5.3	$3\pm 0,2$	$2\pm 0,4$	-	-
<i>Pseudomonas aurantiaca</i>					
19.	Л – 1.5	-	-	-	-
20.	Пш – 3	$4\pm 0,2$	$1\pm 0,1$	-	-
21.	Л-1.6	$10\pm 0,2$	$8\pm 0,3$	-	$4\pm 0,3$

Проведенными исследованиями установлено, что активность одних и тех же штаммов к разным патогенам различна. Наиболее чувствительными к действию антагонистов были *Fusarium oxysporum* и *Pythium de Baryanum*. Так, их рост и развитие подавляли 5 штаммов: *Pseudomonas fluorescens* (7 – ISS, NR – 4(10), Kd – 5 -3), *Pseudomonas putida* (№14. 21), *Pseudomonas aurantiaca* (Л-1-6). Тогда как фитопатоген *Nigrospora oryzae* оказался самым устойчивым к псевдомонадам. Только 1 вид *Pseudomonas putida* штамм №14. оказал сопротивление, но зона лизиса небольшая – 2мм, т.е. сила обоих штаммов была одинаковой. К грибу *Alternaria solani*, устойчивыми оказались 4 штамма. Надо отметить, что одни и те же штаммы, оказали воздействие на 3 вида гриба.

Наиболее широким спектром антибиотического действия обладает штамм *Pseudomonas fluorescens* (7 – ISS), который замедляет рост и развитие всех испытуемых тест – объектов.

По литературным данным антифунгальный эффект обусловлен синтезом феназин-1-карбоновой кислоты. По нашим данным штаммы, образующие пигмент, были в действительности более активны по отношению к фитопатогенам. Не образующие феназиновый пигмент не обеспечивали защитного действия [5].

Очень важную роль играют соединения - сидерофоры, синтезируемые бактериями рода *Pseudomonas*. Сидерофоры –соединения, осуществляющие транспорт железа, широко распространены у различных групп аэробных микроорганизмов. Связывание железа сидерофорами, образуемыми флюоресцирующими бактериями рода *Pseudomonas*, приводит к угнетению патогенов ризосферы. Дефицит железа, создаваемый синтезом или внесением сидерофоров, ограничивает численность фитопатогенов, в то же время стимулирует рост и развитие сельскохозяйственных растений [3, 4, 5].

Нами проведены наблюдения на перифериях антибиотических зон, где появлялась задержка прорастания спор. Так, на рисунках 3,4 показаны зоны лизиса фитопатогенов. Под микроскопом, ближе к перифирии из проросших спор формировался мицелий с морфологическими уродствами в форме образования сферопластов на кончиках ростовых труб и растущих гиф. Вне зоны диффузии мицелий был хорошо развит и имел типичный для конкретной культуры вид.



Рис. 3. Антагонистическое действие штамма NR – 4(10) на гриб *Alternaria*.



Рис. 4. Антагонистическое действие штамма Kd-5-3 на гриб *Pitium de baryanum*.

Таким образом, в лабораторных условиях, была определена биологическая активность коллекционных штаммов бактерий *Pseudomonas* по отношению к каждому виду фитопатогенов. Из исследованных штаммов ярковыраженным и широким спектром антибиотического действия обладали штаммы *Pseudomonas fluorescens*: 7 – ISS, Kd – 5 -3. Эти исследования имеют продолжение.

Литература

1. Боронин А.М. 1998. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений. Смирнов В.В. Киприанова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas*, 1990.
2. Пидопличко Н.М. 1977. Грибы-паразиты культурных растений. Определитель.
3. Хохряков М.К. 1966. Определитель болезней растений.
4. Misaghi I.J., Stowell L.J., Grogan R.G., Spearman L.C. 1982. Fungistatic activity of water-soluble fluorescent pigments of fluorescent *Pseudomonads* // *Phytopathology*.- 72, №1. - P.33-36
5. Stowell L.J., Stanghellini M.E., Misaghi I.J. 1981. The bacteriostatic activity of fluorescent pigment on *Pseudomonas fluorescens* // *Phytopathology* 71, №8. - P.906