

УДК 579.646.31+5173.6.068.8/35

**ПОИСК АНТАГОНИСТОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ В БОРЬБЕ С
ГРИБАМИ - ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ЗАБОЛЕВАНИЙ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР**

С. БУРЦЕВА, Т. СЫРБУ

Институт микробиологии и биотехнологии АНМ

Abstract. There are showed the active antagonists from 22 strains of micromycetes genus *Penicillium* and 22 strains of actinomycetes genus *Streptomyces* to fight against phytopathogenic fungi. *A. alternata*, *B. cinerea*, *Sc. sclerotiorum*, *T. basicola* and 3 strains of genus *Fusarium*.

Key words: Antifungal activity, Micromycetes, Phytopathogenic fungi, Streptomyces.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что бактериальные, грибные и вирусные заболевания сельскохозяйственных растений значительно понижают урожайность и наносят большой ущерб экономике сельского хозяйства. Поэтому вопросы разработки эффективных средств борьбы с фитопатогенными микроорганизмами постоянно находятся в центре внимания науки и производства (М. Шигаева, 1977, К. Виноградова, 2006). В настоящее время микробиологические методы занимают определенное и заметное место среди комплексных мер защиты растений, включая химические средства, агротехнические и селекционные приемы по получению устойчивых к заболеваниям сортов растений (В. Звенигородский и др., 2004; E. Flaerвик, S. Zotchev, 2005).

Целью исследований было выявление штаммов-антагонистов против грибных возбудителей заболеваний сельскохозяйственных растений среди выделенных из почв Молдовы микромицетов и стрептомицетов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Антифунгальную активность определяли методом агаровых блоков у представителей микромицетов и актиномицетов, выделенных из почв Молдовы. В опытах использовали 22 штамма микромицетов рода *Penicillium*, выбранных из 150 почвенных изолятов, и 22 штамма актиномицетов рода *Streptomyces*, выбранных из 200 почвенных изолятов на соответствующих селективных средах (Н. Егоров, 2004).

В опытах был использован спектр из 13 штаммов фитопатогенных грибов - возбудителей фузариоза, монилиоза, серой гнили и ожогов у плодовых, ягодных, овощных культур и винограда.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований антифунгальной активности представлены в таблицах 1 и 2. Видно, что у представителя рода *Aspergillus* - *A. niger* образование зон задержки роста вызывали 6 штаммов рода *Penicillium* (12,0 - 26,0 мм) и 6 штаммов стрептомицетов (11,0 - 25,0 мм). Рост *A. flavus* задерживали 5 штаммов рода *Penicillium* и 5 штаммов рода *Streptomyces* (11,0-29,0 мм).

Активным антагонистом против фузариозов можно назвать штамм *Penicillium sp. 104*, под действием метаболитов которого у *F. solani* замечены зоны подавления роста -60,0 мм. Из стрептомицетов - *Streptomyces sp. 9* и *Streptomyces sp. 33* активно задерживали рост *F. graminearum* (зоны 28,0 и 30,0 мм соответственно). Штаммы *Streptomyces sp. 9* и *Streptomyces sp. 155* задерживали рост *F. oxysporum* (зоны 34,0 и 28,0 мм соответственно), а под воздействием метаболитов штамма *Streptomyces sp. 9* замечены зоны задержки роста *F. solani* диаметром 29,0 мм.

Можно отметить 2 штамма - *Penicillium sp.2* и *Penicillium sp. 5*, которые в равной степени проявляли свою способность активно подавлять рост *A. Alternata*: зоны достигали 30,0-35,0 мм, а из стрептомицетов - *Streptomyces sp. 9* и *Streptomyces sp. 12* вызывали появление зон от 25,0 до 29,0 мм. Особый интерес представляют штаммы стрептомицетов – *Streptomyces sp. 33* и *Streptomyces sp 37*, под действием метаболитов которых происходило полное подавление роста *A. alternata*.

9 штаммов стрептомицетов и 9 штаммов пенициллов задерживали с разной степенью активности рост такого фитопатогена как *B. cinerea* (диаметр зон от 10,5 до 35,0 мм). Однако, если среди антагонистов - пенициллов лучшим можно считать штамм *Penicillium sp. 5*, метаболиты которого вызывают образование зон диаметром 35,0 мм, то стрептомицеты задерживают рост этой тест-культуры от 12,0 до 29,0 мм, а *Streptomyces sp. 17* вызвал полное подавление роста этого фитопатогена.

Выделенные из почвы Молдовы пенициллы проявили способность задерживать рост *P. fumigatus* с зонами 15,0-20,0 мм, и только 2 штамма *Streptomyces sp. 9* и *Streptomyces sp. 66* могли вызвать задержку роста этой тест-культуры диаметром 27,0-28,0 мм. Для такого фитопатогена, как *T. basicola* более активными антагонистами являлись пенициллы, так как 14 штаммов вызывали задержку роста разного уровня (зоны от 14,0 до 35,0 мм). Из стрептомицетов 13 штаммов обладали способностью задерживать рост этого гриба (зоны от 12,0 до 29 мм).

Таблица 1

Антифунгальные свойства микромицетов, выделенных из почв Молдовы

Антагонисты (<i>Penicillium</i>)	Тест культуры												
	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>	<i>Alt. altern</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysp.</i>	<i>F. gramin.</i>	<i>Sc. sclerot.</i>	<i>Tiel. basic</i>	<i>P. fumicul</i>	<i>M. vulgari</i>	<i>Rh. solani</i>	<i>M. fructi</i>
<i>P. sp.2</i>	0	0	35,0	25,0	15,0	-	-	20,0	25,0	-	0	3.роста	-
<i>P. sp.4</i>	0	0	0	0	12,0	-	12,0	-	-	-	-	-	-
<i>P. sp.5</i>	0	0	35,0	35,0	15,0	-	0	0	35,0	-	0	0	0
<i>P. sp.6</i>	14,0	16,0	0	0	24,0	0	20,0	3.роста	25,0	20,0	22,0	20,0	0
<i>P. sp.7</i>	0	-	0	16,0	19,0	-	22,0	-	-	-	-	-	-
<i>P. sp.10</i>	0	0	20,0	0	15,0	-	-	0	18,0	0	0	0	0
<i>P. sp.16</i>	0	-	0	18,0	19,0	-	20-22	-	-	-	0	0	0
<i>P. sp.17</i>	0	-	0	16,0	19,0	-	25,0	-	-	-	-	-	-
<i>P. sp.18</i>	0	-	0	0	13,0	-	12,0	-	-	-	-	-	-
<i>P. sp.19</i>	0	15,0	20,0	22,0	25,0	18,0	22,0	0	22,0	0	14,0	0	0
<i>P. sp.23</i>	26,0	0	0	0	25,0	0	20,0	0	20,0	0	30,0	18,0	3.роста
<i>P. sp.48</i>	0	0	0	16,0	0	3.роста	18,0	0	20,0	3.роста	0	0	0
<i>P. sp.52</i>	0	25,0	0	0	0	3.роста	3.роста	0	25,0	3.роста	0	0	0
<i>P. sp.53</i>	3.роста	3.роста	0	0	0	0	3.роста	0	22,0	0	0	0	0
<i>P. sp.65</i>	3.роста	20,0	26,0	22,0	21,0	20,0	20,0	0	25,0	18,0	0	20,0	0
<i>P. sp.66</i>	3.роста	0	0	0	0	-	-	0	20,0	-	0	0	0
<i>P. sp.69</i>	15,0	0	25,0	0	0	-	-	0	26,0	-	3.роста	0	3.роста
<i>P. sp.70</i>	19,0	18,0	0	0	26,0	0	23,0	0	0	0	22,0	0	0
<i>P. sp.72</i>	15,0	0	16,0	0	0	-	-	0	15,0	-	18,0	0	3.роста
<i>P. sp.77</i>	0	0	0	0	17,0	-	-	0	0	-	0	0	0
<i>P. sp.102</i>	3.роста	0	0	0	0	3.роста	0	0	0	20,0	0	0	0
<i>P. sp.104</i>	22,0	3.роста	0	18,0	60	25,0	3.роста	0	23,0	16,0	40,0	25,0	0

Примечание: «0» - отсутствие активности; «-» - определение активности не проводилось

Таблица 2

Антифунгальные свойства актиномицетов, выделенных из разных почв Молдовы

Антагонисты (Streptomyces)	Тест культуры												
	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>	<i>Alt. alternata</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysp.</i>	<i>F. gramin.</i>	<i>Sc. sclerotii</i>	<i>Tiel. basic</i>	<i>P. fumigat</i>	<i>M. vulgaris</i>	<i>Rh. solani</i>	<i>M. fructi</i>
<i>S.sp. 7</i>	0	0	0	12,0	0	0	15,0	0	20,0	0	0	0	0
<i>S.sp. 9</i>	19,0	29,0	29,0	29,0	29,0	34,0	28,0	П.п.	29,0	27,0-	29,0	0	-
<i>S.sp. 10</i>	0	0	0	14,0	0	-	-	0	0	-	13,0	29,0	-
<i>S.sp. 12</i>	17,0	19,5	25,0	22,0	17,5	-	-	21,5	24,0	-	23,0	0	0
<i>S.sp. 17</i>	23,0	-	25,0	П.п	11,0	-	23,0	-	-	-	-	-	-
<i>S.sp. 23</i>	0	-	П.п	22,0	0	-	23,0	-	-	-	-	-	-
<i>S.sp. 33</i>	0	-	П.п.	24,0	0	-	30,0	-	-	-	-	-	-
<i>S.sp. 37</i>	25,0	-	П.п	24,0	14,0	-	25,0	-	-	-	-	-	-
<i>S.sp. 42</i>	0	0	0	13,0	0	12,0	0	П.п.	12,0	0	12,0	-	-
<i>S.sp. 44</i>	0	0	19,5	20,0	0	-	-	16,5	14,5	-	17,5	0	-
<i>S.sp. 45</i>	0	0	16,0	14,0	0	-	-	-	14,0	-	13,0	0	0
<i>S.sp. 47</i>	0	0	11,0	0	0	-	-	-	-	-	0	-	0
<i>S.sp. 66</i>	29,0	25,0	-	20,0	14,0	15,0	20,0	28,0	22,0	28,0	20,0	-	-
<i>S.sp. 73</i>	0	21,5	15,0	11,5	0	-	-	0	-	-	-	0	-
<i>S.sp. 76</i>	0	0	17,0	13,5	14,0	0	0	16,5	16,5	-	13,5	0	-
<i>S.sp. 120</i>	0	0	0	14,0	12,0	0	17,0	0	0	-	0	-	-
<i>S.sp. 122</i>	0	11,0	15,0	10,5	10,0	-	-	20,5	13,5	0	13,0	0	-
<i>S.sp. 133</i>	0	0	0	0	10,0	-	-	0	0	-	15,0	-	0
<i>S.sp. 145</i>	0	0	-	0	12,0	0	0	27,0	0	-	0	0	0
<i>S.sp. 155</i>	17,0	0	-	14,0	0	28,0	0	0	12,0	0	0	0	-
<i>S.sp. 178</i>	0	0	-	16,0	14,0	20,0	0	0	20,0	0	0	0	-
<i>S.sp. 193</i>	0	0	-	12,0	12,0	30,0	16,0	27,0	14,0	0	0	12,0	-

Примечание: «0» - отсутствие активности; «-» - определение активности не проводилось

Резко отличалась антифунгальная активность у стрептомицетов и микромицетов по отношению к такому тесту, как *Rh. solani* - возбудителю черной парши картофеля, гнили всходов сахарной свеклы, томатов и других культур. Так, из микромицетов по-разному действовали 5 штаммов: зоны варьировали от слабо заметных до 16,0-25,0 мм. Только 3 штамма стрептомицетов были способны задерживать рост *Rh. solani* - зоны составляли 12,0-29,0 мм.

Возбудитель белой гнили – *Sc. sclerotiorum* практически не имел антагонистов среди микромицетов почвы Молдовы. Изучаемые стрептомицеты неодинаково проявляли свою активность в отношении этой тест - культуры: у 2 штаммов (*Streptomyces sp.44* и *Streptomyces sp. 76*) активность была очень слабой, другие стрептомицеты вызывали образование зон диаметром 20,0-28,0 мм, а штаммы *Streptomyces sp.9* и *Streptomyces sp.42* обладали способностью полностью подавлять рост этого фитопатогена.

Активными антагонистами *M. vulgaris* показали себя два штамма микромицетов (*Penicillium sp. 23* и *Penicillium sp.104* – 30,0 мм и 40,0 мм соответственно) и 1 штамм стрептомицетов - *Streptomyces sp. 9* (зоны до 29,0 мм).

Итак, анализируя результаты определения антифунгальной активности выделенных из почвы центральной зоны Молдовы микромицетов и стрептомицетов можно отметить, что изучаемые штаммы рода *Penicillium* и рода *Streptomyces* по-разному проявляли антагонистические свойства к тому или иному тест-организму.

Особое внимание привлекают результаты определения антагонизма пенициллов к таким широко распространенным в Молдове фитопатогенам, как *A. alternata*, *B. cinerea*, *T. basicola*: из изучаемых представителей рода *Penicillium* были обнаружены штаммы, активно задерживающие их рост. Так, например, штамм *Penicillium sp. 2* вызывал задержку роста *A. alternata* зоной диаметром 35,0 мм. Следует подчеркнуть способность другого штамма - *Penicillium sp. 5* активно проявлять свои антагонистические свойства сразу к 3 фитопатогенам: зоны задержки роста тест-грибов были 30,0-35,0 мм.

При проведении сравнительного анализа антагонизма стрептомицетов к выбранным тест-грибам сразу же обращает внимание его разный уровень. Так, например, у штамма *Streptomyces sp. 42* при отсутствии антагонизма или же его слабого проявления (зоны 12,0-13,0 мм) к большинству тест-культур, выявлена способность практически полностью подавлять рост *Sc. sclerotiorum*. Или, например, у таких штаммов, как *Streptomyces sp. 145* и *Streptomyces sp. 193* при слабой активности в отношении большинства выбранных тест-культур обнаружено торможение роста *Sc. sclerotiorum*: зоны были размером до 27,0 мм, а под действием *Streptomyces sp. 9* и *Streptomyces sp. 42* происходило полное подавление роста этой тест-культуры.

Таким образом, проведенные исследования по изучению антагонистических свойств почвенных микромицетов и стрептомицетов показали, что у 5 штаммов микромицетов антифунгальный спектр составлен из 7-10 тест-культур, а из стрептомицетов этой особенностью обладают тоже 5 штаммов.

Из пенициллов выявлены 2 активных антагониста против *A.alternata* (*Penicillium sp. 2* и *Penicillium sp.5*), 1 штамм против *B.cinerea* (*Penicillium sp.5*), 1 штамм против *F. solani* (*Penicillium sp.104*), по 1 штамму против *T. basicola* (*Penicillium sp.5*) и *M. vulgaris* (*Penicillium sp.104*), показавшие образование зон отсутствия роста тест-грибов от 30,0 до 60,0 мм. У стрептомицетов выявлены штаммы, способные полностью подавлять рост *Sc. sclerotiorum*, *B. cinerea* и *A. alternata*, а также вызывать задержку роста других тест-грибов диаметром от 25,0 до 34,0 мм.

Полученные результаты позволяют рассматривать выделенные из почвы Молдовы пенициллы и стрептомицеты, как перспективные штаммы- антагонисты по отношению к фитопатогенным грибам–возбудителям заболеваний сельскохозяйственных растений.

ВЫВОДЫ

1. Из 22 микромицетов у 5 штаммов антифунгальный спектр составлен из 7-10 тест-культур, а среди 22 стрептомицетов этой особенностью обладают тоже 5 штаммов.
2. Активными антагонистами против 1-3 фитопатогенов можно считать 10 штаммов рода *Penicillium* и 12 штаммов рода *Streptomyces* (зоны 25,0 мм и более).

3. Из пенициллов выявлены 2 активных антагониста против *A. alternata*, по 1 штамму против *B. cinerea*, *T. basicola*, *F. solani* и *M. vulgaris*. (зоны отсутствия роста тест-грибов от 30,0 до 60,0 мм).

4. У стрептомицетов выявлены штаммы, способные полностью подавлять рост *A. alternata*, *B. cinerea* и *Sc. sclerotiorum*.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Виноградова, К. А. и др. Грибы и актиномицеты в черноземной почве: типы взаимоотношений. Материалы Межд. конф., посвящ. 75-лет Биологич. ф-та МГУ им. М. В. Ломоносова. Москва, 2006, с. 33-34.

2. Егоров, Н. С. Основы учения об антибиотиках. М.: МГУ, 2004. 528 с.

3. Звенигородский, В. И. и др. 2004. Микробы – антагонисты (стрептомицеты и бациллы), выделенные из почв разных типов. Почвоведение, № 7, с. 860-866.

4. Шигаева, М. Х., Тулемисова, К. А. Антибиотики в растениеводстве. Наука, Алма-Ата, 1977, с. 172.

5. Flaervik, E., Zotchev, S. B. Biosynthesis of the polyene macrolide antibiotic nystatin in *Streptomyces noursei*. Appl. Microbiol and Biotechnol, 67, Nr. 4, 2005, с. 436-443.

Data prezentării articolului - 30.01.2009