

**Антифунгальная активность бактерий рода *Bacillus* по отношению к
микросциетам рода *Alternaria***

Научный руководитель – Еремеева Светлана Владимировна

Кострыкина Екатерина Аркадьевна

Студент (магистр)

Астраханский государственный технический университет, Астрахань, Россия

E-mail: kostrikina_ek00@mail.ru

В настоящее время борьба с *Alternaria* с помощью бактерий ведется успешно препаратами на основе бактерий рода *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*. Однако для каждого региона бактерии антагонисты должны быть специфическими в связи с разными климатическими условиями [4]. В связи с этим, в данной работе представлен поиск бактерий-антагонистов грибных заболеваний на примере бактерий рода *Bacillus*, что является перспективным направлением в микробиологической биотехнологии.

Цель исследования - определить антифунгальную активность коллекционных бактерий рода *Bacillus*, по отношению к фитопатогенным микросциетам рода *Alternaria*, выделенных с пасленовых и тыквенных сельскохозяйственных растений Астраханской области.

Объектом исследований служила лабораторная коллекция изолятов рода *Bacillus* (11 изолятов BL, ВАА, ВТ, ВАС, ВAD, ВAm, ВС, ВF, ВSa, ВSu, ВМ), выделенных из различных экосистем Нижнего Поволжья. В качестве тест-объектов использовали коллекционные культуры фитопатогенных грибов (*Alternaria* sp.1, *Alternaria* sp.6, *Alternaria* sp.8, *Alternaria* sp.11), выделенные ранее из пасленовых и тыквенных сельскохозяйственных растений Астраханской области.

Фунгицидную активность бацилл определяли с помощью метода лунок [3] на картофельно-глюкозном агаре (КГА). Готовили суспензию спор микросциетов с титром 10⁵ КОЕ/мл, по 1 мл разливали в стерильные чашки Петри, заливали КГА. После застывания среды вырезали лунку, в которую наливали 0,1 мл 3-х суточной бактериальной суспензии в жидкой среде для культивирования микроорганизмов (ГРМ-бульон). В качестве 1-го контроля в лунку наливали 0,1 мл стерильной дистиллированной воды, 2-го – 0,1 мл стерильного бульона ГРМ. Инкубировали при 25 °С, фунгицидную активность оценивали на 3, 5, 7, 10, 15 и 20 сутки по диаметру зон ингибирования фитопатогена вокруг лунки. Бактерии проявляют фунгицидную активность, если эта зона от 1 см и более. Отсутствие зон задержки роста (ЗЗР) свидетельствует об отсутствии антагонизма между исследуемыми микроорганизмами, ЗЗР от 5 до 10 мм – о слабом антагонизме, от 11 до 20 – о среднем, более 20 – о высоком [2].

Результаты исследования по отношению к *Alternaria* sp. 1 высокую степень антагонистической активности проявляют изоляты BL (ЗЗР 24,7 - 30,5 мм), ВАС (ЗЗР 16,5 - 22 мм), ВAm (ЗЗР 16 - 19 мм), ВAD (ЗЗР от 11,2 до 20,7 мм), ВSu (ЗЗР 12,6 – 20,2 мм); среднюю антагонистическую активность проявляют ВАА (ЗЗР 8,2 - 10 мм), ВТ (ЗЗР 10,5 мм), ВМ (ЗЗР 12,8 - 15 мм). При воздействии ВF и ВSa ЗЗР отсутствуют, что свидетельствует об отсутствии антагонизма между исследуемыми микроорганизмами. По отношению к *Alternaria* sp. 6 изолят ВSu уже на 3-е сутки образует зону задержки роста 23,1 мм, ВМ - 24,5 мм, которые сохраняются все 21 сутки наблюдений. Остальные бациллы проявляют низкую степень антагонизма. В отношении *Alternaria* sp.8 - 5 из 11 исследуемых видов бацилл проявляют высокую антагонистическую активность уже на 3 сутки, ЗЗР составляет от 14 до 37 мм. *Alternaria* sp.11 подавляет с высокой интенсивностью все 21 сутки эксперимента, только ВМ. ЗЗР составляет 21,5 мм на 3-и сутки и 17,4 мм к окончанию

наблюдений. Изолят BSu активно действует, только 7 суток, ЗЗР составляет 17-21 мм, однако, к 21-м суткам зона задержки роста сокращается до 7,8 мм.

Различия в чувствительности грибов-возбудителей болезней культурных растений к антагонистическому действию исследованных бактерий зависит от природы экзометаболитов, определяющих антагонистические свойства изучаемых видов. Очевидно, что бактерии различных видов имеют различные механизмы антагонистической активности, поэтому проявление активности одного вида может значительно варьировать по отношению к разным видам грибов.

Среди особенностей воздействия метаболитов бактерий рода *Bacillus* на колонии *Alternaria* необходимо отметить, что в зоне антагонистического действия бактерий в некоторых вариантах патоген не сформировал воздушный мицелий, также наблюдался лизис уже сформировавшегося мицелия, ингибирование роста и осветление мицелия. Образование данных видоизменений может быть связано с выделением бактерий метаболитов, способных воздействовать на формирование мицелия микромицетов при контактном взаимодействии грибов и бактерий. Согласно современным исследованиям данными метаболитами могут выступать литические антибиотические вещества, подавляющие биосинтез клеточной стенки грибов, гидролитические (хитиноподобные) ферменты, разрушающие компоненты клеточной стенки, амфифильные пептиды, поверхностно-активные вещества, нарушающие проницаемость плазматической мембраны грибов. К тому же возможен автолиз мицелия грибов под действием ферментов бактерий [1].

Таким образом, при определении антифунгальной активности коллекционных бактерий рода *Bacillus* в отношении возбудителей альтернариозов обнаружен наиболее стабильный высокий эффект у BL, BT, BAC, BAD, BAm, BSa, BSu, BM (зона задержки роста от 12,6 мм до 37,0 мм). При этом изоляты BM и BSu не только подавляют рост колоний 3-х видов фитопатогенных *Alternaria*, но и влияют на размножение и обмен веществ этих грибов. Данные виды могут быть использованы в качестве действующего начала биопрепаратов для борьбы с альтернариозами в Нижнем Поволжье.

Источники и литература

- 1) Актуганов Г.Э., Мелентьев А. И., Галимзянова Н. Ф., Широков А. В. Исследование миколитических свойств аэробных спорообразующих бактерий продуцентов внеклеточных хитиназ // Микробиология. 2008. Т. 77. N 6. С. 788-797. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=11624685> (дата обращения: 09.12.2023).
- 2) Грабова, А. Ю. Скрининг штаммов бактерий рода *Bacillus* – активных антагонистов фитопатогенов бактериальной и грибной природы / А. Ю. Грабова [и др.] // Микробиол. журн. 2015. – № 6. – 47–54 с. - Текст : непосредственный.
- 3) Егоров, Н.С. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии : учеб. пособие / Н. С. Егоров. – БГУ, 2009. – 000 с. - Текст : непосредственный.
- 4) Прозоркина, Н. В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии : учебное пособие / Н. В. Прозоркина, Л. А. Рубашкина. – Изд. 6-е, стер. – Ростов н/Д : Феникс, 2012. – 378 с. - Текст : непосредственный.