



# ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АБОРИГЕННЫХ ШТАММОВ РОДА *VACILLUS* ДЛЯ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЯМИ ЛИСТОВОГО АППАРАТА САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

**Безлер Н.В.**, доктор сельскохозяйственных наук

**Санеева Ю.Н.**

**Федорова О.А.**, кандидат биологических наук

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова»

e-mail: bezler@list.ru, usaneeva69@gmail.com, fed-olga78@mail.ru

**Аннотация.** Проведенные исследования показали, что внесенные в агроценоз сахарной свеклы споровые бактерии *Bacillus subtilis* 20 и *Bacillus subtilis* 17/8 закрепляются на поверхности листьев. Они проявили антагонистическую активность против возбудителей болезней листового аппарата культуры в полевых условиях. Показано, что опрыскивание посевов суспензией штаммов *Bacillus subtilis* 20 и *Bacillus subtilis* 17/8 способно подавлять развитие болезней листового аппарата сахарной свеклы, таких как альтернариоз, фомоз, эризифоз, церкоспороз и вирусная желтуха.

**Ключевые слова:** штаммы, филлоплана, болезни листового аппарата, сахарная свекла, *Bacillus subtilis*.

**Введение.** Черноземные почвы характеризуются наиболее оптимальным сочетанием их органической и минеральной частей. Однако, несмотря на довольно устойчивую природную систему чернозема, при производстве сельскохозяйственных культур происходит сильное воздействие на его составные компоненты и окружающую среду в целом [1]. В результате нарушений в агроэкосистеме в посевах сахарной свеклы отмечается эпифитотийное распространение заболеваний листового аппарата грибной этиологии: церкоспороз (*Cercospora beticola*), мучнистая роса (*Erysiphe betae*) и вирусная желтуха, которые снижают продуктивность культуры. Преждевременные потери ассимиляционной площади листового аппарата вызывают затраты пластических веществ корней на новообразование листьев, что влечет за собой снижение урожайности и ухудшение технологических качеств корнеплодов [2].

В настоящее время экономически значимым способом борьбы с заболеваниями сельхозкультур является химический. В последние десятилетия проблема использования в сельском хозяйстве ХСЗР обостряется их негативным действием на окружающую среду.

Интенсивное применение фунгицидов, гербицидов, инсектицидов против болезней, сорняков и вредителей сахарной свеклы, а также использование минеральных удобрений в сельхозпроизводстве ведет к нарушению равновесия между полезными и вредными компонентами почвы и способствует выработке у фитопатогенов резистентности к пестицидам, что приводит к нежелательному увеличению их норм расхода.

Одновременно сокращается и численность агрономически ценных микроорганизмов в агроценозе. В результате ухудшается плодородие почвы и качество продукции, загрязняется окружающая среда, что приводит к нарушению круговорота азота и снижению супрессивности почвы [3]. Оптимизация структуры агроэкосистем должна быть основана на использовании штаммов микробов-антагонистов возбудителей болезней, способных продуцировать биологически активные вещества [4, 5].

Таким образом, повышается актуальность биологической защиты растений, основанной на способности микробов-антагонистов (актиномицеты, грибы, бактерии) поставлять в окружающую среду биологически активные вещества: антибиотики, подавляющие возбудителей заболеваний и обладающие фиторегуляторной активностью. Наблюдается возрастающий интерес к органическому земледелию, способствующему восстановлению природных биоценозов, распределению всех агрономически ценных микроорганизмов по природным средам обитания. Разрабатываются и уже зарегистрированы в России биологические препараты на основе бактерий и продуктов их метаболизма, однако, масштабы их применения пока невелики [6]. Проявляется огромный интерес к поиску и изучению новых эффективных микроорганизмов для создания биофунгицидов, а также разработке регламентов их применения в системе защиты растений.

**Материалы и методы исследований.** Исследования проводили в лабораторных и полевых условиях на новом опытном поле ВНИИСС в посевах сахарной свеклы в зерно-паропропашном севообороте с чередованием культур: пар – озимая пшеница – сахарная свекла – ячмень. Технология возделывания культуры – общепринятая для ЦЧР. Для посева использовали семена диплоидного гибрида РМС 127. В качестве объекта исследования были взяты штаммы бактерий-антагонистов *Bacillus subtilis* 20 и 17/8, выделенные из ризосферы сахарной свеклы и почвы. Посевы опрыскивали суспензией живых культур *Bacillus subtilis* 20 и 17/8 с помощью помпового опрыскивателя Sprayer с объемом бака 3 л до появления первых признаков заболеваний.

Культуры микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов хранятся в коллекции в лаборатории агроэкологических методов исследований свекловичных агроценозов ВНИИСС.

Наблюдения проводились перед уборкой.

В полевом опыте суспензии штаммов наносили опрыскивателем (использовали водопроводную воду) с титром жизнеспособных бактериальных клеток  $10^{10}$  КОЕ/мл. Расход рабочей жидкости – 200 л/га. В качестве контроля использовали вариант без обработки бактериальной суспензией. Стандарт – вариант с обработкой препаратом Алирин-Б. Численность основных групп микроорганизмов определяли методом высева суспензии смывов с листьев сахарной свеклы различной степени разведения на элективные питательные среды [7].

Учет основных болезней листового аппарата проводили в соответствии с Основными методами фитопатологических исследований [8], а также Рекомендациями по учету и выявлению вредителей и болезней сельскохозяйственных растений [9, 10].

**Обсуждение результатов.** Способность микроорганизмов подавлять рост и развитие возбудителей болезней растений широко используется в биологическом контроле посевов. Такой способ борьбы с заболеваниями сельскохозяйственных растений позволяет снизить применение химических пестицидов и улучшить экологическую устойчивость сельского хозяйства.

Изучение микробно-растительных взаимодействий – одно из быстро развивающихся направлений в современной биологии. До последнего времени исследования в области изучения микрофлоры растений были в основном связаны с почвенными и ризосферными микроорганизмами, являющимися ассоциативными для растений. Значительно меньше внимания уделялось эпифитным микроорганизмам

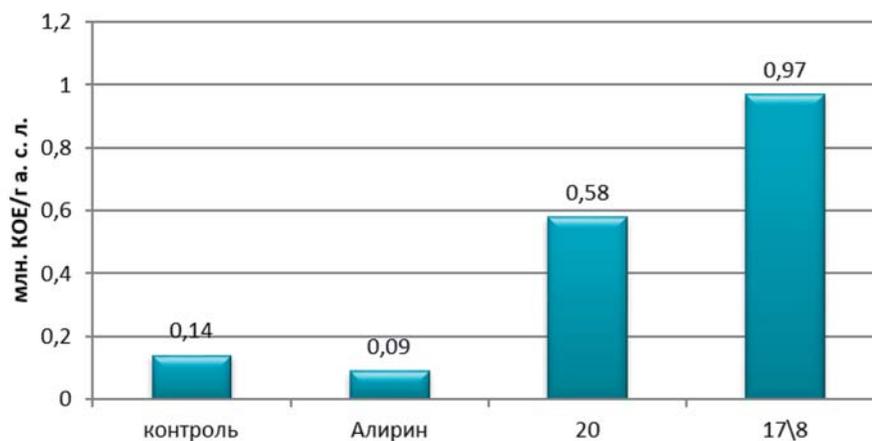


Рисунок. Влияние интродукции штаммов *Bacillus subtilis* 20 и 17/8 на численность спорообразующих бактерий в филлоплане

филлосферы. Однако, как показали исследования последних лет, находясь в теснейшем контакте с растением в течение всего вегетационного периода, они оказывают непосредственное влияние на рост, развитие и урожайность. На поверхности листьев развиваются не только эпифитные микроорганизмы, но и те почвенные, которые при разрыхливании почвы во время выпадения осадков попадают на поверхность листьев. Микроорганизмы филлопланы растений обладают рядом свойств, что позволяет им существовать в своеобразной экологической нише. Им присущи следующие свойства: способность жить на поверхности растения, не проникая в его ткани, питаться его выделениями, использовать питательные вещества очень малых концентраций; устойчивость к фитонцидам; способность переносить периодическое подсушивание; устойчивость многих видов к солнечной радиации.

Результаты исследований показали, что изучаемые бактериальные культуры *Bacillus subtilis* 20 и 17/8, попадая на поверхность листьев, закрепляются на ней и могут длительно функционировать, оказывать положительное действие на микробное сообщество филлопланы сахарной свеклы (рис.).

Нерациональное использование почв, неправильный выбор технологии обработки привели к деградации почвенного покрова, увеличению фитотоксичности почв, что изменяет соотношение групп микроорганизмов в сторону увеличения патогенной микрофлоры. Болезни растений снижают урожай на 16 % [10]. Перспективным направлением в борьбе с заболеваниями является использование микробиологических препаратов на основе штаммов микроорганизмов-антагонистов почвенных патогенов. Среди них выделяются аборигенные штаммы *Bacillus subtilis*, которые адаптируются к природным условиям места обитания. К тому же, у многих видов рода *Bacillus* установлено продуцирование в почву физиологически активных веществ. В связи с этим,



Таблица. Болезни листового аппарата сахарной свеклы

Вариант	Альтернариоз		Церкоспороз		Желтуха		Фо- моз	Мучнистая роса	
	R (%)	P (%)	R (%)	P (%)	R (%)	P (%)	P %	R (%)	P (%)
Контроль	0,53	10,33	0,33	6,30	5,47	20,77	14,3	0,60	5,00
Алирин-Б	0,53	10,00	0,13	3,10	3,57	13,23	8,95	0,53	4,00
<i>B.subtilis</i> 20	0,40	8,33	0,27	5,27	4,47	16,03	12,01	0,57	4,00
<i>B.subtilis</i> 17/8	0,37	8,33	0,30	4,43	2,67	10,17	12,33	0,37	2,67

Примечание: R — интенсивность развития болезни,  
P — распространенность болезни

актуальна разработка методов борьбы с заболеваниями культуры с использованием аборигенных штаммов микроорганизмов — естественных антагонистов фитопатогенов на основе бацилл.

В последние годы, помимо традиционных для ЦЧР заболеваний листового аппарата сахарной свеклы (мучнистой росы), получили распространение церкоспороз, фомоз, альтернариоз и вирусная желтуха (табл.).

Возбудителем церкоспороза является гриб *Cercospora beticola* Sacc., который развивается в определенных условиях температуры и влажности: заражение происходит в пределах 12–37 °С, а конидии гриба распространяются в основном расплескиванием почвы при осадках. Болезнь приводит к увеличению содержания восстанавливающих сахаров, а использование сахара в общем метаболизме сокращается. При церкоспорозе усиливается транспирация, что способствует снижению веса корнеплода. В опыте церкоспороз не получил значительного распространения. Так, в контрольном варианте интенсивность развития болезни составила 0,33 %, а распространенность — 6,30 %. Использование препарата Алирин-Б способствовало сдерживанию интенсивности его развития до 0,13 %, а распространенности — 3,10 %. Результаты исследования подтверждают, что препарат действительно способствует сдерживанию распространения и развития церкоспороза.

При обработке посевов *Bacillus subtilis* 20 и *Bacillus subtilis* 17/8 интенсивность развития церкоспороза составляла 0,27 и 0,30 %, а распространенность — 5,27 и 4,43 % соответственно. Обработка вегетирующих растений указанными штаммами несколько улучшает их состояние и защищает от болезни (табл.).

Возбудитель фомоза (зональной пятнистости) — гриб *Phoma betae* Frank сохраняется в пораженных растительных остатках, зараженных семенниках и семенах. Гриб — факультативный паразит и способен длительно сохраняться в почве за счет способности жить как сапротроф. Заболевание сильно развивается в прохладную и влажную погоду, особенно при недостатке бора, или в условиях засухи, при которой

тургор растения снижается, что становится благоприятным условием для интенсивного развития болезни. Вредоносность заболевания велика, так как приводит к уменьшению урожайности и сахаристости корнеплодов.

Обработка биологическим препаратом Алирин-Б имеет достаточно высокий уровень защиты растения от болезни: распространенность фомоза составила 8,95 % (в контроле — 14,2 %). Однако стоит отметить, что обработка суспензией *Bacillus subtilis* 20 и 17/8 также дает положительный результат. На основании этого можно сделать вывод, что обработка превентивно в дозе 2\*10<sup>10</sup> кл/м<sup>2</sup> имеет тенденцию к защите растений сахарной свеклы от фомоза.

Альтернариоз начинается с повреждения краев листьев, распространяясь к середине листа, и имеет вид бурых пятен. Возбудителем заболевания является *Alternaria alternata*. Поражение болезнью отмечается во время вегетации, интенсивность развития нарастает к ее концу при продолжительной дождливой погоде.

Наиболее сильную распространенность заболевания отмечали в контроле и при обработке биологическим препаратом Алирин-Б — до 10,33 %, а интенсивность развития — 0,53 %. Использование при обработке посевов *Bacillus subtilis* 20 и *Bacillus subtilis* 17/8 снижало распространенность до 8,33 %, а интенсивность развития — до 0,40 и 0,37 % соответственно.

Признаки мучнистой росы (эризифоза) проявляются в виде мучнистого налета, покрывающего обе стороны листовой поверхности. Возбудителем болезни является гриб *Erysiphe communis* Grev f. sp. *Betae* Jacz. Сильное развитие заболевания наблюдается в сухую погоду при средней температуре воздуха 20–25 °С. Болезнь способствует раннему отмиранию листьев, снижению урожая корнеплодов в среднем на 11 %, а их сахаристости — на 0,5–1,5 %. Обработка посевов препаратами Алирин-Б и *Bacillus subtilis* 20 и 17/8 помогала снизить распространение мучнистой росы соответственно до 4,00–2,67 %, а интенсивность развития болезни — до 0,53–0,37 % (в контроле — 0,60 и 5,00 %). Это подтверждает способность штаммов защищать сахарную свеклу от эризифоза.

Вирусная желтуха проявляется в середине вегетации и представлена на более старых листьях в виде пожелтения, которое начинается с края листа и увеличивается к середине. Постепенно все листья желтеют. Заболевание способствует снижению урожайности и сахаристости, а также увеличению содержания мелассы, азотных веществ и зольных соединений. Желтуха сахарной свеклы вызывается двумя видами вирусов: *Beet yellow u Beet mild yellowing virus*, с преобладанием первого вида. Пораженные листья сильнее подвергаются заражению грибными заболеваниями: фомозом, альтернариозом и др. По результатам исследований желтуха была наиболее интенсивно развитым и рас-

пространственным заболеванием в опыте, что связано с быстрым развитием болезни от очага заражения. Так, в контроле интенсивность развития составила 5,47 %, распространенность – 20,77 %.

Обработка препаратом Алирин-Б снизила интенсивность развития желтухи до 3,53 %, а распространенности – до 13,21 %, что доказывает эффективность действия препарата. Обработка суспензией *Bacillus subtilis* 20 уменьшила эти показатели заболевания до 4,47 и 16,03 % соответственно, а суспензией *Bacillus subtilis* 17/8 – привела к самым низким показателям: 2,67 и 10,17 % соответственно.

Таким образом, эталон Алирин-Б показывает высокую степень защиты от наиболее распространенных заболеваний сахарной свеклы. Однако результаты доказывают, что суспензии *Bacillus subtilis* 20 и 17/8 действуют аналогично препарату Алирин-Б и даже в некоторых случаях проявляют себя более эффективно.

**Заключение.** Проведенные исследования позволили выявить антагонистическую активность относительно возбудителей болезней листового аппарата сахарной свеклы у аборигенных штаммов *Bacillus subtilis* 20 и *Bacillus subtilis* 17/8 в полевых условиях. Учет численности спорных бацилл в филлоплане сахарной свеклы показал, что они закрепляются на поверхности листьев. Опрыскивание посевов суспензией штаммов *Bacillus subtilis* 20 и *Bacillus subtilis* 17/8 способно подавлять развитие болезней листового аппарата культуры, таких как альтернариоз, фомоз, эризифоз, церкоспороз и вирусная желтуха. Причем активность аборигенных штаммов была по многим показателям выше относительно эталона Алирин-Б, а *Bacillus subtilis* 17/8 по эффективности в отношении мучнистой росы и вирусной желтухи существенно превосходил его.

#### Список использованной литературы

1. Щербаков, А.П. Агроэкологический биомониторинг: влияние удобрений на структуру комплекса микромицетов чернозема / А.П. Щербаков, И.П. Свистова, Н.В. Малыхина // Вестник ВГУ. Серия химия, биология. - 2001. - № 2. - С. 168-171.
2. Шпаар, Д. Сахарная свекла (Выращивание, уборка, хранение) / Д. Шпаар. - Мн.: ЧУП «Орех», 2004. - 326 с.
3. Емцев, В.Т. Микробиология: учебник для вузов / В.Т. Емцев. - М.: Дрофа, 2014. - 445 с.
4. Павлюшин, И.А. Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика / И.А. Павлюшин, И.И. Новикова, И.В. Бойкова // Сельскохозяйственная биология. - 2020. - Т. 59. - № 3. - С. 421-438.
5. Козлова, Е.А. Биологизация систем защиты сельскохозяйственных культур от болезней / Е.А. Козлова // Вестник аграрной науки. - 2022. - № 1(94). - С. 28-33.
6. Методика исследований сахарной свеклы // ВНИС: Киев, 1988. - 292 с.

7. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева // М.: Дрофа, 1979. - 255 с.

8. Чумаков, Е.А. Основные методы фитопатологических исследований / Е.А. Чумаков. - Москва: «Колос», 1974. - 192 с.

9. Алехин, В.Т. Рекомендации по учету и выявлению вредителей и болезней сельскохозяйственных растений / В.Т. Алехин. - Воронеж: ВНИИЗР, 1984. - 274 с.

10. Стогниенко, О.И. Болезни сахарной свеклы, их возбудители: илл. справочник / О.И. Стогниенко, Г.А. Селиванова. - Воронеж: ООО «Антарес», 2008. - 112 с.

#### Prospects for the use of native strains of the genus *Bacillus* to combat diseases of sugar beet leaf apparatus Bezler N.V., Saneeva Yu.N., Fedorova O.A.

**Summary.** The conducted studies have shown that the spore bacilli *Bacillus subtilis* 20 and *Bacillus subtilis* 17/8 introduced into the agrocenosis of sugar beet are fixed on the surface of the leaves. They showed antagonistic activity against pathogens of sugar beet leaf apparatus in the field. It has been shown that spraying sugar beet crops with a suspension of *Bacillus subtilis* 20 and *Bacillus subtilis* 17/8 strains can suppress the development of diseases of sugar beet leaf apparatus, such as alternariasis, fomesis, erisiphosis, cercosporosis and viral jaundice.

**Keywords:** strains, phyloplana, diseases of leaf apparatus, sugar beet, *Bacillus subtilis*.

#### ИНФОРМАЦИЯ

##### В Тимирязевской академии открылась новейшая аудитория по защите растений

Член Национального союза селекционеров и семеноводов, российский производитель средств защиты растений «ЗемлякоФФ» запустил фирменную аудиторию, рассчитанную на 28 мест и оформленную по специальному дизайн-проекту с использованием фирменного стиля компании. Участие в торжественной церемонии открытия учебного пространства приняли ректор РГАУ-МСХА им. Тимирязева, Академик РАН, профессор Владимир Трухачев, Управляющий партнер ГК «ЗемлякоФФ» Антон Земляков, гендиректор «ЗемлякоФФ Кроп Протекшен» Дмитрий Сорванов, а также студенты вуза.

Аудитория оборудована современными технологическими решениями, в частности, там установлен новейший светодиодный экран, акустическая система, поворотная управляемая камера, компьютер, а также климатостат для поддержания микроклимата при выращивании лабораторных насекомых и специальные стенды с классификацией химических СЗР.

Установленное оборудование позволит вести трансляцию лекций, в том числе для студентов из других вузов и регионов.

В аудитории уже стартовали занятия. Первую лекцию студентам кафедры защиты растений прочитал директор по развитию компании «ЗемлякоФФ Кроп Протекшен», выпускник Тимирязевской академии Евгений Костенко.

Сообщение пресс-службы университета