

НАУЧНЫЕ И ПРАКТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТА
ДЛЯ ЗАЩИТЫ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ ОТ КАГАТНОЙ ГНИЛИ

Э.И.Коломиец*, О.В.Кильчевская*, В.Н.Купцов*, Т.В.Романовская*,
А.В.Свиридов**

*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

**Гродненский государственный аграрный университет", Гродно, Беларусь

SCIENTIFIC AND APPLIED BASES FOR BIOLOGICAL PREPARATION PRODUCTION
FOR SUGAR BEET PROTECTION FROM CLAMP ROT

E.I.Kolomiets, O.V.Kil'chevskaya, V.N.Kuptsov, T.V.Romanovskaya, A.V.Sviridov

Для сахарной свеклы большую опасность в период зимнего хранения представляет кагатная гниль, вследствие которой снижается пищевая и технологическая ценность корнеплодов. Болезнь встречается во всех регионах свеклосеяния, процесс гниения корнеплодов обусловлен деятельностью целого комплекса фитопатогенных микроорганизмов - грибов родов *Botrytis*, *Phoma*, *Trichothecium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* и бактерии родов *Erwinia* и *Pseudomonas* (Дементьева 1985, Билай, 1988).

Для подавления микрофлоры, вызывающей заболевания при хранении, традиционно применяются химические средства, в частности, 0,3% пирокатехин, 18-20% углеаммиаката, хлорная известь, фунгициды на основе 2-(4-тиазолал) бензимидазол и тиобендазола (вист, текто) и др. Однако их использование приводит к загрязнению корнеплодов остаточными количествами пестицидов, а также к снижению товарных качеств свеклы. Более щадящей является широко применяемая на практике обработка корнеплодов перед закладкой на хранение известковыми материалами, при которой на поверхности корнеплодов создается щелочная реакция среды, препятствующая развитию грибных патогенов, однако в полной мере защитить корнеплоды от кагатной гнили таким способом не удастся. Потери веса сахарной свеклы в полевых кагатах достигают 18%, в семеноводческих хозяйствах погибает от гнили до 25-36% маточных корнеплодов.

Выходом из создавшейся ситуации является использование биологического контроля патогенов, обеспечивающего эффективную защиту и получение экологически чистой продукции. Задачей настоящего исследования является разработка научных и практических основ создания микробного препарата для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили с учетом особенностей видового состава и патогенных свойств возбудителей, распространенных в климатических условиях Беларуси.

Методика исследований. Бактерии-антагонисты выделяли из пораженной кагатной гнилью сахарной свеклы и почвенных образцов. Культуры выращивали на среде Мейнелла с использованием мелассы в качестве источника углерода в колбах Эрленмейера объемом 250-1000 мл на качалке (200 об/мин) при 28°C в течение 72 ч. Скрининг бактерий-антагонистов проводили методом точечного тестирования и лунок (Сэги, 1983). Результаты учитывали после 24-48 ч инкубации при температуре 28°C по диаметру зон задержки роста тест-культур

патогенов.

Определение видового состава возбудителей кагатной гнили проводили по общепринятым в фитопатологии методам (Пидопличко, 1977), культивирование изолятов осуществляли на картофельно-глюкозном бульоне и агаре. Идентификацию бактериальных штаммов проводили с использованием селективных питательных сред по общепринятым методикам (Добровольская, 1989) и определителю бактерий (Берги, 1980).

Титр колониеобразующих единиц (КОЕ) бактерий устанавливали методом предельных разведений (Звягинцев, 1980), для определения титра спор перед высевом на МПА проводили термическую обработку разведений бактериальной суспензии при 80°C в течение 10 мин.

Изучение влияния метаболитов бактерий-антагонистов на прорастание спор и развитие мицелия фитопатогенных грибов изучали, используя модифицированный нами метод агаровых пластинок с использованием светового микроскопа (100x) (Герхард, 1983).

Испытания опытных образцов биопрепаратов против кагатной гнили проводили в условиях малогабаритных и крупногабаритных буртов на сортах сахарной свеклы Белорусская односемянная 69, Сильвано, Казино и Марс. Учет по изучению динамики развития заболеваний в период хранения проводили 3 раза (при закладке на хранение, спустя 1 месяц после закладки и при снятии корнеплодов с хранения). Распространенность заболевания (P, %) вычисляли по формуле $P = 100(n/N)$, где n - количество больных растений в пробе; N - общее количество растений (Поляков, 1984).

Полученные данные обрабатывали методом дисперсионного анализа (Доспехов, 1985), при статистической обработке результатов экспериментов проводили определение средних арифметических и их доверительных интервалов для уровня вероятности 95% (Рокицкий, 1973).

Результаты. Установлено, что в условиях Беларуси возбудителями кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы являются *Penicillium expansum* Link, *Fusarium culmorum* (Fm.) Sacc, *Fusarium redolens* Wr, *Alternaria tenuis* Nees., *Botrytis cinerea* Pers. Et Fr., *Sclerotinia sclerotiorum* (lib) de Bary. Оценена антагонистическая активность выделенных бактерий рода *Bacillus* и *Pseudomonas* в отношении наиболее агрессивных возбудителей кагатной гнили сахарной свеклы. На основе отобранных культур наработаны опытные образцы препаратов. По данным лабораторных исследований наиболее активными антагонистами в отношении большинства фитопатогенов являются бактерии *B. subtilis* 10/19, максимальную активность против *S. sclerotium* проявляет *B. subtilis* M-22, против *B. cinerea* - *B. subtilis* Г-3 (табл. 1).

Таблица 1 - Эффективность действия опытных образцов бактерий-антагонистов (метод лунок)

Антагонисты	Титр, КОЕ/мл	Титр спор, п/мл	Диаметр зоны задержки роста тест-культур*, мм						
			1	2	3	4	5	6	7
<i>B. subtilis</i> M-22	5.1.10 ⁹	2.5.10 ⁹	26	21	27	38	41	24	35
<i>B. subtilis</i> Г-3	5.4.10 ⁹	3.7.10 ⁹	25	23	21	48	30	21	32
<i>B. subtilis</i> Г-6	5.6.10 ⁹	4.0.10 ⁹	27	22	28	44	31	21	34
<i>B. subtilis</i> 10/19	4.6.10 ⁹	2.8.10 ⁹	30	24	37	46	47	29	37
<i>B. subtilis</i> 12	4.8.10 ⁹	2.9.10 ⁹	22	20	30	47	45	22	45
<i>B. subtilis</i> 14	5.6.10 ⁹	2.0.10 ⁹	21	19	33	40	36	25	33

*Тест-культуры: 1- *Fusarium redolens*; 2- *Fusarium culmorum*; 3- *Penicillium expansum*; 4- *Botrytis cinerea*; 5- *Phoma betae*; 6- *Alternaria tenuis*; 7- *Sclerotinia sclerotium*

Показан ингибирующий эффект метаболитов исследуемых бактерий на прорастание спор и развитие мицелия патогенных грибов (табл. 2), установлено, что бесклеточная КЖ исследуемых бактерий вызывает деформацию спор и ростовых трубок грибов *P. expansum* и *B. cinerea*, сопровождающуюся вакуолизацией и появлением опухолеобразных вздутий (рис.).

Таблица 2 - Влияние метаболитов бактерий-антагонистов на прорастание спор и рост мицелия фитопатогенных грибов *B. cinerea* и *P. expansum*

Антагонисты	Вакуолизация спор и ростовых трубок грибов*		Степень ингибирования роста мицелия грибов**		
	<i>B. cinerea</i>	<i>P. expansum</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>P. expansum</i>	<i>F. redolens</i>
<i>B. subtilis</i> M-22	+	+	++	+++	+++
<i>B. subtilis</i> Г-3	-	+	+++	++	+++
<i>B. subtilis</i> Г-6	+	+	++	++	+++
<i>B. subtilis</i> 10/19	+	+	+++	+++	+++
<i>B. subtilis</i> 12	+	-	++	+	++
<i>B. subtilis</i> 14	+	-	++	+	++

*Наличие вакуолизации "+"; отсутствие вакуолизации "-"; **степень ингибирования роста мицелия грибов бактериями: +++ сильное, ++ среднее, + слабое, - отсутствие признака

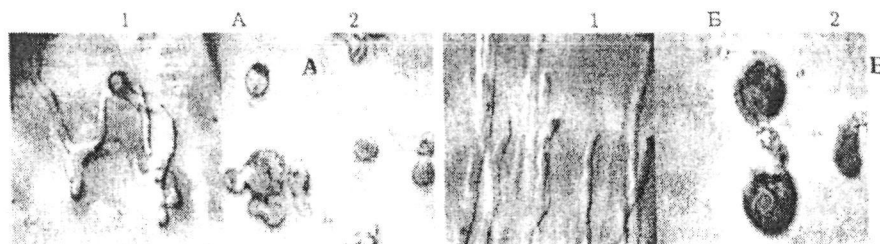


Рис. Влияние метаболитов бактерий-антагонистов на прорастание спор *B. cinerea* (А) и *P. expansum* (Б). 1 - контроль, 2 - споры грибов в присутствии бактерий-антагонистов

В полевых условиях наиболее эффективными оказались штаммы бактерий-антагонистов *Bacillus subtilis* M-22, *Bacillus subtilis* Г-3 и *Bacillus subtilis* 14. Под их влиянием распространенность кагатной гнили на корнеплодах сахарной свеклы снижалась на 25-30% по сравнению с контролем, развитие заболевания уменьшалось на 1,7-11,3%.

Выводы. Видовой состав возбудителей кагатной гнили сахарной свеклы Бельдариуси представлен фитопатогенными грибами родов *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Sclerotinia*.

В лабораторных условиях максимальной активностью в отношении грибных патогенов характеризовались штаммы *B. subtilis* 10/19, *B. subtilis* M-22, *B. subtilis* Г-3, в условиях малогабаритных буртов - *B. subtilis* M-22, *B. subtilis* Г-3 и *B. subtilis* 14.