

УДК 633.412:632.481.12(476.6)

**БЕТАПРОТЕКТИН – БИОПРЕПАРАТ ДЛЯ ЗАЩИТЫ  
СТОЛОВОЙ СВЕКЛЫ ОТ КАГАТНОЙ ГНИЛИ**

**А.В. Свиридов<sup>1</sup>, С.С. Зенчик<sup>1</sup>, Э.И. Коломиец<sup>2</sup>, Н.В. Сверчкова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,

г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>2</sup> – Институт микробиологии НАН Беларуси,

г. Минск, Республика Беларусь

*(Поступила в редакцию 10.06.2011 г.)*

*Аннотация. В работе представлены морфологические, физиолого-биохимические свойства, патогенность и токсигенность бактерии-антагониста*

*Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д, на основе которой создан биопестицид Бетапротектин для защиты корнеплодов сахарной и столовой свеклы от кагатной гнили. Разработана технология получения биофунгицида, методы контроля показателей качества и технические условия на препарат. Установлено, что биопестицид Бетапротектин обладает высокой биологической эффективностью и рекомендуется для применения на столовой свекле в период вегетации двукратно с нормой расхода 1,0 л/га и повторно перед закладкой корнеплодов на хранение против гнилей с нормой расхода 0,5 л/га.

*Summary.* The article presents morphological, physiological and biochemical properties, pathogenicity and toxigenicity of the antagonist bacteria *Bacillus subtilis* BIM B-439 D. The Biopesticide Betaprotektin was developed on the basis of *Bacillus subtilis* to protect sugar and red beet from clamp rot. The technology of biofungicide receiving, methods of root quality control and technical specifications of the preparation were developed. It was established that the biopesticide Betaprotektin has high biological efficiency and is recommended for use on red beet during vegetation. It is recommended to use it twice with an application rate - 1.0 l/ha and to repeat it in order to protect vegetables from different types of root just before laying roots for storage; the recommended application rate of the preparation is 0.5 l/ha.

**Введение.** Столовая свекла (*Beta vulgaris*) является одной из пространственных овощных культур, выращиваемых в открытом грунте. Разработка и внедрение отечественного микробного препарата для защиты столовой свеклы от кагатной гнили с учетом особенностей видового состава и патогенных свойств возбудителей болезни, распространенных в климатических условиях Беларуси и обеспечивающего снижение потерь и качества продукции при хранении, является актуальной задачей и необходимым условием повышения эффективности производства овощей в республике.

В литературе приводятся данные о применении против возбудителей гнилей овощей бактерий-антагонистов рода *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Pantoea*. Российские биопрепараты Алдирин-Б, Бактофит, Фитоспорин-М, Фитон, созданные на основе штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, предназначены для защиты ряда культур от возбудителей грибных заболеваний (кагатная гниль сахарной свеклы, альтернариоз, фузариоз, серая гниль овощных культур, фомоз картофеля и свеклы и др.), а также возбудителей болезней, вызываемых фитопатогенными бактериями (бактериозы капусты и картофеля, мокрые гнили овощных культур и др.) [1, 2, 3]. Исследования белорусских ученых показали целесообразность использования бактерий *B. subtilis* для биологической защиты сахарной свеклы в процессе хранения [4, 5, 6], что явилось основой для разработки отечественного микробного препарата и способа защиты сахарной и столовой свеклы от кагатной гни-

ли, обеспечивающих снижение потерь и качества продукции при хранении.

**Цель работы.** Изучить физиолого-биохимические, морфологические свойства, патогенность и токсигенность, антифунгальные свойства штамма бактерии *B. subtilis* БИМ В-439 Д. Определить эффективность бактерий-антагонистов против кагатной гнили и их влияние на качество корнеплодов столовой свеклы.

**Материал и методика исследований.** Лабораторные исследования по изучению физиолого-биохимических свойств, морфологических особенностей бактерии-антагониста *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д проводились в лаборатории Института микробиологии НАН Беларуси по общепринятым методикам. Полевой опыт проводился на поле РУАП «Гродненская овощная фабрика» в 2010 г. Почва опытного участка дерново-подзолистая связносупесчаная, подстилаемая моревным суглинком с глубины 0,5-0,8 м. Мощность пахотного горизонта 23 см. Агрохимическая характеристика почвы представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Агрохимическая характеристика почвы

| Показатели                    | Единица измерения | Значение |
|-------------------------------|-------------------|----------|
| Кислотность                   | pH                | 6,7      |
| Гумус                         | %                 | 2,9      |
| P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> | мг/кг почвы       | 200      |
| K <sub>2</sub> O              | мг/кг почвы       | 253      |

Технология выращивания столовой свеклы общепринятая для данной зоны. Минеральные удобрения внесены общим фоном под все варианты опыта - фосфорные (90 кг д.в./га) и калийные (120 кг д.в./га) удобрения внесены осенью под вспашку. Азотные (120 кг д.в./га) - весной под культивацию. Предшественник – морковь.

Срок посева – 30.04.10. Норма высева семян 5 кг/га. Опыт проводился на двух сортах – Болгарди и Красный шар.

Варианты опыта:

1. Контроль (без обработки);
2. Биопестицид Бетапротектин 1 л/га – фаза 2-4 настоящих листа + 1 л/га через 30 дней после 1-й обработки;
3. Биопестицид Бетапротектин 1 л/га – фаза 2-4 настоящих листа + 1 л/га через 30 дней после 1-й обработки + 0,5 л/т перед закладкой на хранение;
4. Биопестицид Бетапротектин 0,5 л/т - обработка корнеплодов перед закладкой на хранение.

Опыт был заложен рандомизированным методом в четырехкратной повторности. Общая площадь делянки составила 58,8 м<sup>2</sup>, учетная – 50 м<sup>2</sup>.

Первая обработка биопестицидом Бетапротектин - фаза 2-4 настоящих листа (21.05.10.), вторая - фаза смыкания рядков (22.06.10.), третья - после уборки перед закладкой на хранение (12.10.10.).

Норма расхода рабочей жидкости: 300 л/га в период вегетации и 5 л/т при закладке корнеплодов на хранение.

Учет развития церкоспороза проводился перед уборкой корнеплодов. Учет заболеваний свеклы в период вегетации проводился следующим образом: на каждой делянке были обследованы по 10 растений в средних рядках. Крайние рядки поля из учетов исключались. Учет развития заболевания проводился по 6-балльной шкале [7].

Распространенность заболевания вычисляли по формуле:

$$P = \frac{n}{N} \times 100,$$

где P - распространенность заболевания, %

n - количество больных растений в пробе,

N - общее количество растений в пробе.

Развитие заболеваний вычисляли по формуле:

$$R = \frac{\sum a \times b}{N \times K} \times 100,$$

где R - развитие болезни, %,

$\sum a \times b$  - сумма произведений числа больных растений (a) на соответствующий балл развития заболевания (b),

N - общее количество учтенных растений,

K - высший балл шкалы учета [8].

Урожай столовой свеклы убирался вручную. Предварительно выкапывали защитные полосы. Урожай учитывали путем взвешивания корнеплодов со всей учетной делянки. Валовая продукция делилась на две группы: товарную и нетоварную.

Корнеплоды каждого варианта в 4-кратной повторности были заложены на хранение в условиях ГУП "Горплодоовощсервис". Закладку корнеплодов столовой свеклы на хранение производили согласно ГОСТ 26766-85. Реализация корнеплодов с признаками кагатной гнили не допускается. В конце хранения корнеплодов определяли распространенность кагатной гнили и технологические качества корнеплодов (содержания сухого вещества, сахара и нитратов) по общепринятым методикам [9].

Полученные данные обработаны методом дисперсионного анализа [10].

**Результаты исследований и их обсуждение.** В рамках программы ГИТП «Промышленные биотехнологии», подпрограммы «Биопрепараты и технологии для повышения продуктивности растениеводства» Институтом микробиологии НАН Беларуси совместно с Гродненским государственным аграрным университетом проводились исследования по разработке микробного препарата и технологии его применения для защиты сахарной и столовой свеклы от кагатной гнили. Результатом этих исследований является создание биопестицида Бета-протектин, защищающего столовую свеклу при хранении от кагатной гнили, и разработка технологии его производства, позволяющей получить препарат с титром КОЕ 2-3 млрд./мл. Основой биопрепарата является штамм бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д, характеризующийся высокой антагонистической активностью к фитопатогенным грибам. Штамм выделен из образцов дерново-подзолистой почвы Минской области, идентифицирован как *Bacillus subtilis* и депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси под регистрационным номером БИМ В-439 Д.

#### **Свойства штамма *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д:**

**Культуральные признаки:** при культивировании на мясопелтоном агаре штамм образует серо-белые неправильной формы колонии с зубчатым краем; поверхность гладкая, непрозрачная, матовая с мучнистым налетом; профиль чуть выпуклый в центре; консистенция вязкая.

**Морфологические признаки:** вегетативные клетки культуры представляют собой подвижные палочки бациллярной формы размером 0,6-0,7 x 1,0-1,3 мкм с округлыми концами. Споры эллипсоидные, расположены центрально или терминально, спорангий не раздут. Клетки располагаются одиночно, в парах или коротких цепочках. Окраска по Граму положительная.

**Физиолого-биохимические особенности.** Облигатный аэроб. Растет при температуре до 50°C, температурный оптимум — 30-35°C.

**Отношение к источникам углерода:** штамм утилизирует ксилан, арабинозу, глюкозу, галактозу, фруктозу, рамнозу, маннозу, сахарозу, лактозу, мальтозу, целлобиозу, трегалозу, рафинозу, дульцит, сорбит, маннит, инозит, глицерин; гидролизует цитрат и крахмал.

**Отношение к источникам азота:** штамм ассимилирует сульфат аммония, нитрат аммония, нитрат калия, мочевины, пептон; восстанавливает нитраты до нитритов; разжижает желатин; гидролизует казеин.

**Другие особенности:** характеризуется каталазной активностью, образует ацетонин, растет на средах Мейнелла, Чапека, в 7% NaCl и не способен к росту при 10% концентрации NaCl.

**Антагонистическая активность:** бактерии данного штамма характеризуются широким спектром антифунгального действия (таблица 2) и отличаются способностью контролировать развитие целого комплекса фитопатогенных грибов – возбудителей кагатной гнили сахарной и столовой свеклы, характерных для климатических условий Беларуси.

Таблица 2 – Спектр антифунгального действия штамма *B. subtilis* БИМ В-439 Д (метод лунок)

| № п.п. | Тест-объекты           | Диаметр зоны подавления роста тест-объектов, мм |
|--------|------------------------|---|
| 1      | <i>F. redolens</i>     | 26-35   |
| 2      | <i>F. culmorum</i>     | 21-28   |
| 3      | <i>P. expansum</i>     | 27-29   |
| 4      | <i>B. cinerea</i>      | 38-46   |
| 5      | <i>S. sclerotiorum</i> | 40-56   |
| 6      | <i>Alt. tenuis</i>     | 24-26   |
| 6      | <i>Ph. betae</i>       | 41-42   |
| 7      | <i>Gl. catenulatum</i> | 35-37   |

**Патогенность штамма:** согласно «Заключению об испытании патогенности, токсичности и токсигенности штамма *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д» исследования, проведенные в Институте экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесесского, свидетельствует, что он не является патогенным, токсичным и токсигенным и может использоваться в микробиологическом производстве.

По результатам токсиколого-гигиенических исследований ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены» Министерства здравоохранения Республики Беларусь установлено, что биопестицид Бетапротектин, не проявляет вирулентных, токсигенных и токсических свойств, не обладает раздражающим кожу и слизистые оболочки действием.

Для оценки качественных показателей биопестицида Бетапротектин проводили наработку опытной партии препарата в условиях глутинного культивирования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д в лабораторном ферментере АНКУМ 2М, емкостью 10 л в течение 3 суток при температуре 30°C на питательной среде Мейнелла с мелассой. Органолептические, биохимические и микробиологические показатели полученных образцов препарата представлены в таблице 3.

Полученные данные в совокупности с результатами ранее проведенных исследований по разработке лабораторной технологии получения биопрепарата Бетапротектин и изучению его качественных показате-

телей явились основанием для разработки технических условий (ТУ) на препарат.

Таблица 3 – Основные показатели жидкого биопрепарата Бетапротектин

| Наименование показателя  | Характеристика и норма   |
|--|--|
| Внешний вид, цвет  | Суспензия серо-коричневого цвета с размером взвешенных частиц не более 0,25 мм |
| Запах  | Слабый, специфический для данного продукта                                     |
| Плотность, г/см <sup>3</sup>   | 1,01-1,05  |
| Показатель концентрации водородных ионов (рН)  | 6,8-7,4  |
| Титр спор, млрд./мл, не менее  | 1,0  |
| Антифунгальная активность, оцененная по диаметру зоны подавления роста тест-культуры <i>Fusarium redolens</i> , мм | 28-32  |

В 2010-2011 гг. нами проведены исследования по определению влияния биопестицида Бетапротектин на развитие заболеваний столовой свеклы как в период вегетации, так и в период зимнего хранения.

Установлено, что условия 2010 г. способствовали развитию церкоспороза на посевах столовой свеклы. Степень развития заболевания колебалась от 39,0% до 61,5% при распространенности 100% (таблица 4).

Таблица 4 – Влияние биопестицида Бетапротектин на распространенность и развитие церкоспороза столовой свеклы

| Вариант             | Сорт Красный шар |       |       | Сорт Болгарди |       |       |
|---------------------|------------------|-------|-------|---------------|-------|-------|
|                     | У, ц/га*         | Р, %* | Р, %* | У, ц/га*      | Р, %* | Р, %* |
| 1                   | 461,6            | 100   | 61,5  | 419,6         | 100   | 40,5  |
| 2                   | 464,3            | 100   | 58,0  | 421,4         | 100   | 39,0  |
| НСР <sub>0,05</sub> | 7,1              | -     | -     | 17,1          | -     | -     |

Примечание - У, ц/га\* - урожайность корнеплодов столовой свеклы, Р, %\* - распространенность заболевания, R, %\* - развитие заболевания.

Выявлено, что биопестицид Бетапротектин не оказывал существенного влияния на распространенность, развитие церкоспороза и на урожайность корнеплодов столовой свеклы.

Применение же биологического препарата в период вегетации, при закладке корнеплодов и при комплексном применении в период вегетации и при закладке на хранение обеспечило высокую эффективность против гнилей корнеплодов. Наибольшая биологическая и хозяйственная эффективность пестицида достигнута в варианте, где при-

менялся Бетапротектин по вегетации совместно с обработкой корнеплодов столовой свеклы перед закладкой на хранение. Биологическая эффективность на сорте Красный шар была на уровне 42,9%, на сорте Болтарди – 47,1% при уровне хозяйственной эффективности – 7,0% и 4,2% соответственно (таблица 5).

Таблица 5 – Эффективность биопестицида Бетапротектин против кагатной гнили корнеплодов столовой свеклы

| Вариант | сорта Красный шар                 |                                |                                | сорта Болтарди                    |                                |                                |
|---------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|         | Распространенность заболевания, % | Биологическая эффективность, % | Хозяйственная эффективность, % | Распространенность заболевания, % | Биологическая эффективность, % | Хозяйственная эффективность, % |
| 1       | 17,5                              | -                              | -                              | 10,6                              | -                              | -                              |
| 2       | 11,3                              | 35,7                           | 5,5                            | 6,3                               | 41,2                           | 3,7                            |
| 3       | 10,0                              | 42,9                           | 7,0                            | 5,6                               | 47,1                           | 4,2                            |
| 4       | 12,5                              | 28,6                           | 4,3                            | 6,9                               | 35,3                           | 3,2                            |

Установлено, что обработка растений биопестицидом оказывала влияние и на качественные показатели корнеплодов столовой свеклы (сухое вещество, содержание сахара и нитратов) (таблица 6).

Применение Бетапротектина приводило к увеличению сухого вещества в корнеплодах на 0,6-1,2%, сахара на 0,3-0,9% на сорте Красный шар, а на сорте Болтарди на 0,1-0,8%, 0,4-0,8% соответственно. Отмечено снижение нитратов в корнеплодах.

Таблица 6 – Качественные показатели корнеплодов столовой свеклы

| Вариант | сорт Красный шар  |          |                | сорт Болтарди     |          |                |
|---------|-------------------|----------|----------------|-------------------|----------|----------------|
|         | Сухое вещество, % | Сахар, % | Нитраты, мг/кг | Сухое вещество, % | Сахар, % | Нитраты, мг/кг |
| 1       | 15,0              | 10,1     | 408,9          | 14,0              | 9,0      | 337,3          |
| 2       | 15,9              | 10,6     | 387,3          | 14,4              | 9,6      | 321,6          |
| 3       | 16,2              | 11,0     | 400,7          | 14,8              | 9,8      | 316,2          |
| 4       | 15,6              | 10,4     | 412,9          | 14,1              | 9,4      | 323,3          |

Таким образом, в результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Изучены физиолого-биохимические, морфологические свойства патогенность и токсигенность штамма бактерии *B. subtilis* БИМ В-439 Д. Бактерии не проявляют вирулентных, токсигенных и токсических свойств, не обладает раздражающим кожу и слизистые оболочки действием.



2. Штамм бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 характеризуется широким спектром антифунгального действия и отличается способностью контролировать развитие целого комплекса фитопатогенных грибов - возбудителей кагатной гнили столовой свеклы, характерных для климатических условий Беларуси.

3. Наибольшая биологическая и хозяйственная эффективность пестицида достигнута в варианте с применением Бетапротектина по вегетации совместно с обработкой корнеплодов столовой свеклы перед закладкой на хранение. Биологическая эффективность на сорте Красный шар была на уровне 42,9%, на сорте Болгарди - 47,1% при уровне хозяйственной эффективности - 7,0% и 4,2% соответственно. Обработка корнеплодов биопрепаратом приводит к улучшению качественных показателей корнеплодов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Король И.Т. Биопрепараты для борьбы с болезнями растений / И.Т. Король // Микробиологическая защита растений. - М.: Колос, 1993. - С. 72-73.
2. Биологическая защита растений / Под ред. М.В.Штерншис. - М.:Колос. 2004. - 264 с.
3. Широков, А.В. Возбудители кагатных гнилей сахарной свеклы и меры борьбы с ними / А.В. Широков, Р.А. Кудярова, В.И. Кузнецов // Успехи медицинской микологии. Матер. V Всерос. конгр. по медиц. микологии. - Т. IX. М., 2007. - С. 120-121.
4. Коломиец Э.И. Эффективность бактерий рода *Bacillus* против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы / Э.И. Коломиец, А.В. Свиридов, Т.В. Романовская, А.Е. Воронкова, О.В. Молчан, В.В. Просвиряков // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: матер. Межд. научн. конф. 1-2 июля 2006 г. - Минск-Раков, 2006. - С. 338-341.
5. Коломиец Э.И. Научные и практические основы создания биопрепарата для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили / Э.И. Коломиец, О.С. Кильчевская, В.Н. Куцков, Т.В. Романовская, А.В. Свиридов // Биоценотическая регуляция - основа современных фитосанитарных технологий: матер. Межд. конф. 22-23 мая 2007 г. - С.-Петербург, 2007. - С. 145-147.
6. Коломиец Э.И. Бактерии-антагонисты как агенты биологического контроля кагатной гнили сахарной свеклы / Э.И. Коломиец, О.С. Кильчевская, В.Н. Куцков, Т.В. Романовская, Н.И. Гирилович, А.В. Свиридов // Микробные биотехнологии: функциональные и прикладные аспекты: сборник научных трудов ИНМИ. - Т. 1. Минск, 2007. - С. 170-176.
7. Сорока С.В. Интегрированная система защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков (рекомендации). - Мн., 2005. - 461с.
8. Поляков И.Я. Прогноз развития вредителей и болезней сельскохозяйственных культур (с практикумом) / И.Я. Поляков, М.П. Персов, В.А. Смирнов. - Л.: Колос, 1984. - 318 с.
9. Тарасенко, С.А. Физиология и биохимия растений. Практикум: учеб. пособие / С.А. Тарасенко, Е.И. Доропкевич. - Гродно: УО «Гродненский государственный аграрный университет», 2004. - 210 с.
10. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). - М.: Агропромиздат, 1985 - 351 с.