

ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ-АНТАГОНИСТОВ НА РАЗВИТИЕ СИМПТОМОВ ОСНОВНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ТОМАТА В ЗАЩИЩЕННОМ ГРУНТЕ

О.В. Виноградова¹, Т.А. Суркова², В.Г. Заец¹

¹Кафедра ботаники, физиологии, патологии растений и агробиотехнологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

²Институт паразитологии РАН
Ленинский пр., 33, Москва, Россия, 117071

Цель данной работы заключалась в изучении эффективных и экологически безопасных мер защиты от важнейших заболеваний томата в защищенном грунте. Дана оценка развития симптомов увядания у растений томата гибрида Кунеро при обработке бактериями-антагонистами и инокуляции *Clavibacter michiganensis*. Показано угнетающее действие изолятов бактерий-антагонистов на *Botrytis cinerea* и представителей рода *Fusarium*.

Тепличные комбинаты вокруг промышленных городов снабжают население свежими овощами круглый год. Особенно велика их роль в районах с зональным климатом. Однако в России площадь зимних теплиц составляет всего 2,1 тыс. га, которые производят около 510 тыс. т овощей. Средний урожай составляет 30—40 кг/м². Этого явно недостаточно. Причин этому много. Большинство зимних теплиц физически устарели, а новых построено всего лишь 50 га, несмотря на то, что было принято ряд постановлений Минсельхоза и Правительства о повышении эффективности работ тепличных предприятий. Многие теплицы арендуются для производства одной овощной культуры. Недостаточно удобрений, грунтов, обрабатывающей и контролирующей тепличные режимы техники, эффективных и безопасных средств защиты растений, что приводит к накоплению инфекции в теплицах.

Для обеспечения благополучной фитосанитарной обстановки в теплицах, для предотвращения потерь от вредных организмов, в том числе и от бактериального рака, разработан комплекс агротехнических, организационно-хозяйственных, профилактических и истребительных мероприятий [2]. Широкое применение находят в теплицах и пестициды. Однако возбудители болезней и вредители быстро

приобретают устойчивость к некоторым пестицидам, что вызывает необходимость увеличения числа обработок и повышения норм расхода препаратов. Многократное применение пестицидов создает опасность сохранения их остатков в плодах, ухудшает санитарно-гигиенические условия труда, приводит к повышенной гибели пчел, угрозе загрязнения остатками пестицидов почвогрунтов и водных источников. В связи с этим в последнее время стремятся сократить объемы применения химических средств, отдавая предпочтение мероприятиям, основанным на использовании биологических средств защиты растений. Пока объем применения биологических средств намного меньше масштабов химической защиты, но активно ведутся исследования в этой области, а также внедряются в производства биологические препараты защиты растений [6].

Материалы и методы. Возбудитель фузариозного увядания — *Fusarium oxysporum*. Вредоносность фузариоза велика, это связано с расовым разнообразием патогенна. В опытах зараженные сеянцы отставали в росте, а их более старые листья и семядоли желтели и увядали. При сильном заражении сеянцы погибали. На более крупных взрослых растениях первые симптомы болезни проявляются как пожелтение более старых листьев. Целые ветки приобретали желтую окраску, что в полевых условиях напоминает «желтые флаги». Часто наблюдается пожелтение листочков с одной стороны сложного листа или листьев с одной стороны ветки. Пораженные листья увядают и отмирают, хотя не опадают с растения. Зараженные растения увядают в солнечные дни и часто отстают в росте. При срезании стебля по диагонали или при отрыве боковых побегов от главного стебля видно характерное изменение окраски проводящей ткани на красно-коричневую, которое распространяется высоко вверх по растению.

Гриб может сохраняться в почве в течение нескольких лет и распространяться сельскохозяйственной техникой, зараженными растительными остатками и с поливной водой. Заражение происходит через ранения на корнях, вызванные почвообрабатывающим оборудованием, образованием придаточных корней и нематодами. Болезнь развивается быстро при высоких температурах почвы (28 °С). Высокие концентрации микроэлементов, фосфора или аммиачного азота способствуют усилению болезни [3].

Возбудитель серой гнили томатов — *Botrytis cinerea*. Опасный патоген. В наибольшей степени страдают стебли, которые травмируются при уходе за растениями. Заболевание развивается в период плодоношения и широко распространяется по теплице.

Данный болезнетворный гриб может заражать всю надземную часть растения и обычно проникает в растение через ранения. Первые признаки заражения на стебле проявляются в виде эллиптических насыщенных влагой пораженных участков. В условиях высокой влажности воздуха эти пораженные участки постепенно превращаются в серый плесневой налет, который может опоясать стебель и вызвать гибель растения. Повреждения на стебле часто имеют характерный рисунок из концентрических окружностей. Заражение листьев обычно происходит в месте ранения, которое постепенно превращается в V-образный пораженный участок, покрытый серыми зонами спороношения гриба. Как пра-

вило, гриб поражает плод со стороны чашечки и может быстро распространяться по нему, образуя пораженные участки с серо-коричневыми зонами спороношения. Впоследствии эти участки превращаются в водянистую гниль. Ботритиозная пятнистость плодов томата — часто наблюдающийся необычный симптом на плодах — характеризуется тем, что на зеленых или красных плодах образуются кольца, окраска которых варьирует от белой до желтой или зеленой. Появление таких колец наблюдается в тех случаях, когда гриб заражает плод, но дальнейшее развитие болезни приостанавливается при прямом воздействии на плод солнечных лучей и высоких температур. Ботритиозная пятнистость не развивается далее, однако пятна, образующиеся при ней, снижают коммерческое качество (товарный вид) продукции [1].

Данный болезнетворный гриб имеет широкий круг растений-хозяев, является эффективным сапрофитом и может длительное время сохраняться в почве и в пораженных растительных остатках в виде склероций. Он считается слабым паразитом и обычно заражает ткани растения через ранения. При достаточной влажности воздуха происходит спороношение и образуются серые массы спор гриба, которые легко разносятся ветром. Развитию болезни способствует пасмурная, прохладная и сырая погода. Загущенное размещение растений и плохая вентиляция могут значительно повышать вредоносность болезни [3].

Испытания изолятов бактерий-антагонистов в борьбе с патогенами *Botrytis cinerea* и представителями рода *Fusarium* вели *in vitro* в совместных культурах в чашках Петри на картофельно-глюкозной среде в стерильном боксе. Изоляты бактерий-антагонистов были выделены и идентифицированы к.б.н. Т.А. Сурковой. Опыт проводили в двух кратной повторности. Методика заключается в следующем: среду в чашках Петри засеивали с двух сторон. С правой стороны сеяли одинарным штрихом бактерию-антагониста, а с левой — уколом сеяли гриб *Fusarium* или *B. cinerea*. Между антагонистом и патогеном должна оставаться чистая среда (стерильная зона). После посева чашки с культурами ставили в термостат. Первый учет проводили через неделю после посева [5].

Одной из самых распространенных бактериальных болезней на томатах в защищенном грунте является бактериальный рак томата, вызываемый бактерией *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*.

Первые симптомы болезни проявляются в виде скручивания книзу и увядания нижних листьев. Увядание может затрагивать листочки только на одной стороне сложного листа, а вдоль внешней стороны средней жилки листа, черешка и стебля могут появляться светлоокрашенные полосы. Эти полосы могут лопаться, образуя язвы. Характерно то, что пораженные листья и черешки остаются прикрепленными к стеблю. Внутренние повреждения стебля проявляются в изменении окраски проводящей ткани на светло-коричневую или желтую [1]. Кроме того, сердцевина часто приобретает желтую окраску, становится мучнистой и полой. При надавливании на пораженный стебель из него, на конце, где был произведен срез, может вытекать желтая бактериальная слизь. Поражение плодов проявляется в виде небольших поврежденных участков белого цвета, которые постепенно превращаются в покрытые чешуйками поврежденные

зоны коричневые, окруженные белой окантовкой, в результате чего пораженные участки внешне напоминают птичий глаз. Проводящая ткань, проходящая от листового рубца на стебле в плод, обычно изменяет окраску на желто-коричневую, а в сердцевине могут образовываться полости. Эти проявляющиеся на плодах симптомы — обычное явление в тепличной культуре томата. Заражение обычно происходит через повреждения в растительной ткани. Однако оно может происходить и через устьица или корни. Болезнетворные бактерии могут сохраняться до 5 лет в почве и в зараженных растительных остатках. Они могут также выживать на сорняках, самосевных растениях томата и семенах. Вторичное распространение инфекции происходит с каплями разбрызгиваемой воды, на зараженном оборудовании и инструментах, используемых для пасынкования, обрезки и пересадки растений. Развитию болезни благоприятствуют умеренные температуры (18—24 °С) и относительная влажность воздуха выше 80%. Оптимальная для роста растений влажность почвы, слабое освещение и высокое содержание питательных веществ, особенно азота, также способствуют развитию болезни [4].

При несвоевременной защите томатов потери урожая от бактериального рака могут достигать до 60%.

При оценке влияния бактерий-антагонистов на развитие бактериального рака побеги растений томата гибрида Кунеро срезали на 40-дневной рассаде, выращенной в теплице биологической лаборатории. В опыте следующие варианты и штаммы бактерий-антагонистов:

- 1) *Bacillus subtilis* Ал-5, заражение *Clavibacter michiganensis*;
- 2) *Pseudomonas fluorescens* AR-33, заражение *Clavibacter michiganensis*;
- 3) *Pseudomonas aureofaciens* А2, заражение *Clavibacter michiganensis*;
- 4) смесь из четырех штаммов, заражение *Clavibacter michiganensis*;
- 5) *Bacillus subtilis* В1А2, заражение *Clavibacter michiganensis*;
- 6) контроль, без обработки биопрепаратами.

Изоляты *Clavibacter michiganensis*, возбудителя бактериального рака томата, были выделены в предыдущие и текущий годы из растений томатов, выращивавшихся в агрокомбинате «Московский».

Перед использованием в опыте побеги помещали в воду, удаляли нижние листья, оставляя 2—3 верхних, полностью развернувшихся. Для каждого варианта использовали по 10 побегов, помещая их по 5 шт. в литровые стеклянные банки с водой.

Обработки антагонистами проводили, помещая побеги на 4 часа в 0,2%-ю суспензию биопрепарата. Инокуляцию возбудителем бактериального рака томата проводили через 3 дня с использованием спичек. Для этого стерильные (проавтоклавированные) спички, заостренные с одного конца, замачивали в суспензии бактерий *Clavibacter michiganensis*, приготовленных из чистых культур нескольких изолятов возбудителя, втыкали в узел в той части побега, где сохранился нижний лист.

Результаты и обсуждение. Анализируя данные табл. 1, 2, отмечаем, что почти все бактерии-антагонисты угнетают рост *Botrytis cinerea* и представи-

телей рода *Fusarium*. Особого внимания заслуживают изоляты *B. thuringiensis*, *B. subtilis* B1A2, *B. subtilis* Yc B1-02, *B. polymyxa* A2, *Enterobacter agglomerans*, несмотря на небольшой радиус колоний они длительное время смогли удерживать значительный размер стерильной зоны. Кроме того, бактерии *B. subtilis* Yc B5-02, *B. polymyxa* A1, *Enterobacter agglomerans* в равной степени сдерживали рост как возбудителей корневых гнилей, так и возбудителя серой гнили томата.

Таблица 1

Действие бактерий-антагонистов на грибы рода *Fusarium*

| Изоляты бактерий | Радиус колонии бактерии | | Размер стерильной зоны | | Радиус колонии гриба | |
|---------------------------------|-------------------------|-----|------------------------|-----|----------------------|------|
| | мм | % | мм | % | мм | % |
| Без бактерий | 0 | 0 | 0 | 0 | 45 | 100 |
| <i>Bacillus thuringiensis</i> | 4 | 12 | 16 | 70 | 25 | 55 |
| <i>B. subtilis</i> B1A2 | 15 | 44 | 23 | 100 | 23 | 51 |
| <i>B. subtilis</i> B2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 29 | 64 |
| <i>B. subtilis</i> Yc B1-02 | 21,5 | 63 | 8 | 35 | 25,5 | 56 |
| <i>B. subtilis</i> Yc B5-02 | 7 | 20 | 14,5 | 63 | 24,5 | 54 |
| <i>B. subtilis</i> Yc ДД-02 | 34 | 100 | 0 | 0 | 24,5 | 54 |
| <i>B. subtilis</i> Пс 2-02 | 34 | 100 | 2 | 9 | 25 | 55 |
| <i>B. subtilis</i> Cu 90ст-02 | 24 | 70 | 4 | 18 | 21,5 | 48 |
| <i>B. polymyxa</i> A1 | 22,5 | 66 | 5 | 22 | 25 | 55 |
| <i>B. polymyxa</i> A2 | 12,5 | 37 | 18 | 78 | 26 | 57 |
| <i>Enterobacter agglomerans</i> | 29 | 85 | 15 | 66 | 23 | 51 |
| Среднее | 15,65 | | 8,79 | | 26,42 | |
| НСР ₀₅ | | | | | | 1,19 |

Заражение бактериальным раком приводит к некротическим поражениям верхних листьев и иногда стебля, сопровождающимся их пожелтением в большей или меньшей степени и снижением тургора. В то же время стебель, расположенный ниже места укола спичкой, сохраняет свою окраску и тургор. Нередко признаки поражения от бактериального рака томата и от загнивания вследствие развития сапротрофных бактерий смешивались. Для оценки степени поражения использовали обобщенную пятибалльную шкалу: 0 — здоровый побег; 1 — слабая степень поражения, пожелтение без некрозов или слабо заметные некрозы на отдельных листьях; 2 — средняя степень поражения, некрозы на половине листьев, выраженное пожелтение или поникание отдельных листьев; 3 — сильная степень поражения, некрозы охватывают более 75% поверхности листьев, поникание побега; 4 — очень сильная степень поражения, все листья с некрозами, побег отмирает.

Таблица 2

Действие бактерий-антагонистов на *Botrytis cinerea*

| Изоляты бактерий | Радиус колонии бактерии | | Размер стерильной зоны | | Радиус колонии гриба | |
|-------------------------|-------------------------|----|------------------------|----|----------------------|-----|
| | мм | % | мм | % | мм | % |
| Без бактерий | 0 | 0 | 0 | 0 | 37 | 75 |
| <i>B. thuringiensis</i> | 5 | 16 | 2 | 9 | 49 | 100 |
| <i>B. subtilis</i> B1A2 | 29,5 | 95 | 2 | 9 | 33,5 | 68 |
| <i>B. subtilis</i> B2 | 25,5 | 82 | 5 | 22 | 31,5 | 64 |

Окончание таблицы

| Изоляты бактерий | Радиус колонии бактерии | | Размер стерильной зоны | | Радиус колонии гриба | |
|---------------------------------|-------------------------|-----|------------------------|-----|----------------------|------|
| | | | | | | |
| <i>B. subtilis</i> Ус Б1-02 | 26,5 | 85 | 6 | 26 | 23 | 46 |
| <i>B. subtilis</i> Ус Б5-02 | 8 | 26 | 10 | 44 | 22 | 45 |
| <i>B. subtilis</i> Ус ДД-02 | 19 | 61 | 10 | 44 | 39 | 79 |
| <i>B. subtilis</i> Пс 2-02 | 12 | 39 | 4 | 17 | 26,5 | 54 |
| <i>B. subtilis</i> Су 90ст-02 | 31 | 100 | 4 | 17 | 28 | 57 |
| <i>B. polymyxa</i> А1 | 16 | 51 | 4 | 17 | 32,5 | 66 |
| <i>B. polymyxa</i> А2 | 12 | 39 | 23 | 100 | 15 | 30 |
| <i>Enterobacter agglomerans</i> | 14 | 45 | 10 | 44 | 27,5 | 56 |
| Среднее | 16,54 | | 6,67 | | 30,38 | |
| НСР ₀₅ | | | | | | 1,24 |

Таблица 3

Развитие симптомов поражения у побегов растений томата гибрида Кунеро F1 при обработке бактериями-антагонистами и инокуляции *Clavibacter michiganensis in vitro*

| Варианты обработок | Число растений, шт. | Номера учетов | | |
|--|---------------------|---------------|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 |
| Интенсивность развития симптомов, % | | | | |
| Инокуляция возбудителем бактериального рака томата | | | | |
| Контроль | 10 | 85 | 95 | 95 |
| <i>B. subtilis</i> Ал-5 | 10 | 15 | 27 | 47 |
| <i>B. subtilis</i> В1А2 | 10 | 5 | 50 | 60 |
| <i>P. fluorescens</i> AR-33 | 10 | 23 | 65 | 70 |
| <i>P. aureofaciens</i> А2 | 10 | 10 | 25 | 53 |
| Смесь из 4 штаммов | 10 | 7 | 27 | 57 |
| Всего | 70 | 26 | 51 | 65 |
| НСР ₀₅ | | 10 | 12 | 11 |

В контроле без заражения бактериальным раком симптомы увядания начались более интенсивно, чем при заражении, хотя различия не достоверны. Наиболее быстро бактериальный рак томата развивался в варианте с обработкой побегов *P. fluorescens* AR-33. Сдерживали его обработки суспензиями *P. aureofaciens* А2, *B. subtilis* В1А2 и *B. subtilis* Ал-5.

Для внедрения в производство новых средств борьбы с болезнями растений необходимо убедиться, что данные средства не являются опасными для самих растений.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Защита растений / В.А. Шкаликowa (ред.). — М.: Колос, 2004.
- [2] Защита растений от болезней в теплицах (справочник) / А.К. Ахатов (ред.). — М.: Товарищество научных изданий КМК, 2002.
- [3] Рудаков О.Л., Олейник В.О., Рудаков В.О. Пособие по фитопатологии для закрытого грунта. — М.: Агроконсалт, 2001.
- [4] Овощеводство / Г.И. Тараканов, В.Д. Мухин (ред.). — М.: Колос, 2002.
- [5] Основные методы диагностики фитопатогенных бактерий / Е.В. Матвеева, Е.С. Семигонова, Э.Ш. Пехтерева (ред.). — М.: ВАСХНИИЛ, 1990.
- [6] Система биологической защиты овощных культур от вредителей и болезней в теплицах / В.А. Павлюшина (ред.). — СПб., 2006.

**THE INFLUENCE OF BACTERIA-ANTAGONISTS
ON DEVELOPMENT OF SYMPTOMS
OF THE BASIC ILLNESSES OF A TOMATO
IN THE PROTECTED GROUND**

O.V. Vinogradova¹, T.A. Surkova², V.G. Zayets¹

¹Department of botany, plant physiology, plant pathology and agrobiotechnology
Russian People's Friendship University
Miklucho-Maklay str., 8/2, Moscow, Russia, 117198

²Institute of Parasitology (RAS)
Leninsky pr., 33, Moscow, Russia, 117071

The purpose of the given work consist in studying effective and ecologically safe measures of protection from the major diseases of a tomato in the protected ground. The estimation of development of symptoms of withering at plants of a tomato of hybrid Kunero F1 is given at processing by bacteria-antagonists and inoculation *Clavibacter michiganensis*. It shows the inhibitory influence of isolants of bacteria-antagonists on *Bothrytis cenerea* and *Fusarium sp.*