

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 4, Number 322 (2017), 142 – 147

L. P. Trenochnikova, G. D. Ultanbekova, A. S. Balgimbayeva, R. Sh. Galimbaeva, A. Masirbayeva

RSOE “Institute of Microbiology and Virology” CS MES RK, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: barahitian@yandex.ru

**STUDY ON THE EFFECT OF BIOPHERATION BASED  
ON STREPTOMYCETE STRAINS ON WHEAT GROWTH  
UNDER CONDITIONS OF *FUSARIUM OXYSPORUM* INFRUCTION**

**Abstract.** The causative agents of fusarioses are the most deleterious pathogens of cereal crops, leading to direct crop losses of up to 30-40%, and grain quality losses of up to 100%. The purpose of this study was to examine the protective and stimulating effect on cereals of a new biopreparation developed on the basis of streptomycete strains isolated from the extreme ecosystems of Kazakhstan under the conditions of *Fusarium oxysporum* infection. The strains *Streptomyces candidus* K-37 and *Streptomyces canofumeus* K-541 isolated from the extreme ecosystems of Kazakhstan were used as objects of the study. The results of the vegetative studies have shown that all the compositions of the new biopreparation possess a stimulating effect on the plant growth in different ecological niches under conditions of the artificial infection with *Fusarium oxysporum*. The most pronounced stimulating effect is produced by compositions A and C. Under neutral conditions against the infectious background, composition A stimulates 1.5 and 1.3 times elongation of wheat seedlings and roots, respectively, and 2.1, 1.9, 2 times increases in the fresh weight of stems, roots, and entire plants, respectively. Under salinity conditions (0.4% NaCl), the most pronounced stimulating effect on the artificial infectious background is produced by composition C, which comprises the ethanol preparation of antibiotic A-541.

**Keywords:** streptomycete, antibiotic, biopreparation, fusariosis, wheat.

УДК 631.4

Л. П. Треножникова, Г. Д. Ултанбекова,  
А. С. Балгимбаева, Р. Ш. Галимбаева, А. Масирбаева

Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК, Алматы, Казахстан

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ  
ШТАММОВ СТРЕПТОМИЦЕТОВ НА РОСТ ПШЕНИЦЫ  
В УСЛОВИЯХ ИНФИЦИРОВАНИЯ *FUSARIUM OXYSPORUM***

**Аннотация.** Возбудители фузариозов являются наиболее вредоносными патогенами зерновых культур, приводящими к прямым потерям урожая до 30-40 %, потерям качества зерна – до 100 %. Цель работы заключалась в исследовании защитного и стимулирующего действия на зерновые культуры нового биопрепарата, разработанного на основе штаммов стрептомицетов, выделенных из экстремальных экосистем Казахстана, в условиях заражения *Fusarium oxysporum*. Объектами исследований служили штаммы *Streptomyces candidus* K-37 и *Streptomyces canofumeus* K-541, изолированные из экстремальных экосистем Казахстана. В результате проведенных вегетационных исследований показано, что все композиции нового биопрепарата обладают стимулирующим действием на рост растений в разных экологических нишах в условиях искусственного заражения *Fusarium oxysporum*. Наиболее выраженное стимулирующее действие оказывают композиции А и С. Композиция А в нейтральных условиях на инфекционном фоне стимулирует длину проростков пшеницы в 2 раза, длину корня в 1,3 раза, сырую массу стебля в 2,1 раза, сырую массу корня в 1,9 раза, сырую массу

растения в 2 раза. В условиях засоления (NaCl 0,4%) на искусственном инфекционном фоне наиболее выраженное стимулирующее действие оказывает композиция С, в состав которой входит этанольный препарат антибиотика А-541.

**Ключевые слова:** стрептомицет, антибиотик, биопрепарат, фузариоз, пшеница.

В настоящее время актуальной проблемой растениеводства является борьба с заболеваниями сельскохозяйственных культур, возбудителями которых являются различные фитопатогенные грибы. Зерновые культуры подвержены воздействию большого комплекса фитопатогенов, среди которых наиболее вредоносными являются возбудители фузариозов, приводящие к прямым потерям урожая до 30-40 %, потерям качества зерна – до 100 % [1]. Массовым эпифитотиям этих заболеваний и переходу гриба от преимущественно сапротрофного типа питания к паразитическому способствует группа факторов, присущих интенсивным технологиям. В их числе – не только применение химических протравителей и фунгицидов, но и поверхностная предпосевная обработка почвы, избыточное внесение азотных удобрений, ретардантов и т.д. Наблюдается тенденция к увеличению доли пораженных растений как в фазе всходов, так и в фазе созревания, что свидетельствует о неблагоприятной экологической обстановке в агроценозах.

Методы химической защиты имеют ряд существенных недостатков, поскольку их применение приводит к загрязнению окружающей среды, что сказывается на здоровье людей и животных. Высокая стойкость пестицидов, неспецифичность их действия и накопление в окружающей среде токсических остатков приводят к глубоким изменениям в экосистемах: формированию устойчивых рас возбудителей болезней, уменьшению численности полезных членов микробиоты природных биоценозов, снижению биологической активности почвы [2]. Использование естественных обитателей почвы в качестве основных биоконтролирующих агентов позволяет устранить данные недостатки, а также способствует ее оздоровлению. В связи с этим актуальным является поиск наиболее активных штаммов микроорганизмов для борьбы с фитопатогенами и получение на их основе новых видов препаратов [3-6].

Актиномицеты в последнее время рассматриваются как эффективные микроорганизмы в составе биопрепаратов для растениеводства. Они обладают широким диапазоном биосинтетических возможностей, образуя различные биологически активные вещества: антибиотики, сидерфоры, фитогормоны и другое, что делает их перспективными агентами биоконтроля грибковых заболеваний сельскохозяйственных растений [7-9]. Актиномицеты входят в группу PGPR бактерий, они способны активно колонизировать ризосферу, создавать поверхностную защиту корневой системы от прессинга патогенов и стимулировать рост растений [10, 11]. Применение таких бактерий в составе биопрепаратов сопровождается накоплением биологического азота, интенсификацией роста и развития растений, повышением их устойчивости к стрессам и снижением уровня заболеваний, получением экологически безопасной продукции, а также снижением темпов разложения гумуса [12-16].

Новизна выполненной работы заключается в использовании штаммов стрептомицетов, выделенных из экстремальных экосистем Казахстана, в качестве агентов биоконтроля фузариоза зерновых культур и продуцентов биологически активных веществ, стимулирующих рост растений.

Цель работы заключалась в исследовании защитного и стимулирующего действия на зерновые культуры нового биопрепарата, разработанного на основе штаммов экстремофильных стрептомицетов, в условиях заражения *Fusarium oxysporum*.

**Материалы и методы.** Объектами исследований служили штаммы *Streptomyces candidus* К-37 и *Streptomyces canofumeus* К-541, изолированные из экстремальных экосистем Казахстана. Эти штаммы, обладающие антифунгальными и стимулирующими рост и развитие растений свойствами, отобраны в результате исследований по разработке состава биопрепарата многоцелевого действия для биоконтроля грибковых заболеваний и регуляции роста зерновых культур в разных экологических условиях.

Вегетационные опыты проводили с использованием трех жидких форм биопрепарата: на основе композиций А (нативные растворы штаммов К-541 и К-37 в соотношении 2:1), В (культуральные жидкости штаммов К-541 и К-37, 2:1), С (культуральная жидкость штамма К-37 и этанольный препарат антибиотика А-541, 50:1). Фильтраты культуральной жидкости и нативные растворы использовали в разведении 1:10.

Штаммы стрептомицетов культивировали на среде с овсяной мукой в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл в объеме среды 100 мл на круговой качалке (180-200 об/мин) при температуре 28° С в течение 120 часов. Этанольный препарат антибиотика А-541 получали методом экстракции.

Вегетационные опыты проводили на фоне искусственного заражения семян *Fusarium oxysporum*. Семена пшеницы сорта Милана (селекция КИЗ) замачивали в суспензии фитопатогенного гриба (*Fusarium oxysporum*) с титром  $10^6$  в течение 2 часов, подсушивали на фильтровальной бумаге, затем обрабатывали жидкими формами биопрепаратов также в течение 2 часов. Посев проводили в нейтральную почву и почву, обработанную растворами хлорида натрия в количестве 2,0 и 4,0 г/кг почвы. Контрольными вариантами служили замоченные в воде и зараженные семена без последующей обработки. Учет результатов в модельном эксперименте проводили по следующим показателям: всхожести семян, биометрическим и весовым показателям всходов на 7 сутки роста.

Все исследования проводили в трех-пяти повторностях. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [17].

### Результаты и их обсуждение

Проведены вегетационные эксперименты на инфекционном фоне по применению трех жидких форм биопрепаратов в разных экологических условиях методом замачивания семян пшеницы сорта Милана. Полученные данные приведены в таблице и на рисунках 1, 2.

Влияние жидких форм биопрепарата на рост и развитие пшеницы сорта Милана в условиях искусственного инфекционного фона (*F. oxysporum*)

Композиция	Варианты опыта	Концентрация соли, %	Всхожесть, %	Длина стебля, см	Длина корня, см	Сырая масса стебля, г	Сырая масса корня, г	Сырая масса растения, г
Контроль	Нейтральная среда	–	52,5±0,3	9,5±0,2	8,0±0,1	0,056±0,03	0,054±0,02	0,110±0,05
	NaCl	0,2	47,0±0,1	9,0±0,2	7,0±0,4	0,051±0,03	0,047±0,02	0,098±0,01
		0,4	30,0±0,3	8,0±0,3	4,3±0,3	0,046±0,01	0,042±0,01	0,088±0,03
Композиция А	Нейтральная среда	–	86,7±0,1	19,0±0,3	10,0±0,1	0,115±0,01	0,10±0,02	0,215±0,03
	NaCl	0,2	73,3±0,2	18,0±0,2	8,0±0,2	0,110±0,05	0,090±0,01	0,20±0,01
		0,4	67,3±0,2	16,5±0,2	7,7±0,2	0,1±0,02	0,08±0,04	0,163±0,03
Композиция В	Нейтральная среда	–	73,3±0,2	17,6±0,1	10,0±0,1	0,114±0,03	0,96±0,02	0,210±0,03
	NaCl	0,2	67,3±0,2	16,0±0,3	7,7±0,1	0,100±0,03	0,080±0,02	0,180±0,02
		0,4	52,5±0,3	15,2±0,4	7,0±0,4	0,090±0,01	0,070±0,03	0,160±0,01
Композиция С	Нейтральная среда	–	86,7±0,1	20,0±0,1	12,0±0,3	0,125±0,02	0,100±0,04	0,225±0,05
	NaCl	0,2	73,3±0,2	19,0±0,2	10,0±0,3	0,112±0,01	0,10±0,05	0,212±0,01
		0,4	67,3±0,2	15,0±0,1	8,0±0,1	0,106±0,01	0,90±0,03	0,165±0,06

Примечание. Уровень значимости  $p < 0,05$ .

Фузариозы являются очень вредоносными заболеваниями зерновых культур и значительно влияют на урожайность растений. Фузариоз поражает корни, узлы кушения и основания стеблей пшеницы, стебли увядают, переламываются и растения полегают. Всхожесть пораженных семян пшеницы и риса снижается в 2-3 раза. Корневая фузариозная гниль может вызвать значительные потери урожая, уменьшая количество побегов, вес зерна и количество зерен в колосе. В наших исследованиях фузариозная инфекция сильно угнетала всхожесть семян: в вегетационном эксперименте (контроль) в нейтральных условиях на 20,8%, в условиях засоления на 20,3-22,5%. Применение жидких форм биопрепарата оказывало положительное влияние на всхожесть семян пшеницы, как в нейтральных, так и засоленных условиях.



1 - контроль, 2- композиция А, 3 - композиция С

Рисунок 1 – Влияние жидких форм биопрепарата на рост и развитие растений пшеницы сорта Милана в нейтральных условиях искусственного инфекционного фона



1 - контроль, 2 - композиция А, 3 - композиция С

Рисунок 2 – Влияние жидких форм биопрепарата на рост и развитие растений пшеницы сорта Милана в условиях искусственного инфекционного фона при засолении (NaCl 0,4%)

В условиях инфекционного фона композиции А и С оказывали наибольшее положительное действие на всхожесть и рост растений, увеличивая рост стебля и корня, их сырую массу и общий вес растений.

Композиция А в нейтральных условиях на инфекционном фоне стимулирует длину проростков пшеницы в 2 раза, длину корня в 1,3 раза, сырую массу стебля в 2,1 раза, сырую массу корня в 1,9 раза, сырую массу растения в 2 раза. Композиция В в нейтральных условиях стимулирует длину проростков пшеницы в 1,8 раза, длину корня в 1,1 раза, сырую массу стебля в 2 раза, сырую массу корня в 1,8 раза, сырую массу растения в 1,9 раза. Композиция С в нейтральных условиях стимулирует длину проростков пшеницы в 2,1 раза, длину корня в 1,5 раза, сырую массу стебля в 2,2 раза, сырую массу корня в 1,9 раза, сырую массу растения в 1,9 раза.

В условиях засоления (NaCl 0,4%) на искусственном инфекционном фоне наиболее выраженное стимулирующее действие оказывает композиция С, в состав которой входит этанольный препарат антибиотика А-541. Композиция А стимулирует длину проростков пшеницы в 2,1 раза, длину корня в 1,8 раза, сырую массу стебля в 2,2 раза, сырую массу корня в 1,9 раза, сырую массу растения в 1,8 раза. Композиция С стимулирует длину проростков пшеницы в 1,9 раза, длину корня в 1,9 раза, сырую массу стебля в 2,3 раза, сырую массу корня в 2,1 раза, сырую массу растения в 1,9 раза.

Таким образом, в результате проведенных вегетационных исследований показано, что все жидкие формы биопрепарата обладают стимулирующим действием в разных экологических нишах в условиях искусственного заражения фитопатогенным грибом *F. oxysporum*, наиболее выраженное стимулирующее действие оказывают композиции А и С.

**Источник финансирования исследований.** Министерство образования и науки Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур. – СПб.: РАСХН, 2011. – 120 с.
- [2] Солдатенков А.Т., Колядина Н.М. Пестициды и регуляторы роста: прикладная органическая химия. – М.: БИНОМ, 2010. – С. 223.
- [3] Олива Т.В., Шевченко Г.В., Исаева О.М. Биотехнологические альтернативы в сельском хозяйстве // Успехи современного естествознания. – 2007. – Т. 12. – С. 42-43.
- [4] Максимов И.В., Абизгильдина Р.Р., Пусенкова Л.И. Стимулирующие рост растений микроорганизмы как альтернатива химическим средствам защиты от патогенов (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – № 4. – С. 373-385.
- [5] Чулкина В.А., Торопова Е.Ю., Стецов Г.Я. Экологические основы интегрированной защиты растений. – М.: Колос, 2007. – 586 с.
- [6] Штерншис М.В. Роль и возможности биологической защиты растений // Защита и карантин растений. – 2006. – № 6. – С. 14-16.
- [7] El-Tarabily K.A. Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing streptomycete actinomycetes // Plant and Soil. – 2008. – Vol. 308. – P. 161-174.
- [8] Aldesuquy H.S., Mansour F.A., Abo-Hamed S.A. Effect of the culture filtrates of *Streptomyces* on growth and productivity of wheat plants // Folia Microbiologica. – 1998. – Vol. 43. – P. 465-470.
- [9] Al-Askar A.A., Abdul Khair W.M., Rashad Y.M. In vitro antifungal activity of *Streptomyces spororaveus* RDS28 against some phytopathogenic fungi // African Journal of Agricultural Research. – 2011. – Vol. 6 (12). – P. 2835-2842.
- [10] Tokala R.K., Strap J.L., Jung C.M., Crawford D.L., Salove M.H., Deobald L.A., et al. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*) // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – Vol. 68. – P. 2161-2171.
- [11] Gopalakrishnan S., Kiran B.K., Humayun P., Vidya M.S., Deepthi K., Rupela O. Biocontrol of charcoal-rot of sorghum by actinomycetes isolated from herbal vermicompost // Afr. J. Biotechnol. – 2011. – Vol.10. – P. 18142-18152.
- [12] Полянская Л.М., Веди́на О.Т., Лысак Л.В. и др. Стимуляция роста растений культурами *Beierinckia* и *Clostridium* // Микробиология. – 2002. – Т. 71, № 1. – С. 123-129.
- [13] Романовская Т.В., Коломиец Э.И., Здор Н.А. и др. Биопрепарат Энатин с широким спектром антимикробного действия // Прикладная биохимия и микробиология. – 2002. – Т. 38, № 6. – С. 669-676.
- [14] Иванов А.А. Препарат «Эстрагран» для стимуляции роста и защиты растений от болезней // Пат. 2302114 Россия Заяв. 05.10.2005; Опубл. 10.07.2007.
- [15] Побо́да Л.В. Алелопатична стимуляція біологічної фіксації азоту // Зб. матеріалів наук. практ. конф. «Алелопатія та азотфіксація в агроекосистемах». – Харків, 2007. – С. 74-83.
- [16] Мали́новська І.М., Черниш О.О. Вплив комплексної обробки *Agrobacterium radiobacter* та фосформобілізуючими мікроорганізмами на врожайність ярої пшениці // Зб. матеріалів наук. практ. конф. «Алелопатія та азотфіксація в агроекосистемах». – Харків, 2007. – С. 100-102.
- [17] Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М.: Медицина, 1975. – 295 с.

REFERENCES

- [1] Gagkaeva T.Ju., Gavrilova O.P., Levitin M.M., Novozilov K.V. Fuzarioz zernovykh kul'tur, SPb.: RASChN, 2011 (in Russ.).
- [2] Soldatenkov A.T., Koljadina N.M. Pesticidy i reguljatory rosta: prikladnaja organiceskaja chimija, M.: BINOM, 2010 (in Russ.).
- [3] Oliva T.V., Sevchenko G.V., Isaeva O.M. *Uspechi sovremennoego estestvoznanija*. **2007**, *12*, 42-43 (in Russ.).
- [4] Maksimov I.V., Abizgil'dina R.R., Pusenkova L.I. *Prikladnaja biochimija i mikrobiologija*, **2011**, *4*, 373-385 (in Russ.).
- [5] Culkina V.A., Toropova E.Ju., Stecov G.Ja. *Ekologiceskie osnovy integrirovannojj zacsity rastenijj*, M.: Kolos, **2007** (in Russ.).
- [6] Stemsis M.V. *Zacsita i karantin rastenijj*, **2006**, *6*, 14-16 (in Russ.).
- [7] El-Tarabily K.A. *Plant and Soil*, **2008**, *308*, 161-174.
- [8] Aldesuquy H.S., Mansour F.A., Abo-Hamed S.A. *Folia Microbiologica*, 1998, *43*, 465-470.
- [9] Al-Askar A.A., Abdul Khair W.M., Rashad Y.M. *Afr. J. Agr. Res.*, **2011**, *6 (12)*, 2835-2842.
- [10] Tokala R.K., Strap J.L., Jung C.M., Crawford D.L., Salove M.H., Deobald L.A., et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, **2002**, *68*, 2161-2171.
- [11] Gopalakrishnan S., Kiran B.K., Humayun P., Vidya M.S., Deepthi K., Rupela O. *Afr. J. Biotechnol.*, **2011**, *10*, 18142-18152.
- [12] Poljanskaja L.M., Vedina O.T., Lysak L.V. i dr. *Mikrobiologija*, **2002**, *71(1)*, 123-129 (in Russ.).
- [13] Romanovskaja T.V., Kolomiec E.I., Zdor N.A. i dr. *Prikladnaja biochimija i mikrobiologija*, **2002**, *38(6)*, 669-676 (in Russ.).
- [14] Ivanov A.A. Preparat «Estragran» dlja stimuljaccii rosta i zacsity rastenijj ot boleznejj, Pat. 2302114. Opubl. 10.07.2007.

- [15] Poboda L.V. Zb. materialiv nauk. prakt. konf. Alelopatija ta azotfikscija v agroekosistemach, Char'kiv, 2007 (in Russ.).
- [16] Malinovs'ka I.M., Cernis O.O. Vpliv kompleksnoї obrobki. Zb. materialiv nauk. prakt. konf. Alelopatija ta azotfikscija v agroekosistemach, Char'kiv, 2007 (in Russ.).
- [17] Urbach V.Ju. Statisticeskijj analiz v biologiceskich i medicinskih issledovanijach, M.: Medicina, 1975, (in Russ.).

**Л. П. Треножникова, У Г. Д. лтанбекова, А. С. Балгимбаева, Р. Ш. Галимбаева, А. Масирбаева**

Микробиология және вирусология институты, Алматы, Қазақстан

**СТРЕПТОМИЦЕТ ШТАМДАРЫНЫҢ НЕГІЗІНЕН ӘЗІРЛЕНГЕН  
БИОПРЕПАРАТТАРДЫҢ *FUSARIUM OXYSPORUM* ЖҰҚТЫРЫЛҒАН ЖАҒДАЙЫНДА  
БИДАЙДЫҢ ӨСУІНЕ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ**

**Аннотация.** Астық тұқымдастарында фузариоз қоздырғыштары ең зиянды патогенді болып табылып, ол егіннің тікелей 30-40% жарамсыздығына яғни, астықтың 100 % нашарлауына келесебебін тигізеді. Жұмыстың мақсаты Қазақстанның экстремалді экожүйесінен *Fusarium oxysporum*-мен залалданған жағдайынан бөліп алып, стрептомицет штамы негізінде дайындалған астық тұқымын қорғау және өсуіне әсерін тигізетін жаңа биопрепаратты зерттеумен негізделеді. Жұмыстың мақсаты Қазақстанның экстремалді экожүйесінен *Fusarium oxysporum*-мен залалданған жағдайынан бөліп алып, стрептомицет штамы негізінде дайындалған астық тұқымын қорғау және өсуіне әсерін тигізетін жаңа биопрепаратты зерттеумен негізделеді. Зерттеу нысаны ретінде Қазақстанның экстремофильді экожүйесінен өзгешеленген *Streptomyces canofumeus* K-37 және *Streptomyces canofumeus* K-541 штамы бөліп алынды.

Жүргізілген өсімділікті зерттеу нәтижесінде көрсетілгендей, жаңа биопрепараттың барлық композициясы жасанды *Fusarium oxysporum*-мен залалдандыру арқылы түрлі экологиялық жағдайда өсімдіктің өсу жағдайына әсерін тигізеді. Өсімділік әсеріне А мен С композициясы едәуір әсер етеді. Ал инфекциялық фондағы бейтарап жағдайда бидайдың өсімділігі 2 есе, тамырының ұзындығы 1,3 есе, дымқыл өсімдік сабағының массасы 2,1 есе, дымқыл тамырының массасы 1,9 есе, дымқыл өсімдік массасы 2 есе жоғарылады. Тұздану жағдайында (NaCl 0,4%) жасанды инфекциялық фонда этанолды препарат құрамына кіретін А-541 антибитигі қатысында С композициясы өсу жағдайына едәуір жақсы тиімділік әсерін қалыптастырады.

**Түйін сөздер:** стрептомицет, антибиотик, биопрепарат, фузариоз, бидай.