

DOI 10.33952/2542-0720-2021-3-27-125-134

УДК 632.937:58.035

Маслова М. В.<sup>1</sup>, Грошева Е. В.<sup>1</sup>, Будаговский А. В.<sup>1,2</sup>, Будаговская О. Н.<sup>1,2</sup>,  
Каменева И. А.<sup>3</sup>

**АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ В ОТНОШЕНИИ  
ФИТОПАТОГЕНОВ У БАКТЕРИЙ *PAENIBACILLUS POLYМУХА*, *BACILLUS  
AMYLOLIQUEFACIENS* И ИХ ЛАЗЕРНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Федеральный научный центр им. И. В. Мичурина»;

<sup>3</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

**Реферат.** Биологическому способу защиты растений от болезней уделяется особое внимание благодаря развитию органического земледелия. Поэтому создание новых биопрепаратов и изучение их эффективности является перспективным направлением. Цель исследований – изучение антагонистической активности у бактерий *Paenibacillus polymyxa* и *Bacillus amyloliquefaciens* в отношении ряда фитопатогенов (*Pseudomonas syringae* van Hall, *Fusarium oxysporum* Schldt, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.), а также их реакции на лазерное облучение. Исследования проводили на базе научно-исследовательской проблемной лаборатории «Биофотоника» ФГБОУ ВО «Мичуринский ГАУ», а также отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБНУ «НИИСХ Крыма» в 2016–2021 гг. Антагонистическую активность бактерий оценивали методом двойных культур. Эффективность лазерного облучения определяли по изменению числа клеток бактерий в суспензии в результате их обработки когерентным светом. Изучение активности бактерий-антагонистов в отношении патогенов показало, что по сравнению с контрольными вариантами степень подавления роста колоний *P. syringae*, *F. oxysporum*, *A. alternata* в двойной культуре с *P. polymyxa* составила 32,5 %; 4,0 % и 77,9 % соответственно. *B. amyloliquefaciens* подавляла рост *P. syringae* на 25,9 %, *F. oxysporum* на 49,0 % и *A. alternata* на 61,1 %. Так же установлено увеличение числа клеток в суспензиях *P. polymyxa* и *B. amyloliquefaciens* после облучения когерентным светом на 23,8 % и 36,1 % соответственно. Таким образом, для биоконтроля *P. syringae* более эффективным оказался бактериальный штамм *P. polymyxa* П. В отношении *F. oxysporum* антагонистическую активность проявлял бактериальный штамм *B. amyloliquefaciens* 01-1. Против *A. alternata* эффективны оба исследуемых микроорганизма. С целью повышения активности деления клеток штаммов-антагонистов фитопатогенов целесообразно применять облучение когерентным светом. В дальнейшем планируется проведение испытания уровня антагонистической активности бактерий *P. polymyxa* и *B. amyloliquefaciens* после облучения лазером.

**Ключевые слова:** биоконтроль фитопатогенов, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus amyloliquefaciens*, лазерная стимуляция бактерий-антагонистов.

**Для цитирования:** Маслова М. В., Грошева Е. В., Будаговский А. В., Будаговская О. Н., Каменева И. А. Антагонистическая активность в отношении фитопатогенов у бактерий *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus amyloliquefaciens* и их лазерная стимуляция // Таврический вестник аграрной науки. 2021. № 3(27). С. 125–134. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-3-27-125-134.

**For citation:** Maslova M. V., Grosheva E. V., Budagovsky A. V., Budagovskaya O.N., Kameneva I. A. Antagonistic activity of *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus amyloliquefaciens* and their laser stimulation against phytopathogens // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2021. No. 3(27). P. 125–134. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-3-27-125-134.

## Введение

В настоящее время при проведении мероприятий по защите растений от болезней предпочтение отдают экологически безопасным методам. Долгие годы широко использовали пестициды, однако они имеют ряд существенных недостатков – высокую токсичность для растений и человека, а также они способствуют появлению новых устойчивых штаммов микроорганизмов. Поэтому особое внимание уделяется биологическому способу защиты растений. Он заключается в том, что для контроля болезнетворных организмов вместо опасных пестицидов используют микробы-антагонисты патогенов и их метаболиты, которые также способствуют стимуляции роста, активизации иммунных реакций, улучшению минерального питания растений, повышению всхожести семян [1]. Бактерии *Paenibacillus polymyxa* [2] и *Bacillus amyloliquefaciens* [1] широко используются для биологической защиты растений в нашей стране и за рубежом. На их основе создан ряд биопрепаратов, которые показали свою эффективность в борьбе с болезнями зерновых, бобовых, плодовых, цитрусовых, овощных культур, картофеля, винограда и др. [3–11].

Комплексные инокулянты широкого спектра действия на основе ассоциаций микроорганизмов оказывают стабильное положительное действие на растения и почвенную микробиоту и могут быть успешными элементами интегрированных систем защиты растений от возбудителей болезней и вредителей [11–13].

В отделе сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма» разработаны комплексы микробных препаратов (КМП) на основе ассоциаций бактерий, созданных в условиях *in vitro*. КМП включают штаммы бактерий [14], способных фиксировать азот атмосферы, трансформировать соединения фосфора в легкодоступные растению формы и продуцировать фитогормоны, а также штаммы бактерий-антагонистов фитопатогенов. Актуальными остаются вопросы изучения спектра возбудителей болезней сельскохозяйственных растений, для борьбы с которыми будут эффективны КМП. Кроме того, перспективным направлением исследований является разработка средств и методов повышения активности бактерий-антагонистов патогенной микробиоты. Ранее установлено, что лазерное облучение рабочих растворов биопрепаратов, содержащих *Pseudomonas fluorescens* и *Bacillus subtilis*, позволяет увеличить число клеток в суспензии и антифунгальное действие бактерий, входящих в их состав. В основе стимуляционного эффекта лежит фоторегуляторное действие когерентного света [15].

**Цель исследований** – изучить антагонистическую активность в отношении ряда фитопатогенов у бактерий *P. polymyxa* и *B. amyloliquefaciens*, а также их реакцию на лазерное облучение.

### Материалы и методы исследований

Работу проводили на базе научно-исследовательской проблемной лаборатории «Биофотоника» ФГБОУ «ВО Мичуринский ГАУ», а также отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма» в 2016–2021 гг.

В исследования включены бактериальные штаммы *Paenibacillus polymyxa* П и *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1 из Крымской коллекции микроорганизмов (<http://www.ckp-rf.ru>). На их основе разработаны микробные препараты, в том числе КМП. В качестве тест-культур использованы патогенные микроорганизмы:

- *Pseudomonas syringae* van Hall, вызывающий бактериальный некроз плодовых культур (изолирован из пораженных ветвей вишни);
- *Fusarium oxysporum* Schltdl, возбудитель фузариоза томата, (изолирован из корневой системы томата с признаками увядания);
- *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., возбудитель альтернариоза томата (изолирован с поверхности листа томата, пораженного данной болезнью).

С целью определения особенностей роста и развития всех исследуемых микроорганизмов на различных питательных средах их культивирование проводили в монокультуре на мясопептонном, бобовом (гороховом) и картофельно-глюкозном агаре.

Оценку антагонистической активности *P. polymyxa* и *B. amyloliquefaciens* осуществляли с применением метода двойных культур (бактериального штриха Cross-Streak). В качестве тестеров использовали выше перечисленные патогенные микроорганизмы. Бактерии высевали в чашки Петри на поверхность бобового и мясопептонного агара на расстоянии 2,5 см от центра микробиологической петлей прямым штрихом длиной 3 см. Агаровый диск гриба-тестера диаметром 3,0 мм помещали в центр. Микроорганизмы инкубировали при температуре 25 °С. По мере роста колоний проводили измерение их размера [16]. Степень активности бактерий-антагонистов определяли по снижению объема биомассы тестеров по сравнению с тем же показателем в контрольном варианте (патогены, выращенные в монокультуре). Повторность опыта шестикратная.

Для облучения готовили 0,01%-ную суспензию исследуемых бактерий в жидкой картофельно-глюкозной среде. Обработку когерентным светом проводили с использованием полупроводникового лазера с длиной волны 660 нм в течение 60, 120, 240 и 480 с. Суспензии бактерий инкубировали при 35 °С. Эффективность облучения оценивали спустя сутки по изменению числа клеток бактерий в суспензии в вариантах с применением лазера в сравнении с контролем (без применения лазера). Количество бактериальных клеток в суспензии определяли путем микроскопирования при увеличении  $\times 640$  с использованием камеры Горяева с последующим пересчетом на 1 мл суспензии. Повторность опыта двенадцатикратная.

При статистической обработке и анализе экспериментальных данных использовали метод t-критерия Стьюдента и стандартные компьютерные программы Microsoft Office Excel.

### Результаты и их обсуждение

С целью определения особенностей роста и развития бактерий *P. polymyxa*, *B. amyloliquefaciens*, *P. syringae* и грибов *F. oxysporum*, *A. alternata* на различных питательных средах их выращивали в монокультуре. Наиболее активный рост всех микроорганизмов отмечен на картофельно-глюкозном агаре (КГА) и бобовом агаре (БА). Объем колоний *P. polymyxa* на данных средах составил 37,7 и 40,9 мм<sup>3</sup> соответственно, *B. amyloliquefaciens* – 22,5 и 20,3 мм<sup>3</sup> соответственно. При этом на мясопептонном агаре (МПА) данный показатель для исследуемых бактерий составил 27,4 и 13,6 мм<sup>3</sup> соответственно.

Бактерия *P. syringae* в монокультуре на БА и КГА также формировала более крупные колонии (40,0 и 36,2 мм<sup>3</sup> соответственно), чем на МПА (14,7 мм<sup>3</sup>).

Патогенные мицелиальные грибы показали активный рост на КГА и БА, а *F. oxysporum* в том числе и на МПА. Колонии в данных вариантах опыта полностью занимали всю чашку Петри (1250 мм<sup>3</sup>). Объем биомассы у *A. alternata* на МПА составлял 59,3 мм<sup>3</sup>.

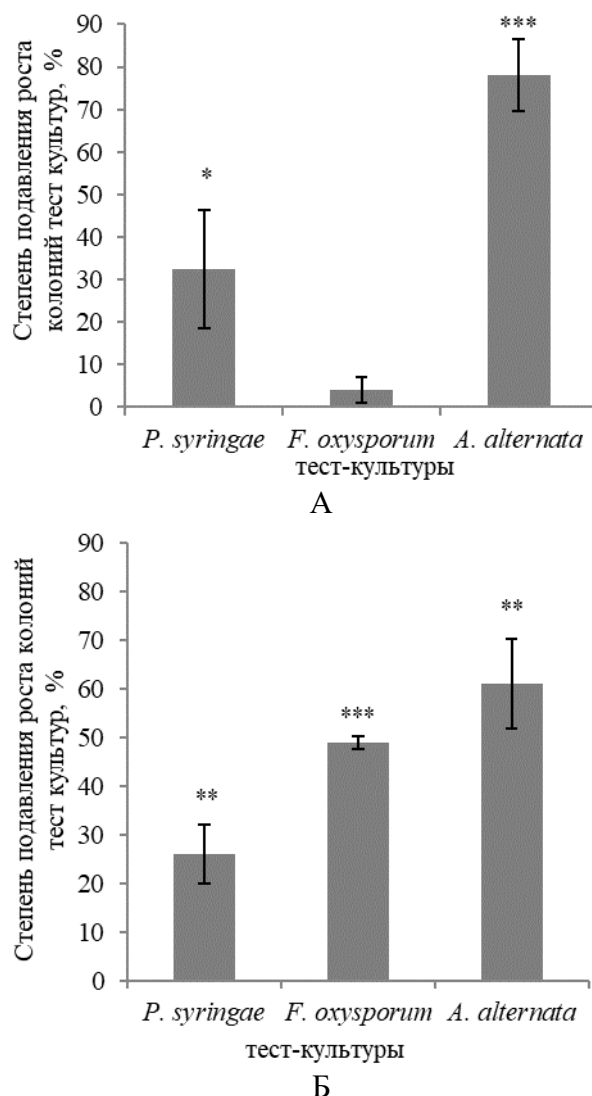
Для совместного культивирования бактерий из биопрепаратов и патогенов использовали среду, где отмечали активный рост всех микроорганизмов (БА), а также, где рост колоний был более сдержанным (МПА).

Установлено, что исследуемые бактерии из биопрепаратов обладают антагонистической активностью в отношении патогенных микроорганизмов. Данный факт был установлен на обеих средах. В совместной культуре с *P. polymyxa* объем колоний тестеров *P. syringae*, *F. oxysporum*, *A. alternata* составил 20,3; 1250,0 и 198,0 мм<sup>3</sup> соответственно на БА и 12,3; 1150 и 16,7 мм<sup>3</sup> соответственно на МПА. Таким образом, в среднем степень подавления роста патогенов составила 32,5; 4,0 и

77,9 % соответственно (рисунок 1 а).

*B. amyloliquefaciens* также контролировала рост патогенов в совместной культуре. На БА колонии *P. syringae*, *F. oxysporum*, *A. alternata* имели объем 24,5; 675,0 и 338,8 мм<sup>3</sup> соответственно, на МПА – 12,7; 600,0 и 30,0 мм<sup>3</sup> соответственно, то есть данная антагонистическая бактерия в среднем подавляла рост и развитие *P. syringae* на 25,9 %, *F. oxysporum* на 49,0 % и *A. alternata* на 61,1 % по сравнению с контрольными вариантами (рисунок 1 б).

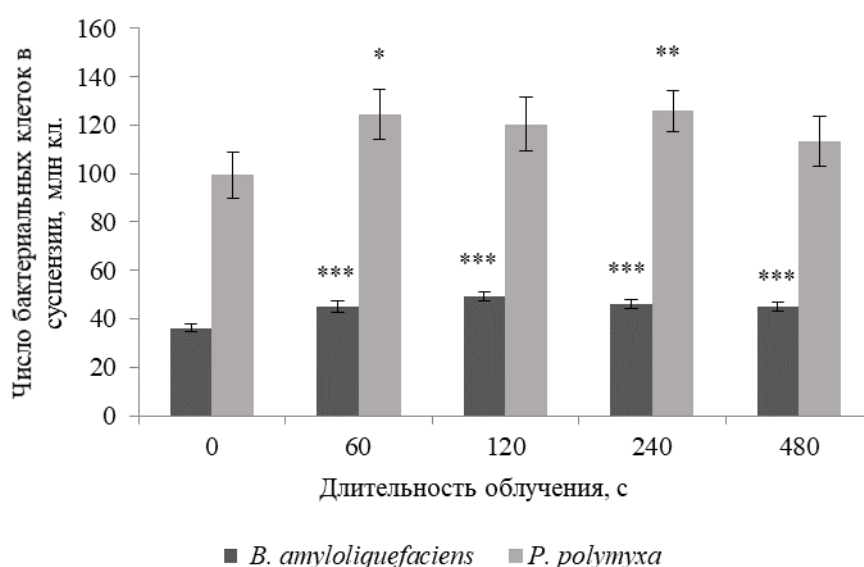
Эффективный контроль развития возбудителя бактериального некроза плодовых растений способен осуществлять штамм *P. polymyxa* П, который подавлял рост *P. syringae* в двойной культуре на 32,5 %. В отношении возбудителя фузариоза томата антифунгальную активность проявлял штамм *B. amyloliquefaciens* 01-1. При этом процент подавления роста колонии *F. oxysporum* составил 49,0 %. Возбудитель альтернариоза томата был значительно ослаблен в совместной культуре с обоими исследуемыми антагонистами, степень подавления роста *A. alternata* в варианте опыта с *P. polymyxa* П составила 77,9 %, а с *B. amyloliquefaciens* 01-1 – 61,1 %.



**Рисунок 1 – Степень подавления роста патогенных микроорганизмов под влиянием бактерий-антагонистов**

**Примечание.** А – *P. polymyxa*; Б – *B. amyloliquefaciens*. Достоверность различий с контролем подтверждена по *t*-критерию Стьюдента: \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ .

С целью стимуляции роста бактерий *P. polymyxa* и *B. amyloliquefaciens* проводили облучение их суспензий полупроводниковым лазером с длиной волны 660 нм. После суточного культивирования бактерий в жидкой питательной картофельно-глюкозной среде в контрольных вариантах (без применения когерентного света) число клеток в 1 мл суспензии составило  $101,9 \times 10^9$  и  $40,7 \times 10^9$  соответственно. При этом в опытных образцах данный показатель варьировал от  $103,2 \times 10^9$  до  $126,2 \times 10^9$  клеток для *P. polymyxa* и от  $41,5 \times 10^9$  до  $55,3 \times 10^9$  клеток для *B. amyloliquefaciens*. В среднем увеличение числа клеток после лазерного облучения составило 16,0 % и 24,2 % соответственно (рисунок 2). Наибольшую стимуляцию (23,8 %) активности бактерий *P. polymyxa* наблюдали при длительности экспозиции в 240 с. Для *B. amyloliquefaciens* более эффективным оказалось облучение в течение 120 с, при этом число клеток в суспензии увеличилось на 36,1 %. Таким образом, установлено, что кратковременная лазерная обработка способствует стимуляции бактерий-антагонистов.



**Рисунок 2 – Лазерная стимуляция бактерий-антагонистов в зависимости от длительности облучения ( $\lambda = 660$  нм)**

**Примечание.** Достоверность различий с контролем подтверждена по *t*-критерию Стьюдента: \*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ .

Полученные результаты исследований позволят найти пути решения проблем, связанных с контролем широко распространенных возбудителей болезней растений *P. syringae*, *F. oxysporum*, *A. alternata*. Поиск и изучение эффективных антагонистов в отношении данных микроорганизмов, а также методов повышения их функциональной активности способствует более широкому внедрению биологических средств защиты растений в практику сельскохозяйственного производства. В настоящее время распространенными в промышленных масштабах являются биопрепараты, созданные на основе какого-либо одного штамма микроорганизмов, в большинстве случаев это *B. subtilis* и *P. fluorescens* [15]. Создание КМП является перспективным направлением, так как его использование позволяет решать несколько задач (контроль патогенов, индукция иммунитета, улучшение питания). Важным этапом при этом следует считать оценку эффективности компонентов микробного комплекса в выполнении целевых функций. Бактерии *P. polymyxa* и *B. amyloliquefaciens*, входящие в состав биопрепаратов, способны

обеспечивать контроль патогенов. Способ действия бактерий заключается в секреции антимикробных соединений и их диффундировании в питательную среду при культивировании *in vitro* [17, 18]. Метаболиты, выделяемые *P. polymyxa* и *B. amyloliquifaciens*, при совместном культивировании с патогенами оказывали ингибирующее действие на тест-культуры *P. syringae*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, указывая на наличие в их составе антимикробных соединений.

Потенциал *P. polymyxa* и *B. amyloliquifaciens* в качестве агентов биологического контроля в составе КМП, основанный на антимикробной активности, позволяет охарактеризовать их как перспективные. Их способность продуцировать разнообразный спектр метаболитов, направленных на подавление болезнетворных микроорганизмов отмечает ряд авторов [1, 2, 9, 10, 18, 19, 20].

Используемый анализ *in vitro* позволяет определить характер воздействия метаболитов анализируемых бактерий на тестовые культуры и является репрезентативным для предварительного отбора штаммов-антагонистов [21]. В дальнейшем требуются исследования *in planta*, основанные на многофакторном патосистемном подходе, предусматривающем изучение особенностей развития патогенов, биоагентов и растения-хозяина в контролируемых условиях опыта.

Несмотря на то, что вопросы, касающиеся безопасности окружающей среды, являются основополагающими при разработке мер защиты растений от болезней, реализация потенциала микроорганизмов в качестве агентов биоконтроля фитопатогенов сдерживается рядом факторов, в том числе снижением активности в результате длительного хранения, более низкой эффективностью по сравнению с рядом химических средств, зависимостью от ценогического окружения. Увеличение численности популяции биоагентов и повышение их противомикробной активности способствует успешной колонизации растения-хозяина и борьбе с болезнями.

На основании проведенных экспериментов по влиянию когерентного света на микроорганизмы установлено его стимулирующее действие на ростовые процессы бактерий *P. polymyxa* и *B. amyloliquifaciens*. Данный эффект основан на фоторегуляторном действии красного квазимонохроматического света. Под его влиянием микробные клетки начинают быстрее размножаться в результате активизации физиологических процессов. Проведенные ранее исследования на бактериях *B. subtilis* и *P. fluorescens* показали, что использование лазерного облучения дает возможность восстанавливать их функциональную активность, снизившуюся в результате воздействия неблагоприятных факторов, получать в более короткие сроки культуральную жидкость с определенным количеством клеток и их метаболитов, снижать концентрацию биологических препаратов в рабочих растворах, что способствует экономии при проведении защитных мероприятий [15, 22]. Поэтому в дальнейшем целесообразно проведение испытания уровня антагонистической активности бактерий *P. polymyxa* и *B. amyloliquifaciens* после облучения лазером.

Установленные закономерности являются научным обоснованием перспективы использования когерентного света для стимуляции микробов-антагонистов фитопатогенов, что может быть востребовано в органическом земледелии для повышения эффективности биологических препаратов защиты растений от болезней, в состав которых входят живые клетки бактерий.

#### Выводы

Проведенные исследования показали, что в контроле *P. syringae* более эффективной является бактерия *P. polymyxa*, которая в значительной степени способна подавлять рост данного патогена на 32,5%. В отношении возбудителя фузариоза томата выраженный антагонизм проявляла бактерия *B. amyloliquifaciens*, что снизило объем колоний *F. oxysporum* на 49,0 %. Против патогенного гриба,

вызывающего альтернариоз томата, *P. polymyxa* П и *B. amyloliquefaciens* показали высокую активность. Ингибирование роста и развития колоний *A. alternata* составило 77,9 и 61,1 % соответственно.

Лазерное излучение, благодаря фоторегуляторному действию, способно стимулировать рост и развитие исследуемых бактерий-антагонистов фитопатогенов. Установлено увеличение числа клеток в бактериальных суспензиях после обработки когерентным светом у *P. polymyxa* на 23,8 % при длительности экспозиции 240 с и у *B. amyloliquefaciens* на 36,1 % при длительности экспозиции 120 с.

### Литература

1. Патент РФ № 2673155. «Штамм *Bacillus amyloliquefaciens*, обладающий антибактериальной и фунгистатической активностью, и микробиологический препарат на его основе против болезни растения, вызываемой фитопатогенным микроорганизмом» // Авторы: Игнатов А. Н., Воронина М. В. Патентообладатель: Общество с ограниченной ответственностью «Исследовательский Центр "ФитоИнженерия"». 2018. Бюл. № 33. 35 с.
2. Егоренкова И. В., Трегубова К. В., Коннова С. А., Бугреева Л. В., Игнатов В. В. Влияние экзополисахаридов бактерий *Paenibacillus polymyxa* 1465 на рост и защитные реакции пшеницы // Известия Саратовского университета. Серия «Химия. Биология. Экология». 2016. № 4. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyaniye-ekzopolisaharidov-bakteriy-paenibacillus-polymyxa-1465-na-rost-i-zaschitnye-reaktsii-pshenitsy> (дата обращения 04.03.2021).
3. Вакуленко Ю. В., Кузнецова А. П. Способы повышения всхожести семян косточковых культур // Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции. «Сельскохозяйственные науки: научные приоритеты учёных». Пермь: Федеральный центр науки и образования «Эвенсис», 2016. С. 32–37.
4. Клименко О. Е. Использование биопрепаратов для повышения эффективности выращивания привитых саженцев алычи // Вісник Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету. 2014. № 2. С. 154–157.
5. Мельник С. І., Жилкін В. А., Гаврилюк М. М., Сніговий В. С., Лісовий М. М., Дишлюк В. Є. Рекомендації з ефективного застосування мікробних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур. Київ: Підрозділ оперативного друку Чернігівського центру науково-технічної і економічної інформації, 2007. 52 с.
6. Чайковская Л. А., Клименко Н. Н. Размножение бактерии *Paenibacillus polymyxa* П в ризосфере винограда // Аграрный вестник Урала. 2016. № 3. С. 72–76.
7. Чайковская Л. А., Ключенко В. В., Баранская М. И., Овсиенко О. Л. Фосфатмобилизующие бактерии в агроценозах Крыма. Симферополь: ИТ «Ариал», 2018. 150 с.
8. Wang B., Cheng H., Qian W., Zhao W., Liang C., Liu C., Zhang, L. Comparative genome analysis and mining of secondary metabolites of *Paenibacillus polymyxa* // Genes & Genetic Systems. 2020. Vol. 95. Iss. 3. P. 141–150. DOI: 10.1266/ggs.19-00053.
9. Borriss R. Phytostimulation and biocontrol by the plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42: an update // In book: Phyto-Microbiome in Stress Regulation // Ed. by Manoj K., Vivek K, Ram P. Springer, Singapore, 2020. P. 1–20. DOI: 10.1007/978-981-15-2576-6\_1.
10. Qian J., Zhang T., Tang S., Zhou L., Li K., Fu X., & Yu S. Biocontrol of citrus canker with endophyte *Bacillus amyloliquefaciens* QC-Y // Plant Protection Science. 2020. Vol. 57. No. 1. P. 1–13. DOI: 10.17221/62/2020-PPS.
11. Melnichuk T., Egovtseva A., Abdurashytov S., Abdurashytova E., Kameneva I., Yakubovskaya A., Radchenko A., Ganotskaya L., Radchenko L. Associative to *Triticum aestivum* L. bacteria as a source of strains for biotechnology of the rhizosphere // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2020. Vol. 8. No. 5. P. 1194–1197. DOI: 10.15414/jmbfs.2019.8.5.1194-1197.
12. Кулинич Р. А., Турина Е. Л. Изучение различных микробиологических препаратов на горохе сорта девиз в Крыму // Материалы 2-й международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы науки и практики XXI в.». Нижневартовск: Издательский центр «Наука и практика», 2016. С. 5–10.
13. Кулинич Р. А. Формирование урожая зернобобовых культур при применении полифункциональных микробных препаратов в зоне центральной Степи Крыма в условиях орошения. Автореф. дис. ... к.с.-х.н. Ставрополь: ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», 2017. 22 с.
14. Коллекция микроорганизмов отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма». [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://niishk.ru/innovacionnyye-razrabotki/kolleksiya-mikroorganizmov>. (дата обращения 22.09.2020).
15. Maslova M. V., Grosheva E. V., Budagovsky A. V., Budagovskaya O. N. The Effect of laser

irradiation on the activity of the bacteria *Bacillus Subtilis* and *Pseudomonas Fluorescens* // Amazonia Investiga. 2019. Vol. 8. No. 21. P. 610–616.

16. Минаева О. М., Акимова Е. Е., Зюбанова Т. И., Терещенко Н. Н. Биопрепараты для защиты растений: оценка качества и эффективности. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2018. 130 с.

17. Beck H. C., Hansen A. M., Lauritsen F. R. Novel pyrazine metabolites found in polymyxin biosynthesis by *Paenibacillus polymyxa* // FEMS Microbiology Letters. 2003. Vol. 220. No. 1. P. 67–73. DOI: 10.1016/S0378-1097(03)00054-5.

18. Yasmin S., Zaka A., Imran A., Zahid M. A., Yousaf S., Rasul G., Arif M., Mirza M. Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by *Paenibacillus polymyxa* Sx3 // Lett Appl Microbiol. 2019. Vol. 11. No. 8. P.423–429. DOI: 10.1111/lam.13117.

19. Chen X. H., Koumoutsi A., Scholz R., Borriss R. More than anticipated – production of antibiotics and other secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 // J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 2009. Vol. 16. P. 14–24. DOI: 10.1159/000142891.

20. Горовцов А. В., Усатов А. В., Карапетян Р. Р., Козьменко С. В. Исследование антагонистической активности аэробных спорообразующих бактерий относительно грибов р. *Fusarium*, выделенных из различных агроценозов // Сборник II Всероссийской научно-практической конференции «Передовое развитие современной науки как драйвер роста экономики и социальной сферы». Петрозаводск: Международный центр научного партнерства «Новая наука», 2020. С. 175–180.

21. Daranas N., Roselló G., Cabrefiga J., Donati I., Francés J., Badosa E., Spinelli F., Montesinos E., Bonaterra A. Biological control of bacterial plant diseases with *Lactobacillus plantarum* strains selected for their broad spectrum activity // Annals of Applied Biology. 2019. Vol. 174. No. 1. P. 92–105. DOI: 10.1111/aab.12476.

22. Патент РФ № 2683684. «Способ восстановления активности защитных биопрепаратов после транспортировки, длительного или неправильного хранения» // Авторы: Будаговский А. В., Маслова М. В., Будаговская О. Н., Грошева Е. В., Будаговский И. А. Патентообладатель: ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет», 2019. Бюл. № 10. 7 с.

## References

1. Patent RF No. 2673155. “*Bacillus amyloliquefaciens* strain with antibacterial and fungistatic activity, and microbiological preparations on its base against plant diseases caused by phytopathogenic microorganism” / Authors: Ignatov A. N., Voronina M. V. Proprietor(s) “Research Center “FitoInzheneriya” ООО” (Limited Liability Company) (RU). 2018. Bull. No. 33. 35p.

2. Egorenkova I. V., Tregubova K. V., Konnova S. A., Bugreeva L. V., Ignatov V. V. Effect of exopolysaccharides of the bacterium *Paenibacillus polymyxa* 1465 on growth and defense responses of wheat // Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology. 2016. No. 4. [Electronic resource]. Access point: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-ekzopolisaharidov-bakterii-paenibacillus-polymyxa-1465-na-rost-i-zaschitnye-reaktsii-pshenitsy> (references date 03.04.2021).

3. Vakulenko Yu. V., Kuznetsova A. P. Methods for increasing seed germination of stone fruit crops // Collection of scientific papers on the results of the International Scientific and Practical Conference “Agricultural sciences: scientific priorities of scientists”. Perm: “Evansys” Federal Center of Science and Education, 2016. P. 32–37.

4. Klimenko O. E. The use of biological products to improve the efficiency of growing grafted cherry plum seedlings // Bulletin of the Dnipropetrovsk State Agrarian-Economic University. 2014. No. 2. P. 154–157.

5. Melnik S. I., Zhilkin V. A., Gavrilyuk M. M., Snizhny V. S., Lesnoy M. M., Dyshlyuk V. E. Recommendations for the effective use of microbial preparations in crop cultivation technologies. Kiev: Operational Press Division of the Chernihiv Center for scientific, technical and economic information, 2007. 52 p.

6. Chaikovskaya L. A., Klimenko N. N. Growth of bacteria *Paenibacillus polymyxa* II in grape rhizosphere // Agrarian Bulletin of the Urals. 2016. No. 3. P. 72–76.

7. Chaikovskaya L. A., Klyuchenko V. V., Baranskaya M. I., Ovsienko O. L. Phosphate-mobilizing bacteria in agroecosystems of the Crimea. Simferopol: “Ariat”, 2018. 150 p.

8. Wang B., Cheng H., Qian W., Zhao W., Liang C., Liu C., Zhang L. Comparative genome analysis and mining of secondary metabolites of *Paenibacillus polymyxa* // Genes & Genetic Systems. 2020. Vol. 95. Iss. 3. P. 141–150. DOI: 10.1266/ggs.19-00053.

9. Borriss R. Phytostimulation and biocontrol by the plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42: an update // In book: Phyto-Microbiome in Stress Regulation // Ed. by Manoj K., Vivek K., Ram P. Springer, Singapore, 2020. P. 1–20. DOI: 10.1007/978-981-15-2576-6\_1.

10. Qian J., Zhang T., Tang S., Zhou L., Li K., Fu X., & Yu S. Biocontrol of citrus canker with endophyte *Bacillus amyloliquefaciens* QC-Y // Plant Protection Science. 2020. Vol. 57. No. 1. P. 1–13. DOI: 10.17221/62/2020-PPS.

11. Melnichuk T., Egovtseva A., Abdurashytov S., Abdurashytova E., Kameneva I., Yakubovskaya A., Radchenko A., Ganotskaya L., Radchenko L. Associative to *Triticum aestivum* L. bacteria as a source of strains for biotechnology of the rhizosphere // Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2020. Vol. 8.



No. 5. P. 1194–1197. DOI: 10.15414/jmbfs.2019.8.5.1194-1197.

12. Kulinich R. A., Turina E. L. Study of various microbiological agents in the pea varieties of Deviz in Crimea // Materials of the 2<sup>nd</sup> international scientific and practical conference “Topical issues of science and practice of the XXI century”. Nizhnevartovsk: Publishing Center “Science and Practice”, 2016. P. 5–10.

13. Kulinich R. A. Formation of the yield of leguminous crops when using polyfunctional microbial preparations in the zone of the central Steppe of Crimea under irrigation conditions. Authors' abstract diss. ... Cand. Sc. (Agr.). Stavropol: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Stavropol State Agrarian University», 2017. 22 p.

14. Collection of microorganisms of the Department of Agricultural Microbiology of FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”. [Electronic resource]. Access point: <https://niishk.ru/innovacionnye-razrabotki/kollekciya-mikroorganizmov>. (reference's date 22.09.2020).

15. Maslova M. V., Grosheva E. V., Budagovsky A. V., Budagovskaya O. N. The effect of laser irradiation on the activity of the bacteria *Bacillus Subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* // Amazonia Investiga. 2019. Vol. 8. No. 21. P. 610–616.

16. Minaeva O. M., Akimova E. E., Zyubanova T. I., Tereshchenko N. N. Biological products for plant protection: assessment of quality and efficiency. Tomsk: Publishing House of Tomsk State University. 2018. 130 p.

17. Beck H. C., Hansen A. M., Lauritsen F. R. Novel pyrazine metabolites found in polymyxin biosynthesis by *Paenibacillus polymyxa* // FEMS Microbiology Letters. 2003. Vol. 220. No. 1. P. 67–73. DOI: 10.1016/S0378-1097(03)00054-5.

18. Yasmin S., Zaka A., Imran A., Zahid M. A., Yousaf S., Rasul G., Arif M., Mirza M. Plant growth promotion and suppression of bacterial leaf blight in rice by *Paenibacillus polymyxa* Sx3 // Lett Appl Microbiol. 2019. Vol. 11. No. 8. P. 423–429. DOI: 10.1111/lam.13117.

19. Chen X.H., Koumoutsi A., Scholz R., Borriss R. More than anticipated – production of antibiotics and other secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 // J. Mol. Microbiol. Biotechnol. 2009. Vol. 16. P. 14–24. DOI: 10.1159/000142891.

20. Gorovtsov A. V., Usatov A. V., Karapetyan R. R., Kozmenko S. V. Research of antagonistic activity of aerobic spore-forming bacteria against *Fusarium* strains isolated from various agrocenoses // Collection of the II All-Russian Scientific-Practical Conference “Advanced development of modern science as a driver of economic and social growth”. Petrozavodsk: “New Science” International Center for Scientific Partnership, 2020. P. 175–180.

21. Daranas N., Roselló G., Cabrefiga J., Donati I., Francés J., Badosa E., Spinelli F. Montesinos E., Bonaterra A. Biological control of bacterial plant diseases with *Lactobacillus plantarum* strains selected for their broad spectrum activity // Annals of Applied Biology. 2019. Vol. 174. No. 1. P. 92–105. DOI: 10.1111/aab.12476.

22. Patent RF No. 2683684 “Method for recovery of activity of protective biologics after transportation, long-term or improper storage” // Authors: Budagovsky A. V., Maslova M. V., Budagovskaya O. N., Grosheva E. V., Budagovsky I. A. Proprietor(s) Michurinsk State Agrarian University, 2019. Bull. No. 10. 7 p.

UDC 632.937:58.035

Maslova M. V., Grosheva E. V., Budagovsky A. V., Budagovskaya O. N., Kameneva I. A.

**ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *PAENIBACILLUS POLYMYXA*, *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* AND THEIR LASER STIMULATION AGAINST PHYTOPATHOGENS**

**Summary.** Nowadays, thanks to organic farming development, particular attention is paid to the biological methods of plants protection, especially from diseases. Therefore, new biological preparations creation and studying their effectiveness are promising directions. The aim of the research was to study the antagonistic activity of the bacteria *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus amyloliquefaciens* against some phytopathogens (*Pseudomonas syringae* van Hall, *Fusarium oxysporum* Schltdl, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.), as well as their reaction to laser irradiation. The research was carried out in the Research Problem Laboratory “Biphotonika” of the Michurinsk State Agrarian University and the Department of Agricultural Microbiology of the Research Institute of Agriculture of Crimea in 2016–2021. The antagonistic activity of the bacteria was evaluated by the double culture method. The effectiveness of irradiation (as a result of their treatment with coherent light) was determined by the change in the number of bacterial cells in the suspension. The study of the activity of bacteria-antagonists against pathogens showed

that the suppression of *P. syringae*, *F. oxysporum*, *A. alternata* growth in the double culture with *P. polymyxa* compared to the control variants was 32.5 %; 4.0 % and 77.9 %, respectively. *B. amyloliquefaciens* suppressed the growth of *P. syringae* by 25.9 %, *F. oxysporum* – by 49.0 %; *A. alternata* – by 61.1 %. An increase in the number of cells in suspensions of *P. polymyxa* and *B. amyloliquefaciens* after coherent light irradiation by 26.6 % and 36.7 %, respectively, was also found. Thus, to control *P. syringae*, bacterial strain of *P. polymyxa* P was more effective. The bacterial strain *B. amyloliquefaciens* 01-1 showed antagonistic activity against *F. oxysporum*. Both studied microorganisms were effective against *A. alternata*. To increase the activity of cell division of antagonist strains of phytopathogens, it is advisable to use coherent light irradiation. In future, it is advisable to test the level of antagonistic activity of the bacteria *P. polymyxa* and *B. amyloliquefaciens* after laser irradiation.

**Keywords:** biocontrol of phytopathogens, *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus amyloliquefaciens*, laser stimulation of bacteria-antagonists.

Маслова Марина Витальевна, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник научно-исследовательской проблемной лаборатории «Биофотоника» ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»; 393760, Россия, г. Мичуринск, ул. Интернациональная, 101; e-mail: marinamaslova2009@mail.ru.

Грошева Екатерина Владимировна, научный сотрудник научно-исследовательской проблемной лаборатории «Биофотоника» ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»; 393760, Россия, г. Мичуринск, ул. Интернациональная, 101; e-mail: ekaterina2687@mail.ru.

Будаговский Андрей Валентинович, доктор технических наук, заведующий научно-исследовательской проблемной лабораторией «Биофотоника» ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»; ФГБНУ «Федеральный научный центр имени И. В. Мичурина»; 393760, Россия, г. Мичуринск, ул. Интернациональная, 101; e-mail: budagovsky@mail.ru.

Будаговская Ольга Николаевна, доктор технических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской проблемной лаборатории «Биофотоника» ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»; ФГБНУ «Федеральный научный центр имени И. В. Мичурина»; 393760, Россия, г. Мичуринск, ул. Интернациональная, 101; e-mail: budagovsky@mail.ru.

Каменева Ирина Алексеевна, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и экологии микроорганизмов, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: irina.kameneva.7@mail.ru.

Maslova Marina Vitalievna, Cand. Sc. (Agr.), senior researcher, Research Problem Laboratory “Biophotonika”, FSBEI of HE “Michurinsk State Agrarian University”; 101, Internatsionalnaya Str., Michurinsk, Tambov region, 393760, Russia; e-mail: marinamaslova2009@mail.ru.

Grosheva Ekaterina Vladimirovna, researcher, Research Problem Laboratory “Biophotonika”, FSBEI of HE “Michurinsk State Agrarian University”; 101, Internatsionalnaya Str., Michurinsk, Tambov region, 393760, Russia; e-mail: ekaterina2687@mail.ru.

Budagovsky Andrey Valentinovich, Dr. Sc. (Tech.), head of the Research Problem Laboratory “Biophotonika”, FSBEI of HE “Michurinsk State Agrarian University”; FSSI “I.V. Michurin FSC”; 101, Internatsionalnaya Str., Michurinsk, Tambov region, 393760, Russia; e-mail: budagovsky@mail.ru.

Budagovskaya Olga Nikolaevna, Dr. Sc. (Tech.), leading researcher, Research Problem Laboratory “Biophotonika”, FSBEI of HE “Michurinsk State Agrarian University”; FSSI “I.V. Michurin FSC”; 101, Internatsionalnaya Str., Michurinsk, Tambov region, 393760, Russia; e-mail: ekaterina2687@mail.ru.

Kameneva Irina Alekseevna, Cand. Sc. (Agr.), leading researcher of the Laboratory of physiology and ecology of microorganisms, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya Str., Simferopol, Republic of Crimea, 295493, Russia; e-mail: irina.kameneva.7@mail.ru.

Дата поступления в редакцию – 08.04.2021.

Дата принятия к печати – 18.05.2021.