

М.А. МЕЛКУМЯН, Б.Г. БАБАЯН, А.Р. МИКАЕЛЯН

**СРАВНЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ
ЭНТОМОПАТОГЕНА *BREVIBACILLUS LATEROSPORUS* И НОВЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ВИННОЙ КИСЛОТЫ ПРОТИВ
ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ**

Антибактериальная активность энтомопатогенных представителей рода *Bacillus* широко используется в биопестицидах. Разработанные в НПУА имидазы и комплексные соли винной кислоты (ВК) активны против различных грамотрицательных фитопатогенов и не подавляют рост почвенных, непатогенных *Pseudomonas chlororaphis*. В данной работе проведено сравнение антибактериального действия воздействия *Brevibacillus laterosporus* и новых производных ВК.

Ключевые слова: фитопатогены, энтомопатогены, *Pseudomonas*, *Brevibacillus laterosporus*, циклические имидазы винной кислоты, комплексные соли винной кислоты.

Введение. Энтомопатогенные бактерии рода *Bacillus* широко используются в биопестицидах вследствие своей способности синтезировать антимикробные соединения во время споруляции [1,2]. Ввиду обострения проблемы антибиотик-резистентности патогенов (в том числе и фитопатогенов) и снижения качества сельскохозяйственной продукции поиск новых средств защиты растений весьма актуален.

Известно, что разработанные в Базовой научно-исследовательской лаборатории получения ядохимикатов и контроля качества Института горной металлургии и химических технологий НПУА фенил-, бензил- циклогексил-замещенные имидазы, а также этаноламино-комплексная и фенил-, бензил-, циклогексил- моноамино соли ВК активны по отношению к различным грамотрицательным фитопатогенам. Известно также, что данные соединения не подавляют рост почвенных, непатогенных *Pseudomonas chlororaphis* [3, 4].

В данной работе проведено сравнение эффектов воздействия *Brevibacillus laterosporus* и новых производных ВК на рост фитопатогенных штаммов *P. syringae*.

Материалы и методы. В тестах биоактивности были использованы штаммы Национальной коллекции культур, ЦДМ НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА [4]. Действие энтомопатогенных штаммов на рост фитопатогенных бактерий проводили двуслойным агаровым методом. Суспензию культуры фитопатогена в физиологическом растворе с титром 10^8 клеток по 0,1 мл вносили в 0,7% агаризованную среду МПА - 2.5 мл и высевали газоном – вторым слоем на чашки Петри с 1,8% агаризованной средой МПА. На газон высеянной фитопатогенной культуры через реплику высевали каплями по 3 мкл суспензии различных энтомопатогенных штаммов в физиологическом растворе.

Затем чашки инкубировали в течение 18...24 ч при температуре 30°C. Рост и подавление роста фитопатогенов энтомопатогенами отмечали по диаметру образовавшихся стерильных зон (в мм) [5, 6].

Скрининг воздействия новых производных ВК (СI – циклогексилимид ВК, ВI – бензилимид ВК, ВАС – бензил аминосоли ВК, САС – циклогексил аминосоли ВК, PhAS – фенил аминосоли ВК, PhI – фенилимид ВК, ЕАСС – этаноламино комплексная соли ВК), а также чистой ВК и тартратов щелочных металлов проводили описанным выше методом с использованием 0,1М, 0,5М концентраций растворов.

Результаты. Результаты сравнения действия ВК, ее солей и синтетических производных в форме растворов имидов и комплексных аминосолей представлены в табл. 1. Влияние *B. laterosporus* на рост фитопатогенов представлено на рисунке и в табл. 2.

Таблица 1

Действие новых производных ВК на штаммы фитопатогенных *P. syringae*.

С – контроль роста штаммов на полноценной среде МПА, диаметры зон подавления роста представлены в мм, “+” – рост/отсутствие подавления, L – полный лизис зоны роста (30 мм); тестируемые соединения: ТА – винная кислота (ВК), КТ – гидротартрат калия, NKT – сегнетова соли (тартрат калия натрия), СI – циклогексилимид ВК, ВI – бензилимид ВК, ВАС – бензил аминосоли ВК, САС – циклогексил аминосоли ВК; концентрации тестируемых соединений: I – 0,1М, II – 0,5М

Штамм	СI		САС		ВI		ВАС		КТ	NKT	ТА	С
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	I	I	+
8744	L	L	L	15	18	16	14	8	5,6	+	10	+
8740	15	+	15	8,5	18	17	7	+	+	+	8	+
8736	10	9	L	18	L	L	15	6	+	+	10	+
8656	12	12	L	15	L	L	15	10	5	+	10	+

Как показали исследования, действие синтетических производных ВК выражено более, чем в случае чистой ВК и тартратов металлов [7]. Наблюдается бактерицидный эффект в обеих исследованных концентрациях.



Рис. Действие *B. laterosporus* на рост фитопатогенов *P. syringae*

Таблица 2

Влияние *B. laterosporus* на рост фитопатогенных *P. syringae*. “G” – рост, “I” – бактериостатическое действие (подавление роста), “L” – бактерицидное действие: лизис зоны роста; диаметры зон подавления роста приведены в мм

Штамм <i>P. syringae</i>	Штаммы <i>B. laterosporus</i>				
	561-1	200-4	219-2	199-3	105-2
8736	L (15)	L (15)	I (7)	L (15)	L (10)
8740	L (15)	L (15)	G	L (15)	L (>20)
8744	L (15)	L (15)	I (10)	L (15)	L (9)
8656	L (15)	L (15)	I (10)	L (15)	L (>20)

Результаты исследования воздействия всех штаммов энтомопатогенов *B. laterosporus* 200-4, 199-3, 561-1, 219-2, 105-2 на рост *P. syringae* pv. 8736, 8744, 8740, 8656 свидетельствуют о наличии в них антибактериальных соединений, подавляющих рост изученных фитопатогенов. Штамм 219-2 не подавляет рост штамма *P. syringae* 8740 и подавляет рост *P. syringae* 8744, 8656, 8736. При этом наблюдается менее интенсивное подавление роста фитопатогенов штаммом *B. Laterosporus*-219-2, чем в случае подавления роста фитопатогенов штаммами *B. laterosporus* 200-4, 199-3, 561-1, 105-2.

При действии производных ВК было отмечено более сильное подавление роста новыми производными по сравнению с тартарами металлов и чистой ВК. Эксперименты показали, что минимальные ингибирующие концентрации новых производных винной кислоты рознятся в зависимости от вида исследуемого организма (табл. 3).

Таблица 3

Минимальные ингибирующие концентрации новых производных ВК
 CI – циклогексилимид ВК, BI – бензилимид ВК, BAS – бензил аминосоли ВК,
 CAS – циклогексил аминосоли ВК, PhAS – фенил аминосоли ВК, PhI – фенилимид ВК,
 EACS – этаноламино комплексная соли ВК

Вещество	МИК (минимальная ингибирующая концентрация)	
	для <i>P. syringae</i>	для <i>P. aeruginosa</i>
BI	(0,001M) 6,6 мкг/мл	(0,0001M) 66 нг/мл
BAS	(0,001M) 7,68 мкг/мл	(0,0001M) 76 нг/мл
CAS	(0,001M) 7,47 мкг/мл	(0,001M) 7,47 мкг/мл
Вещество	МИК (минимальная ингибирующая концентрация)	
	для <i>P. syringae</i>	для <i>P. aeruginosa</i>
CI	(0,001M) 3,18 мкг/мл	(0,0001M) 31,8 нг/мл
PhI	(0,022M) 50 мкг/мл	(0,001M) 6,18 мкг/мл
PhAS	(0,022M) 50 мкг/мл	(0,001M) 7,29 мкг/мл
EACS	(0,05M) 316,5 мкг/мл	(0,022M) 50 мкг/мл

Максимальный эффект был отмечен в случае 0,5М концентрации CAS, BAS, CI, VI на рост всех исследованных штаммов фитопатогенов *P. syringae*. Моноэтаноламино- и фенилзамещенные производные ВК показали меньший подавляющий эффект при воздействии на рост изучаемых штаммов *P. Syringae*, чем циклогексил- и бензилзамещенные производные ВК.

Заключение. Из исследованных штаммов энтомопатогенов штамм *B. laterisporus* 219-2 продемонстрировал себя менее активным по отношению к штаммам фитопатогенных *P. syringae*. Вследствие отсутствия токсичности для человека и теплокровных млекопитающих данные штаммы могут быть рекомендованы для дальнейшего изучения при разработке новых экологически безопасных биопестицидов. Новые синтетические производные ВК эффективны против фитопатогенов *P. syringae* и более эффективны, чем природные аналоги. Также они эффективны и против штаммов патогенов, которые резистентны к тетрациклину. Согласно предварительным результатам, данные соединения проявили антибактериальную активность, соизмеримую с подавляющим эффектом энтомопатогенных микроорганизмов *B. laterisporus* 200-4, 199-3, 561-1, 105-2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Ownley B.H., Gwinn K.D., Vega F.E.** Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution // *BioControl*.- 2010.-Vol. 55, issue 1.-P. 113–128.
2. Pest control: microbiological potential of Armenia /**E.G. Afrikian, M.H. Kinosyan, A.K. Okasov, N.L. Ghazanchyan, et al** // *Annals of Agrarian Science*. -2014.- 2(3). -P. 27-34.
3. The Effect of Tartaric Acid New Derivatives Against the Multidrug Resistant Opportunistic Pathogenic Soil Strains of *Pseudomonas fluorescens* /**B.G. Babayan, A.R. Mikaelyan, N.L. Asatryan, et al** // *Test Engineering & Management*. -2020. - V.83. -P. 8516-8521.
4. Microbe observation and cultivation array (MOCA) for cultivating and analyzing environmental microbiota/**Gao W., Navaroli D., Naimark J., Zhang W., et al** // *Microbiome*. -2013. -P.1-4.
5. **Afrikyan E.G.** Entomopathogenic Properties of Bacteria and Their Practical Significance // *Fed Proc Transl Suppl* . -Mar-Apr 1965. -24. -P. 259-265.
6. Tartaric Acid Synthetic Derivatives for Multi-Drug Resistant Phytopathogen *Pseudomonas* and *Xanthomonas* Combating/ **B.G.Babayan, A.R. Mikaelyan, M.A.Melkumyan, et al** // *Sci & Tech. Publish*. -2020. -4(5). - P. 285-290.
7. **Jiménez D.J., Montaña J.S., Martínez M.M.** Characterization of free nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter* in organic vegetable-grown Colombian soils // *Braz J Microbiol*. -2011. - 42(3). -P. 846–858.

Մ.Ա. ՄԵԼԲՈՒՄՅԱՆ, Բ.Գ. ԲԱԲԱՅԱՆ, Ա.Ռ. ՄԻՔԱԵԼՅԱՆ
BREVIBACILLUS LATEROSPORUS ԷՆՏՈՄՈՊԱԹՈԳԵՆԻ ԵՎ ԳԻՆԵԹԹՎԻ
ՆՈՐ ԱԾԱՆՑՅԱԼՆԵՐԻ ՀԱԿԱՄԱՆՐԷԱՅԻՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՀԱՄԵՄԱՏՈՒՄԸ ՖԻՏՈՊԱԹՈԳԵՆ ԲԱԿՏԵՐԻԱԼՆԵՐԻ ԴԵՄ

Bacillus ցեղի էնտոմոպաթոգեն ներկայացուցիչների հակամանրէային ակտիվությունը լայնորեն կիրառվում է կենսապեստիցիդներում: ՀԱՊՀ-ում ստացված գինեթթվի իմիդները և կոմպլեքսային աղերը ակտիվ են տարբեր գրամ-բացասական ֆիտոպաթոգենների դեմ և չեն ճնշում հողային, ոչ ախտածին *Pseudomonas chlororaphis*-ի աճը: Համեմատվում են *Brevibacillus laterosporus*-ի և գինեթթվի նոր ածանցյալների ազդեցությունները ֆիտոպաթոգեն բակտերիաների դեմ:

Առանցքային բառեր. ֆիտոպաթոգեններ, էնտոմոպաթոգեններ, *Pseudomonas*, *Brevibacillus laterosporus*, գինեթթվի ցիկլիկ իմիդներ, գինեթթվի կոմպլեքս աղեր:

M.A. MELKUMYAN, B.G. BABAYAN, A.R. MIKAELIAN
THE COMPARISON OF ANTIMICROBIAL EFFECT OF
BREVIBACILLUS LATEROSPORUS ENTOMOPATOGEN AND
TARTARIC ACID NEW DERIVATIVES AGAINST PHYTOPATHOGENIC
BACTERIA

Antibacterial activity of entomopathogenic representatives *Bacillus* genus is widely used in biopesticides. Tartaric acid imides and complex salts developed in NPUA are active against various gram-negative phytopathogens and do not suppress soil, non-pathogenic *Pseudomonas chlororaphis* growth. In a particular research, the effects of *Brevibacillus laterosporus* and tartaric acid new derivatives against phytopathogens are compared.

Keywords: phytopathogens, entomopathogens, *Pseudomonas*, *Brevibacillus laterosporus*, tartaric acid cyclic imides, tartaric acid complex salts.