

IRSTI: 68.03.07

O.N. SHEMSHURA<sup>1\*</sup>, E.T. ISMAILOVA<sup>1</sup>, G.B. BAIMAKHANOVA<sup>1</sup>, Z.Z. TURLYBAEVA<sup>1</sup>,  
N.M. KULDIBAEV<sup>1</sup>, S.V. KAMZOLOVA<sup>2</sup>, M.V. KIM<sup>1</sup>, A.E. MOLZHIGITOVA<sup>1</sup>,  
A.Y. YELUBAYEVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research and Production Center of Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms named after G.K. Scriabin,  
Pushchino, Russia

\*e-mail: olgashemshura@mail.ru

## ASSESSMENT OF THE BIOLOGICAL EFFECTIVENESS OF EXPERIMENTAL SAMPLES OF BIO-PRODUCTS BASED ON LACTIC ACID BACTERIA AGAINST THE CAUSATIVE AGENT OF FIRE BLIGHT OF FRUIT CROPS

doi:10.53729/MV-AS.2024.02.11

### Abstract

Fire blight is a dangerous disease of fruit crops and causes excessive economic damage to fruit industry. The causative agent of the disease, the bacterium *Erwinia amylovora*, also a quarantine object. The search for new methods and solutions in the field of bacterial blight control is very relevant. In order to reduce the spread of the disease, prototypes of two biological products based on lactic acid bacteria of the genus *Lactobacillus* were tested. It was found that two-fold treatment of apple trees of the 'Aport' varieties with bio-products based on strains *L. paracasei* M<sub>12</sub> and *L. plantarum* 17 M leads to a decrease in the prevalence of fire blight by 34.5% and 30.8%, while the biological effectiveness of bio-products was 86.3% and 85% respectively. Same two-fold treatment of the resistant 'Starkrimson' variety with bio-products based on strains *L. paracasei* M<sub>12</sub> and *L. plantarum* 17 M leads to a decrease in the prevalence of fire blight by 34.5% and 30.8%, while the biological effectiveness of bio-products was 90.7% and 89% respectively. Additionally, treatment with bio-products based on strains *L. paracasei* M<sub>12</sub> and *L. plantarum* 17 M contributed to an increase in the yield of apples of the 'Aport' variety by 7.0 t/ha and 6.5 t/ha, respectively. The 'Starkrimson' variety by 5.0 t/ha and 4.3 t/ha respectively compared to the control where there was no treatment.

**Keywords:** fire blight, fruit crops, lactic acid bacteria, bio-product, biological effectiveness.

Fire blight of *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. affects plants of the *Rosaceae* family. The infection affects more than 160 species of fruit and shrub plants. The disease causes especially serious damage to quince, pear, and apple trees. The causative agent of the disease *E. amylovora* has the status of a quarantine object in a number of countries.

The damage of fire blight is high due to its very rapid spread. In heavily infested gardens, it can infect 20-50% of plants, of which 10-20% completely die. In some gardens, up to 90% of fruit trees are infected with the blight [1]. The causative agent of the disease is transmitted by birds, insects, rain or wind

If emergency measures are not taken to localise and eliminate this dangerous disease. It may affect not only fruit crops, but also city parks, square parks and protective plant strips along roads, etc.

For Kazakhstan, this pathogen is a quarantine object. However currently, numerous instances of fire blight have been identified in the south and south-east of Kazakhstan, which poses a threat to the republic's fruit industry. The presence of instances of fire blight can lead to its massive spread. The pathogen can remain in a latent state for a long time and with the onset of favourable weather conditions can rapidly multiply and cause epiphytotic development of the disease. The weather conditions of south-east Kazakhstan where the main fruit-growing zone is located, according to Pest risk analysis (PRA) data, are favourable for the acclimatisation and establishment of this pathogen [2].

According to the Statistics Agency of the Republic of Kazakhstan, the area occupied by apple and pear trees is over 36000 hectares, of which about 3100 hectares are occupied by the 'Aport' apple tree variety. The overall area infected with fire blight is 455.48 hectares, including by region: in Almaty - 401.48 hectares, Zhambyl - 53 hectares and Turkestan - 1 hectares.

Currently, scientifically recommended measures to combat the causative agent of fire blight *E. amylovora* are pruning of affected branches, treatment with copper-containing products and antibiotics. However, the use of these methods has its limitations associated with both environmental pollution and the development of resistance in the pathogen [3]. One of the alternative approaches to reducing the pathogen population is the use of bio-products based on antagonistic microbes [4-6]. Nowadays, organic agriculture is practiced in 160 countries of the world [7], where *Pseudomonas fluorescens* [8,9], *Pseudomonas graminis* [10], *Pantoea agglomerans* [11], *Bacillus subtilis* [12], *Bacillus amyloliquefacien* [13] and *Erwinia herbicola* [14] are used against the pathogen *E. amylovora*. The relevance of this promising area of biotechnology is primarily associated with the interest shown throughout the world in obtaining eco-friendly food products.

It should be noted that despite the existing scientific works related to biological plant protection, there is still a very limited number of bio-products based on microorganisms on the market, including in Kazakhstan.

Currently, only one biological product, phytolavin (aqueous soluble concentrate) at a dosage of 2 l/ha, is registered to combat the causative agent of bacterial blight of fruit crops in Kazakhstan. The active ingredient of the drug is a complex of streptomycin antibiotics (32 g/l) (Russia).

In this regard, the development of domestic drugs based on indigenous strains of microorganisms adapted to local climatic conditions is of scientific and practical interest.

### Materials and methods of research

As the basis for bio-products, we used strains of lactic acid bacteria *Lactobacillus paracasei* M<sub>12</sub> and *Lactobacillus plantarum* 17M, which previously had antagonistic activity against the causative agent of fire blight *E. amylovora* [15,16].

Laboratory samples of bio-products were prepared on MRS medium in three stages: growing the inoculum on a solid nutrient medium for 3-5 days; obtaining a mother culture by cultivating in a liquid medium for 2 days and obtaining a product in liquid form by fermentation for 7 days on a shaker at 37°C and 165 rpm. The fluid titre of the drug was 10<sup>9</sup> CFU/ml.

Composition of MRS medium: (g/l): distilled water – 1.0; proteose peptone – 10.0; yeast extract – 5.0; meat extract – 10.0; glucose – 20.0; Tween-80 – 1.0 ml; ammonium citrate – 2.0; sodium acetate – 5.0; magnesium sulphite (MgSO<sub>4</sub>) – 0.10; manganese sulphate (MnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O) – 0.05; sodium hydrogen phosphate – 2.0; agar-agar – 12.0; pH 6.5; Sterilisation at 1 atm. (121°C) – 20 min.

The tests were carried out in the farmstead 'Zhemis' of the Enbekshikazakh district of the Almaty region on two varieties of apple trees 'Aport' and 'Starkrimson'.

The effectiveness of laboratory samples of two bio-products based on strains M<sub>12</sub> and 17M with a working fluid titre of 10<sup>8</sup> CFU/ml was tested with single and double treatments on an area of 1 hectare. Trees without treatment served as control. Spraying was carried out using a fan-mounted garden sprayer 'Promar'.

The biological effectiveness of the bio-product was calculated based on the intensity of the disease in comparison with the control and was calculated using the formula:

$$C = \frac{100(P - p)}{P}$$

C – is the biological effectiveness (%), P – is the prevalence of the disease in the control; p – prevalence of the disease in the experimental variant.

When using the scoring scale, the following gradations were followed:

0 – no signs of disease; 1 – up to 10% of the surface of the plant or its individual organs is affected; 2 – 11 - 25% of the surface of the plant or its individual organs is affected; 3 – 26 - 50% of the surface of the plant or its individual organs is affected;

Disease prevalence was estimated using the formula.

$$P = nN \times 100\%$$

n – number of diseased plants; N – Total number of plants in samples.

The intensity of disease development (%) in the area was determined using the formula.

$$R = 100 \Sigma(n \times b) N \times K$$

n – the number of affected plants; b – the corresponding score for affected plant;

N – total number of plants in the sample; K – the highest score on the scale.

### Results and discussion

The tests were carried out on the natural background of the disease in apple trees. The apple tree variety ‘Aport’ is susceptible, and ‘Starkrimson’ is resistant. The first treatment was carried out in early spring before bud break against an overwintered infection of the fire blight pathogen, the second treatment was carried out during the flowering period. The results are presented in Table.

Table - Evaluation of the effectiveness of drugs based on strains of lactic acid bacteria against fire blight of apple trees

Single treatment in the phase before bud break, 04.04.23					Double treatment in the phase before bud break and flowering, 04.04.23, 05.12.23.				
Experiment type	P, %	R, %	Yield t/ha (t/ha)	C, %	Experiment type	P, %	R, %	Yield t/ha	C, %
“Aport” variety									
M <sub>12</sub>	8,5	1,2	7,5	78,8	M <sub>12</sub>	5,5	0,2	9,0	86,3
17M	9,2	1,5	7,7±0,1	77,0	17M	6,0	0,9	8,5±0,4	85,0
Control	40	27	2,0±0	-	Control	40	27	2,0±0	-
“Starkrimson” variety									
M <sub>12</sub>	6,6	2,6	10,5	82,6	M <sub>12</sub>	3,5	0,2	11,0	90,7
17M	6,9	2,0	9,8±0,3	81,8	17M	4,0	1,1	10,3±0,7	89,5
Control	38,0	17,0	6,0±0	-	Control	38,0	17,0	6,0±0,1	-
Note: P – the prevalence of the disease; R – development of the disease; C – biological effectiveness									

It was found that with a single treatment of trees of the susceptible variety ‘Aport’ with a liquid product based on *L. paracasei* M<sub>12</sub>, the prevalence and development of the disease decreased compared to the control by 31.5% and 25.8%, respectively, while the yield increased by 5.5 t/ha, and the biological effectiveness was 78.8%. With double treatment with the bio-product, the prevalence and development of fire blight on trees of the ‘Aport’ variety decreased by 34.5% and 26.8%, while the yield increased by 7.0 t/ha, and the biological effectiveness was 86.3%.

A single treatment of trees of the resistant ‘Starkrimson’ variety with a liquid product based on *L. paracasei* M<sub>12</sub> led to a decrease in the prevalence and development of the disease compared

to the control by 31.4% and 14.4%, respectively, the yield increased by 4.5 t/ha, and biological effectiveness was 82.6%. With double treatment with the bio-product, the prevalence and development of fire blight on trees of the 'Starkrimson' variety decreased by 34.5% and 16.8%, while the yield increased by 5.0 t/ha, and the biological effectiveness was 90.7%.

In the variant where a bio-product based on the *L. plantarum* 17 M strain was used during a single treatment of trees of the susceptible variety 'Aport', the prevalence and development of the disease decreased compared to the control by 30.8% and 25.5%, respectively, while the yield increased by 5.7 t/ha, and the biological effectiveness was 77%.

With double treatment with the bio-product, the prevalence and development of fire blight on trees of the 'Aport' variety decreased by 34% and 26.1%, while the yield increased by 6.5 t/ha, and the biological effectiveness was 85%.

A single treatment of trees of the resistant 'Starkrimson' variety with a liquid product based on *L. plantarum* 17 M led to a decrease in the prevalence and development of the disease compared to the control by 35% and 9.2%, respectively, the yield increased by 3.8 t/ha, and the biological effectiveness was 81.8%.

With double treatment with the product, the prevalence and development of fire blight on trees of the 'Starkrimson' variety decreased by 53% and 10.1%, while the yield increased by 4.3 t/ha, and the biological effectiveness was 89%.

It should be noted that when comparing the biological effectiveness, the drug based on *L. paracasei* M<sub>12</sub> was slightly (0.8%-1.8%) more effective than the drug based on the *L. plantarum* 17 M strain in all forms of the experiment. Apple trees of the 'Aport' and 'Starkrimson' varieties after the second treatment with the drug based on the *L. paracasei* M<sub>12</sub> strain are shown in figures 1-2.



Figure 1 - Demonstration of fire blight on an apple tree of the 'Aport' variety in the experimental version (a) and in the control (b) after the second treatment with a bio-product based on *L. paracasei* M<sub>12</sub>





Figure 2 - Demonstration of fire blight on an apple tree of the ‘Starkrimson’ variety in the experimental version (a) and in the control (b) after the second treatment with a bio-product based on *L. paracasei* M<sub>12</sub>

### Conclusion

Thus, the biological effectiveness of the bio-product based on *L. paracasei* M<sub>12</sub> against fire blight with double treatment exceeded that with a single treatment on the susceptible variety ‘Aport’ by 7.5%, and on the resistant variety ‘Starkrimson’ by 8.1%. The biological effectiveness of the drug based on *L. plantarum* 17 M against fire blight with double treatment exceeded that with a single treatment on the susceptible variety ‘Aport’ by 8%, on the resistant variety ‘Starkrimson’ by 7.7%. Testing of prototypes of bio-products based on lactic acid bacteria showed that the biological effectiveness of the product based on *L. paracasei* M<sub>12</sub> was slightly (0.8%-1.8%) higher than the biological effectiveness of the product based on the *L. paracasei* 17M strain in all variants of the experiment.

### Funding

The work was carried out within the framework of program-targeted funding of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (IRN BR18574022 “Microbial preparations to combat fire blight of fruit crops” for 2023-2024).

### References:

- 1 Umiraliyeva Z.Z. et al., Epidemiology of Fire Blight in Fruit Crops in Kazakhstan, *Journal of Agricultural Sciens*, 2021. 43(2). (<https://agrivita.ub.ac.id/index.php/agrivita/article/view/2674>)
- 2 Kairova G.N., et al., The fire blight prevalence on different varieties of apple trees in the main industrial zone of horticulture (south and south-east of Kazakhstan, *VESTNIK ENU im. L.N. Gumileva. Serija biologicheskie nauki*, 2023. 1(142): p.31-40. (doi: 10.32523/2616–7034-2023-142-1-31-40)
- 3 Lešnik M., Kurnik V., Gaberšek V. Phytotoxicity on apple flowers of copper formulations applied for the control of blossom blight. In: *Acta Hort (ISHS)*, 2011. 89: 495-501. (doi: 10.17660ActaHortic.2011.896.73)
- 4 Temple T.N., et al., Floral colonization dynamics and specificity of *aureobasidium pullulans* strains used to suppress fire blight of pome fruit. *Plant Disease*, 2020. 104(1): p.121–128. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1512-RE>)
- 5 Dagher F., et al., Development of a novel biological control agent targeting the phytopathogen *Erwinia amylovora*. *Heliyon*, 2020. 6:10. (<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05222>)
- 6 Esteban-Herrero G., et al., Screening for Novel Beneficial Environmental Bacteria for an Antagonism-Based *Erwinia amylovora* *Biological Control. -Microorganisms*, 2023. 11: 1795

(<https://doi.org/10.3390/microorganisms11071795>)

7 Morgera E., et al., Organic agriculture and law. *FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome. 2016, 224. ISBN 978-92-5-407220-9 © FAO. (<http://www.fao.org/3/i2718e/i2718e.pdf>)

8 Sobiczewski P., et al., Biological control of fire blight on apple blossoms and shoots with epiphytic and soil bacteria. *XI international Workshop on Fire Blight*, 2007.: p. 409-414. (doi.10.17660/ActaHortic.2008.793.61)

9 Sundin G.W., et al., Field evaluation of biological control of fire blight in the eastern United States. *Plant Disease*, 2009. 93(4): p.386-394 (<https://doi.org/10.1094/PDIS-93-4-0386>)

10 Mikiciński A., et al., Control of fire blight (*Erwinia amylovora*) by a novel strain 49M of *Pseudomonas graminis* from the phyllosphere of apple (*Malus* spp.). *European Journal of Plant Pathology*, 2016. 145: p. 265-276. (10.1007/s10658-015-0837-y)

11 Hatice Ö., Tayyar B., Biological control of fire blight in pear orchards with a formulation of *Pantoea agglomerans* strain Eh 24. *Braz. J. Microbiol*, 2004.: p. 35-37. (<https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000200010>)

12 Broggin G.A., et al., Detection of the fire blight biocontrol agent *Bacillus subtilis* BD170 (Biopro®) in a Swiss apple orchard. *European journal of plant pathology*, 2005. 111: p.93-100. (<https://doi.org/10.1007/s10658-004-1423-x>)

13 Chen X.H., et al., Difficidin and bacilysin produced by plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* are efficient in controlling fire blight disease. *Journal of biotechnology*, 2009. 140 (1-2): p. 38-44. (<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2008.10.015>)

14 Vanneste J.L., et al., Role of antibiotic production by *Erwinia herbicola* Eh252 in biological control of *Erwinia amylovora*. *Journal of Bacteriology*, 1992. 174(9): p. 2785-2796 (doi: 10.1128/jb.174.9.2785-2796.1992)

15 Sadanov A.K., et al., Skrinig antagonisticheskoy aktivnosti shtammov moolochnokislyh bakterij protiv *Erwinia amylovora*/ *International scientific journal science and innovation*/ Issue dedicated to the 50th anniversary of the Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan, s.: 166-172. ISSN 2181-3337/SCIENTISTS.UZ (<https://doi.org/10.5281/zenodo.835309>)

16 Sadanov A. et al., Antagonistic and protective activity of *Lactobacillus plantarum* strain 17 M against *E. amylovora*. *Journal World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023. 39: p. 314:13 (doi 10.1007/s11274-023-03765-3)

О.Н. ШЕМШУРА<sup>1\*</sup>, Э.Т. ИСМАИЛОВА<sup>1</sup>, Г.Б. БАЙМАХАНОВА<sup>1</sup>,  
З. Ж. ТУРЛЫБАЕВА<sup>1</sup>, Н.М. КУЛДЫБАЕВ<sup>1</sup>, С.В. КАМЗОЛОВА<sup>2</sup>, М.В. КИМ<sup>1</sup>,  
А.Е. МОЛЖИГИТОВА<sup>1</sup>, А.Е. ЕЛУБАЕВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан

<sup>2</sup>Г.К. Скрыбин атындағы биохимия және микроорганизмдер физиологиясы институты,  
Пушино, Ресей

\*e-mail: [olgashemshura@mail.ru](mailto:olgashemshura@mail.ru)

## ЖЕМІС ДАҚЫЛДАРЫНДА КЕЗДЕСЕТІН БАКТЕРИЯЛЫҚ КҮЙІК ҚОЗДЫРҒЫШЫНА ҚАРСЫ СҮТ ҚЫШҚЫЛДЫ БАКТЕРИЯЛАРҒА НЕГІЗДЕЛГЕН БИОЛОГИЯЛЫҚ ӨНІМДЕРДІҢ ТӘЖІРИБЕЛІК ҮЛГІЛЕРІНІҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ТИІМДІЛІГІН БАҒАЛАУ

### Түйін

Бактериялық күйік жеміс дақылдарының қауіпті ауруы болып табылады және ол жеміс шаруашылығына орасан зор экономикалық зиян келтіреді. Аурудың қоздырғышы карантиндік объектілерге жататын *Erwinia amylovora* бактериясы екені белгілі. Бактериялық күйікті бақылау саласында онымен күресу үшін жаңа тәсілдер мен шешімдерді іздеу өте өзекті мәселе. Аурудың таралуын азайту мақсатында *Lactobacillus* туысына жататын сүт қышқылды бактерияларына негізделген екі биопрепараттың тәжірибелік үлгілеріне сынақ жүргізілді. «Апорт» сұрыпының алма ағаштарын *L. paracasei* M<sub>12</sub> және *L. plantarum* 17M штамдары негізіндегі препараттармен екі реттік өңдеуден кейін бактериялық күйіктің таралуы 34,5% және 30,8% дейін төмендеуіне әкелетіні

анықталып, өнімдердің биологиялық тиімділігі тиісінше 86,3% және 85% құрады. *L. paracasei* M<sub>12</sub> және *L. plantarum* 17M штамдары негізіндегі сыналатын препараттармен төзімді «Старкримсон» сұрыпты алма ағаштарын екі реттік өңдеу жүргізген кезде аурудың таралуы 34,5% және 35% төмендеген және биологиялық тиімділігі 90,7% және 89% құраған. Сондай-ақ, *L. paracasei* M<sub>12</sub> және *L. plantarum* 17M штамдарына негізделген тәжірибелік препараттармен өндегеннен кейін «Апорт» сұрыпты жеміс ағашының өнімділігі 7,0 т/га және 6,5 т/га, ал төзімді «Старкримсон» сұрыпының өнімділігі тиісінше 5,0 т/га және 4,3 т/га дейін артуына ықпал еткен, бұл көрсеткіштер өңдеу жүргізілмеген бақылаумен салыстыру арқылы алынған.

**Кілтті сөздер:** бактериялық күйік, жеміс дақылдары, сүт қышқылды бактериялар, биологиялық өнім, биологиялық тиімділік.

МРНТИ: 68.03.07

О.Н. ШЕМШУРА<sup>1\*</sup>, Э.Т. ИСМАИЛОВА<sup>1</sup>, Г.Б. БАЙМАХАНОВА<sup>1</sup>, З.Ж. ТУРЛЫБАЕВА<sup>1</sup>,  
Н.М. КУЛДЫБАЕВ<sup>1</sup>, С.В. КАМЗОЛОВА<sup>2</sup>, М.В. КИМ<sup>1</sup>, А.Е. МОЛЖИГИТОВА<sup>1</sup>,  
А.Е. ЕЛУБАЕВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрябина, Пушкино,  
Россия

\*e-mail: olgashemshura@mail.ru

## ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОПЫТНЫХ ОБРАЗЦОВ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ОЖОГА ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР

doi:10.53729/MV-AS.2024.02.11

### Аннотация

Бактериальный ожог является опасным заболеванием плодовых культур и наносит огромный экономический ущерб плодоводству. Возбудитель болезни бактерия *Erwinia amylovora* относится к карантинным объектам. Поиск новых подходов и решений в области контроля бактериального ожога является весьма актуальным. С целью снижения распространения заболеваемости проведено испытание опытных образцов двух биопрепаратов на основе молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*. Было установлено, что двукратная обработка яблони сортов «Апорт» препаратами на основе штаммов *L. paracasei* M<sub>12</sub> и *L. plantarum* 17 M приводит к снижению распространенности бактериального ожога на 34,5% и 30,8%, соответственно, при этом биологическая эффективность биопрепаратов составила 86,3% и 85%, соответственно. При двукратной обработке деревьев устойчивого сорта «Старкримсон» испытываемыми препаратами на основе штаммов *L. paracasei* M<sub>12</sub> и *L. plantarum* 17 M распространенность бактериального ожога снизилось на 34,5% и 35%, соответственно, при этом биологическая эффективность соответственно составила 90,7% и 89%. Также обработка опытными препаратами на основе штаммов *L. paracasei* M<sub>12</sub> и *L. plantarum* 17 M способствовала увеличению урожая яблок сорта «Апорт» на 7,0 т/га и 6,5 т/га, соответственно, сорта «Старкримсон» - соответственно на 5,0 т/га и 4,3 т/га по сравнению с контролем, где обработки не было.

**Ключевые слова:** бактериальный ожог, плодовые культуры, молочнокислые бактерии, биопрепарат, биологическая эффективность

Бактериальный ожог плодовых (fire blight) *Erwinia amylovora* (Burrill) поражает растения семейства Rosaceae. Инфекция поражает более 160 видов плодовых и кустарниковых растений. Особенно серьезный ущерб болезнь наносит насаждениям айвы, груши, яблони. Возбудитель болезни *E. amylovora* имеет статус карантинного объекта в ряде стран.

Вредоносность ожога плодовых весьма велика вследствие очень быстрого его

распространения. В сильно зараженных садах он может поражать 20–50% насаждений, из которых 10–20% полностью погибают. В некоторых садах ожогом заражается до 90% плодовых деревьев [1]. Возбудитель заболевания легко переносится птицами, насекомыми, дождем или ветром.

Если не принять экстренных мер по локализации и ликвидации этой опасной болезни, под угрозой могут оказаться не только плодовые культуры, но и парки и скверы городов, защитные полосы вдоль дорог и т. д.

Для Казахстана заболевание является карантинным. Однако, в настоящее время многочисленные очаги бактериального ожога выявлены на юге и юго-востоке Казахстана, что представляет угрозу для плодового хозяйства республики. Наличие очагов бактериального ожога может привести к массовому его распространению. Патоген длительное время может находиться в латентном состоянии и при наступлении благоприятных погодных условий может быстро размножиться и вызывать эпифитотийное развитие болезни. Климатические условия юго-востока Казахстана, где находится основная зона плодового хозяйства, по данным анализа фитосанитарного риска (АФР), благоприятны для акклиматизации и обоснования данного патогена [2].

По данным Агентства по статистике Республики Казахстан, занятая площадь под посадками яблони и груши составляет свыше 36 000 га, из них около 3100 га занимает сорт яблони «Апорт». Зараженная площадь бактериальным ожогом составляет 455,48 га, в том числе по областям: в Алматинской - 401,48 га, Жамбылской-53 га и Туркестанской -1 га.

На сегодняшний день научно рекомендованными мероприятиями для борьбы с возбудителем бактериального ожога *E. amylovora* являются обрезка пораженных ветвей, обработка медьсодержащими препаратами и антибиотиками. Однако использование этих методов имеет свои ограничения, связанные как с загрязнением окружающей среды, так и развитием устойчивости у возбудителя болезни [3]. Одним из альтернативных подходов снижения популяции патогена является применение биопрепаратов на основе микробов-антагонистов [4-6]. Сегодня органическое сельское хозяйство практикуется в 160 странах мира [7], где против возбудителя *E. amylovora* применяют *Pseudomonas fluorescens* [8,9], *Pseudomonas graminis* [10], *Pantoea agglomerans* [11], *Bacillus subtilis* [12], *Bacillus amyloliquefacien* [13], *Erwinia herbicola* [14]. Актуальность данного перспективного направления биотехнологии, в первую очередь, связана с интересом, который во всем мире проявляют к получению экологически чистых продуктов питания.

Следует отметить, что несмотря на имеющиеся научные работы, касающиеся биологической защиты растений, на рынке по-прежнему имеется очень ограниченное количество биопрепаратов на основе микроорганизмов, в том числе и в Казахстане.

В настоящее время для борьбы с возбудителем бактериального ожога плодовых культур в Казахстане зарегистрирован лишь один биопрепарат «Фитолавин» (водный растворимый концентрат) в дозировке 2л/га. Действующим веществом препарата является комплекс стрептомициновых антибиотиков (32 г/л) (Россия).

В связи с этим, разработка отечественных препаратов на основе аборигенных штаммов микроорганизмов, адаптированных к местным природно-климатическим условиям, представляет научный и практический интерес.

### Материалы и методы исследования

В качестве основы биопрепаратов использовали штаммы молочнокислых бактерий *Lactobacillus paracasei* M<sub>12</sub> и *Lactobacillus plantarum* 17M, у которых ранее была установлена антагонистическая активность против возбудителя бактериального ожога *E. amylovora* [15,16].

Лабораторные образцы биопрепаратов готовили на среде MRS в три этапа: выращивание посевного материала на твердой питательной среде в течение 3-5 суток; получение маточной культуры при культивировании на жидкой среде в течение 2-х суток и получение жидкого препарата путем ферментации в течение 7-ми суток на шейкере при



+37°C и 165 об/мин. Титр жидких препарата составлял  $10^9$  КОЕ/мл.

Состав питательной среды MRS: (г/л): вода дистиллированная – 1,0; протеозопептон – 10,0; дрожжевой экстракт – 5,0; мясной экстракт – 10,0; глюкоза – 20,0; твин-80 – 1,0 мл; аммония цитрат – 2,0; натрия ацетат – 5,0; сульфит магния ( $MgSO_4$ ) – 0,10; сульфат марганца ( $MnSO_4 \cdot H_2O$ ) – 0,05; натрия гидрофосфат – 2,0; агар-агар – 12,0; pH6,5; Стерилизация при 1 атм. (121°C) – 20 мин.

Испытания проводились в К/Х «Жемис» Енбекшиказахского района Алматинской области на двух сортах яблоневых деревьев «Апорт» и «Старкримсон».

Испытывалась эффективность лабораторных образцов двух биопрепаратов на основе штамма M12 и 17M с титром рабочей жидкости  $10^8$  КОЕ/мл при одно и двукратной обработки на площади 1 га. Контролем служили деревья без обработок. Опрыскивание проводилось с помощью вентиляторного, навесного садового опрыскивателя «Promar».

Биологическую эффективность биопрепарата рассчитывали по интенсивности проявления заболевания в сравнении с контролем и рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{100(P - p)}{P}$$

где С - биологическая эффективность, %, Р – распространенность болезни в контроле; р – распространенность болезни в опытном варианте.

При использовании балловой шкалы учета придерживались градации: 0 – признаки заболевания отсутствуют; 1 – поражено до 10 % поверхности растения или его отдельных органов; 2 – поражено 11 - 25 % поверхности растения или его отдельных органов; 3 – поражено 26 - 50 % поверхности растения или его отдельных органов.

Для оценки распространенности болезни применяли формулу:

$$P = nN \times 100\%$$

где n – Количество больных растений; N – Общее количество растений в пробах. Интенсивность развития болезни (%) на участке определяли по формуле:

$$R = 100 \sum (n \times b) / N \times K$$

где n – число пораженных растений; b – соответствующий балл их поражения; N – общее число растений в пробе; K – высший балл шкалы учета.

### Результаты и обсуждение

Испытания проведены на естественном фоне проявления болезни яблоневых деревьев. Сорт яблони «Апорт» является восприимчивым, а «Старкримсон» -устойчивым. Первая обработка проведена ранней весной до распускания почек против перезимовавшей инфекции возбудителя бактериального ожога, вторая обработка была проведена в период цветения. Результаты представлены в таблице.

Было установлено, что при однократной обработке деревьев восприимчивого сорта «Апорт» жидким препаратом на основе *L. paracasei* M12 распространенность и развитие болезни снизились по сравнению с контролем на 31,5% и 25,8%, соответственно, при этом урожай увеличился на 5,5 т/га, а биологическая эффективность составила 78,8%. При двукратной обработке препаратом распространенность и развитие бактериального ожога на деревьях сорта «Апорт» снизились уже на 34,5% и 26,8%, при этом урожай увеличился на 7,0 т/га, а биологическая эффективность составила 86,3%.

Таблица – Оценка эффективности препаратов на основе штаммов молочнокислых бактерий против бактериального ожога яблоневых деревьев

Однократная обработка в фазу до распускания почек, 04.04.23					Двукратная обработка в фазу до распускания почек и фазу цветения, 04.04.23г., 12.05.23 г.				
Вариант опыта	P, %	R, %	Урожай, т/га	C, %	Вариант опыта	P, %	R, %	Урожай, т/га	C, %
Сорт «Апорт»									
M <sub>12</sub>	8,5	1,2	7,5	78,8	M <sub>12</sub>	5,5	0,2	9,0	86,3
17M	9,2	1,5	7,7±0,1	77,0	17M	6,0	0,9	8,5±0,4	85,0
Контроль	40	27	2,0±0	-	Контроль	40	27	2,0±0	-
Сорт «Старкримсон»									
M <sub>12</sub>	6,6	2,6	10,5	82,6	M <sub>12</sub>	3,5	0,2	11,0	90,7
17M	6,9	2,0	9,8±0,3	81,8	17M	4,0	1,1	10,3±0,7	89,5
Контроль	38,0	17,0	6,0±0	-	Контроль	38,0	17,0	6,0±0,1	-
Примечание: P – распространенность болезни; R – развитие болезни; C – биологическая эффективность									

Однократная обработка деревьев устойчивого сорта «Старкримсон» жидким препаратом на основе *L. paracasei* M<sub>12</sub> привела к снижению распространенности и развития болезни по сравнению с контролем на 31,4% и 14,4%, соответственно, урожай увеличился на 4,5 т/га, а биологическая эффективность составила 82,6%. При двукратной обработке препаратом распространенность и развитие бактериального ожога на деревьях сорта «Старкримсон» снизились уже на 34,5% и 16,8%, при этом урожай увеличился на 5,0 т/га, а биологическая эффективность составила 90,7%.

В варианте, где применяли препарат на основе штамма *L. plantarum* 17 M при однократной обработке деревьев восприимчивого сорта «Апорт», распространенность и развитие болезни снизились по сравнению с контролем на 30,8% и 25,5%, соответственно, при этом урожай увеличился на 5,7 т/га, а биологическая эффективность составила 77%. При двукратной обработке препаратом распространенность и развитие бактериального ожога на деревьях сорта «Апорт» снизились уже на 34% и 26,1%, при этом урожай увеличился на 6,5 т/га, а биологическая эффективность составила 85%.

Однократная обработка деревьев устойчивого сорта «Старкримсон» жидким препаратом на основе *L. plantarum* 17 M привела к снижению распространенности и развития болезни по сравнению с контролем на 35% и 9,2%, соответственно, урожай увеличился на 3,8 т/га, а биологическая эффективность составила 81,8%. При двукратной обработке препаратом распространенность и развитие бактериального ожога на деревьях сорта «Старкримсон» снизились уже на 53% и 10,1%, при этом урожай увеличился на 4,3 т/га, а биологическая эффективность составила 89%.

Следует отметить, что при сравнении биологической эффективности препарат на основе *L. paracasei* M<sub>12</sub> незначительно (на 0,8%-1,8%) был эффективнее препарата на основе штамма *L. plantarum* 17 M во всех вариантах опыта. Яблоневые деревья сорта «Апорт» и «Старкримсон» после второй обработки препаратом на основе штамма *L. paracasei* M<sub>12</sub> представлены на рисунках 1–2.



а

б

Рисунок 1 - Проявление бактериального ожога на яблони сорта «Апорт» в опытном варианте (а) и в контроле (б) после второй обработки препаратом на основе *L. paracasei* M<sub>12</sub>



а

б

Рисунок 2 - Проявление бактериального ожога на яблони сорта «Старкримсон» в опытном варианте (а) и в контроле (б) после второй обработки препаратом на основе *L. paracasei* M<sub>12</sub>

### Заключение

Таким образом, биологическая эффективность препарата на основе *L. paracasei* M<sub>12</sub> против бактериального ожога с двукратной обработкой превышала таковую при однократной обработке на восприимчивом сорте «Апорт» на 7,5%, на устойчивом сорте «Старкримсон» - на 8,1%. Биологическая эффективность препарата на основе *L. plantarum* 17 M против бактериального ожога с двукратной обработкой превышала таковую при однократной обработке на восприимчивом сорте «Апорт» на 8%, на устойчивом сорте «Старкримсон» - на 7,7%. Проведенное испытание опытных образцов биопрепаратов на основе молочнокислых бактерий показало, что биологическая эффективность препарата на



основе *L. paracasei* M<sub>12</sub> незначительно (на 0,8%–1,8%) превышала биологическую эффективность препарата на основе штамма *L. paracasei* 17M во всех вариантах опыта.

### Финансирование

Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (ИРН BR BR18574022 «Микробные препараты для борьбы с бактериальным ожогом плодовых культур» на 2023-2024 гг.).

### Литература:

- 1 Umiraliyeva Z.Z. et al., Epidemiology of Fire Blight in Fruit Crops in Kazakhstan, *Journal of Agricultural Sciens*, 2021. 43(2). (<https://agrivita.ub.ac.id/index.php/agrivita/article/view/2674>)
- 2 Kairova G.N., et al., The fire blight prevalence on different varieties of apple trees in the main industrial zone of horticulture (south and south-east of Kazakhstan, *VESTNIK ENU im. L.N. Gumileva. Serija biologicheskie nauki*, 2023. 1(142): p.31-40. (doi: 10.32523/2616-7034-2023-142-1-31-40)
- 3 Lešnik M., Kurnik V., Gaberšek V. Phytotoxicity on apple flowers of copper formulations applied for the control of blossom blight. In: *Acta Hort (ISHS)*, 2011. 89: 495-501. (doi: 10.17660/ActaHortic.2011.896.73)
- 4 Temple T.N., et al., Floral colonization dynamics and specificity of *aureobasidium pullulans* strains used to suppress fire blight of pome fruit. *Plant Disease*, 2020. 104(1): p.121-128. (<https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1512-RE>)
- 5 Dagher F., et al., Development of a novel biological control agent targeting the phytopathogen *Erwinia amylovora*. *Heliyon*, 2020. 6:10. (<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05222>)
- 6 Esteban-Herrero G., et al., Screening for Novel Beneficial Environmental Bacteria for an Antagonism-Based *Erwinia amylovora* *Biological Control. -Microorganisms*, 2023. 11: 1795 (<https://doi.org/10.3390/microorganisms11071795>)
- 7 Morgera E., et al., Organic agriculture and law. *FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations*, Rome. 2016, 224. ISBN 978-92-5-407220-9 © FAO. (<http://www.fao.org/3/i2718e/i2718e.pdf>)
- 8 Sobiczewski P., et al., Biological control of fire blight on apple blossoms and shoots with epiphytic and soil bacteria. *XI international Workshop on Fire Blight*, 2007.: p. 409-414. (doi.10.17660/ActaHortic.2008.793.61)
- 9 Sundin G.W., et al., Field evaluation of biological control of fire blight in the eastern United States. *Plant Disease*, 2009. 93(4): p.386-394 (<https://doi.org/10.1094/PDIS-93-4-0386>)
- 10 Mikiciński A., et al., Control of fire blight (*Erwinia amylovora*) by a novel strain 49M of *Pseudomonas graminis* from the phyllosphere of apple (*Malus* spp.). *European Journal of Plant Pathology*, 2016. 145: p. 265-276. (10.1007/s10658-015-0837-y)
- 11 Hatice Ö., Tayyar B., Biological control of fire blight in pear orchards with a formulation of *Pantoea agglomerans* strain Eh 24. *Braz. J. Microbiol.*, 2004.: p. 35-37. (<https://doi.org/10.1590/S1517-83822004000200010>)
- 12 Broggin G.A., et al., Detection of the fire blight biocontrol agent *Bacillus subtilis* BD170 (Biopro®) in a Swiss apple orchard. *European journal of plant pathology*, 2005. 111: p.93-100. (<https://doi.org/10.1007/s10658-004-1423-x>)
- 13 Chen X.H., et al., Difficidin and bacilysin produced by plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* are efficient in controlling fire blight disease. *Journal of biotechnology*, 2009. 140 (1-2): p. 38-44. (<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2008.10.015>)
- 14 Vanneste J.L., et al., Role of antibiotic production by *Erwinia herbicola* Eh252 in biological control of *Erwinia amylovora*. *Journal of Bacteriology*, 1992. 174(9): p. 2785-2796 (doi: 10.1128/jb.174.9.2785-2796.1992)
- 15 Саданов А.К., и др., Скрининг антагонистической активности штаммов молочнокислых бактерий против *Erwinia amylovora*/ *International scientific journal science and innovation*/ Issue dedicated to the soth anniversary of the Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan, 2024.: с. 166-172. ISSN 2181-3337/SCIENTISTS.UZ (<https://doi.org/105281/zenodo.835309>)
- 16 Sadanov A. et al., Antagonistic and protective activity of *Lactobacillus plantarum* strain 17 M against *E. amylovora*. *Journal World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2023. 39: p. 314:13 (doi 10.1007/s11274-023-03765-3)