

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 579.26 +632.937

doi: 10.17223/19988591/25/3

А.А. Леляк¹, М.В. Штерншиц²

¹ Научно-производственная фирма «Исследовательский центр»,
научоград Кольцово, Новосибирская обл., Россия

² Новосибирский государственный аграрный университет, г. Новосибирск, Россия

Антагонистический потенциал сибирских штаммов *Bacillus* spp. в отношении возбудителей болезней животных и растений

Установлено, что наибольшую антагонистическую активность сибирские штаммы бактерий *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* и *Bacillus licheniformis* проявляют в отношении *St. aureus*. Высокой активностью в отношении *C. albicans* обладали штаммы *B. subtilis* БКПМ В-16041, DSM 24613, *B. amyloliquefaciens* БКПМ В-10642, DSM 24614 и *B. amyloliquefaciens* БКПМ В-10643, DSM 24615. Все штаммы показали наличие бактерицидного действия средней и слабой степени в отношении других использованных в опыте грамотрицательных бактерий – *C. freundii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* Па. Эти же штаммы бактерий-антагонистов проявили ингибирующие свойства в отношении большинства использованных в опыте фитопатогенов. На возбудителя альтернариоза *A. solani* наибольшее ингибирующее действие оказали штаммы *B. amyloliquefaciens* Ba-1 и Ba-2, *B. licheniformis* БКПМ В-10561, DSM 24609 и *B. subtilis* Bs-1. В подавлении роста возбудителя корневых гнилей *B. sorokiniana* высокую активность проявили штаммы *B. subtilis* Bs-1, *B. amyloliquefaciens* Ba-1 и Ba-2, которые также были максимально активными по сравнению с остальными по отношению к возбудителю серой гнили растений *B. cinerea*. В то же время установлено, что штаммы *B. licheniformis* не подавляли роста *B. cinerea*. Против фитопатогенных грибов рода *Fusarium* и возбудителя фитофтороза пасленовых культур *Ph. infestans* все изученные бактерии *Bacillus* spp. показали высокий уровень ингибирующей активности. У бактерий *B. licheniformis* Bl-1, БКПМ В-10562, DSM 24610 и БКПМ В-10564, DSM 24612 отсутствовала антагонистическая активность в отношении *F. solani* БКПМ В-163.

Ключевые слова: антагонистическая активность; *Bacillus subtilis*; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus licheniformis*; патогенные бактерии; фитопатогенные грибы.

Введение

Спорообразующие бактерии рода *Bacillus* являются продуцентами широкого спектра биологически активных веществ (БАВ), в том числе ферментов, липопептидных и других антибиотиков, спектр которых зависит от геогра-

фического происхождения изолятов [1, 2]. Продукция БАВ обуславливает высокую бактерицидную и бактериостатическую активность *Bacillus* spp. в отношении патогенных грамположительных (*Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Treponema pallidum*, *Neisseria meningitis*) бактерий [3], а также фунгицидную (фунгистатическую) активность в отношении фитопатогенных грибов – *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* [4, 5]. Таким образом, представители рода *Bacillus* обладают бактерицидной и фунгицидной активностью и рассматриваются как перспективные биологические агенты для создания противомикробных препаратов. Пробиотики на основе бактерий *B. subtilis* успешно применяют в медицине для терапии инфекций различной этиологии [6–8]. В ветеринарной медицине препараты и кормовые добавки, включающие в качестве действующего начала бактерии рода *Bacillus*, используют для снижения падежа, повышения привесов, снижения конверсии кормов в свиноводстве [9, 10], птицеводстве [11], при выращивании крупного рогатого скота [12]. В защите растений от возбудителей болезней была показана эффективность штаммов *B. subtilis* в качестве биофунгицидов для культур открытого и защищенного грунта [13, 14], а также в технологии хранения овощей [15].

Цель работы – оценить антагонистическую активность сибирских природных штаммов бактерий рода *Bacillus* как потенциальной основы биопрепаратов для управления здоровьем животных и растений.

Материалы и методики исследования

Культуры микроорганизмов. Штаммы бактерий-антагонистов патогенной микрофлоры – *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* и *Bacillus licheniformis* – были выделены из почвы лесных биоценозов Новосибирской области и депонированы во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ, Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, г. Москва) и Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany). Чистые культуры фитопатогенных грибов (*Bipolaris sorokiniana* ВКПМ В-532, *Botrytis cinerea* ВКПМ В-1006, *Fusarium graminearum* ВКПМ В-147, *Fusarium solani* ВКПМ В-163, *Fusarium chlamydosporum* ВКПМ В-899, *Fusarium oxysporum* ВКПМ В-349, *Fusarium avenaceum* ВКПМ В-623) были получены в ВКПМ. Остальные тест-объекты (штаммы *Alternaria solani* А7 АКТЛ 112, А7 НКЛ 2в, А7 АКТЛ 125 3б, *Botrytis cinerea* М-01, М-4-2, *Fusarium solani* К 6, *Phytophthora infestans*, расы 3,4 и 1-11) выделены авторами из инфицированных растений, а чистые культуры патогенных бактерий (*Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *choleraesuis*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *enteritidis*, *Salmonella*

enterica subsp. enterica serovar paratyphi B, Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium, Shigella sonnei, Shigella flexneri IIa, *Staphylococcus aureus*) – из патологического органного материала, полученного от павших сельскохозяйственных животных (молодняк крупного рогатого скота, свиньи).

Изучение антагонизма. Антагонистическую активность в отношении патогенов определяли методом перпендикулярных штрихов на чашках Петри с мясо-пептонным агаром (МПА, Meat Infusion Agar (Standart Infusion Agar), HiMedia) и выражали в мм зоны полного угнетения роста патогена [16]. Для оценки антагонистической активности штаммов в отношении *S. albicans*, с целью формирования одинаково благоприятных условий для роста и развития и патогена, и штамма-антагониста, в МПА добавляли 1% глюкозы (α -D глюкоза (декстроза) моногидрат, Cerestar). Испытуемый штамм бактерии-антагониста высевали штрихом (полоской) по диаметру чашки Петри с МПА, посеvy инкубировали в термостате при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 48 ± 1 ч. По окончании времени инкубации перпендикулярно к штриху антагониста подсеивали тест-культуры патогенов, после чего посеvy помещали в термостат при указанной ранее температуре еще на 20 ± 1 ч. Если изучаемый штамм-антагонист оказывал антимикробное действие в отношении изучаемых патогенов, то последние росли на расстоянии от его штриха, которое и являлось количественной мерой антагонистической активности. Антагонистическую активность в отношении фитопатогенов определяли модифицированным методом агаровых блоков и выражали в виде ингибирующей активности [17]. Фитопатогенные грибы выращивали на картофельно-глюкозном агаре. Поверхность агаризованной питательной среды в чашках Петри засеивалась бактериальными штаммами для получения равномерных газонов. Чашки инкубировали 48 ч при 28°C , затем на их поверхность в центр помещали грибные блоки диаметром 1 см, вырезанные из колоний грибов. В контроле среда использовалась без внесения бактерий. Измерение диаметров выросших грибных колоний проводилось на 5 сутки сокультивирования при 25°C . Ингибирующую активность вычисляли, исходя из диаметров колоний в контрольном и опытном вариантах, по формуле $(D_k - D_o)/D_k$, где D_k – диаметр колоний в контроле, D_o – в опыте, выражая в %.

Данные в таблицах представлены в виде средней арифметической с доверительными интервалами. Статистическая обработка полученных данных выполнена в программе StatSoft STATISTICA for Windows 6.0.

Результаты исследования и обсуждение

Анализ антагонистической активности в отношении патогенных бактерий. Результаты определения антагонистической активности изученных штаммов в отношении патогенов представлены в табл. 1.

В зависимости от ширины зоны угнетения роста микробных тест-объектов можно выделить высокую (от 11 до 30 мм), среднюю (в пределах 4–10 мм) и слабую (до 4 мм) антагонистическую активность.

Наибольшее антагонистическое действие бацилл отмечено в отношении *St. aureus*.

Т а б л и ц а 1

**Антагонистическая активность бактерий в отношении патогенов,
зона угнетения роста, мм**

Наименование патогенного тест-микроорганизма	Штаммы бактерий-антагонистов						
	<i>Bs-1</i>	<i>Ba-1</i>	<i>Ba-2</i>	<i>Bl-1</i>	<i>Bl-2</i>	<i>Bl-3</i>	<i>Bl-4</i>
<i>C. albicans</i> 359	18±2,35	20±3,06	20±3,12	5±0,49	4±1,08	5±0,54	12±1,41
<i>C. albicans</i> 604	12±0,87	30±2,19	13±1,50	8±0,76	10±0,82	10±0,90	6±0,54
<i>C. albicans</i> 616	30±2,28	30±2,06	15±2,04	10±1,88	10±1,16	5±0,66	6±0,49
<i>C. freundii</i> 1	2±0,12	5±0,27	7±0,60	2±0,17	2±0,28	2±0,09	2±0,32
<i>C. freundii</i> 2	4±0,40	5±0,61	5±0,58	2±0,20	3±0,44	2±0,18	4±0,60
<i>C. freundii</i> 17	10±0,70	5±0,56	5±0,70	2±0,19	2±0,22	3±0,30	4±0,41
<i>E. coli</i> 582	6±0,61	8±0,72	10±0,86	2±0,13	2±0,21	2±0,24	2±0,20
<i>E. coli</i> 2	6±0,44	10±1,09	10±1,23	2±0,33	2±0,30	2±0,22	2±0,38
<i>E. coli</i> 457	7±0,50	6±1,15	11±1,42	2±0,28	3±0,46	3±0,51	5±0,67
<i>K. pneumonia</i> 995	1±0,11	9±0,94	15±1,63	6±1,06	4±0,53	3±0,40	4±0,59
<i>K. pneumonia</i> 47	8±0,61	8±0,70	8±0,65	6±0,49	5±0,44	6±0,56	0
<i>K. pneumonia</i> 3/3	5±0,40	5±0,33	6±0,44	5±0,37	4±0,22	2±0,19	2±0,20
<i>P. vulgaris</i> 14	6±0,59	3±0,27	6±0,65	2±0,20	4±0,39	2±0,30	0
<i>P. vulgaris</i> 222	7±0,84	7±0,69	6±0,70	29±1,39	10±1,06	12±1,11	10±0,90
<i>P. vulgaris</i> 88	6±0,70	7±0,84	10±0,93	3±0,12	3±0,29	2±0,21	2±0,31
<i>P. aeruginosa</i> 884	15±1,04	2±0,19	6±0,70	3±0,31	2±0,22	2±0,19	2±0,34
<i>P. aeruginosa</i> 17	8±0,92	2±0,20	6±0,45	3±0,41	3±0,32	4±0,57	4±0,60
<i>P. aeruginosa</i> 12	2±0,12	4±0,30	3±0,32	3±0,27	4±0,36	3±0,19	3±0,29
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>choleraesuis</i>	5±0,40	6±0,53	6±0,50	5±0,44	2±0,20	2±0,23	3±0,31
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>enteritidis</i>	8±0,66	13±1,14	30±1,43	20±1,70	20±1,65	18±1,40	20±1,59
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>paratyphi B</i>	5±0,39	7±0,69	6±0,65	2±0,15	2±0,22	2±0,13	3±0,31
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>typhimurium</i>	5±0,41	10±1,02	10±1,14	4±0,52	3±0,33	3±0,30	2±0,20
<i>Sh. sonnei</i>	7±0,60	11±0,97	7±0,60	10±1,06	10±1,14	2±0,16	4±0,24
<i>Sh. flexneri</i> IIa	12±0,71	21±1,48	18±2,03	4±0,44	2±0,35	2±0,30	2±0,19
<i>St. aureus</i> 209	22±1,36	20±1,19	25±1,46	27±1,66	20±1,39	26±1,40	20±1,06
<i>St. aureus</i> 211	23±1,41	24±1,56	25±1,17	28±1,69	22±1,54	24±1,19	20±1,05
<i>St. aureus</i> 12	24±1,70	30±2,48	29±2,07	30±1,90	24±1,27	30±1,90	22±1,88

Высокой активностью в отношении *C. albicans* обладали штаммы *B. subtilis* ВКПМ В-16041, DSM 24613 (далее по тексту Bs-1), *B. amyloliquefaciens* ВКПМ В-10642, DSM 24614 (далее по тексту Ba-1) и *B. amyloliquefaciens* ВКПМ В-10643, DSM 24615 (далее по тексту Ba-2). Остальные штаммы бацилл проявили к данному патогену среднюю антагонистическую активность.

Таблица 2

Ингибирующая активность бактерий в отношении фитопатогенов, %

Наименование фитопатогенного тест-микроорганизма	Штаммы бактерий-антагонистов						
	<i>Bs-1</i>	<i>Ba-1</i>	<i>Ba-2</i>	<i>Bl-1</i>	<i>Bl-2</i>	<i>Bl-3</i>	<i>Bl-4</i>
<i>A. solani</i> A7 АКТЛ 112	68,5±1,19	71,4 +2,07	71,4±1,55	71,4±1,80	65,7±2,19	68,6±2,23	37,1±1,07
<i>A. solani</i> A7 НКЛ 2в	66,7±2,09	50,0 +1,85	56,7±1,90	66,7±2,44	66,7±2,70	66,7±2,19	66,7±2,17
<i>A. solani</i> A7 АКТЛ 125 36	66,7±2,03	66,7 +2,12	66,7±2,09	66,7±2,11	66,7±2,10	66,7±2,09	60,0±1,90
<i>B. sorokiniana</i> ВКПМ В-532	81,8±2,49	81,8 +2,29	81,8±2,47	36,4±1,16	41,8±1,50	67,3±2,07	27,3±1,26
<i>B. cinerea</i> М-01	62,5±1,92	62,5 +2,05	62,5±2,13	53,3±1,88	51,1±1,80	55,6±1,94	22,2±0,98
<i>B. cinerea</i> ВКПМ В-1006	50,0±2,24	50,0 +2,17	50,0±2,01	0	0	0	0
<i>B. cinerea</i> М-4-2	68,7±2,30	68,7 +2,46	68,7±2,41	68,8±2,03	48,6±2,11	68,7±1,95	37,5±0,88
<i>Fusarium graminearum</i> ВКПМ В-147	54,5±1,74	54,5 +1,83	54,5±1,80	50,0±1,75	31,8±1,40	45,4±1,66	31,8±1,19
<i>Fusarium solani</i> ВКПМ В-163	44,4±1,33	44,4 +1,40	44,4±1,37	0	0	33,3±1,18	0
<i>A. solani</i> A7 АКТЛ 112	68,5±2,20	71,4 +2,69	71,4±2,55	71,4±2,71	65,7±2,38	68,6±2,30	37,1±1,15
<i>A. solani</i> A7 НКЛ 2в	66,7±2,07	50,0 +1,92	56,7±1,84	66,7±2,04	66,7±2,12	66,7±2,29	66,7±2,31
<i>A. solani</i> A7 АКТЛ 125 36	66,7±2,18	66,7 +2,81	66,7±2,60	66,7±2,55	66,7±2,74	66,7±2,15	60,0±2,18
<i>B. sorokiniana</i> ВКПМ В-532	81,8±2,96	81,8 +2,70	81,8±2,66	36,4±1,18	41,8±1,60	67,3±2,00	27,3±0,93
<i>B. cinerea</i> М-01	62,5±2,45	62,5 +1,97	62,5±2,17	53,3±1,70	51,1±1,64	55,6±1,50	22,2±0,98
<i>B. cinerea</i> ВКПМ В-1006	50,0±1,74	50,0 +1,66	50,0±1,54	0	0	0	0
<i>B. cinerea</i> М-4-2	68,7±2,15	68,7 +2,26	68,7±2,33	68,8±2,40	48,6±1,83	68,7±2,01	37,5±1,14
<i>Fusarium graminearum</i> ВКПМ В-147	54,5±1,59	54,5 +1,60	54,5±1,83	50,0±1,19	31,8±1,62	45,4±1,18	31,8±0,87
<i>Fusarium solani</i> ВКПМ В-163	44,4±0,75	44,4 +1,13	44,4±1,04	0	0	33,3±0,60	0
<i>Fusarium chlamydosporum</i> ВКПМ В-899	76,2±2,29	76,2 +2,61	64,3±2,16	52,4±1,67	47,6±1,32	61,9±1,70	16,7±0,29
<i>Fusarium solani</i> К 6	68,9±2,09	77,8 +2,73	77,8±2,44	40,0±1,90	40,0±1,33	48,9±1,12	0
<i>Fusarium oxysporum</i> ВКПМ В-349	76,2±2,09	76,2 +2,40	76,2±2,33	47,6±2,19	64,3±1,96	52,4±1,47	23,8±0,85
<i>Fusarium avenacium</i> ВКПМ В-623	76,1±2,44	76,2 +3,85	76,2±2,41	59,5±1,94	64,3±1,87	64,3±2,03	23,8±0,70
<i>Ph. infestans</i> расы 3,4	80,0±2,55	80,0 +2,79	80,0±2,64	66,0±1,95	66,0±2,04	68,0±2,17	50,0±1,03
<i>Ph. infestans</i> расы 1-11	70,0±2,69	75,0 +2,70	75,0±2,13	62,5±1,98	57,5±1,72	67,5±2,03	25,0±0,81

Все штаммы показали наличие бактерицидного действия средней и слабой степени в отношении других использованных в опыте грамотрицательных бактерий – *C. freundii*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* Па. Зона угнетения роста составляла в среднем 2–10 мм в зависимости от вида тест-объекта.

Таким образом, все изученные штаммы бактерий *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* подавляли рост патогенных бактерий, хотя и в различной степени.

Анализ антагонистической активности в отношении фитопатогенных грибов. Штаммы бактерий-антагонистов проявили ингибирующие свойства в отношении большинства использованных в опыте фитопатогенов (см. табл. 2).

На возбудителя альтернариоза *A. solani* наибольшее ингибирующее действие оказали штаммы *B. amyloliquefaciens* Ba-1 и Ba-2, *B. licheniformis* ВКПМ В-10561, DSM 24609 (далее по тексту Bl-1) и *B. subtilis* Bs-1. В подавлении роста возбудителя корневых гнилей *B. sorokiniana* высокую активность проявили штаммы *B. subtilis* Bs-1, *B. amyloliquefaciens* Ba-1 и Ba-2. Эти же штаммы были максимально активными по сравнению с остальными по отношению к возбудителю серой гнили растений *B. cinerea*. В то же время установлено, что штаммы *B. licheniformis* не подавляли роста *B. cinerea* (штамм ВКПМ В-1006). Против фитопатогенных грибов рода *Fusarium* и возбудителя фитофтороза пасленовых культур *Ph. infestans* все изученные нами бактерии *Bacillus* spp. показали высокий уровень ингибирующей активности. У бактерий *B. licheniformis* Bl-1; ВКПМ В-10562, DSM 24610 (далее по тексту Bl-2) и ВКПМ В-10564, DSM 24612 (далее по тексту Bl-4) отсутствовала антагонистическая активность в отношении *F. solani* ВКПМ В-163.

Проведенные исследования показали, что помимо бактерицидного действия, которое штаммы *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* оказывали на патогенные бактерии, они проявляют ингибирующую активность в отношении фитопатогенных грибов. Ряд авторов указывал на подобное антибактериальное и фунгистатическое действие спорообразующих бактерий [18–21]. Как отмечено выше, это связано с тем, что перечисленные бактерии в процессе жизнедеятельности выделяют антимикробные вещества широкого спектра действия [22, 23]. Поэтому спорообразующие бактерии применяют в качестве действующего начала как лекарственных препаратов [24, 25], так и экологически безопасных средств защиты растений от болезней [26, 27].

Нами установлено наличие антагонизма изученных штаммов бактерий рода *Bacillus* в опытах *in vitro* в отношении бактерий – возбудителей болезней животных и человека – *C. freundii*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* Па, *St. aureus* и *C. albicans*. Что касается антагонистической активности в отношении фитопатогенных грибов, то добавление изученных штаммов в питательную среду подавляло рост опасных возбудителей болезней растений *A. solani*, *B. sorokiniana*, *Ph. infestans* и грибов рода *Fusarium* в большей или меньшей степени в за-

висимости от штамма тест-микроорганизма. Для одного из использованных в эксперименте штаммов – *B. cinerea* ВКПМ В-1006 – не выявлено ингибирующего действия со стороны бактерий-антагонистов *B. licheniformis*. Наши результаты согласуются с данными, полученными другими авторами в работах, касающихся патогенных бактерий *Corynebacterium diptheriae*, *St. aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *P. aeruginosa* [28] и фитопатогенных грибов [29, 30]. Так, Н.И. Габриэлян с соавторами [28] показали, что штамм бактерии *B. subtilis*, входящий в состав препарата споробактерин, обладает высокой антагонистической активностью в отношении стафилококков (*St. aureus*, *St. epidermidis*, *St. saprophyticus*), дрожжеподобных грибов *Candida* spp. и энтерококков (*Enterococcus faecium*). В то же время авторы отмечают, что среди изученных штаммов другого вида энтерококка – *E. faecalis* – лишь 50% были чувствительны к штамму-антагонисту. Авторы указывают, что изученный ими штамм *B. subtilis* эффективно подавлял лишь 36,8% штаммов патогенных бактерий, среди которых были *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. и др., тогда как изученные в нашей работе штаммы бактерий-антагонистов *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* в 100% случаев ингибировали перечисленных патогенов.

Продемонстрировано наличие у *B. subtilis* ингибирующей активности по отношению к таким фитопатогенным грибам, как *A. alternata*, *B. cinerea*, *B. sorokiniana*, *Cladosporium* sp., *F. avenacium*, *F. oxysporum* и др. [31]. При этом отмечено, что некоторые из изученных авторами штаммов обладали 100%-ной ингибирующей активностью в отношении *B. cinerea* и *F. oxysporum*, чего не наблюдалось в наших экспериментах.

Наблюдающиеся различия в оценке антагонистической активности бактериальных штаммов, представленные в разных работах, могут быть связаны с разным географическим происхождением изучаемых культур [32]. Различия в антагонистической активности против штаммов патогенов одного вида можно объяснить вариабельным составом пептидогликана бактериальной клетки, который является регулятором взаимоотношений в системе «прокариот – прокариот», а также регулятором внутривидового и межвидового антагонизма в условиях межмикробных взаимодействий [33].

Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований был выявлен антагонистический потенциал природных сибирских штаммов бактерий рода *Bacillus*. Все изученные штаммы бактерий-антагонистов *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* и *B. licheniformis* проявили бактерицидное и фунгистатическое действия *in vitro* на чистых культурах патогенных бактерий и фитопатогенных грибов. Подавление штаммами-антагонистами роста патогенов, вызывающих болезни сельскохозяйственных животных и растений, перспективно для создания биопрепаратов, обеспечивающих получение экологически

безопасной продукции животноводства и растениеводства, что важно для решения проблем здорового питания населения.

Литература

1. Price N.P.J., Rooney A.P. et al. Mass spectrometric analysis of lipopeptides from *Bacillus strains* isolated from diverse geographical locations // FEMS Microbiology Letters. 2007. №. 271. P. 83–89.
2. Balaban N.P., Mardanova A.M., Malikova L.A. et al. Isolation and characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* H2 glutamyl endopeptidase that is secreted in stationary phase of culture growth // Annals Microbiology. 2008. Vol. 58. № 4. P. 697–704.
3. Бала С.С. Антагонистическая активность пробиотиков на основе аэробных спорообразующих бактерий // Успехи современного естествознания. 2004. № 12. С. 84.
4. Chiou A.L., Wu W.S. Formulation of *Bacillus amyloliquefaciens* B190 for control of lily grey mould (*Botrytis elliptica*) // Journal of Phytopathology. 2003. Vol. 151, № 1. P. 13–18.
5. Chebotar V.K., Makarova N.M., Shaposhnikov A.I. Antifungal and phytostimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer of biopreparations // Appl. Biochem. Microbiol. 2009. № 4. P. 419–423.
6. Пушкарев А.М., Туйгунова В.Г., Зайнуллин Р.Р. и др. Использование антагонистических свойств бактерий *Bacillus subtilis* в терапии госпитальной инфекции мочевых путей // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2007. № 2. С. 90–93.
7. Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией // Журнал микробиологии. 2004. № 3. С. 84–92.
8. Лазовская А.Л., Гришина Н.В., Воробьева З.Г. и др. Антагонистическая активность споровых пробиотиков и влияние на лекарственную чувствительность микобактерий туберкулеза // Вестник Российского университета дружбы народов. Сер. Медицина. 2010. № 1. С. 18–24.
9. Ушакова Н.А., Котенкова Е.В., Козлова А.А., Нифатов А.В. Изучение механизмов пробиотического действия штамма *Bacillus subtilis* 8130 // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т. 42, № 3. С. 285–291.
10. Федорова М.П., Тарабукина Н.П., Неустроев М.П., Кириллина В.И. Применение пробиотиков из штаммов бактерий *Bacillus subtilis* для получения здоровых поросят // Зоотехния. 2011. №2. С. 16–17.
11. Беркольд Ю.И., Иванова А.Б. Влияние пробиотических препаратов на основе *Bacillus subtilis* на физиологические показатели роста цыплят-бройлеров // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2006. № 4. С. 45–48.
12. Хазиахметов Ф.С., Башаров А.А., Нугуманов Г.О. Оценка эффективности комплексного препарата пробиотика с биологически активными веществами при выращивании телят // Проблемы биологии продуктивных животных. 2011. № 2. С. 106–109.
13. Хайруллин Р.М., Егоршина А.А., Лукьянцев М.А. и др. Биологические особенности эндодитных штаммов *Bacillus subtilis* как перспективной основы новых биопрепаратов // Аграрная Россия. 2011. №1. С. 49–53.
14. Пусенкова Л.И., Глез В.М., Зейрук В.Н. и др. Биопрепараты для защиты картофеля от болезней // Защита и карантин растений. 2010. № 10. С. 26–28.
15. Рудаков В.О., Морозов Д.О., Седых А.Н. Способ, позволяющий сократить потери сахарной свеклы в кагатах // Защита и карантин растений. 2010. № 6. С. 66–67.
16. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М. : МГУ, Наука, 2004. 528 с.

17. Соколова М.В. Хитинолитическая и антигрибная активность трех штаммов бактерий рода *Serratia* // Современная биотехнология в решении проблем защиты растений. СПб., 1995. С. 214–224.
18. Волков М.Ю., Ткаченко Е.И., Воробейников Е.В. и др. Метаболиты *Bacillus subtilis* как новые перспективные пробиотические препараты // Ж. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. 2007. № 2. С. 75–80.
19. Бойко Н.В., Туряница А.И., Попович Е.П. и др. Антагонистическое действие культур *Bacillus subtilis* на бактерии рода *Klebsiella* // Микробиологический журнал. 1989. № 1. С. 87–91.
20. Актуганов Г.Э., Мелентьев А.И., Кузьмина Л.Ю. и др. Хитинолитическая активность бактерий *Bacillus Cohn*. – антагонистов фитопатогенных грибов // Микробиология. 2003. Т. 72, № 3. С. 356–360.
21. Оришак Е.А., Бойцов А.Г., Нилова Л.Ю. Изучение антагонистической активности спороносителей пробиотиков // Профилактическая и клиническая медицина. 2009. № 3. С. 199–202.
22. Кудрявцева, В.А., Осадчая А.И., Сафронова Л.А. Аэробы рода *Bacillus* как источник продуцентов литических ферментов // Биотехнология. 2004. № 4. С. 24–33.
23. Михайлова Н.М., Блинкова Л.П., Гатауллин А.Г. Биологические свойства новых изолятов *Bacillus subtilis* // Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии. 2007. № 4. С. 41–46.
24. Осипова И.Г., Михайлова Н.А., Сорокулова И.Б. и др. Споровые пробиотики // Журнал микробиологии. 2003. № 3. С. 113–119.
25. Никитенко В.И. Медицинский институт Оренбурга представляет препарат споробактерин // JAMA. 1991. Vol. 64. № 1. Р. 31.
26. Кузьмина Л.Ю., Логинов О.Н., Бойко Т.Ф. и др. Эффективность бактериальных препаратов при защите растений яровой пшеницы от твердой головни // Сельскохозяйственная биология. 2003. № 5. С. 69–73.
27. Белов Л.П., Шкаликов В.А., Дунаева Ю.С. Возможности использования препарата на основе *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* в растениеводстве // АГРО XXI. 2008. № 4–6. С. 35.
28. Габриэлян Н.И., Давыдов Д.С., Горская Е.М. и др. Антагонизм *in vitro* споробактерина в отношении нозокомиальных штаммов микробов // Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2008. № 6. С. 12–18.
29. Agarry O.O., Akinyosoye F.A., Adetuyi F.C. Antagonistic properties of microorganisms associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) products // African Journal of Biotechnology. 2005. Vol. 4. P. 627–632.
30. Chan Yiu-Kwok, Savard M.E., Reid L.M. et al. Identification of lipopeptide antibiotics of a *Bacillus subtilis* isolate and their control of *Fusarium graminearum* diseases in maize and wheat // BioControl. 2009. Vol. 54. P. 567–574.
31. Минуца Т.С., Захарова Р.Ш., Уразбахтина Н.А. и др. Новые эндофитные штаммы *Bacillus subtilis* как основа биофунгицидов // Вестник Казанского ГАУ. 2009. № 2. С. 118–123.
32. Beric T., Kojic M., Stancovic S., Topisirovic L. et al. Antimicrobial Activity of *Bacillus* sp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria // Food Technology and Biotechnology. 2012. Vol. 50. P. 25–31.
33. Семенов А.В. Характеристика антагонистической активности *Staphylococcus aureus* при межмикробных взаимодействиях // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2011. № 3 (15). С. 56–66.

Авторский коллектив:

Леляк Анастасия Александровна – канд. биол. наук, зав. лабораторией НИПФ «Исследовательский центр» (научград Кольцово, Новосибирская область, Россия). E-mail: leliak2@yandex.ru

Штерншис Маргарита Владимировна – д-р биол. наук, профессор кафедры энтомологии и биологической защиты растений Новосибирского государственного аграрного университета (г. Новосибирск, Россия). E-mail: shternshis@mail.ru

Tomsk State University Journal of Biology. 2014. № 1 (25). P. 42–55

doi: 10.17223/19988591/25/3

Anastasya A. Lelyak¹, Margarita V. Shternshis²

¹ *Research Center, Ltd, Scientific Town Koltsovo, Novosibirsk region, Russian Federation. E-mail: leliak2@yandex.ru*

² *Department of Entomology and Biological Control, Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russian Federation. E-mail: shternshis@mail.ru*

**Antagonistic potential of siberian strains of *Bacillus* spp.
towards agents causing animal and plant diseases**

Bacteria of *Bacillus* genus are known as the producers of biologically active substances (BAS) including enzymes and antibiotics, whose diversity depends on geographical origin of isolation. BAS production causes high bactericidal and bacteriostatic activity of *Bacillus* spp. towards zoopathogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria and also fungicidal and fungistatic activity towards phytopathogenic fungi. In veterinary, preparations and fodder additives, including bacteria of *Bacillus* genus are used for cattle-plague decrease and weight increase of animals. In plant protection against agents causing diseases the efficacy of *Bacillus* spp. as the basis of biological fungicides is shown in fields and greenhouses.

The aim of this article is to evaluate Siberian wild strains of *Bacillus* genus bacteria as potential basis of biological formulations for animal and plant health management. The bacterial strains *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus licheniformis* were isolated from forest soil of Novosibirsk region and were registered in All-Russian collection of industrial microorganisms (VKPM) and German collection of microorganisms and cell cultures (DSMZ). Pure cultures of phytopathogenic fungi *Bipolaris sorokiniana* VKPM B-532, *Botrytis cinerea* VKPM B-1006, *Fusarium graminearum* VKPM B-147, *F. solani* VKPM B-163, *F. chlamydosporum* VKPM B-899, *F. oxysporum* VKPM B-349 and *F. avenaceum* VKPM B-623 were received from VKPM. Other test-cultures including the strains of phytopathogenic fungi *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* and *Phytophthora infestans*, were isolated by authors from infected plants, and the strains of zoopathogenic bacteria *Candida albicans*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *S. enteritidis*, *S. perityphi*, *S. typhimurium*, *Shigella sonnei*, *Sh. flexneri* Iia and *Staphylococcus aureus* were isolated from biological material of animal origin.

The strongest antagonistic action of Siberian *Bacillus* strains towards zoopathogens was observed against *St. aureus*. Towards *C. albicans*, the strains *B. subtilis* VKPM B-16041, DSM 24613, *B. amyloliquefaciens* VKPM B-10642, DSM 24614, VKPM B-10643 and DSM 24615 were shown to possess high activity. The rest of the bacteria revealed moderate antagonistic activity towards this pathogen. To-

wards other Gram-negative bacteria used in the experiments – *C. freundii*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri* IIa all *Bacillus* strains revealed bactericidal action of moderate and weak degree. These very strains of antagonistic bacteria were shown to have inhibitory properties towards most phytopathogens used in the experiments. The highest inhibitory effect towards *A. solani* causing agent was observed by strains *B. amyloliquefaciens* Ba-1 and Ba-2, *B. licheniformis* VKPM B-10561, DSM 24609 and *B. subtilis* Bs-1. The strains *B. subtilis* Bs-1, *B. amyloliquefaciens* Ba-1 and Ba-2B revealed high activity in growth suppression of root rot causing agent *B. sorokiniana*. The same strains were very active compared with others towards plant grey mold causing agent *B. cinerea*. Simultaneously, the strains *B. licheniformis* did not suppress *B. cinerea* growth. All *Bacillus* spp., studied here, showed a high level of inhibitory activity towards Solanaceae phytophthora causing agent *Ph. infestans*. No antagonistic activity towards *F. solani* VKPM B-163 was displayed by bacterial strains *B. licheniformis* Bl-1; VKPM B-10562, DSM 24610, VKPM B-10564 and DSM 24612. The antagonistic potential of Siberian strains of bacteria of *Bacillus* genus towards zoopathogenic and phytopathogenic microorganisms revealed in this work testify of promising study of isolated antagonistic bacteria as a basis of ecologically safe biopreparations for plant and animal health management.

Key words: *Bacillus subtilis*; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus licheniformis*; antagonistic activity; zoopathogenic bacteria; phytopathogenic fungi.

Received, October 01, 2013

References

1. Price NPJ, Rooney AP et al. Mass spectrometric analysis of lipopeptides from *Bacillus* strains isolated from diverse geographical locations. *FEMS Microbiology Letters*. 2007;271:83-89.
2. Balaban NP, Mardanov AM, Malikova LA et al. Isolation and characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* H2 glutamyl endopeptidase that is secreted in stationary phase of culture growth. *Annals Microbiology*. 2008;58(4):697-704.
3. Bala SS. Antagonisticheskaya aktivnost' probiotikov na osnove aerobnykh sporoobrazuyushchikh bakteriy. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. 2004. No 12. PP. 84. [Bala SS. Antagonistic activity of probiotics on the basis of aerobic spore-forming bacteria. *Uspehi sovremennogo estestvoznaniya*. 2004;12:84.] In Russian
4. Chiou AL, Wu WS. Formulation of *Bacillus amyloliquefaciens* B190 for control of lily grey mould (*Botrytis elliptica*). *J of Phytopathology*. 2003;151(1):13-18.
5. Chebotar VK, Makarova NM, Shaposhnikov AI. Antifungal and phytostimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer of biopreparations. *Appl Biochem Microbiol*. 2009;4:419-423.
6. Pushkarev A.M., Tuygunova V.G., Zaynullin R.R. i dr. Ispol'zovanie antagonisticheskikh svoystv bakteriy *Bacillus subtilis* v terapii gospital'noy infektsii mochevykh putey. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii. 2007. No 2. PP. 90-93. [Pushkarev AM, Tuygunova VG, Zaynullin RR, Kuznetsova TN, Gabidullin YuZ. Use of antagonistic properties of *Bacillus subtilis* bacteria for treating nosocomial urinary tract infections. *J. of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007;2:90-93.] In Russian
7. Bondarenko V.M., Vorob'ev A.A. Disbiozy i preparaty s probioticheskoy funktsiey. Zhurnal mikrobiologii. 2004. No 3. PP. 84-92. [Bondarenko VM, Vorobyev AA. Dysbiosis and probiotic preparations. *Journal of Microbiology*. 2004;3:84-92.] In Russian
8. Lazovskaya A.L., Grishina N.V., Vorob'eva Z.G. i dr. Antagonisticheskaya aktivnost' sporyvykh probiotikov i vliyaniye na lekarstvennyuyu chuvstvitel'nost' mikobakteriy tuberkuleza.

- Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Ser. meditsina. 2010. No 1. PP. 18-24. [Lazovskaya AL, Grishina NV, Vorobyeva ZG, Slinina KN, Kulchidskaya MA, Vasilieva EA. Antagonistic activity of bacterial spore former probiotics and effects on tuberculosis mycobacteria drug susceptibility. *PFUR Bulletin. Medicine*. 2010;1:18-24.] In Russian
9. Ushakova N.A., Kotenkova E.V., Kozlova A.A., Nifatov A.V. Izuchenie mekhanizmov probioticheskogo deystviya shtamma *Bacillus subtilis* 8130. Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2006. Vol. 42, No 3. PP. 285-291. [Ushakova NA, Kotenkova EV, Kozlova AA, Nifatov AV. Study of the mechanisms of *Bacillus subtilis* 8130 probiotic activity. *Appl Biochem Microbiol*. 2006;42(3):285-291.] In Russian
 10. Fedorova M.P., Tarabukina N.P., Neustroev M.P., Kirillina V.I. Primenenie probiotikov iz shtammov bakteriy *Bacillus subtilis* dlya polucheniya zdorovykh porosyat. Zootekhniya. 2011. No 2. PP. 16-17. [Fedorova MP, Tarabukina NP, Neustroev MP, Kirillina VI. Application of antibiotics from *Bacillus subtilis* strains in growing healthy hoglings. *Zootechniya*. 2011;2:16-17.] In Russian
 11. Berkol'd Yu.I., Ivanova A.B. Vliyanie probioticheskikh preparatov na osnove *Bacillus subtilis* na fiziologicheskie pokazateli rosta tsyplyat-broylerov. Sibirskiy vestnik sel'skokhozyaystvennoy nauki. 2006. No 4. PP. 45-48. [Berkold YuI, Ivanova AB. Effect of probiotic preparations on the basis of *Bacillus subtilis* on physiological growth indices of chicken broilers. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2006;4:45-48.] In Russian
 12. Khaziakhmetov F.S., Basharov A.A., Nugumanov G.O. Otsenka effektivnosti kompleksnogo preparata probiotika s biologicheskimi aktivnymi veshchestvami pri vyrashchivaniitelyat. Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh. 2011. No 2. PP. 106-109. [Khaziakhmetov PhS, Basharov AA, Nugumanov GO. Efficacy assessment of complex probiotic preparation with bioactive substances for milk fed calves. *Problems of Productive Animal Biology*. 2011;2:106-109.] In Russian
 13. Khayrullin R.M., Egorshina A.A., Luk'yantsev M.A. i dr. Biologicheskie osobennosti endofitnykh shtammov *Bacillus subtilis* kak perspektivnoy osnovy novykh biopreparatov. Agrarnaya Rossiya. 2011. No 1. PP. 49-53. [Khairullin RM, Egorshina AA, Luk'yantsev MA, Urazbakhtina NA, Irgalina RSh, Sakhabutdinova AR. Biological features of *Bacillus subtilis* endophytic strains as the perspective base of new biopreparations. *Agrarnaya Russia*. 2011;1:49-53.] In Russian
 14. Pusenkov L.I., Glez V.M., Zeyruk V.N. i dr. Biopreparaty dlya zashchity kartofelya ot bolezney. Zashchita i karantin rasteniy. 2010. No 10. PP. 26-28. [Pusenkov LI, Gles VM, Zeiruk VN. Biopreparations for potato protection from diseases. *Zashchita I Karantin Rasteniy*. 2010;10:26-28.] In Russian
 15. Rudakov V.O., Morozov D.O., Sedykh A.N. Sposob, pozvolyayushchiy sokratit' poteri sakharnoy svekly v kagatakh. Zashchita i karantin rasteniy. 2010. No 6. PP. 66-67. [Rudakov VO, Morozov DO, Sedykh AN. Method allowing to reduce losses of sugar beet in clamps. *Zashchita I Karantin Rasteniy*. 2010;6:66-67.] In Russian
 16. Egorov N.S. Osnovy ucheniya ob antibiotikakh. M.: MGU, Nauka, 2004. 528 pp. [Egorov NS. Fundamentals of antibiotics theory. Moscow: Moscow state university; Nauka, 2004. 528 p.] In Russian
 17. Sokolova M.V. Khitinoliticheskaya i antigribnaya aktivnost' trekh shtammov bakterii roda *Serratia*. Sovremennaya biotekhnologiya v reshenii problem zashchity rasteniy. SPb., 1995. PP. 214-224. [Sokolova MV. Chitinolytic and antifungal activity of three *Serratia* strains. *Modern biotechnology in solving plant protection problems*. Saint-Petersburg: 1995. p. 214-224.] In Russian
 18. Volkov M.Yu., Tkachenko E.I., Vorobeynikov E.V. i dr. Metabolity *Bacillus subtilis* kak novye perspektivnye probioticheskie preparaty. Zh. mikrobiol. epidemiol. i immunobiol. 2007. No 2. PP. 75-80. [Volkov MYu, Tkachenko EI, Vorobeichikov EV, Sinitsa AV. *Bacillus subtilis* metabolites as a novel promising probiotic preparation. *J. of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007;2:75-80.] In Russian

19. Boyko N.V., Turyanitsa A.I., Popovich E.P. i dr. Antagonisticheskoe deystvie kul'tur *Bacillus subtilis* na bakterii roda *Klebsiella*. *Mikrobiologicheskii zhurnal*. 1989. No 1. PP. 87-91. [Bojko NV, Turianitsa AI, Popovich EP, Viunitskaia VA. Antagonistic action of *Bacillus subtilis* cultures on bacteria of the genus *Klebsiella*. *Mikrobiologicheskii zhurnal*. 1989;1:87-91.] In Russian
20. Aktuganov G.E., Melent'ev A.I., Kuz'mina L.Yu. i dr. Khitinoliticheskaya aktivnost' bakteriy *Bacillus Cohn*. – antagonistov fitopatogennykh gribov. *Mikrobiologiya*. 2003. Vol. 72, No 3. PP. 356-360. [Aktuganov GE, Melentiev AI, Kuzmina LY, Galimzyanova NF, Shirokov AV. Chitinolytic activity of bacteria *Bacillus Cohn*. as antagonists of phytopathologic fungi. *Mikrobiologiya*. 2003;72(3):356-360.] In Russian
21. Orishak E.A., Boytsov A.G., Nilova L.Yu. Izuchenie antagonisticheskoy aktivnosti sporosoderzhashchikh probiotikov. *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina*. 2009. No 3. PP. 199-202. [Orishak EA, Boitsov AG, Nilova LY. Study of antagonistic activity of spore-containing probiotics. *Preventivnaya I klinicheskaya medizina*. 2009;3:199-202.] In Russian
22. Kudryavtseva, V.A., Osadchaya A.I., Safronova L.A. Aeroby roda *Bacillus* kak istochnik produktentov liticheskikh fermentov. *Biotehnologiya*. 2004. No 4. PP. 24-33. [Kudryavtseva VA, Osadchaya AI, Safronova LA Aerobic organisms of the genus *Bacillus* as a source of lytic enzymes producers. *Biotechnologiya*. 2004;4:24-33.] In Russian
23. Mikhaylova H.M., Blinkova L.P., Gataullin A.G. Biologicheskie svoystva novykh izolyatov *Bacillus subtilis*. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunobiologii*. 2007. No 4. PP. 41-46. [Mikhailova NM, Blinkova LP, Gataulhn A.G. Biologic characteristics of new *Bacillus subtilis* isolates. *J. of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2007;4:41-46.] In Russian
24. Osipova I.G., Mikhaylova N.A., Sorokulova I.B. i dr. Sporovye probiotiki. *Zhurnal mikrobiologii*. 2003. No 3. PP. 113-119. [Osipova IG, Mikhailova NA, Sorokulova IB, Vasilieva EA, Gaiderov AA. Spore probiotics. *Zhurnal mikrobiologii*. 2003;3:113-119.] In Russian
25. Nikitenko V.I. Meditsinskiy institut Orenburga predstavlyaet preparat sporobakterin. *JAMA*. 1991. Vol. 64. No 1. PP. 31. [Nikitenko VI. Orenburg medical institute presents preparation "sporobakterin". *JAMA*. 1991;64(1):31.] In Russian
26. Kuz'mina L.Yu., Loginov O.N., Boyko T.F. i dr. Effektivnost' bakterial'nykh preparatov pri zashchite rasteniy yarovoy pshenitsy ot tverдой golovni. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*. 2003. No 5. PP. 69-73. [Kuzmina LY, Loginov ON, Bojko TF, Isaev RF, Sveshnikova EV, Melentiev AI. Effectiveness of bacterial preparations at protecting spring wheat plants from stinking smut. *Selskokhoziastvennaia biologiya*. 2003;5:69-73.] In Russian
27. Belov L.P., Shkalikov V.A., Dunaeva Yu.S. Vozmozhnosti ispol'zovaniya preparata na osnove *Bacillus subtilis* i *Bacillus licheniformis* v rastenievodstve. *AGRO XXI*. 2008. No 4-6. PP. 35. [Belov LP, Shkalikov VA, Dunaeva YS. Possibilities of using preparations on the basis of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* in plant science. *Agro XXI*. 2008;4-6:35.] In Russian
28. Gabrielyan N.I., Davydov D.S., Gorskaya E.M. i dr. Antagonizm in vitro sporobakterina v otnoshenii nozokomial'nykh shtammov mikrobov. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*. 2008. No 6. PP. 12-18. [Gabrielyan NI, Davydov DS, Gorskaya EM, Spirina TS, Osipova IG. *In vitro* antagonism of *Sporobacterin* against nosocomial strains of microbes. *Vestnik transplantologii I iskusstvennykh organov*. 2008;6:12-18.] In Russian
29. Agarry OO, Akinyosoye FA, Adetuyi FC. Antagonistic properties of microorganisms associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) products. *African J. Biotechnol*. 2005;4:627-632.
30. Chan Yiu-Kwok, Savard ME, Reid LM et al. Identification of lipopeptide antibiotics of a *Bacillus subtilis* isolate and their control of *Fusarium graminearum* diseases in maize and wheat. *BioControl*. 2009;54:567-574.

31. Minina T.S., Zakharova R.Sh., Urazbakhtina N.A. i dr. Novye endofitnye shtammy *Bacillus subtilis* kak osnova biofungitsidov. Vestnik Kazanskogo GAU. 2009. No 2. PP. 118-123. [Minina TS, Zakharova RS, Urazbakhtina NA, Khairulin RM. Novel endophytic *Bacillus subtilis* strains as biofungicide basis. *Vestnik of Kazan State Agrarian University*. 2009;2:118-123.] In Russian
32. Beric T, Kojic M, Stancovic S, Topisirovic L. et al. Antimicrobial activity of *Bacillus* sp. natural isolates and their potential use in the biocontrol of phytopathogenic bacteria. *Food Technology and Biotechnology*. 2012;50:25-31.
33. Semenov A.V. Kharakteristika antagonistscheskoy aktivnosti *Staphylococcus aureus* pri mezhmikrobnnykh vzaimodeystviyakh. Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya. 2011. No 3(15). PP. 56-66. [Semenov AV. Characteristic of antagonistic activity of *Staphylococcus aureus* in cross-species interaction between microorganisms. *Tomsk State University Journal of Biology*. 2011;3(15):56-66.] In Russian, English summary