

УДК 582.24:633.11«321»

## **ИЗМЕНЕНИЕ БИОЦЕНОЗА В РИЗОСФЕРЕ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ**

**М.А. АФАНДИ, В.А. ШКАЛИКОВ, В.К. ШИЛЬНИКОВА, Т.П.СИЗОВА**

(Кафедры фитопатологии и микробиологии)

Приводятся сведения об изменении видового состава грибов в ризосфере яровой пшеницы в зависимости от биологически активных веществ, применяемых для предпосевной обработки семян. Показано, что пораженность корневыми гнилями определялась количественным и качественным соотношением патогенных грибов родов *Fusarium* и *Bipolaris* и их антагонистов. Выявлен изолят, относящийся к роду *Fusarium*. Приводятся культурально-морфологические признаки на различных питательных средах, характеристика по признаку патогенности, показана возможность использования его в целях защиты яровой пшеницы от корневой гнили.

Химические препараты, используемые при защите зерновых культур от корневых гнилей путем обработки семян, нарушают микробные ризоценозы растительного сообщества. В связи с этим возникает необходимость изыскания биопрепаратов, характеризующихся одновременно фитосанитарным эффектом и экологической безопасностью. Биологически активные препараты (белги, стром, Ф-760) приводят к значительному

снижению пораженности посевов корневыми гнилями, септориозом, мучнистой росой [6]. Не являясь факторами резкого воздействия (как химические), биологические препараты влияют довольно определенно на состав микробиоценозов и соотношение в них групп микроорганизмов. Создается впечатление, что они индуцируют проявление биологического антагонизма, усиливая развитие конкурирующих видов [6—8].

## Методика

Использовали семена яровой пшеницы сорта Московская 35, биологически активные вещества — белги, стром, Ф-760. Белги представляет собой гидролизат природных белков, содержит 92—93% сырого протеина (на сухую массу), 5% минеральных веществ. Стром состоит из группы белков, образующих зону фибриногена и преальбуминов, альбуминов,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -глобулинов, содержит 14—16% азота. В Ф-760 действующее вещество — соль четвертичного аммонийного основания 1,4-аминобензоаты 2-гидроокси-этилтриалкиламмония. Норма расхода белги 10 л/т, строма — 0,5 кг/т, Ф-760 — 150 г/т, разведенных в 10 л воды. Норма расхода рабочей жидкости — 10 л/т.

Семена обрабатывали перед посевом вручную. В вегетационных опытах растения выращивали по общепринятой методике. В полевых условиях проводили мелкоделяночные опыты. Площадь делянки 2 м<sup>2</sup>, повторность 4-кратная. Почва дерново-подзолистая, легкосуглинистая, рН<sub>сол</sub> — 5,5, содержание гумуса — 3,0—3,5%, азота и Р<sub>2</sub>О<sub>5</sub> по Кирсанову — 10—15, К<sub>2</sub>О по Гейбе — 10,8—15,0 мг на 100 г. Норма высева — 500 всхожих семян на 1 м<sup>2</sup>. Искусственный инфекционный фон создавали внесением в почву грибов *Fusarium oxysporum* и *Vipolaris sorokiniana* по методу [2]. Уход за растениями и уборку осуществляли по общепринятой методике. Образцы почв для микробиологических посевов отбирали, соблюдая правила асептики, из зоны ризосферы в фазы кушения, выхода в трубку, колошения, молочной и восковой спелос-

ти общепринятым методом [4]. Одновременно учитывали пораженность растений корневыми гнилями [5]. Определяли численность и состав грибов на картофельном глюкозном агаре (КГА), сусло-агаре (СА) и среде Чапека: инкубировали при температуре 24° С. Подсчет колоний грибов проводили через 4 сут.

Схема опыта в полевых условиях включала следующие варианты: 1 — семена без обработки (контроль); 2 — обработка семян белги; 3 — то же — стромом; 4 — то же — Ф-760.

Кроме того, для оценки патогенности изолята *Fusarium* sp. и возможности его использования для борьбы с корневыми гнилями были проведены вегетационные опыты в тепличных условиях лаборатории защиты растений Тимирязевской академии. Опыт включал следующие варианты: 1 — семена без обработки (контроль); 2 — обработка семян спорами изолята *Fusarium* sp.; 3 — семена без обработки + фон изолята *Fusarium* sp.

В вариантах 1 и 2 семена высевали в почву, в которую вносили по общепринятой методике инфекционный материал — *F. oxysporum*, *V. sorokiniana*. В варианте 2 семена перед посевом обрабатывали спорами изолята *F. sp.* из расчета 10,5·10<sup>6</sup> спор на 10 г семян. В варианте 3 создавали инфекционный фон путем внесения в почву изолята *F. sp.*, в которую высевали семена яровой пшеницы сорта Миrowsкая 35.

В фазу полных всходов измеряли длину проростков и корневой системы; степень пораженности корневыми гнилями оценивали в фазы

Т а б л и ц а 1

Численность (тыс. на 1 г сухой почвы) и виды грибов на СА (числитель) и КГА (знаменатель) в ризосфере пшеницы в полевом опыте

Вариант	Общая	<i>F.oxysporum</i>	<i>F.sp.</i>	<i>B.sorokiniana</i>	<i>Trichoderma</i> sp., <i>Penicillium</i> sp. и др.	Пораженность гнилями, %
<i>Кущение</i>						
1	<u>947,8</u>	<u>398,1</u>	—	<u>180,1</u>	<u>369,6</u>	13,3
	874,9	358,7	3,0	122,5	367,5	
2	<u>718,3</u>	<u>150,8</u>	<u>71,8</u>	<u>93,4</u>	<u>395,1</u>	7,9
	609,8	152,4	48,8	61,0	347,6	
3	<u>272,4</u>	<u>40,9</u>	<u>78,8</u>	<u>35,4</u>	<u>117,3</u>	5,8
	260,3	36,4	71,2	49,5	103,2	
4	<u>330,5</u>	<u>66,1</u>	<u>95,8</u>	<u>36,4</u>	<u>132,2</u>	7,4
	285,6	60,0	77,1	37,1	111,4	
<i>Выход в трубку</i>						
1	<u>826,1</u>	<u>421,3</u>	<u>24,8</u>	<u>173,5</u>	<u>206,5</u>	30,8
	796,6	438,1	8,0	135,4	215,1	
2	<u>633,9</u>	<u>126,9</u>	<u>63,4</u>	<u>88,8</u>	<u>355,0</u>	20,1
	559,7	134,3	50,2	67,2	307,9	
3	<u>322,2</u>	<u>51,6</u>	<u>87,0</u>	<u>41,9</u>	<u>141,8</u>	11,0
	300,7	51,1	78,2	45,1	126,3	
4	<u>355,4</u>	<u>67,5</u>	<u>103,1</u>	<u>42,6</u>	<u>142,2</u>	9,0
	344,4	68,9	104,8	31,0	137,8	
<i>Колошение — молочная спелость</i>						
1	<u>931,1</u>	<u>493,4</u>	<u>18,6</u>	<u>186,2</u>	<u>232,8</u>	37,8
	897,0	547,2	—	197,3	242,2	
2	<u>536,2</u>	<u>123,3</u>	<u>64,3</u>	<u>80,4</u>	<u>268,1</u>	22,4
	541,4	135,4	54,1	86,6	265,3	
3	<u>301,0</u>	<u>54,1</u>	<u>84,7</u>	<u>57,0</u>	<u>105,4</u>	14,2
	293,4	49,9	90,9	32,8	114,4	
4	<u>299,8</u>	<u>51,0</u>	<u>98,9</u>	<u>33,0</u>	<u>116,9</u>	13,2
	300,1	57,0	111,0	33,0	105,1	

Вариант	Общая	<i>F.oxysporum</i>	<i>F.sp.</i>	<i>V.sorokiniana</i>	<i>Trichoderma</i> sp., <i>Penicillium</i> sp. и др.	Пораженность гнилями, %
<i>Восковая спелость</i>						
1	673,4	370,4	13,5	141,4	148,1	40,2
	691,2	421,6	—	131,3	207,4	
2	322,5	100,0	25,8	51,6	145,1	29,7
	379,2	109,9	22,8	56,9	189,6	
3	111,7	22,3	30,6	13,4	45,8	15,4
	139,4	30,7	33,5	24,3	57,2	
4	163,2	31,0	40,1	16,3	71,8	12,2
	131,8	27,7	36,9	11,8	55,4	

полные всходы, выход в трубку, молочно-восковая спелость. В фазы выход в трубку и молочно-восковая спелость изучали состав ризоценозов.

### Результаты

Как уже было показано нами ранее в мелкоделяночном опыте в 1993 г. [6], пораженность яровой пшеницы корневой гнилью зависела от количественного и качественного соотношения патогенных грибов родов *F.oxysporum*, *V.sorokiniana* и их антагонистов. Анализ пораженности корневыми гнилями в 1994 г., сравнительная оценка общей численности микромицетов, количественного состава их по родам подтвердили данную закономерность. Наивысшим эффектом в отношении подавления возбудителей корневых гнилей характеризовались Ф-760 и стром, в меньшей степени — белги. Так, по сравнению с контролем, где пораженность корневыми гнилями в фазу восковой спелости достигала

40,2%, в варианте с Ф-760 она была ниже в 3,3, со стромом — в 2,6, а с белги — в 1,4 раза (табл. 1). Общая численность грибов при обработке семян Ф-760 и стромом снижалась почти в 3 раза, а численность фитопатогенных грибов родов *F.oxysporum* и *V.sorokiniana* — почти в 8—9 раз, при обработке семян белги — в 1,5 и 3—4 раза соответственно. Это проявлялось практически на всех стадиях развития растений, особенно в конце вегетации.

Анализируя качественный состав грибов, мы обратили внимание на необычную модификацию *Fusarium* sp. Развитие этой формы в контроле было незначительным. В фазу кушения гриб выявляли только на КГА, в фазу молочной и восковой спелости — лишь на СА. В вариантах с биопрепаратами численность этого гриба резко возрастала (в 8—15 раз). Гриб характеризовался отсутствием воздушного мицелия и сильно выраженным антагонизмом по отношению к

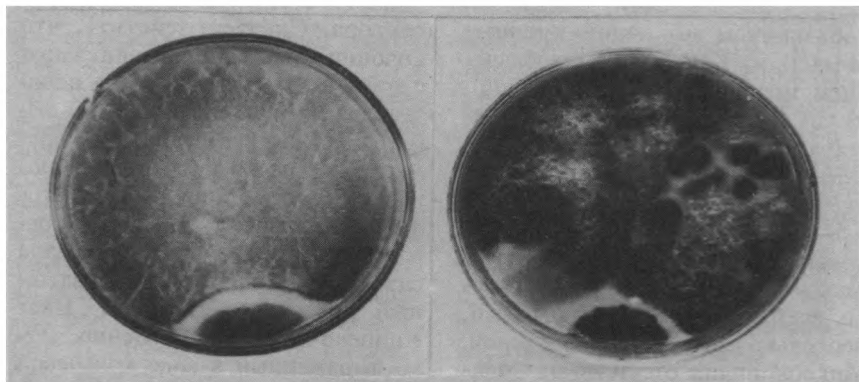


Рис. 1. Взаимоотношения в чистой культуре *Fusarium oxysporum* и *Fusarium sp.* (слева) и *Bipolaris sorokiniana* и *Fusarium sp.*

*F.oxysporum* (рис. 1, 2). Антагонизм проявлялся в образовании зон подавления роста колоний *F.oxysporum* вокруг колоний *F.sp.* (рис. 1), достигавших ширины 5—7 мм.

О межродовом антагонизме грибов известно давно [1, 3]. Установлено, что их антагонистические свойства зависят не только от индивидуальных особенностей организмов. Значительную роль в проявлении их потенциальных воз-

можностей, в частности биосинтеза антибиотических веществ, играют условия культивирования. О природе стимула, под влиянием которого «новый» гриб лучше развивался, можно лишь догадываться, но этого пока недостаточно, чтобы объяснить данный факт. Все же в нашем случае определяющим фактором в возрастании численности *F.sp.* в ризосфере пшеницы, семена которой были обработаны биопрепаратами, явились, видимо, последние. Чтобы убедиться в правильности данного предположения, необходимо было прежде всего разобраться в жизненных проявлениях гриба, его морфологических и культуральных особенностях, выяснить, является ли он новым видом или же экологическим вариантом *F.oxysporum*. Именно на этом мы и сосредоточили внимание.

Гриб был выделен в чистую культуру, а затем сделано его описание через 12 сут роста при комнатной температуре 22—24° С на стандартной среде Чапека и той же среде с

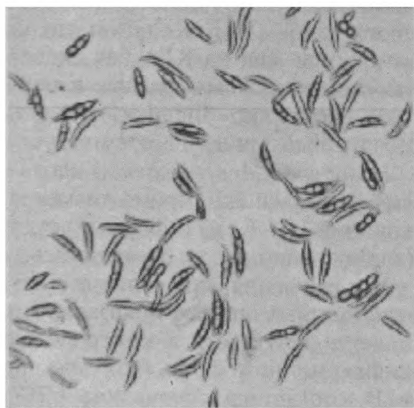


Рис. 2. Макроконидии *Fusarium sp.*

добавлением молочной кислоты (4 мл/л), на КГА и КГА с добавлением молочной кислоты (4 мл/л), на СА и СА с добавлением молочной кислоты (4 мл/л).

*На среде Чапека* диаметр колоний достигал к моменту описания 5,5—6,0 см. Форма их яйцевидная, консистенция слизистая, воздушного мицелия нет. Цвет практически всей колонии терракотовый, несколько светлее по периферии. Микроконидии отсутствуют. Макроконидии (20—40 мкм) х (4—5 мкм) веретеновидно-серповидные, имеют не более 6, но чаще всего 4 хорошо заметные перегородки, ножку; конечная клетка сравнительно короткая, загнутая. Часто содержимое конидий концентрируется в середине нее, а конечные клетки становятся оптически пустыми. Иногда средние клетки вздуваются, превращаясь, по-видимому, в хламидоспоры (рис. 3).

*На среде Чапека с добавлением молочной кислоты* диаметр колоний достигал 4—5 см. Форма их сферическая, консистенция слизистая, воздушный мицелий отсутствует. Окраска оранжево-розовая, более интенсивная в центре, бледнее к периферии, с тыльной стороны тон тот же, но с коричневым оттенком. Край колоний очень тонкий и постепенно сходящий на нет. Экссудат отсутствует.

*На среде КГА* диаметр колоний варьировал в пределах 4—5 см. Чашка Петри с засеянными тремя колониями выглядит разделенной на 3 сектора, каждый из которых как бы заполняется овальными колониями. В случае двух колоний на чашке образуются 2 аналогичных

сектора. Следует отметить, что колонии никогда не сливаются друг с другом. Это может служить показателем внутривидового антагонизма, проявляющегося на всех средах. Даже после продолжительного срока инкубации (2—3 мес) колонии на чашках сохраняют прежний вид. Для гриба характерна слизистая консистенция, воздушный мицелий отсутствует. Цвет вишнево-красный, особенно четко выраженный в виде кольцевой зоны на расстоянии 0,5—0,8 см от центра. Тянущиеся от центра лучи менее окрашены к периферии. С тыльной стороны характер окраски тот же.

*На среде КГА с молочной кислотой* диаметр колоний 3—4 см, консистенция слизистая, их воздушный мицелий отсутствует, форма округлая. В самом начале развития (первые дни) колония равномерно желтая, на 12-е сутки в центре окраска желто-красно-коричневая, с нерезко выраженным кольцом и красно-коричневыми отходящими от центра лучами.

*На среде СА* диаметр колоний достигал 6—7 см. Колонии такой же формы, как на КГА без кислоты, темно-крово-красные в центре, несколько бледнее к краю. Воздушный мицелий отсутствует.

*На среде СА с молочной кислотой* все признаки, кроме диаметра колоний (5—6 см) и формы, четко (эллипсоидные) не изменились.

Исследования, проводимые в вегетационных опытах, показали, что полевая всхожесть в контроле на инфекционном фоне *F.oxysporum* и *V.sorokiniana* составляла 67%, при обработке семян спорами *F.sp.* — 94%, в варианте, где семена

не были обработаны, но высеяны на инфекционный фон гриба *F.sp.* — 87%.

При проведении биометрии проростков установлено, что предпосевная обработка семян спорами гриба *F.sp.* на жестком инфекционном фоне способствовала лучшему развитию растений: длина их надземной части была в 1,3 раза, корневой системы — в 1,5 раза больше, чем в контроле. Инфекционный фон нового гриба не вызывал

заметного угнетения развития проростков. Длина проростков и корней соответственно в 1,14 и 1,25 раза была больше, чем в контроле.

Предпосевная обработка семян конидиями *F.sp.* в значительной мере предотвращала заражение посевов корневыми гнилями (табл.2). Пораженность в фазу кущения была меньше по сравнению с контролем в 11 раз, в фазу трубкования — в 8,2 раза, в молочно-восковую спелость — в 4,3 раза.

Т а б л и ц а 2

Пораженность яровой пшеницы корневыми гнилями (%)  
в вегетационном опыте

Вариант опыта	Кущение	Выход в трубку	Молочно-восковая спелость
1	11	35	47
2	1	4,3	11
3	2,4	13,3	19

При оценке ризоценозов установлено, что в варианте 2 (предпосевная обработка семян конидиями *F.sp.*) у растений в фазу кущения в 1,8—2,0 раза снижалось общее число грибов по сравнению с контролем, в 2,0—2,3 раза — содержание *F.oxysporum*, до 24—27% возрастала численность *F.sp.*, в 4—5 раз уменьшалось количество *V.sorokiniana*. Такая же закономерность сохранялась в варианте 3. В фазу молочно-восковой спелости указанные соотношения грибов *V.oxysporum* и *F.sp.* сохранялись, однако содержание *F.sorokiniana* в варианте 2 приближалось к уровню контроля (табл.3).

### Выводы

1. При обработке семян яровой пшеницы биологически активными препаратами белги, Ф-760 и особенно стромом в ризосфере растений резко усиливается развитие изолята *Fusarium sp.*

2. Установлено, что изолят *F.sp.* не обладает патогенностью по отношению к растениям яровой пшеницы и в то же время проявляет сильные антагонистические свойства по отношению к *F.oxysporum* (зоны угнетения до 7 мм). В меньшей степени грибок антагонистичен к *V.sorokiniana*.

3. Предпосевная обработка семян яровой пшеницы конидия-

**Численность (тыс. на 1 г сухой почвы) и виды грибов на СА (числитель) и среде Чапека (знаменатель) в ризосфере пшеницы в вегетационном опыте**

Вариант	Общая	F.oxysporum	F.sp.	B.sorokiniana	Trichoderma sp., Penicillium sp. и др.
<i>Выход в трубку</i>					
1	<u>954,7</u>	<u>410,5</u>	—	<u>186,2</u>	<u>358,0</u>
	837,2	326,5	—	125,6	385,1
2	<u>537,2</u>	<u>112,8</u>	<u>145,0</u>	<u>37,6</u>	<u>241,7</u>
	421,9	71,7	101,3	38,0	211,0
3	<u>549,6</u>	<u>93,4</u>	<u>170,4</u>	<u>71,4</u>	<u>214,3</u>
	411,3	49,4	119,3	57,6	185,1
<i>Молочно-восковая спелость</i>					
1	<u>1007,2</u>	<u>523,7</u>	—	<u>181,3</u>	<u>302,2</u>
	903,5	370,4	—	99,4	433,7
2	<u>693,4</u>	<u>166,4</u>	<u>104,0</u>	<u>76,3</u>	<u>346,7</u>
	547,6	71,2	87,6	54,8	334,0
3	<u>701,0</u>	<u>140,2</u>	<u>147,2</u>	<u>84,1</u>	<u>329,5</u>
	<u>603,2</u>	<u>114,6</u>	<u>138,7</u>	<u>36,2</u>	<u>313,7</u>

ми изолята предотвращала развитие корневых гнилей растений.

4. Дана предварительная характеристика изолята по морфолого-культуральным признакам.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Билай В.И. Микроскопические грибы — продуценты антибиотиков. Киев: АНУССР, 1961. — 2. Григорьев М.Ф. Методические указания по фитопатологической оценке зерновых культур. Л.: ВАСХНИЛ, ВИР, 1976, с. 12. —

3. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Высш. школа, 1979. — 4. Теннер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии, М.: Колос, 1993. — 5. Чулкина В.А. Корневые гнили хлебных злаков в Сибири. Новосибирск: Наука, 1985. — 6. Шкальников В.А., Шильникова В.К., Афандин М.А. Влияние способов предпосевной обработки семян яровой пшеницы на микроорганизмы ризосферы и фитосанитарное состояние посевов. — Изв. ТСХА, 1994, вып. 4., с. 112—122. — 7. Millard V., Taylor C. — Ann. Appl. Biol.,



1927, vol. 14, p. 202—215. — 8. vol. 16, p. 525—547.  
*Sanford J.* — *Phytopathology*, 1926, *Статья поступила 8 октября*  
*1994 г.*

### SUMMARY

Information about variation in species composition of fungi in rhizosphere of spring wheat depending on biologically active substances used for presowing seed treatment is presented. It is shown that attack of root rot is determined by quantitative and qualitative relationship of pathogenic fungi of *Fusarium* and *Bipolaris* genera and their antagonists. A new fungus has been found which belongs to *Fusarium* genus. Cultural-morphological characters on different nutrient media and pathogenicity characteristic of the new fungus are given, and possibility to use the new fungus for protecting spring wheat from root rot is shown.