

УДК 632.937.1.05:633.11'16

ВЛИЯНИЕ *FUSARIUM SP. AF-967* НА РИЗОЦЕНОЗЫ ЯЧМЕНЯ И ПШЕНИЦЫ

Хабиб Мунир Ахмед, Алзума Маяки Зубейру

(Кафедры микробиологии и фитопатологии)

Изучено влияние обработки семян в разные сроки до их высева суспензией спор *Fusarium sp. (AF-967)* — антагониста корневых гнилей — и суспензией спор этого гриба со стромом на численность и качественный состав бактерий в корневой зоне пшеницы (лабораторный опыт) и ячменя (полевой мелкоделяночный опыт; в фазы кущение — колошение).

Установлено, что эффективность применения *F.sp. (AF-967)* зависит от сроков обработки семян, а совместное применение суспензии гриба со стромом повышает антагонистическую активность гриба.

Современная сельскохозяйственная микробиология тесным образом связана с проблемой питания и защиты растений. Интродукция антагонистов возбудителей заболеваний в ризосферу растений становится важным методом биологического контроля состава микроорганизмов ризоценозов. Именно в ризосфере растений наиболее активно совершаются процессы трансформации азота, именно здесь происходит отбор тех форм, которые далее переходят в ризоплану и составляют основной барьер для питательных веществ, идущих к корням [6], именно здесь, как в увеличительном стекле, проявляется экологическая роль микробных метаболитов [7].

В данной работе мы ставили задачу изучить влияние спор гриба *Fusarium sp. (AF-967)* — антагониста корневых гнилей — на

численность и качественный состав бактерий в корневой зоне пшеницы с целью выяснения взаимоотношения гриба с доминирующими формами бактерий в ризосфере и ризоплане в начальный период развития растений. Кроме того, ставилась задача на растениях ячменя в динамике (фазы кущение — колошение) проверить реакцию бактерий корневой зоны (ризосферы и ризопланы) на обработку семян грибом *Fusarium sp. (AF-967)* в сочетании со стромом в разные сроки. Надо отметить, что ни в ризосфере, ни в ризоплане абсолютных доминантов нет [3], тем не менее даже внесенные в зону корня типичные почвенные или ризосферные бактерии не всегда достигают высокой численности, но могут стабилизироваться на определенном уровне. Эти закономерности не распространяются на бактерии, тес-

по контактирующие с растением (фитопатогенные, симбиотические, микоризу). Нас интересовали закономерности взаимосвязей бактерий ризоценозов с грибом — антагонистом фитопатогенных грибов на фоне строма — перспективного биоблокатора фитопатогенных микроорганизмов.

Методика

В полевом мелкоделяночном опыте, проведенном в 1997 г., площадь делянок составляла 2 м², размещение рендомизированное. Повторность опыта 4-кратная. Подготовку почвы, расчет доз и внесение удобрений проводили по общепринятой методике для данной почвенно-климатической зоны.

На участке, отведенном под опыт, ячмень выращивали на одном и том же месте повторно в течение ряда лет. Эффективность изучаемого биологически активного вещества против корневых гнилей оценивали на искусственном инфекционном фоне, который создавали только в 1993 и 1994 гг. Грибы *Fusarium oxysporum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Alternaria tenuis* вносили по методу М.Ф. Григорьева (1976).

Обработку семян суспензией гриба *F.sp.* (AF-967) и стромом проводили за 6, 4 и 2 нед до сева и непосредственно перед севом методом увлажнения (из расчета 10 л суспензии на 1 т семян). Норма расхода строма — 0,5 кг/т, гриба — 10⁷ спор в 1 мл на 10 г семян.

Ячмень высевали вручную 30 апреля 1997 г. из расчета 400 всхо-

жих семян на 1 м². Заниженная норма высева была запланирована с учетом возможного увеличения кустистости растений.

Образцы почвы и корни для микробиологических исследований отбирали из ризосферы и ризопланы в фазы кущения и колошения растений. Анализ проводили по общепринятым методикам [4].

Физиологические группы микроорганизмов учитывали методом предельных разведений на плотных питательных средах. Бактерии, использующие преимущественно органические формы азота — аммонификаторы, определяли на МПА. Количество грибов — на подкисленном СА, картофельно-глюкозном агаре (КГА) и среде Чапека.

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

Статистическую обработку данных проводили по методике Б.А. Доспехова [2].

Фитосанитарное состояние посевов яровой пшеницы оценивали в динамике. Пораженность растений корневыми гнилями учитывали по методике В.А. Чулкиной (1985). На основании балльной оценки пораженных растений определяли степень развития болезни по формуле

$$P = \frac{\sum aB}{A_1 C} \cdot 100\%$$

где P — развитие болезни, %; a — число растений с одинаковыми признаками поражения; B — соответствующий этому признаку

балл поражения; Σ — сумма произведений значений показателей aB ; K — высший балл учетной шкалы.

Результаты

В опыте с яровой пшеницей численность микроорганизмов в почве (без обработки) возрастала в динамике, особенно в ризоплане (табл. 1). Внесение гриба в ризосферу несколько снизило численность бактерий в корневой зоне. Среди бактерий преобладали микобактерии и псевдомонады (табл. 2). Четкого влияния гриба на их соотношение как в ризосфере, так и в ризоплане не установлено. Надо полагать, что исследуемый нами гриб обладает специфичностью действия.

Т а б л и ц а 1

Численность бактерий (млн на 1 г почвы или корней) в корневой зоне пшеницы, обработанной суспензией спор гриба *F.sp.* (AF-967)

Вариант	7 сут, поч- ва	14 сут		
		поч- ва	ризо- сфера	ризо- плана
Контроль (без обра- ботки)	49	89	109	608
Обработка суспензией спор гриба	55	83	68	377

В мелкоделяночном полевом опыте с ячменем при обработке семян только одним грибом (без стромы) общая численность и бактериальный состав ризосферы и ризопланы заметно отличались от наблюдаемых у пшеницы (табл. 3). Так, в фазу колошения ячменя численность микроорга-

Т а б л и ц а 2

Качественный состав (%) бактерий в ризосфере (числитель) и ризоплане пшеницы (знаменатель)

Вариант	Bacil- lus	Mycoba- cterium	Pseudo- monas
Контроль (без обра- ботки)	$\frac{14}{10}$	$\frac{44}{38}$	$\frac{33}{25}$
Обработка суспензией спор гриба	$\frac{10}{4}$	$\frac{40}{48}$	$\frac{37}{36}$

низмов была во всех вариантах (кроме контрольного в ризосфере) ниже на порядок. Обработка семян грибом практически независимо от ее срока снизила количество бактерий в ризосфере в фазу колошения, а в варианте обработки за 6 нед до посева — даже в фазу кушения. В ризоплане снижение численности бактерий в фазу кушения по сравнению с контролем наблюдалось во всех вариантах, однако в фазу колошения по сравнению с контролем происходило некоторое ее увеличение (примерно в 2 раза). Следует подчеркнуть, что при обработке семян грибом снижалась доля бактерий (в фазу колошения в ризоплане они исчезали полностью), а численность микобактерий оставалась относительно стабильной, доля псевдомонад имела тенденцию к повышению в обеих зонах. Обработка грибом приводила к увеличению общей численности микрофлоры (табл. 4) и некоторому возрастанию доли интродукта как в ризосфере, так и в ризоплане.

Таблица 3

Количественный и качественный состав бактерий в корневой зоне ячменя при обработке семян грибом *F.sp.* AF-967 в разные фазы развития*

Вариант (срок обработки)	Ризосфера					Ризоплана				
	всего бакте- рий, млн/г почвы	в т.ч., %				всего бакте- рий, млн/г корней	в т.ч., %			
		Ba- cillus	Mu- cobac- terium	Pseu- domo- nas	другие микро- орга- низмы		Bacil- lus	Muco- bacte- rium	Pseu- domo- nas	другие микро- орга- низмы
Контроль (без обра- ботки)	<u>145</u>	<u>45</u>	<u>26</u>	<u>22</u>	<u>7</u>	<u>183</u>	<u>45</u>	<u>45</u>	<u>38</u>	<u>9</u>
	234	4	38	26	18	30	50	50	46	4
Перед севом	<u>190</u>	<u>21</u>	<u>39</u>	<u>32</u>	<u>8</u>	<u>70</u>	<u>41</u>	<u>41</u>	<u>33</u>	<u>6</u>
	43	3	39	50	8	80	35	35	51	13
2 нед до сева	<u>124</u>	<u>18</u>	<u>31</u>	<u>39</u>	<u>12</u>	<u>130</u>	<u>18</u>	<u>38</u>	<u>29</u>	<u>6</u>
	27	7	41	35	17	72	0	48	40	12
4 нед до сева	<u>105</u>	<u>19</u>	<u>35</u>	<u>38</u>	<u>7</u>	<u>53</u>	<u>20</u>	<u>40</u>	<u>25</u>	<u>15</u>
	56	5	37	51	7	64	0	45	45	10
6 нед до сева	<u>44</u>	<u>24</u>	<u>33</u>	<u>30</u>	<u>13</u>	<u>106</u>	<u>26</u>	<u>35</u>	<u>30</u>	<u>9</u>
	30	9	39	42	11	64	0	54	38	8

* Здесь и в табл. 4, 5, 6 в числителе — фаза кушения, в знаменателе — фаза колошения.

Таблица 4

Микроскопические грибы в ризосфере и ризоплане ячменя при обработке семян грибом *F.sp.* (AF-967)

Вариант (срок обработки)	Ризосфера		Ризоплана	
	кол-во грибов, тыс/г почвы	<i>F.sp.</i> (AF-967), %	кол-во грибов, тыс. на 1 г корней	<i>F.sp.</i> (AF-967), %
Контроль (без обработки)	<u>1307</u>	—	<u>9000</u>	—
	1153	0	6000	0
Перед севом	<u>7000</u>	—	<u>400</u>	<u>2</u>
	17538	0	77333	31
2 нед до сева	<u>4384</u>	<u>37</u>	<u>1230</u>	<u>54</u>
	86153	33	8000	90
4 нед до сева	<u>6538</u>	<u>28</u>	<u>5333</u>	<u>18</u>
	18461	31	5333	50
6 нед до сева	<u>2461</u>	<u>25</u>	<u>8000</u>	<u>5</u>
	2461	7	2666	50

При обработке семян ячменя грибом совместно со стромом закономерности, выявленные в вариантах обработки только грибом, в основном сохранялись (табл. 5, 6). Совместное применение гриба и строма улучшало приживаемость интродуцируемого гриба в ризосфере в вариантах обработки перед севом, за 4 и 6 нед до сева. В ризоплане это

наблюдалось в этих же вариантах, но только до фазы колошения. В фазу колошения местная микрофлора, видимо, подавляла грибок, что обычно и происходит в природных условиях, когда интродуцируемый агент активно работает только в первые фазы развития растения, создавая ему преимущества в этот период [1].

Таблица 5

Качественный состав бактерий при разных сроках обработки семян ячменя суспензией F.sp. (AF-967) со стромом

Вариант (сроки обработки)	Ризосфера					Ризоплана				
	всего бактерий, млн/г почвы	в т.ч., %				всего бактерий, млн/г корней	в т.ч., %			
		Bacillus	Mycobacterium	Pseudomonas	другие микроорганизмы		Bacillus	Mycobacterium	Pseudomonas	другие микроорганизмы
Контроль (без обработки)	<u>145</u>	<u>45</u>	<u>26</u>	<u>22</u>	<u>7</u>	<u>183</u>	<u>8</u>	<u>45</u>	<u>38</u>	<u>9</u>
	234	6	38	38	14	30	0	50	46	4
Перед севом	<u>300</u>	<u>22</u>	<u>35</u>	<u>33</u>	<u>9</u>	<u>200</u>	<u>15</u>	<u>40</u>	<u>30</u>	<u>15</u>
	12	9	41	44	7	58	0	33	58	9
2 нед до сева	<u>202</u>	<u>40</u>	<u>25</u>	<u>30</u>	<u>5</u>	<u>140</u>	<u>25</u>	<u>30</u>	<u>35</u>	<u>10</u>
	18	4	50	42	4	34	0	35	47	18
4 нед до сева	<u>107</u>	<u>27</u>	<u>30</u>	<u>37</u>	<u>13</u>	<u>60</u>	<u>20</u>	<u>29</u>	<u>38</u>	<u>11</u>
	5	14	27	24	13	90	0	33	48	17
6 нед до сева	<u>169</u>	<u>41</u>	<u>33</u>	<u>26</u>	<u>11</u>	<u>80</u>	<u>28</u>	<u>37</u>	<u>23</u>	<u>12</u>
	6	5	39	39	19	16	0	38	50	22

При сопоставлении табл. 3 и 5 (обработка грибом и совместная обработка грибок+стром) видно, что в присутствии строма стимулирующий эффект в отношении бактериальной флоры в фазу кушения более выражен (особенно при обработке перед севом). В фазу колошения, однако, число бактерий более выравнено: меньший стимулирующий эффект в фазу кушения, но и менее заметное снижение в фазу

колошения. Что касается влияния гриба и строма на соотношения разных групп бактерий, то оно примерно соответствовало соотношению в вариантах без строма (табл. 3): численность бактерий падала до нуля в ризоплане, а доля микобактерий и псевдомонад несколько возрастала, но определенной закономерности изменений в зависимости от срока обработки практически не выявлено.

Микроскопические грибы в ризосфере и ризоплане ячменя
при обработке грибом F.sp. (AF-967) со стромом

Вариант (срок обработки)	Ризосфера		Ризоплана	
	всего грибов, тыс/г почвы	в т.ч. F.sp. (AF-967), %	всего грибов, тыс. на 1 г корней	в т.ч. F.sp. (AF-967), %
Контроль (без обработки)	<u>1307</u>	—	<u>9000</u>	—
	1153	0	6000	0
Перед севом	<u>1846</u>	<u>37</u>	<u>1333</u>	<u>75</u>
	5153	17	16000	—
2 нед до сева	<u>1769</u>	<u>39</u>	<u>2660</u>	<u>25</u>
	1538	0	4000	50
4 нед до сева	<u>6076</u>	<u>20</u>	<u>16343</u>	<u>53</u>
	8384	13	18000	—
6 нед до сева	<u>6153</u>	<u>21</u>	<u>2666</u>	<u>75</u>
	2384	6	24000	—

Вместе с тем по основному показателю — фитосанитарной оценке характера влияния гриба и строма (табл. 7) — лучшие результаты получены в вариантах обработки семян суспензией гриба за 2 и 6 нед до сева. Пораженность в обоих вариантах почти в

3 раза меньше, чем в контроле. Действие строма наилучшим образом проявилось в варианте с обработкой семян суспензией гриба перед севом и за 6 нед до сева (пораженность корневыми гнилями 2 раза меньше, чем в контроле).

Таблица 7

Фитосанитарное состояние растений в фазу кушения при обработке семян суспензией спор гриба F.sp. (AF-967) отдельно и со стромом

Вариант (срок обработки)	F.sp. (AF-967)		F.sp. (AF-967)+стром	
	развитие болезни, %	пораженность корневыми гнилями, %	развитие болезни, %	пораженность корневыми гнилями, %
Контроль (без обработки)	53,3	13,3	53,3	13,3
Перед севом	26,7	6,7	30,0	7,5
2 нед до сева	19,0	4,8	41,2	10,3
4 нед до сева	50,0	14,3	53,1	13,3
6 нед до сева	16,7	4,2	26,7	6,7

Следовательно, можно сказать, что эффективность применения

гриба F.sp. (AF-967) зависит от срока обработки семян; совмест-

ное применение суспензий гриба со стромом усиливает рост гриба в почве и улучшает его антагонистическую активность.

Выводы

1. Обработка семян пшеницы спорами *Fusarium* sp. (AF-967) и спорами в сочетании со стромом способствовала приживаемости гриба в ризосфере и ризоплане растений в фазу кущения.

2. Обработка семян ячменя спорами *Fusarium* sp. (AF-967) отдельно и в сочетании со стромом улучшала фитосанитарное состояние посевов, особенно в случае ее проведения перед севом и за 6 нед до сева.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Зеликанов Л.Л.* Роль грибов в формировании мико- и микробитоты почв естественных и нарушенных биоценозов и агроэкосис-

тем. — Автореф. докт. дис. М., 1997. — 2. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Колос, 1979. — 3. *Звягинцев Д.Г.* Почва и микроорганизмы. М.: Изд-во МГУ, 1987. — 4. *Теннер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И.* Практикум по микробиологии. М.: Колос, 1993. — 5. *Чулкина В.А.* Корневые гнили хлебных злаков Сибири. Новосибирск: Зап.-сиб. книжн. изд-во, 1973. — 6. *Taha S., Mahmoud S., Salem S.* Rhizosphere microflora of leguminous plants. Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankh. und Hygiene, 1970, Abt. 2, Bd 124, N 3, 4, S. 217—223. — 7. *Gunter-Haak A., Weichsel J.* Untersuchungen über die Wechselbeziehungen Zwischen höheren Pflanzen und Bakterien. Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankh. und Hygiene, 1968, Abt. 2, Bd 122, N 54, S. 486—499.

Статья поступила 4 июля 1997 г.

SUMMARY

The effect of treating seed at different dates before sowing with spore suspension *Fusarium* sp. (AF-967) — antagonist of root rots — and spore suspension of this fungus with stroma on population and qualitative composition of bacteria in root zone of wheat (laboratory experiment) and barley (field small-plot experiment; in tillering — earing phases) has been studied.

It has been found that efficiency of applying F.sp. (AF-967) depends on date of seed treatment, and combined application of fungus suspension with stroma increases antagonistic activity of the fungus.