

### **РАСТЕНИЕВОДСТВО**

УДК 632.9

Е.П. Ланкина, Е.Н. Баженова, С.В. Хижняк

# ВЛИЯНИЕ ПЕЩЕРНЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ VDR5M и VDR5K НА СТРУКТУРУ БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА В РИЗОСФЕРЕ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ

Изучено влияние психрофильного и психротолерантного штаммов пещерных бактерий VDR5M и VDR5K на структуру ризосферного бактериального комплекса яровой пшеницы Новосибирская 29.

**Ключевые слова:** психрофильные бактерии, психротолерантные бактерии, карстовые пещеры, ризосфера, яровая пшеница.

E.P. Lankina, E.N. Bazhenova, S.V. Khizhnyak

### THE INFLUENCE OF CAVE BACTERIA STRAINS VDR5M AND VDR5K ON THE BACTERIAL COMMUNITY STRUCTURE IN THE SPRING WHEAT RHIZOSPHERE

The effect of psychrophilic and psychrotolerant cave bacteria strains VDR5M and VDR5K on the bacterial community structure in the rhizosphere of spring wheat "Novosibirskaya 29" is studied.

Key words: psychrophilic bacteria, psychrotolerant bacteria, karst caves, rhizosphere, spring wheat.

Введение. В качестве экологически безопасных методов защиты растений от болезней хорошей альтернативой химическим препаратам являются биологические средства, разработанные на основе микроорганизмов – антагонистов возбудителей заболеваний растений [6–8, 10]. Показано, что психрофильные и психротолерантные бактерии, выделенные из карстовых пещер, могут служить хорошей основой биопрепаратов для защиты зерновых культур от корневой гнили и листовой пятнистости в Сибири и других регионах с аналогичным климатом. Температурные пределы роста данных бактерий позволяют им сохранять высокую активность в течение всей вегетации, в то же время они безопасны для человека и теплокровных животных, поскольку не могут развиваться при температуре человеческого тела [2, 5]. Однако применение биопрепаратов может приводить к изменениям в естественном ризосферном микробном комплексе, и эти изменения требуют дополнительного изучения [9].

**Цель работы.** Изучение влияния штаммов бактерий VDR5M и VDR5K на структуру ризосферного бактериального комплекса яровой пшеницы сорта Новосибирская 29. Данные штаммы были выделены Е.П. Ланкиной и С.В. Хижняком из пещеры «Водораздельная» (Красноярский край, Березовский район, Торгашинский спелеоучасток Приенисейской складчато-блоковой зоны) и в ходе лабораторных и полевых испытаний 2008—2009 и 2013 гг. показали высокую эффективность в защите ячменя и пшеницы от корневой гнили и листовой пятнистости в условиях Красноярского края [11].

**Объекты и методы.** Штамм VDR5M является психрофильным, с максимальной температурой роста +23°C, по результатам секвенирования гена 16S pPHK имеет 98,486 %-й уровень сходства с *Pseudochrobactrum kiredjianiae*. Штамм VDR5K является психротолерантным, с максимальной температурой роста +29..+30°C, по результатам секвенирования гена 16S pPHK имеет 99,3 %-й уровень сходства с Paenibacillus *amylolyticus* [2].

Микрополевой опыт проводили в 2013 году на полевом стационаре Красноярского государственного аграрного университета. Природная зона – Красноярская лесостепь. Климат – умеренно сухой и континентальный (мера континентальности 61–63%, или 189, по Иванову Н.Н.). Почва представлена черноземом выщелоченным среднегумусным среднесуглинистым, с очень высоким содержанием подвижного фосфора (26 мг/100 г) и обменного калия (22 мг/100 г). Гидротермический режим вегетационного периода 2013 года существенно

отличался от среднемноголетних характеристик. ГТК Селянинова с мая до сентября составил 2,0. Опыт проводился в сосудах без дна площадью 0,1  $\text{м}^2$ , повторность шестикратная. Схема опыта: 1. Контроль (семена пшеницы Новосибирская 29 без обработки). 2. Бактеризация семян суспензией клеток VDR5M из расчёта 10 л суспензии на тонну семян, титр составлял  $1 \times 10^9$ . 3. Бактеризация семян суспензией клеток VDR5K из расчёта 10 л суспензии на тонну семян, титр  $1 \times 10^9$ . 4. Бактеризация семян смесью суспензий VDR5M и VDR5K (1:1) из расчёта 10 л суспензии на тонну семян.

Для анализа ризосферной микрофлоры использовали смывы с корней. Для этого в фазу всходов, кущения и колошения отбирали по 5 растений из каждой повторности (всего по 30 растений на вариант опыта в каждую фазу). Из отобранных растений формировали объединённую пробу. Для микробиологического анализа производили смыв с корней объединённой пробы стерильной водой, после чего осуществляли глубинные посевы из смыва с использованием микропипет-дозатора в набор питательных сред (по 2 мкл в каждую питательную среду). Численность аммонифицирующих микроорганизмов (АМ) учитывали на ПД-агаре. Численность азотфиксирующих и олигонитрофильных микроорганизмов (ОЛН) учитывали на среде Эшби. Численность гетеротрофных микроорганизмов, использующих минеральные формы азота (ГМ), учитывали на среде Чапека. Численность олиготрофных микроорганизмов (ОЛГ) учитывали на среде, содержащей 50 мл/л ПД-агара, 50 мл/л среды Чапека и 20 г/л агара [4]. Численность микроорганизмов каждой из упомянутых экологотрофических групп определяли по числу колониеобразующих единиц (КОЕ). В качестве показателя олиготрофности использовали отношение ОЛГ/АМ, в качестве показателя олигонитрофильности – отношение ОЛН/АМ, в качестве показателя минерализации – отношение ГМ/АМ [1]. Статистический анализ результатов проводили стандартными методами [3] с использованием средств МS Office XP и StatSoft STATISTICA 6.0.

**Результаты и их обсуждение**. В результате исследования установлено, что бактеризация семян изучаемыми штаммами оказала в высшей степени статистически значимое (p<0,001 по критерию хи-квадрат) действие на структуру ризосферных бактериальных комплексов, что проявилось в изменениях относительных численностей аммонифицирующих, азотфиксирующих, олиготрофных и олигонитрофильных микроорганизмов, а также гетеротрофных микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, в сравнении с контролем.

Статистически значимые изменения относительных численностей бактерий упомянутых экологотрофических групп в результате бактеризации отмечены уже на стадии всходов. Можно констатировать, что бактеризация во всех вариантах привела к существенному росту олиготрофности и олигонитрофильности ризосферных комплексов, этот рост особенно ярко проявился к моменту колошения (рис. 1, 2).

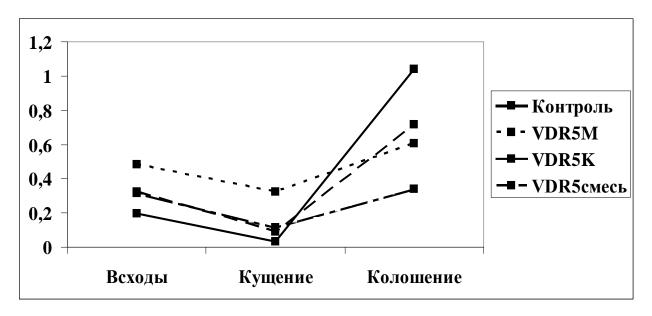


Рис. 1. Динамика показателей олиготрофности ризосферных бактериальных комплексов в разных вариантах эксперимента

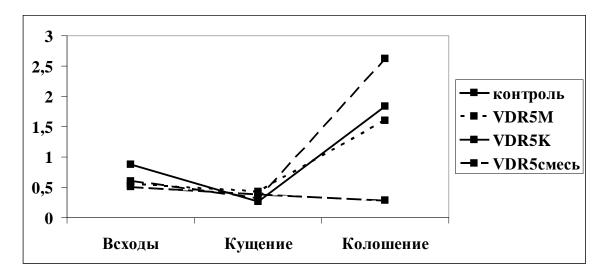


Рис. 2. Динамика показателей олигонитрофильности ризосферных бактериальных комплексов в разных вариантах эксперимента

Что касается показателя минерализации, то в данном случае максимальный стимулирующий эффект оказала бактеризация смесью штаммов (рис. 3).

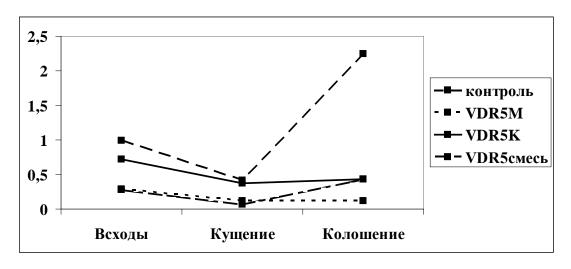


Рис. 3. Динамика показателей минерализации ризосферных бактериальных комплексов в разных вариантах эксперимента

В качестве объяснения наблюдаемого эффекта можно предположить стимуляцию ризосферной микробиоты в результате бактеризации, что привело к повышенному изъятию органического углерода и органического азота, выделяемого корнями пшеницы, а также (в случае бактеризации смесью штаммов) к ускорению процессов минерализации органического вещества в ризосфере.

#### Выводы

- 1. Бактеризация семян пшеницы изучаемыми штаммами и их смесью усиливает процессы деструкции органического вещества в ризосфере, что проявляется в увеличении показателей олиготрофности, олигонитрофильности и минерализации в ризосферном микробном комплексе.
- 2. Обнаруженные эффекты имеют тенденцию к нарастанию в период всходы-колошение, что говорит о долговременном последействии бактеризации изучаемыми штаммами и их смесью.
- 3. Максимальные показатели минерализации и олигонитрофильности в ризосфере наблюдаются при бактеризации смесью штаммов, максимальный показатель олиготрофности при бактеризации штаммом VDR5K.

#### Литература

- 1. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
- 2. *Ланкина Е.П., Хижняк С.В.* Бактериальные сообщества пещер как источник штаммов для биологической защиты растений от болезней. Красноярск: Изд-во КрасГАУ, 2012. 125 с.
- 3. Поллард Д. Справочник по вычислительным методам статистики. М.: Финансы и статистика, 1982. 344 с.
- 4. Теппер Е.З., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2004. 256 с.
- 5. Психрофильные и психротолерантные гетеротрофные микрорганизмы карстовых полостей Средней Сибири / С.В. Хижняк, И.В. Таушева, А.А. Березикова [и др.] // Экология. 2003. № 4. С. 261–266.
- 6. Штерншис М.В., Джалилов Ф.С. Биологическая защита растений. М.: КолосС, 2004. 264 с.
- 7. Copping L.G. The manual of biocontrol agents. Alton: BCPC, 2004. 702 p.
- 8. *Pal K.K., Gardener B.M.* Biological Control of Plant Pathogens // The Plant Health Instructor. 2006. 02. P. 117.
- 9. *Patkowska E.* The effect of biopreparations on the formation of rhizosphere microorganism populations of soybean // Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus. 2005. 4. P. 89–99.
- 10. Perelló A.E., Mónaco C. Status and progress of biological control of wheat (Triticum aestivum L.) foliar diseases in Argentina // Fitosanidad. 2007. V. 11. № 2. P. 15–25.
- 11. Field assessment of two strains of cold-adapted bacteria isolated from cave microbial community as biological agents for protection of cereals in Siberia / V.K. Purlaur, V.P. Bitcukova, S.V. Khizhnyak [et al.] // Найновите постижения на европейската наука 2011: Материали за vii международна научна практична конференция. Болгария. 2011. С. 79–82.



УДК 632.4

С.В. Хижняк, Е.Я. Мучкина

# СОРТОВАЯ СПЕЦИФИКА ВОСПРИИМЧИВОСТИ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ К ТОКСИКОГЕННЫМ ГРИБАМ, ВЛИЯЮЩИМ НА КАЧЕСТВО И ЭКОЛОГИЧЕСКУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ ЗЕРНА

Среди трёх проанализированных сортов яровой пшеницы, культивируемых в Красноярском крае, сорт Новосибирская-31 является наиболее восприимчивым к токсикогенным грибам родов Fusarium и Alternaria, а сорт Ветлужанка – наименее восприимчивым.

Ключевые слова: качество зерна, микроскопические грибы, пшеница, микотоксины.

S.V. Khizhnyak, E.Ya. Muchkina

## CULTIVAR SPECIFICITY OF SPRING WHEAT SUSCEPTIBILITY TO THE TOXICOGENIC FUNGI AFFECTING THE GRAIN QUALITY AND ECOLOGICAL SAFETY

Among three analyzed spring wheat cultivars cultivated in Krasnoyarsk Krai the cultivar Novosibirskaya-31 is the most susceptible to the toxicogenic fungi of Fusarium and Alternaria genera, and the cultivar Vetluzhanka is the least susceptible.

**Key words:** grain quality, microscopic fungi, wheat, mycotoxins.

**Введение.** Среди болезней зерновых культур в Сибири в последние годы широкое распространение получили альтернариозы, вызываемые фитопатогенными грибами р. Alternaria, и фузариозы, вызываемые фитопатогенными грибами р. *Fusarium*. Эти грибы способны поражать все органы растения, включая семена, что ведёт не только к потерям урожая, но и к снижению потребительских и посевных качеств зерна, что не обеспечивает его экологическую безопасность.

Виды *Alternaria*, заражая зерно, не влияют на его массу. Инфицированные семена обычно крупные и хорошо выполненные, имеют нормальную всхожесть и прорастают без видимых аномалий [5, 7]. Влияние *Alter-*