

БИОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ЭКОЛОГИЯ

УДК 32.401/08: 631.51

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ И АНТАГОНИСТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ *FUSARIUM CULMORUM* ПРИ РАЗНЫХ СПОСОБАХ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ

Л. Н. Коробова, доктор биологических наук
Новосибирский государственный аграрный университет
Белгородский государственный национальный
исследовательский университет
E-mail: lnkorobova@mail.ru

Ключевые слова: *Fusarium culmorum*, фитопатоген, фунгистазис, микробный антагонизм, выщелоченный чернозем, обработка почвы, минеральные удобрения

Реферат. В стационарном полевом опыте в северной лесостепи Приобья изучено влияние на прорастание и развитие возбудителя корневых гнилей *Fusarium culmorum* технологий обработки чернозема выщелоченного: нулевой обработки (No-till), рыхления на глубину 12–14 см и традиционной вспашки. Исследования проведены в конце первой ротации трехпольного севооборота пар (горох по No-Till) – яровая пшеница – яровая пшеница. Установлено, что в почве с No-till грибок лучше прорастал и быстрее наращивал мицелий. Здесь микробы-антагонисты слабо контролировали его развитие. На рыхлении под второй пшеницей фунгистатический контроль возбудителя был сильным, но в основном за счет недостатка питательных элементов для прорастания спор, на вспашке – за счет микробного антагонизма. Формирование мицелия возбудителя на отвальной и минимальной обработках почвы было связано с развитием антагонистической микрофлоры. Более благоприятные условия для размножения и накопления антагонистов к *F. culmorum* в Приобье создавались при традиционной агротехнике подготовки выщелоченного чернозема. На минимальной и нулевой обработках почвы численность антагонистов была на четверть меньше. Внесение N_{60} на фоне $P_{60}K_{60}$ на минимальной обработке несущественно повысило плотность антагонистов к почвообитающему фитопатогену *F. culmorum*. На нулевой обработке минеральные удобрения способствовали увеличению антагонистического потенциала почвы к грибу на 28%, делая его сопоставимым с уровнем антагонистической активности выщелоченного чернозема на вспашке.

Выщелоченные черноземы – одни из самых плодородных почв Сибири. Их сохранение – важная экологическая и экономическая задача. В связи с утратой черноземами значительной части органического вещества в лесостепной зоне Западной Сибири большое внимание стали уделять ресурсосберегающим технологиям обработки почвы [1 и др.]. Однако минимизация обработки почвы влечет за собой существенное возрастание плотности популяций почвообитающих фитопатогенов, что повышает опасность заболевания сельскохозяйственных культур.

В черноземах Сибири сохраняются и начинают жизненный цикл многие возбудители корневых инфекций растений: *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *F. sambucinum*, *Rhizoctonia solani* и др. [2]. Их развитие вначале ограничивается почвенным фунгистазисом, затем микроорганизмами, лизирующими споры и гифы патогенов. Причиной фунгистазиса (ограничения прорастания спор) могут быть абиотические и биотические свойства почвы: кислотность, гранулометрический состав, наличие питательных веществ, антагонистическая активность.

В черноземах Сибири механизм ограничения развития фитопатогенов в большей мере связан с микробами [3–5]. Явление антагонизма у микроорганизмов реализуется через выделение кислот, оснований, нейтральных и амфотерных соединений, ароматических и гетероциклических веществ с атомами кислорода и азота, например, антибиотиков, токсинов, сидерофоров, связывающих железо и делающих его недоступным для фитопатогенов, и др. [6]. Ими антагонисты оказывают повреждающее действие на клетки патогенных и условно-патогенных видов или изменяют среду их обитания: pH, окислительно-восстановительный потенциал и поверхностное натяжение. Все это способствует формированию таких уникальных свойств почвы, как супрессивность (способность ограничивать развитие патогена и заболевание растений) и самоочищающая способность.

Цель исследований – выяснить, как влияют технологии обработки почвы и минеральные удобрения на прорастание спор *Fusarium culmorum* (W.G. Sm) Sacc., развитие мицелия и антагонистическую активность почвы по отношению к фитопатогену.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования провели в северной лесостепи Приобья в стационарном опыте агрономического факультета НГАУ в учхозе «Тулинское». Опыт заложен в 2013 г. кандидатами сельскохозяйственных наук А.А. Ляхом и А.Н. Мармулевым. В опыте 3 короткоротационных севооборота: пар–яровая пшеница–яровая пшеница с системами обработки почвы: традиционной отвальной (зяблевая вспашка), минимальной обработкой (Mini-till, осенним рыхлением плоскорезами на глубину 12–14 см) и нулевой обработкой (No-till). На системе No-till за 2 недели до посева культуры применялся гербицид Торнадо 500, ВР, д.в. глифосат, с нормой расхода 5 л/га, посев семян проводился стерневой сеялкой СКП-2,1 на глубину 5–6 см с одновременной культивацией, внесением минеральных удобрений и полосным прикатыванием после посева. На отвальной и минимальной обработках весной проведено закрытие влаги зубowymi боронами, предпосевная культивация на глубину 4–6 см и посев СЗП-3,6. Основная высеваемая культура – яровая пшеница сорта Новосибирская 29 с нормой посева 6 млн/га.

Почва участка – чернозем выщелоченный среднемощный с содержанием гумуса в слое 0–20 см 6,7% и рН водной вытяжки 6,4. Почвенные образцы из слоя 0–20 см отбирали в середине июня в теплый, увлажненный год с неравномерно выпадающими осадками. В мае и июне их был переизбыток на 96 и 84 %, в июне – 42 % от нормы.

Изучены варианты: 1) черный пар; 2–3) яровая пшеница второй культурой по вспашке, без удобрений и с N_{60} на фоне $P_{60}K_{60}$ (далее – NPK); 4) пар с рыхлением; 5–6) яровая пшеница второй культурой по Mini-Till, без удобрений и с NPK; 7–8) горох по No-Till, без удобрений и с последствием NPK; 9–10) яровая пшеница второй культурой по No-Till, без удобрений и с NPK.

Объектом исследования был почвообитающий факультативный фитопатоген *F. culmorum*, широко распространенный в почвах разных регионов мира [7]. Чистая культура гриба (штамм с выраженной патогенностью) была предоставлена для наших исследований руководителем испытательной лаборатории фитодиагностики и агрохимии ЗАО «Агродоктор» С.А. Ферапонтовой.

За проявлением почвенного фунгистазиса и развитием *F. culmorum* следили в свежесобранной почве методом мембранных камер [8]. Культуру гриба в виде суспензии спор наносили на мембранный фильтр отечественного производства с диаметром пор 2,5 мкм. Крупные размеры пор фильтра обеспечивали быстрый контакт гриба с почвой. Титр культуры рассчитывали так, чтобы в поле зрения микроскопа находилось 20–30 ее спор.

Фильтры закладывали в почву в 6 повторениях и инкубировали 3 дня для учета проросших спор (%), т.е. фунгистатичности почвы, и 7 дней для учета длины мицелия гриба. Извлеченные из почвы фильтры окрашивали раствором карболового эритрозина (0,25 %-й эритрозин в 0,25 %-м феноле) и освещали иммерсионным маслом, после чего микроскопировали. Повторность учетов (полей зрения микроскопа) в варианте для третьих суток инкубации гриба была девятикратной, для седьмых суток – двенадцатикратной.

Антагонистический потенциал почвы определяли по методу Г.С. Муромцева [9] в нашей модификации, засевая суспензию *F. culmorum* с титром 10^4 спор /1 мл вместе с почвенной вытяжкой в столбик разбавленной в 2 раза жидкой среды Чапека-Докса. Степень антагонистической активности почвы выражали, используя таблицы Мак-Креди.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Гриб *F. culmorum* способен к сапротрофному типу развития в почве, но в некоторых условиях переходит к паразитизму, вызывая корневые и стеблевые гнили и фузариоз колоса зерновых культур [7, 10]. Это приводит к снижению их урожайности и загрязнению зерна микотоксинами.

Наблюдение за почвенными стадиями жизненного цикла *F. culmorum* позволило выявить, что на его развитие влияют как способы обработки почвы, так и внесение удобрений (табл. 1).

Максимальному прорастанию спор *F. culmorum* (90%) способствовали условия черного пара: оптимальные влажность, аэрация и достаточный уровень питания для гриба. На этой же обработке почвы под второй пшеницей проросло только 39,2% конидий гриба. Внесение под вторую пшеницу удобрений ситуацию с уровнем фунгистатичности почвы не меняло, что свидетельствует об ином, чем нехватка питания, контроле развития фитопатогена. Сопоставление активности прорастания *F. culmorum* во вспаханной почве с обилием в ней микробов-антагонистов показало их сильную коррелятивную связь (табл. 2).

На обработке Mini-Till фунгистазис проявился как в паровом поле (28,6% проросших спор), так и под второй пшеницей (0% проросших спор). Природа такого контроля прорастания была независимой от развития антагонистов. Здесь не хватало питательных веществ для развития мелкоспорового *F. culmorum*, поэтому на удобренном фоне прорастание спор возрастало с 0 до 60%.

Под второй пшеницей с No-Till больших различий в ограничении прорастания спор *F. culmorum* в варианте с удобрениями и без них не было, но и связь с развитием антагонистов была слабой.

Основной структурой, формируемой грибом *F. culmorum* в почве и способной длительное время обеспечивать рост и выживание гриба без участия других структур, является мицелий. По биомассе в естественной почве он составляет от 89 до 99% популяции гриба [11]. В изученных вариантах опыта мицелий фитопатогена активнее разрастался в парующейся почве (см. табл. 1). В черном пару его ежедневный прирост составлял 0,59 мкм, в пару с рыхлением – 0,51, в пару с горохом – 1,17 мкм. Благоприятные для мицелиального роста *F. culmorum* условия под горохом, вероятно, создались как под влиянием нулевой технологии обработки почвы, так и благодаря

Таблица 1

Особенности развития *Fusarium culmorum* в выщелоченном черноземе в зависимости от способа его обработки и уровня интенсификации

Вариант	Начальный уровень прорастания, %		Прирост мицелия за сутки, мкм	
	1	2	1	2
Пар, вспашка	90,0		0,59	
Пшеница по пшенице, вспашка	39,2	38,9	0,45	0,37
Пар, минимальная обработка	28,6		0,51	
Пшеница по пшенице, минимальная обработка	0	58,3	0,38	0,32
Горох, нулевая обработка	0		1,17	
Пшеница по пшенице, нулевая обработка	61,1	69,5	0,47	0,50
НСР _{0,1}	27,1		0,10	

Примечание. 1 – нулевой уровень интенсификации; 2 – внесение NPK (N₆₀ на фоне P₆₀K₆₀).

Таблица 2

Матрица парной корреляции между показателями почвенной стадии жизненного цикла фитопатогена *F. culmorum* и численностью антагонистических микроорганизмов в 1 г абсолютно сухой почвы

Обработка почвы		Прорастание спор	Прирост мицелия в сутки
Отвальная	Коэффициент корреляции	-1,000	-0,933
	Вероятность ошибки	0,003	0,234
Минимальная	Коэффициент корреляции		-0,997
	Вероятность ошибки		0,045
Нулевая	Коэффициент корреляции	-0,401	
	Вероятность ошибки	0,737	

присутствию корневых выделений растений. Последняя зависимость для фитопатогенов показана в научной литературе [11].

Под второй пшеницей после гороха (обработка почвы No-till) мицелий *F. culmorum* также развивался активно, превысив по длине отвальную и минимальную обработки почвы в 1,5 и 1,4 раза соответственно. На экстенсивном и интенсивном фонах в соответствующих вариантах скорость развития мицелия гриба существенно не различалась.

Мицелиальный рост фитопатогена на нулевой обработке антагонисты не сдерживали. Сильным антагонистический контроль нарастания биомассы *F. culmorum* в выщелоченном черноземе оказался на отвальной и минимальной обработках почвы (см. табл. 2).

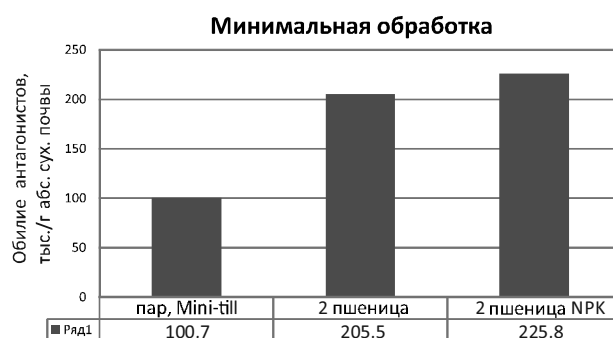
Антагонистическую активность по отношению к почвообитающим фитопатогенам в черноземах юга Западной Сибири проявляют бактерии *Bacillus subtilis*, *Bac. megaterium*, *Bac. polymyxa*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. stutzeri*, *P. aeruginosa*, *Xanthomonas fragariae*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium* spp. [3]. Среди актиномицетов антагонистами к грибам являются *Streptomyces griseus*, *S. griseoflavus*, *S. argenteolus*, *S. albus*, *S. atratus*, *S. ambofaciens*, *S. cellulosa*, *S. fomicarius*, *S. albosporeus* [12]. Среди микроскопических грибов, по данным Т. Т. Кузнецовой и Т. Г. Кривошековой [3], антагонистами к возбу-

дителям болезней могут быть виды *Aspergillus*, *Penicillium rubrum*, *P. purpurogenum*, *P. canescens*, *P. chrysogenum*, *P. cyclopium*, *P. janthinellum*, *P. variabile*, *P. nigricans*, *P. expansum*, *P. notatum*, *P. radiatum*, *P. aurantio-candidum*, *Trichoderma lignorum*.

Если сравнивать суммарное накопление антагонистических микроорганизмов в изучаемом черноземе при разных обработках почвы, то лучшие условия для этого в первом поле севооборота складывались под горохом, выращиваемом по технологии No-till (рисунок). На Mini-till обилие микроорганизмов, ингибирующих развитие фитопатогена *F. culmorum*, в паровом поле было в 2,4–2,7 раз ниже по сравнению с двумя другими изучаемыми системами обработки почвы, а под второй пшеницей в 1,3 раза ниже, чем на вспашке.

В целом на участках, занятых яровой пшеницей, плотность антагонистов к фитопатогену *F. culmorum* была выше на традиционной вспашке (см. рисунок).

На нулевой обработке антагонистический потенциал почвы достигал уровня антагонистической активности отвальной обработки только при использовании минеральных удобрений. На минимальной обработке почвы при обеспеченности посева минеральным азотом в норме 60 кг д. в./ га (на фоне $P_{60}K_{60}$) различия с отвальной обработкой в антагонистическом контроле *F. culmorum* в почве не устранились.



Антагонистическая активность выщелоченного чернозема по отношению к *F. culmorum* в зависимости от способа обработки почвы и внесения удобрений

ВЫВОДЫ

1. Фитопатоген *F. culmorum* лучше прорастал и развивался под яровой пшеницей с системой обработки выщелоченного чернозема No-till. Микробы-антагонисты здесь слабо контролировали прорастание возбудителя и не оказывали влияние на развитие его мицелия.
2. Фунгистатический контроль возбудителя под второй пшеницей на рыхлении и вспашке был достаточно сильным: на минимальной обработке почвы в основном за счет недостатка питательных элементов для прорастания спор, на вспашке – за счет микробного антагонизма. Формирование мицелия возбудителя на этих обработках почвы было связано с развитием антагонистической микрофлоры.
3. Более благоприятные условия для размножения и накопления антагонистов к возбудителю *F. culmorum* в Новосибирском Приобье создавались при традиционной агротехнике подготовки почвы. На минимальной и нулевой обработках их численность была меньше примерно на четверть.
4. Внесение минеральных удобрений под яровую пшеницу существенно, на 28 %, увеличивало антагонистический потенциал почвы по отношению к почвообитающему фитопатогену *F. culmorum* только на нулевой обработке, сделав его сопоставимым с уровнем антагонистической активности выщелоченного чернозема на вспашке.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Власенко А.Н., Власенко Н.Г., Коротких Н.А. Проблемы и перспективы разработки и освоения технологии No-till на черноземах лесостепи Западной Сибири // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – Вып. 9. – С. 16–19.
2. Агротехнический метод защиты растений / В.А. Чулкина, Е.Ю. Торопова, Ю.И. Чулкин, Г.Я. Стецов. – М.: Новосибирск, 2000. – 336 с.
3. Клевенская И.Л., Кривошекова Т.Г. Значение биологического состояния почвы для развития корневой гнили пшеницы // Изв. Сиб. отд-ния АН СССР. – 1984. – Вып. 2. – С. 59–64.
4. Роль биологического фактора в подавлении возбудителя корневой гнили зерновых / И.И. Черняева, Г.С. Муромцев, Л.Н. Коробова, В.А. Чулкина // Микология и фитопатология. – 1986. – № 20. – С. 419.
5. Коробова Л.Н., Гаврилец Т.В. Влияние биологического фунгицида бактофит на возбудителей корневой гнили и микробоценоз яровой пшеницы // Вестн. защиты растений. – 2006. – № 2. – С. 64–66.
6. Фундаментальная фитопатология / под ред. Ю.Т. Дьякова. – М., 2012. – 512 с.
7. McMullen M., Jones R., Gallenberg D. Scab of wheat and barley: a reemerging disease of devastating impact // Plant Dis. – 1997. – № 81. – P. 1340–1348.
8. Лагутина Т.М. Изучение экологии почвообитающего фитопатогена *Verticillium dahliae* Kleb. методом мембранных камер: автореф. дис... канд. биол. наук. – Л., 1985. – 17 с.
9. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии. – М.: Колос, 1983. – 295 с.
10. The influence of soils with different textures on development, colonization capacity and interactions between *Fusarium culmorum* and *Pseudomonas fluorescens* in soil and on barley roots / O.K. Strunnikova, N.A. Vishnevskaya, A.S. Ruchiy [et al.] // Plant and Soil. – 2014. – Vol. 389, № 1–2. – P. 131–144.
11. Шахназарова В.Ю. Развитие интродуцированной популяции *Fusarium culmorum* (W. G. SM) Sacc. в различных почвенных условиях: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – СПб., 2000. – 22 с.
12. Коробова Л.Н. Особенности сукцессии микробных сообществ в черноземах Западной Сибири: дис. ... д-ра биол. наук. – Новосибирск, 2007. – 304 с.
1. Vlasenko A.N., Vlasenko N.G., Korotkikh N.A. Problemy i perspektivy razrabotki i osvoeniya tekhnologii No-till na chernozemakh lesostepi Zapadnoy Sibiri [Dostizheniya nauki i tekhniki APK], Vyp. 9 (2013): 16–19.
2. Chulkin V.A., Toropova E. Yu., Chulkin Yu.I., Stetsov G. Ya. Agrotekhnicheskiy metod zashchity rasteniy. Moscow; Novosibirsk, 2000. 336 p.
3. Klevenskaya I.L., Krivoshchekova T.G. Znachenie biologicheskogo sostoyaniya pochvy dlya razvitiya kornevoy gnili pshenitsy [Izv. Sib. otd-niya. AN SSSR], Vyp. 2 (1984): 59–64.

4. Chernyaeva I.I., Muromtsev G.S., Korobova L.N., Chulkina V.A. *Rol' biologicheskogo faktora v podavlenii vozbuditelya kornevoy gnili zernovykh* [Mikologiya i fitopatologiya], no. 20 (1986): 419.
5. Korobova L.N., Gavrilets T.V. *Vliyanie biologicheskogo fungitsida baktovit na vozbuditeley kornevoy gnili i mikroboosenoz yarovoy pshenitsy* [Vestn. zashchity rasteniy], no. 2 (2006): 64–66.
6. *Fundamental'naya fitopatologiya*. Pod red. Yu.T. D'yakova. Moscow, 2012. 512 p.
7. McMullen M., Jones R., Gallenberg D. Scab of wheat and barley: a reemerging disease of devastating impact. *Plant Dis*, no. 81 (1997): 1340–1348.
8. Lagutina T.M. *Izuchenie ekologii pochvoobitayushchego fitopatogena Verticillium dahliae Kleb. metodom membrannykh kamer* [Avtoref. dis... kand. biol. nauk]. Leningrad, 1985. 17.
9. Segi Y. *Metody pochvennoy mikrobiologii*. Moscow: Kolos, 1983. 295 p.
10. Strunnikova O.K., Vishnevskaya N.A., Ruchiy A.S. [et al.] The influence of soils with different textures on development, colonization capacity and interactions between *Fusarium culmorum* and *Pseudomonas fluorescens* in soil and on barley roots. *Plant and Soil*, Vol. 389, no. 1–2 (2014): 131–144.
11. Shakhnazarova V. Yu. *Razvitie introdutsirovannoy populyatsii Fusarium culmorum (W. G. Sm) Sacc. v razlichnykh pochvennykh usloviyakh* [Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk]. Sankt-Peterburg, 2000. 22 p.
12. Korobova L.N. *Osobennosti suksessii mikrobnykh soobshchestv v chernozemakh Zapadnoy Sibiri* [Dis. ... d-ra biol. nauk]. Novosibirsk, 2007. 304 p.

PECULIARITIES OF DEVELOPMENT AND ANTAGONISTIC CONTROL OF *FUSARIUM CULMORUM* WHEN SOIL TILLAGE IN VARIOUS WAYS

Korobova L. N.

Key words: *Fusarium culmorum*, phytopathogen, fungistasis, microbial antagonism, leached chernozem, soil tillage, mineral fertilizers

Abstract. *The article explores the impact of leached chernozem tillage on Fusarium culmorum in the norther forest-steppe of the Ob basin. The authors conducted experiment with no-tillage, 12–14 sm tillage and conventional tillage. The experiment was carried out at the end of the first rotation of three-year crop rotation of (No-till pea) – spring wheat – spring wheat. The research found out that fungi grew better and increased mycelium faster in the no-till soil. The antagonistic microbes slightly prevented its development. The fungistatic control of the causative agent was stronger under the tillage of the second wheat. It was due to the lack of nutrients for spores growing; under the tillage, it happened because of microbial antagonism. Formation of mycelium on the moldboard soil tillage and minimal tillage related with the development of antagonistic microflora. The authors created more favourable conditions for antagonistic growth and concentration to F. culmorum in the Ob basin by means of application of general agricultural preparation of the leached chernozem. The researchers observed less number of antagonistic microbes under no-tillage and minimal soil tillage. Application of N_{60} and $P_{60}K_{60}$ under minimal soil tillage slightly increased the density of antagonistic microbes to the soil phytopathogen F. culmorum. Under no-till, the mineral fertilizers increased on 28% the soil antagonistic potential to the fungi; the fertilizers made the antagonistic microbes active as that in the leached chernozem under soil tillage.*