

## Перспективы использования *Fisherella muscicola* и азиды натрия для подавления развития *Fusarium solani*

© 2013. А. Р. Гайфутдинова<sup>1</sup>, аспирант,  
Л. И. Домрачева<sup>1,2</sup>, д.б.н., профессор, с.н.с.,  
Л. В. Трефилова<sup>1</sup>, к.б.н., доцент,

<sup>1</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия,

<sup>2</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
e-mail: dli-alga@mail.ru

В статье рассматривается возможность использования против фитопатогенного гриба *Fusarium solani* химического препарата азиды натрия и в качестве микроба-антагониста цианобактерии *Fisherella muscicola*. Доказан фунгистатический и фунгицидный эффект используемых агентов на сапрофитной фазе развития гриба, а также оздоровительное действие цианобактерии при выращивании ячменя в почве, заражённой фузариумом.

The article shows the possibility of using the chemical agent sodium azide together with the cyanobacteria *Fisherella muscicola* as a germ-a-antagonist to suppress anti-plant pathogenic fungus *Fusarium solani*. Fungistatic and fungicidal effect of the agents used in the saprophytic phase of the fungus, as well as the healing effect of cyanobacteria in growing barley in soil contaminated with *Fusarium* are proved.

Ключевые слова: фузариум, цианобактерии, азид натрия, фитопатогенность гриба

Keywords: fusarium, cyanobacteria, sodium azide, phytopathogenic fungi

Конец XX – начало XXI века – это время настоящего расцвета фитопатогенных и токсиногенных грибов. Микологи отмечают, что происходит стремительная эволюция микроскопических грибов в сторону повышения их агрессивности и вредоносности [1 – 3]. Среди микромицетов – оппортунистов и паразитов – одну из лидирующих позиций занимают грибы р. *Fusarium* [3, 4]. Опасность фузариев заключается не только в существенной гибели растений различных отделов и семейств, но и в опасности накопления фузариотоксинов в продуктах питания и кормах, что резко повышает риск появления острых и хронических заболеваний людей и животных [5 – 7]. Среди приёмов ограничения фузариозных инфекций по-прежнему на 1-й план выходит применение пестицидов, о негативных последствиях миграции которых в окружающей среде накоплены многочисленные примеры [8]. Кроме пестицидов, достаточно широко используются биопрепараты на основе микробов-антагонистов, содержащих различные группы про- и эукариотов: грамотрицательные бактерии, включая цианобактерии, грамположительные бактерии, в том числе и актиномицеты [9 – 14], а также различные микромицеты [15 – 19].

Однако до сих пор не существует надёжных и стабильных методов управления ходом развития популяций фузариумов в почве.

Цель данной работы – изучение антифузариозной активности химического соединения азиды натрия и цианобактерии *Fisherella muscicola* (Thur.) Gom.

### Объекты и методы исследования

В работе использован фитопатогенный гриб *Fusarium solani*, любезно предоставленный нам зав. лабораторией иммунитета и защиты растений ГНУ НИИСХ Северо-Востока д.б.н. Т. К. Шешеговой. В качестве микроба-антагониста испытывали культуру цианобактерии (ЦБ) *Fisherella muscicola*, выделенную из дерново-подзолистой луговой почвы (Оричевский район Кировской области) к.б.н., доцентом ВятГСХА А. Л. Ковиной. Данный вид ЦБ определила и отметила как впервые встреченный в Кировской области зав. кафедрой экологии Вятского государственного гуманитарного университета, д.б.н. Л. В. Кондакова.

В качестве химического фунгицида был выбран 0,3% раствор азиды натрия. Это соединение в сухом виде используется при производстве взрывчатых веществ. Для решения проблемы его конверсии в мирное время пытаются отыскать реальные пути его утилизации, безопасные для окружающей среды. В последние годы существуют попытки использования азиды натрия в качестве консерванта биологи-

ческого материала, а также как противогельминтозное и гербицидное средство при обработке урбанозёмов [20].

Для провокационного заражения грибом использовали семена ярового ячменя сорта Эльф.

Опыты были проведены в 2 этапа. На 1-м этапе работа проводилась на уровне чистых культур патогена и антагониста в чашках Петри со стерильной почвой. Опыт шёл при 60% влажности от п. в. В контрольном варианте в почву внесли макроконидии *F. solani* с титром  $(1,2 \pm 0,2) \cdot 10^7$ /мл, что составляет в нашем опыте 1,8 млн. КОЕ/г почвы. Этот титр намного больше плотности популяций фузариума, которой достаточно для заражения растений. По литературным данным [20], данный показатель колеблется от 100 до 100000 КОЕ/г почвы. Во 2-м варианте кроме макроконидий гриба в почву вносили культуру ЦБ *F. muscicola* с титром  $(7,2 \pm 0,19) \cdot 10^7$  клеток/мл. В 3-м варианте кроме макроконидий гриба в почву вносили 0,3% р-р азид натрия. Затем на гладко выровненную поверхность почвы раскладывали покровные стёкла (стёкла обрастания) и за фазами развития гриба наблюдали под микроскопом на 3-и и 7-е сутки с начала опыта. Наблюдения сводились к измерению длины мицелия, подсчёту численности всех видов спор (микроконидий, макроконидий, хламидоспор) во всех вариантах, а также к подсчёту численности клеток ЦБ в соответствующем варианте. Полив проводили средой Чапека, чтобы обеспечить питание гриба в стерильной почве в отсутствие растений.

На 2-м этапе опытов в микрокосмы с фузариумом и противофузариозными агентами,

оставшимися от предыдущего опыта, были внесены семена ячменя сорта Эльф. На поверхность почвы раскладывали по 30 семян в чашку Петри. Наблюдения над растениями проводили на 3-и (энергия прорастания) и 7-е сутки (всхожесть). При снятии опыта учитывали такие морфометрические показатели ячменя, как длина корней и проростков, их сухая масса. Учитывали также степень поражения растений грибами. Повторность опытов во всех случаях трёхкратная.

### Результаты и обсуждение

Изучение динамики развития *F. solani* в почве без растения показало, что из внесённого пула макроконидий в контрольном варианте происходит интенсивное развитие гриба. Так, если на 3-и сутки длина мицелия составила всего 2,8 м/см<sup>2</sup> и шло образование только микроконидий, то на 7-е сутки длина мицелия достигала уже 8,7 м/см<sup>2</sup>, и в структуре популяций были представлены все типы спороношения (табл. 1). При сравнении контрольного варианта с опытными было выявлено, что внесение в почву *F. muscicola* существенно ограничивало развитие фузариума как на мицелиальной стадии, так при макроконидиогенезе и при образовании хламидоспор. Однако при этом повышалась интенсивность образования микроконидий. Абсолютная величина длины грибного мицелия при действии цианобактерии на 7-е сутки снизилась по сравнению с контрольным вариантом (внесение в почву *F. solani*) более чем на порядок (табл. 1).

Применение азид натрия показало, что этот препарат обладает сильнейшим антифу-

Таблица 1

Структура популяции *Fusarium solani* на 3-и и 7-е сутки развития в почве

Вариант	Длина мицелия, м/см <sup>2</sup>	Количество микроконидий, экз./см <sup>2</sup>	Количество макроконидий, экз./см <sup>2</sup>	Количество хламидоспор, экз./см <sup>2</sup>
На 3-и сутки				
<i>Fusarium solani</i>	2,80±0,80	437±95	0	
<i>Fusarium solani</i> + <i>Fisherella muscicola</i>	0,52±0,22	1475±0	0	0
<i>Fusarium solani</i> + азид натрия	0	0	0	0
На 7-е сутки				
<i>Fusarium solani</i>	8,70±1,40	1282±275	1550±350	875±150
<i>Fusarium solani</i> + <i>Fisherella muscicola</i>	0,75±0,005	6950±1758	850±100	182±25
<i>Fusarium solani</i> + азид натрия	0	0	0	0

Таблица 2

Энергия прорастания семян ячменя, %	
Вариант	Энергия прорастания
<i>Fusarium solani</i>	94,3
<i>Fusarium solani</i> + <i>Fisherella muscicola</i>	97,7
<i>Fusarium solani</i> +азид натрия	0

Таблица 3

Морфометрические показатели семисуточных растений ячменя сорта Эльф			
Вариант	Высота проростка, см	Длина корней, см	Сухая масса, г
<i>Fusarium solani</i>	6,08±2,4	16,96±5,6	1,33±0,05
<i>Fusarium solani</i> + <i>Fisherella muscicola</i>	6,31±1,9	20,29±8,2	1,63±0,2
<i>Fusarium solani</i> +азид натрия	0	0	0

зариозным действием, полностью прекращая развитие *F. solani*.

Таким образом, в сапрофитной фазе развития ЦБ *F. muscicola* оказывает сильное фунгистатическое действие на фитопатогенный микромицет *F. solani*, в то время как 0,3% р-р азид натрия обладает мощным фузариоцидным эффектом, не давая возможности прорастания внесённым в почву макроконидиям гриба.

2-я серия опытов была проведена с семенами ячменя сорта Эльф по методике, описанной выше. Наблюдения над развитием растений проводили дважды: на 3-и сутки определяли энергию прорастания, а 7-е сутки – морфометрические показатели (длина корней и проростков, их сухая масса), а также количество поражённых растений. Как видно из таблицы 2, гриб незначительно снизил энергию прорастания ячменя по сравнению с лабораторной всхожестью семян (100%) и по сравнению с вариантом, где кроме фузария была внесена культура ЦБ. В то же время азид натрия затормозил развитие растений полностью, как и развитие гриба в предыдущем опыте (табл. 1 и 2). К моменту снятия опыта (на 7-е сутки) в варианте с азидом натрия проросших растений по-прежнему не наблюдалось, что явно свидетельствует о токсичности 0,3% р-ра азид натрия для данного сорта ячменя.

Определение высоты проростков, длины корней и урожая сухой массы ячменя показало, что существует тенденция стимуляции линейного роста вегетативных органов при внесении в заражённую грибами почву ЦБ *F. muscicola*, наиболее явно выраженная для корневой системы (табл. 3). Кроме того, незначительно увеличивается сухая масса проростков.

Поражение растений инфекцией в варианте с фузариумом достигает 100%, тогда как

дополнительное внесение фишереллы в почву приводит к снижению этого показателя до 13%, т. е. более чем в 7 раз.

Таким образом, фунгистатический эффект *F. muscicola* и фунгицидный эффект азид натрия по отношению к *F. solani* сохраняется и на паразитической стадии развития гриба в присутствии высшего растения.

Динамика развития инокулированной в почву ЦБ *F. muscicola* отличалась прогрессирующим характером размножения её клеток на поверхности, достигая в конце опыта феномена «цветения» почвы. Так, при первом обследовании (3-и сутки) численность фишереллы достигала всего 1200 клеток/см<sup>2</sup>, на 7-е сутки – 100000 клеток/см<sup>2</sup>, в конечной серии опытов в присутствии высшего растения в почве этот показатель составлял более 20 млн клеток/см<sup>2</sup> (через 2 недели после инокуляции почвы ЦБ).

### Заключение

Массовое распространение фузариозных инфекций во всех регионах планеты, существенное снижение урожая от этих инфекций, накопление фузариотоксинов в продуктах питания и кормах сельскохозяйственных животных требуют интенсификации исследований по поискам методов и приёмов, снижающих риск фузариомикозов и фузариотоксикозов. В арсенале противофузариозных средств защиты растений имеются как химические, так и биологические препараты. Однако использование современных фунгицидов и биопрепаратов с культурами микробов-антагонистов различной систематической принадлежности полностью решить эту проблему всё ещё не в состоянии. Поэтому продолжается поиск химических и биологических агентов, наиболее

эффективных против фузариумов. Разработки последних десятилетий показывают, что среди бактерий очень сильной антифузариозной активностью обладают некоторые штаммы почвенных ЦБ, в частности, такие, как *Nostoc paludosum*, *N. linckia*, *N. muscorum*, *Microchaetae tenera*, которые успешно использовались на овощных, зерновых, бобовых, декоративных культурах и при выращивании сеянцев и саженцев хвойных пород [21]. Было показано, что реинтродукция ЦБ в почву с семенами или иным посадочным материалом повышает супрессивность почвы, способствует её оздоровлению от фузариозных инфекций. Размножаясь в почве, ЦБ способны в течение всего вегетационного сезона сдерживать агрессивность фитопатогенов, одновременно стимулируя рост высшего растения и повышая его иммунитет. Скрининг новых штаммов ЦБ, выделенных из почвы за последнее время, показал, что повышенной антифузариозной активностью обладает *F. muscicola*, литическая активность которой по отношению к различным видам фузариума превышает миколитическую активность лицензионных биопрепаратов триходермин (на основе *Trichoderma lignorum*) и гамаир (на основе *Bacillus subtilis*) [22]. Результаты серии опытов, представленные в данной работе, также указывают на перспективность проведения дальнейших исследований по использованию *F. muscicola* в качестве антифузариозного биоагента.

Сложнее складывается ситуация с применением азида натрия. Проведённые лабораторные опыты показали, что как биофунгицид он обладает практически 100% гарантией уничтожения фитопатогена. Но в применяемой концентрации (0,3%) он одновременно токсичен и для высшего растения. Хотя в наших предыдущих исследованиях, проведённых в природных условиях, по испытанию азида натрия в качестве гербицида [20] установлено, что токсическое действие препарата снимается, если он был внесён в почву за 2 недели до посева семян. При этом происходит стимуляция размножения автохтонных ЦБ. Более того, внесение азида натрия до посева действует аналогично внесению азотных удобрений, повышая урожай растений. Следовательно, дальнейшие разработки по возможности использования азида натрия в качестве фунгицида вполне реальны. Однако следует тщательно выверять сроки его внесения в почву перед посадкой растений; концентрацию, безопасную для растения, но губительную для фитопатогенов; сочетаемость

с микробами-антагонистами, в частности, с ЦБ при совместном использовании химического и биологического способов защиты растений.

## Литература

1. Монастырский О.А. Мониторинг токсинообразующих грибов зерновых злаков // Агрохимия. 2001. № 8. С. 79–87.
2. Соколов М.С. Экологизированное растениеводство как фактор устойчивого развития АПК России // Вестник защиты растений. 2001. № 1. С. 63–70.
3. Шешегова Т.К. Мониторинг патогенной и сапрофитной микрофлоры на посевах озимой ржи в Северо-Восточном регионе Нечерноземной зоны Российской Федерации // Вопросы экологии и природопользования в аграрном секторе: Матер. Всерос. науч.-практ. конф. М.: АПК, 2003. С. 285–289.
4. Стогниенко О.И., Шамин А.А. Микологическая индикация фитопатологического состояния почв свекловичного агроценоза // Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред: Тез. докл. междунар. конф. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. С. 201.
5. Logrieco A., Mule G., Moretti A., Bottalico A. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear in Europe // Eur. J Plant Pathol. 2002. V. 108. № 7. P. 597–609.
6. Левитин М.М. Микотоксины фитопатогенных грибов и микотоксикозы человека // Успехи медицинской микологии: Матер. 1-го Всерос. конгр. по медицинской микологии. М.: НАМ, 2003. Т. 1. С. 148–150.
7. Охалкина В.Ю., Ханжин А.А. Эколого-эпидемиологическое значение микромицетов рода *Fusarium* // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 2. С. 5–14.
8. Домрачева Л.И., Ашихмина Т.Я., Кондакова Л.В., Березин Г.И. Реакция почвенной микробиоты на действие пестицидов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2012. № 3. С. 4–18.
9. Лихачев А.И., Садыкова В.С. Установление комплекса признаков-тестов по отбору антагонистов для биоконтроля фитопатогена (на примере грибов рода *Trichoderma*) // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. М. 2007. С. 33–47.
10. Александрова А.В., Великанов В.В., Сидорова И.И., Сизова Т.П. Влияние грибов-интродуцентов на сапротрофные почвенные микромицеты // Микология и криптогамная ботаника в России: традиции и современность. С-Петербург. 2000. С. 49–51.
11. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В. Использование почвенных цианобактерий при выращивании посадочного материала сосны и ели // Почвы – национальное достояние России: Матер. IV съезда Докучаевского общества почвоведов России. Новосибирск. 2004. Кн. 2. С. 330.
12. Крючкова Л.А., Драгозов И.В., Лапа С.В., Жукова Д.А., Авдеева Л.В. Методические подходы к оцен-

ке антагонизма бактерий рода *Bacillus* по отношению к фитопатогенным грибам // Современная микология России: Матер. 3-го съезда микологов России. М. 2012. Т. 3. С. 342–343.

13. Широких И.Г., Шешегова Т.К. Метаболические взаимодействия актиномицетов с фитопатогенными грибами рода *Fusarium* // Матер. науч. сессии. Киров. 2001. С. 228–230.

14. Широких И.Г., Мерзаева О.В. Биологическая активность *Streptomyces hygroscopicus* против фитопатогенного гриба *Fusarium avenaceum* в ризосфере // Микология и фитопатология. 2008. Т. 42. № 6. С. 586–591.

15. Тренин А.С., Лапчинская О.А., Куляева В.В., Гладких Е.Г., Галатенко О.А., Федорова Г.Б., Катруха Г.С. ИНА-1278 – антибиотик из группы ирумамицина, обладающий высокой противогрибковой активностью // Современная микология России: Матер. 3-го съезда микологов России. М. 2012. Т. 3. С. 355–356.

16. Latz E., Eisenhauer N., Rall B.C., Allan E., Roscher C., Scheu S., Jousset A. Plant diversity improves protection against soil-borne pathogens by fostering antagonistic bacterial communities // J. Ecol. 2012. V. 100. № 3. P. 597–604.

17. Гродницкая И.Д., Сорокин Н.Д. Внесение микробов-интродуцентов в лесные почвы питомников Сибири // Почвоведение. 2007. № 3. С. 359–364.

18. Monteiro V.N., Nascimento S.R., Steindorff A.S., Costa F.T., Noronha E.E., Ricart C.A.O., Sousa M.V., Vainstein M.H., Ulhoa C.J. New insights in *Trichoderma harzianum* antagonism of fungal plant pathogens by secreted protein analysis // Curr. Microbiol. 2010. V. 61. № 4. P. 298–305.

19. Старшов А.А., Коломбет Л.В., Дунайцев И.А., Жиглецова С.К., Клыкова М.В., Кондрашенко Т.Н., Антошина О.А., Гладышева О.В. Использование фосфатрастворяющих и фунгицидных свойств микроорганизмов для улучшения фосфорного питания и защиты зерновых культур от фузариоза колоса // Современная микология России: Матер. 3-го съезда микологов России. М. 2012. Т. 3. С. 354–355.

20. Особенности урбоэкосистем подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока / Под ред. Т.Я. Ашихминой, Л.И. Домрачевой. Киров: Изд-во ВятГГУ, 2012. 282 с.

21. Домрачева Л.И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. Сыктывкар. 2005. 336 с.

22. Елькина Т.С., Гайфутдинова А.Р., Домрачева Л.И. Антифузариозная активность различных препаратов // Бизнес, наука, экология родного края: проблемы и пути их решения: Матер. Всерос. научно-практ. конф.-выставки экологических проектов с междунар. участием. Киров: Изд-во ООО «Веси», 2013. С. 226–228.

УДК 633.16:631.528.1

## Генетическая изменчивость растений ярового ячменя под влиянием карбоната калия и облучения красным светом

© 2013. Г. П. Дудин, д.б.н., зав. кафедрой, Л. Н. Двинских, аспирант, Вятская государственная сельскохозяйственная академия, e-mail: lyudmila.dvinskix@mail.ru

В статье представлены результаты изучения реакции растений ячменя на замачивание семян в 0,01; 0,1; 1 моль/л растворах карбоната кальция, облучение красным светом (длина волны 632,8 и 754 нм) и совместное действие этих факторов. Приведены данные по частоте и спектру возникающих хлорофилльных мутаций и морфологических изменений у растений второго поколения. Установлены варианты обработки семян с наибольшей изменчивостью растений.

In article results of studying of reaction of plants of barley on soaking of seeds are presented to  $K_2CO_3$  solutions with concentration 0,01; 0,1; 1 M, radiation by red light (length of a wave of 632,8 and 754 nanometers) and joint action of these factors. Data on frequency and range of arising chlorophyllny mutations and morfofiziologicheskyy changes at plants of the second generation are provided. Options of processing of seeds with the greatest variability of plants are established.

Ключевые слова: изменчивость растений, когерентный монохроматический и дальний красный свет, карбонат калия

Keywords: variability of plants, coherent monochromatic and driving red beam, potassium carbonate

Одна из основных задач современной биологии состоит в исследовании особенностей развития организма в зависимости от экологи-

ческих факторов среды. В силу малоподвижного образа жизни растения особенно подвержены влиянию ряда субоптимальных внеш-