

11. Mingaleva N.A. The vital status of green spaces in the urban environment (by the example of Syktyvkar): Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk., Syktyvkar, 2012. 20 p. (in Russian).
12. Shushpannikova G.S. Synanthropic changes in the flora of Syktyvkar // *Ecologiya*. 2001. T. 32. № 2. С. 130–134 (in Russian).
13. Martynov L.G. Introduced woody plants in landscaping plantings of the Komi ASSR // *Osobennosti rosta i razvitiya introducentov na Severe*. Syktyvkar, 1987. P. 107–115 (Tr. Komi fil. AN SSSR. № 87) (in Russian).
14. Martynov L.G. Range of woody plants for landscape gardening of settlements in the Republic of Komi. Syktyvkar, 1992. 32 p. (Ser. Nauch. rekomendatsii narodnomu hozyaystvu. V. 105. Komi NTs UrO RAN) (in Russian).
15. Martynov L.G., Skupchenko L.A., Vokueva F.V. The problems of insufficient planting of trees and shrubs in Syktyvkar, Komi Republic // *Vestnik IrGSHA*, 2011. V. 5. № 44. P. 55–63 (in Russian).
16. Yurkina E.V., Pestov S.V. Variety and characteristics of insects in large cities in the northern territories of Russia (by the example of Syktyvkar). St. Petersburg, 2015. 192 p. (in Russian)
17. Yurkina E.V., Pestov S.V. The specificity of regional entomological monitoring in a large Northern town of European Russia // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2016. № 1. P. 64–72 (in Russian).
18. Mingaleva N.A., Pestov S.V., Zagirova S.V. Health status and biological damage to tree leaves in green areas of Syktyvkar // *Contemporary Problems of Ecology*. 2011. V. 4. № 3. P. 310–318.

УДК 631.46:58.051

Оценка совместного действия цианобактерии *Fischerella muscicola* и стрептомицетов на растения в модельном опыте

© 2017. Е. В. Товстик^{1,2,3}, к. б. н., доцент, магистрант, н. с.,
И. Г. Широких^{1,3,4}, д. б. н., профессор, зав. лабораторией, в. н. с.,
Л. И. Домрачева^{2,4}, д. б. н., профессор, в. н. с.,

¹ Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, 36,

² Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, 133,

³ Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства
Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, 166 а,

⁴ Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,
e-mail: tovstik@inbox.ru

Изучали способность двух культур почвенных стрептомицетов *Streptomyces wedmorensis* 38.11 и *S. noursei* 75.5 в условиях симбиотического взаимодействия с цианобактерией *Fischerella muscicola* 300 и по отдельности оказывать фиторегуляторное и биоконтрольное действие на проростки пшеницы в модельном опыте. Показано изменение направленности действия двухкомпонентных симбиотических ассоциаций на проростки по сравнению с монокультурами цианобактерии и стрептомицетов. В обычных условиях установлена стимуляция роста проростков в результате инокуляции семян смешанной культурой *S. wedmorensis* 38.11 + *F. muscicola* 300. На инфекционном фоне, созданном внесением в субстрат конидий фитопатогенного гриба *Fusarium avenaceum*, ростстимулирующее действие двухкомпонентных ассоциаций, как и монокультур исследованных микроорганизмов, не установлено. Характер взаимодействия искусственных ассоциаций стрептомицетов с *F. muscicola* на проростки пшеницы может изменяться в зависимости от условий выращивания растений и вида стрептомицета. Компоненты в составе модельных ассоциаций изменяют физиологию друг друга таким образом, что некоторые свойства отдельных культур в ассоциации могут утрачиваться либо появляться вновь.

Ключевые слова: стрептомицеты, цианобактерии, двухкомпонентные ассоциации, *Fusarium avenaceum*, инфекционный фон, проростки пшеницы, морфометрические показатели.

Effect of cyanobacteria *Fischerella muscicola* and streptomycetes on plants in the model experimentt

E. V. Tovstik^{1,2,3}, I. G. Shirokikh^{1,3,4}, L. I. Domracheva^{2,4},

¹ Vyatka State University,

36 Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

² Vyatka State Agricultural Academy,

133 Oktyabrskiy Prospect, Kirov, Russia, 610017,

³ N.V. Rudnitskiy Zonal North-East Agricultural Research Institute,

166 a Lenin St., Kirov, Russia, 610007,

⁴ Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS,

28 Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

e-mail: tovstik2006@inbox.ru

In the model experiment the ability of two cultures of soil streptomycetes *Streptomyces wedmorensis* 38.11 and *S. noursei* 75.5 in symbiotic association both with the cyanobacteria *Fischerella muscicola* 300 and individually to make a growth regulatory and biocontrol effect on wheat seedlings of was studied. Morphometric parameters of seedlings varied in different ways depending on the variant of inoculation: monoculture or binary association. Under normal conditions stimulation of seedlings growth was shown as a result of inoculation by association of *S. wedmorensis* 38.11 + *F. muscicola* 300 and inhibition as a result of inoculation by association *S. wedmorensis* 38.11 + *S. noursei* 75.5. Monoculture of microorganisms and binary associations with *F. muscicola* 300 on the background of the infectious fungus *Fusarium avenacium* did not have a stimulatory effect on wheat seedlings. Decrease in root length of plants in infectious conditions was stated as compared with the plants which have been grown up in usual conditions: in the control by 47%, and at processing with the artificial association *S. wedmorensis* + *F. muscicola* – by 67%. The character of interaction between microorganisms and wheat seedlings can vary depending on growing conditions of the plant and the species of streptomycetes. A positive effect of seeds processing of was stated in conditions of absence of infection and for the mixed culture *S. wedmorensis* 38.11 + *F. muscicola* 300, whereas the influence of other artificial association *S. noursei* 75.5 + *F. muscicola* was accompanied with the opposite effect. Components in model association alter physiology to each other in such a way that some of the properties of individual cultures in association may be lost, or reappear.

Keywords: streptomycetes, cyanobacteria, binary association, *Fusarium avenacium*, infectious background, wheat seedlings, morphometric parameters.

Внедрение в сельское хозяйство биологических препаратов на основе высокоэффективных штаммов микроорганизмов является действенной альтернативой использованию химических пестицидов, позволяя получать экологически безопасную растениеводческую продукцию, исключая при этом загрязнение почвы. Метаболиты микробов-продуцентов применяемых биопрепаратов, являясь природными соединениями, не аккумулируются в окружающей среде и легко подвергаются деструкции [1].

В настоящее время значительная доля урожая многих сельскохозяйственных культур гибнет вследствие поражения посевов фитопатогенными грибами [2]. Наиболее вредоносные среди них – грибы рода *Fusarium*. Помимо потерь, обусловленных грибными инфекциями, употребление пищевых продуктов, изготовленных на основе инфицированного сырья, может вызывать у человека фузариотоксикозы [3].

Для борьбы с грибными заболеваниями растений предложен широкий спектр фунги-

цидов, однако значительную долю среди них составляют химические средства (Амистар Экстра, Суми-8 и др.). Немногочисленные биопрепараты для защиты растений производятся преимущественно на основе антагонистически активных бактериальных культур родов *Bacillus* (Фитоспорин-М, Алирин-Б, Гамаир и др.) и *Pseudomonas* (Псевдобактерин-2, Ризоплан и др.), а также грибов рода *Trichoderma* (Триходермин, Глиокладин, Стернифаг и др.). Биопестицидов на основе искусственных ассоциаций актиномицетов и цианобактерий (ЦБ) до сих пор не зарегистрировано [4].

Идея создания биопрепарата на основе консорциума актиномицета и ЦБ базируется на основе широкого распространения в природе сообществ, структурными компонентами которых являются ЦБ. Примером служат такие симбиотические ассоциации, как альго-цианобактериальные маты, биоплёнки и лишайники. В местах первичного почвообразования на осадочных карбонатных породах обнаружены альго-бактериальные ассоциации (актинолишайники), в которых

актиномицеты составляют доминирующий компонент прокариотного сообщества [5–7].

В экспериментальных условиях ассоциации и симбиозы с участием актиномицетов сильно различаются характером воздействия партнёров друг на друга, значимостью и степенью изученности. В наших предыдущих исследованиях был выявлен положительный синергический эффект от совместной инокуляции проростков пшеницы культурами *Nostoc linckia* и *Streptomyces luteogriseus* – изолята из ризосферы овса с антифузариозной активностью [8]. При исследовании возможности повышения антифузариозной активности вступающих в ассоциацию с ностоками почвенных актиномицетов были получены отрицательные результаты [9]. Среди причин снижения антагонистической активности актиномицетов в изученных комбинациях с ЦБ предполагается, что продукция антибиотиков может становиться для них излишней в условиях ассоциативного роста [10].

Выделение в альгологически чистую культуру ЦБ *Fischerella muscicola* и тестирование её биологической активности *in vitro* и *in vivo* показало, что данный вид обладает комплексом агрономически полезных свойств: стимулирует рост различных сельскохозяйственных культур, подавляет развитие фитопатогенов, повышает степень нодуляции у бобовых растений при бинарной инокуляции семян совместно с ризобиями [11].

Цель данной работы – выяснить направленность действия на проростки пшеницы смешанных стрептомицетно-цианобактериальных культур на основе *Fischerella muscicola* в обычных условиях и на искусственном инфекционном фоне для оценки возможности создания биопрепаратов фиторегуляторного и биоконтрольного действия.

Объекты и методы исследования

В модельном опыте изучали действие предпосевной обработки семян пшеницы сорта Приокская жидкими культурами почвенных стрептомицетов *Streptomyces wedmorensis* 38.11 и *S. noursei* 75.5 (из коллекции лаборатории биотехнологии растений и микроорганизмов НИИСХ Северо-Востока), ЦБ *Fischerella muscicola* (Thur.) Gom. 300 (из коллекции кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской государственной сельскохозяйственной академии), а также двухкомпонентными смешанными ассоциациями этих микроор-

ганизмов, на морфометрические показатели проростков.

Монокультуры стрептомицетов выращивали в течение 14 сут в жидкой питательной среде Гаузе 1 [16] на качалке (120 об./мин), цианобактерий – на среде Громова № 6 без азота на свету, а затем те и другие в жидкой минеральной среде ВГ-11 [12]. Смешанные двухкомпонентные культуры получали путём попарного объединения в 50 мл минеральной среды ВГ-11 по 1 мл чистых культур стрептомицета и ЦБ. Культивировали искусственные ассоциации на свету до появления видимых нитей ЦБ и глобул стрептомицетов.

Растения выращивали в обычных условиях и на искусственном инфекционном фоне. Сосуды объёмом 200 мл заполняли стерильным кварцевым песком (100 г/сосуд), увлажнённым раствором Кнопа. Инфекционный фон создавали путём внесения в песок споровой суспензии фитопатогенного гриба *Fusarium avenaceum* 7/2 в количестве 12–14 пропагул/г песчаного субстрата.

Семена пшеницы замачивали на 24 час в жидких монокультурах и в смешанных двухкомпонентных ассоциациях, используя их разведения дистиллированной водой в соотношении 1:100. В контроле для замачивания семян использовали среду ВГ-11 в том же разведении. Набухшие семена высаживали в сосуды. Полив растений осуществляли раствором Кнопа [12]. Каждый вариант опыта закладывали в трёх повторениях. Сосуды с семенами помещали в световую камеру с фотопериодом 16 час. Спустя 27 сут после начала опыта проростки извлекали из песка, отмывали, определяли длину корня и побега. Затем растения высушивали до постоянного веса и определяли воздушно-сухую массу растений.

Полученные данные обрабатывали стандартным методом двухфакторного дисперсионного анализа [13].

Результаты и их обсуждение

Сравнение показателей линейного роста проростков пшеницы с предпосевной инокуляцией семян монокультурами и искусственными ассоциациями исследуемых микроорганизмов выявило широкую вариабельность, характеризующую различный характер откликов растений, выращенных на инфекционном и неинфекционном фоне. Отмечено достоверное снижение длины корня растений на инфекционном фоне по сравнению с растениями, выращенными в обычных условиях:

в контроле на 47%, а при инокуляции искусственной ассоциацией *S. wedmorensis* + *F. muscicola* – на 67% (рис.).

В обычных условиях, без внесения в субстрат спор гриба *F. avenaceum*, монокультура *F. muscicola* не оказала достоверного влияния на корни проростков, а монокультуры стрептомицетов *S. wedmorensis* и *S. noursei* способствовали снижению этого показателя, тогда как инокуляция семян смешанной культурой *S. wedmorensis* + *F. muscicola*, напротив, привела к увеличению длины корня на 27% по сравнению с контролем. В то же время инокуляция семян искусственной ассоциацией *S. noursei* + *F. muscicola* угнетала корневую систему, снизив по сравнению с контролем длину корня на 49%. В условиях инфекционного фона достоверных отличий в длине корней между вариантами предпосевной обработки семян не выявлено.

В отличие от развития корневой системы средняя по вариантам предпосевной обработки длина побегов у проростков пшеницы на инфекционном и неинфекционном фоне различалась несущественно (рис.). В обычных условиях отмечали стимулирующее (на 22%) действие на рост побега предпосевной обработки *S. wedmorensis* + *F. muscicola*. Составляющие

эту искусственную ассоциацию компоненты в той же степени способствовали увеличению длины побега: *S. wedmorensis* – на 21%, *F. muscicola* – на 22%.

При выращивании инокулированных проростков на инфекционном фоне существенных различий между вариантами по длине побегов, как и в случае с корневой системой, не выявлено.

Стимулирующий эффект предпосевной инокуляции семян в некоторых вариантах не сопровождался увеличением биомассы проростков. Напротив, этот показатель снизился как в обычных условиях, так и на инфекционном фоне (рис.). В контроле без инокуляции биомасса, по сравнению с растениями, выращенными в обычных условиях, снизилась на инфекционном фоне на 30%, а в результате предпосевной обработки *S. wedmorensis* + *F. muscicola* только на 20%. Еще сильнее снизилась, по сравнению с контролем, биомасса растений в результате обработки семян монокультурами: *F. muscicola* (на 36%), *S. wedmorensis* (39%), *S. noursei* (на 51%) без фузариозной инфекции. На инфекционном фоне биомасса проростков по вариантам опыта, так же как и линейные показатели, изменялась не существенно.

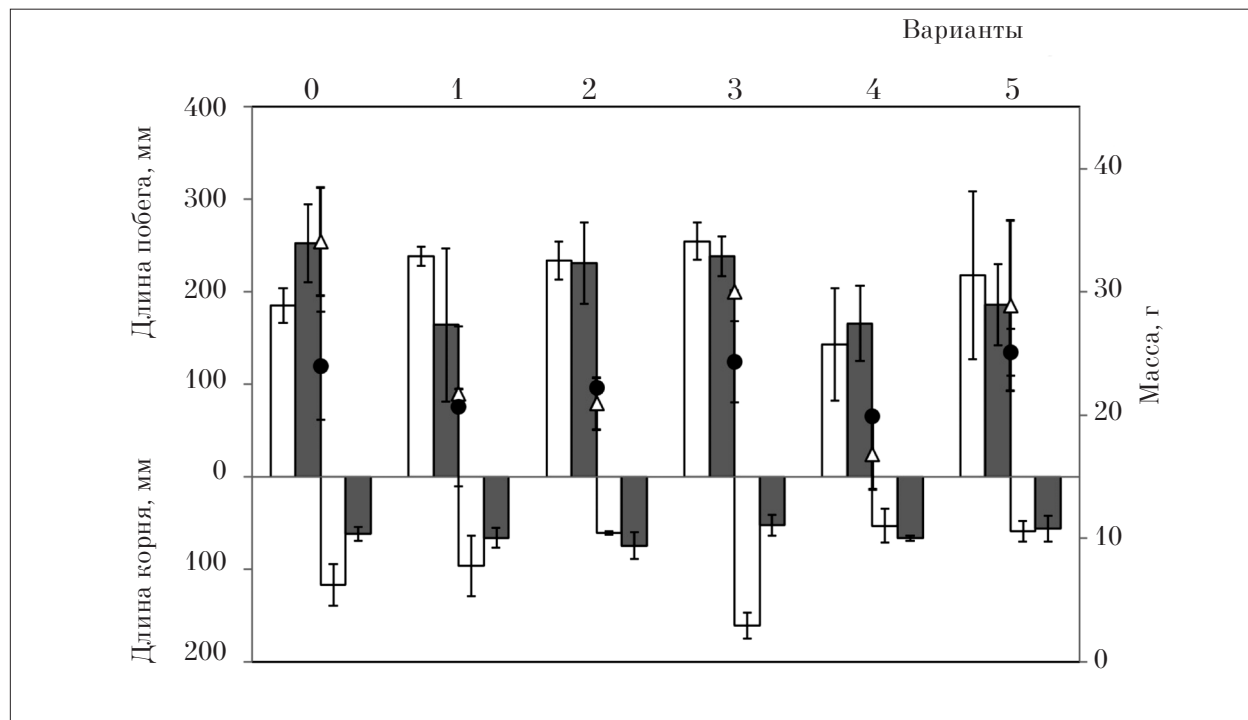


Рис. Длина побегов и корней (по левой оси: белый столбик – неинфекционный фон, серый – инфекционный фон), масса проростков (по правой оси: белый треугольник – неинфекционный фон, чёрный кружок – инфекционный фон) в зависимости от варианта предпосевной обработки семян: 0 – контроль, 1 – *F. muscicola*, 2 – *S. wedmorensis* 38.11, 3 – *S. wedmorensis* 38.11 + *F. muscicola*, 4 – *S. noursei* 75.5, 5 – *S. noursei* 75.5 + *F. muscicola*

Таблица

Оценка степени влияния факторов на рост проростков

Фактор	Сумма квадратов	Число степеней свободы	Критерий Фишера	Уровень значимости
Длина корня				
Фон	66,86	1	11,48	0,0018*
Инокуляция	35,64	3	2,04	0,1262
Взаимодействие факторов Фон × Инокуляция	74,15	3	4,24	0,0117*
Случайное варьирование	203,85	35	–	
Общее варьирование	349,16	42		
Длина побега				
Фон	0,55	1	0,02	0,8841
Инокуляция	55,95	3	0,73	0,5401
Взаимодействие факторов Фон × Инокуляция	202,09	3	2,64	0,0645*
Случайное варьирование	892,19	35	–	
Общее варьирование	1164,35	42		

Примечание: * – достоверно отличается от контроля, прочерк обозначает, что показатель не рассчитывали.

Для разграничения влияния различных факторов на варьирование морфометрических показателей проростков пшеницы был проведён двухфакторный дисперсионный анализ (табл.). Оценивали влияние факторов: инокуляция семян (градации: контроль, ЦБ, стрептомицет, стрептомицет + ЦБ); фон, на котором выращивали растения (градации: обычные условия и фузариозный инфекционный фон).

Результаты показали, что на варьирование показателя биомассы проростков ни один из факторов не оказал существенного влияния. На показатели линейного роста проростков (длину корня и побега) достоверное влияние оказало взаимодействие факторов Фон – Инокуляция. Наиболее сильным в опыте оказалось влияние на варьирование длины корня фактора Фон.

Заключение

Таким образом, результаты проведённых исследований показывают, что характер воздействия искусственных ассоциаций стрептомицетов с ЦБ *F. muscicola* на проростки пшеницы может изменяться в зависимости от условий роста растений и вида стрептомицетного компонента. Положительный эффект от инокуляции семян прослеживался лишь в условиях отсутствия фузариозной инфекции и для смешанной культуры *S. wedmorensis* 38.11 + *F. muscicola* 300, тогда как влияние другой искусственной ассоциации *S. noursei* 75.5 + *F. muscicola* сопровождалось противоположным эффектом. Компоненты в составе модельных актиномицетно-цианобактериальных

ассоциаций, по-видимому, изменяют физиологию друг друга таким образом, что некоторые свойства отдельных культур в ассоциации могут утрачиваться либо появляться вновь. Особый интерес в связи с этим вызывает изучение особенностей взаимоотношений микроорганизмов не только в двухкомпонентных надорганизменных системах «стрептомицет-цианобактерия», но и в условиях трёхкомпонентных ассоциаций «стрептомицет-цианобактерия-фитопатогенный микромицет». Возможной практической перспективой таких исследований может явиться не только создание фитостимулирующих и биоконтрольных препаратов, но и разработка биогербицидов.

Литература

1. Дятлова К.Д. Микробные препараты в растениеводстве // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7. № 5. С. 17–22.
2. Монастырский О.А., Першакова Т.В., Кузнецова Е.В. Вредоносность возбудителей фузариоза зерна пшеницы // Защита и карантин растений. 2009. № 7. С. 16–17.
3. Овсянкина А.В. Фузариозные микотоксины, загрязняющие зерно и вызывающие болезни животных и человека // Теория и практика паразитарных болезней животных. 2013. № 14. С. 281–284.
4. Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории Российской Федерации. М.: Агрорус, 2015. 731 с.
5. Заварзин Г.А. Избранные труды. М.: МАКС Пресс, 2015. 512 с.
6. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Экология актиномицетов: монография. М.: ГЕОС, 2001. 257 с.

7. Raven J.A. Evolution of cyanobacterial symbioses // Cyanobacteria in symbiosis. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 2002. P. 329–346.

8. Домрачева Л.И., Широких И.Г. Фокина А.И. Антифузариозное действие цианобактерий и актиномицетов в почве и ризосфере // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. Вып. 2. С. 157–165.

9. Широких И.Г., Зиновьева Д.А., Огородникова С.Ю., Широких А.А. Экспериментальное получение симбиотических ассоциаций почвенных стрептомицетов с цианобактериями // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 1. С. 101–106.

10. Широких И.Г., Домрачева Л.И. Особенности взаимодействия цианобактерий с ризосферными и почвенными стрептомицетами // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Матер. II Междунар. научно-практ. конф., посвящённой 105-летию со дня рождения профессора Эмилии Адриановны Штиной. Киров: Вятская ГСХА, 2015. С. 305–308.

11. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Горностаева Е.А., Малыгина О.Н., Новокшонова Н.В. Влияние способов предпосевной обработки семян люцерны рогатого (*Lotus corniculatus* L.) на всхожесть и интенсивность образования клубеньков // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 3. С. 67–72.

12. Практикум по микробиологии. М.: Изд. центр «Академия», 2005. 608 с.

13. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.

References

1. Dyatlova K.D. Microbial preparations in crop // Sorosovskiy obrazovatelnyy zhurnal. 2001. Т. 7. № 5. P. 17–22 (in Russian).

2. Monastyrskiy O.A., Pershakova T.V., Kuznetsova E.V. The harmfulness of *Fusarium* pathogens of wheat // Zashita i karantin rasteniy. 2009. № 7. P. 16–17 (in Russian).

3. Ovsyankina A.V. *Fusarium mycotoxins* contaminating the grain and causing diseases of animals and humans // Theoriya and praktika parazitarnykh bolezney zhivotnykh. 2013. № 14. P. 281–284 (in Russian).

4. Reference of pesticides and agrochemicals permitted for use in the Russian Federation. М.: Agrorus, 2015. 731 p. (in Russian).

5. Zavarzin G.A. Selected works. М.: MAKS Press, 2015. 512 p. (in Russian).

6. Zvyagintsev D.G., Zenova G.M. Ecology of actinomycetes. М.: GEOS, 2001. 257 p. (in Russian).

7. Raven J.A. Evolution of cyanobacterial symbioses // Cyanobacteria in symbiosis. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 2002. P. 329–346.

8. Domracheva L.I., Shirokikh I.G., Fokina A.I. Anti-*Fusarium* effects of cyanobacteria and actinomycetes in soil and rhizosphere // Mycologiya i phytopatologiya. 2009. V. 43. № 2. P. 157–165 (in Russian).

9. Shirokikh I.G., Zinovieva D.A., Ogorodnikova S.Y., Shirokikh A.A. Experimental obtaining symbiotic associations of cyanobacteria with soil streptomycetes // Theoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2013. № 1. P. 101–106 (in Russian).

10. Shirokikh I.G., Domracheva L.I. Features of interaction of cyanobacteria and soil streptomycetes from the rhizosphere // Algae and cyanobacteria in natural and agricultural ecosystems: Mater. II mezhdunar. nauch.-pract. konferentsii posvyashchennoy 105-letiyu so dnya rozhdeniya Emilii Adrianoyny Shtinoy. Kirov. 2015. P. 305–308 (in Russian).

11. Domracheva L.I., Trefilova L.V., Kovina A.L., Gornostaeva E.A., Malygina O.N., Novokshonova N.V. Influence of the ways of pretreatment of seeds of lotus horned (*Lotus corniculatus* L.) on germination rate and nodulation intensity // Theoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2014. № 3. P. 67–72. (in Russian).

12. Workshop on microbiology. М.: Academiya, 2005. 168 p. (In Russian).

13. Lakin G.F. Biometrics. М.: Vysshaya schkola, 1990. 352 p.