

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, г. Алматы)

**МИКРОБНАЯ КОНТАМИНАЦИЯ СЕМЯН СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ
РАСТЕНИЙ И
ПОИСК АНТАГОНИСТОВ ДЛЯ ОЗДОРОВЛЕНИЯ ОКУЛЬТУРЕННЫХ ПОЧВ**

Аннотация

Определены всхожесть и контаминация фитопатогенными и условно-патогенными микроорганизмами семян ряда сельскохозяйственных растений. Показана высокая степень контаминации семян грибковыми и бактериальными микроорганизмами. С целью создания биопрепарата для защиты сельскохозяйственных растений и оздоровления окружающей среды выделены и отобраны микроорганизмы, способные к подавлению роста фитопатогенных и условно-патогенных грибов, фитопатогенных и гнилостных бактерий.

Ключевые слова: фитопатогены, условно-патогенные грибы, антагонисты, оздоровление микрофлоры почв.

Кілт сөздер: фитопатогендер, шартты-патогенді саңырауқұлақтар, антагонисттер, топырақ микрофлора-расының сауығыуы.

Keywords: phytopathogens, opportunistic fungi, antagonists, health improvement of soil microflora.

Интенсификация и химизация земледелия, нарушение правил севооборотов, сужение круга возделываемых культур и доминирование монокультур ведут к сдвигу естественного баланса в саморегулирующейся экосистеме растения – микроорганизмы. Нарушение оптимальной естественной среды существования растений приводит к снижению их устойчивости к неблагоприятным факторам. В почве на доминирующие позиции выходят фитопатогены, возрастает количество мицелиальных грибов [1, 2]. Растет поражаемость культурных растений фитопатогенными микроорганизмами и расширение разнообразия последних за счет оппортунистических условно-патогенных форм.

Все большее количество исследователей обращают внимание на повышенную контаминацию зерна и другой растительной продукции фитопатогенными и токсигенными грибами, представляющими угрозу для здоровья человека и животных [3-

6]. Использование химических средств защиты несет самостоятельную угрозу, как экологии, так и сохранению здоровья населения. Большая же часть биологических препаратов, основанных на микроорганизмах-антагонистах, ориентирована на фитопатогенные грибы родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Bipolaris* и не эффективна в отношении условно-патогенных грибов, контаминация которыми опасна для здоровья и вызывает рост содержания микотоксинов в зерне и другой сельскохозяйственной продукции при хранении.

Целью настоящей работы были определение степени засорения семян культурных растений, как фитопатогенными, так и условно-патогенными микроорганизмами, и поиск антагонистов, эффективных в отношении обеих групп контаминантов.

Объекты и методы исследования

В работе использовали семена, предоставленные Жамбылским филиалом ТОО «Казахский научно-исследовательский Институт Земледелия и Растениеводства»: озимой пшеницы (сорт «Стекловидная 24»), ярового ячменя (сорт «Байшешек»), сафлора (сорт «Акмай»), люцерны (сорт «Кокорай») и сахарной свеклы (сорт «Ялтушковская»).

С целью выделения антагонистов фитопатогенных и засоряющих семена микроорганизмов исследовали коллекцию целлюлолитических бактерий родов *Bacillus* и *Brevibacterium*, обладающих антагонизмом в отношении мицелиальных грибов родов *Fusarium* и *Alternaria*.

Определение всхожести семян пшеницы, ячменя, сафлора и люцерны производили по международному стандарту ГОСТ 12038-84, сахарной свеклы – по ГОСТ 22617.2-94: на песке для пшеницы, ячменя и сафлора, на фильтровальной бумаге для люцерны и на гофрированной фильтровальной бумаге для сахарной свеклы. Кроме этого определяли также всхожесть семян на среде Ковровцева и на трех типах почв, два из которых были предоставлены Жамбылским филиалом ТОО «КазНИИЗиР», третий образец почвы был взят за пределами города вне зоны культивирования растений.

Засоренность семян бактериальными и грибковыми микроорганизмами определяли на средах МПА и Чапека. Микроорганизмы с поверхности семян выделяли в чистые культуры и определяли антагонизм к ним коллекционных и выделенных микроорганизмов методом отсроченного антагонизма. Для бактериальных тестов использовали среду МПА, на которой выращивали культуры микроорганизмов в виде штрихов, через 1-2 суток к ним подсеивали выделенные с семян бактерии штрихами из разведений с количеством клеток 10^8 в миллилитре. О наличии антагонизма судили по частичному или полному отсутствию роста бактерий в непосредственной близости от штриха проверяемого микроорганизма. Для определения антагонизма по отношению к мицелиальным грибам выделенные из почвы микроорганизмы высевали в виде двух или трех штрихов на поверхности среды, на которой каждый конкретный микроорганизм был выделен. Через 1-2 суток поверхность среды с культурами покрывали тонким слоем агара Чапека, предварительно охлажденным до 40°C, с добавлением суспензии конидий

тестового гриба в количестве 1-3 мл на 100 мл среды. Посевы инкубировали семь суток при 30°C. О наличии антагонизма судили по частичному или полному подавлению роста или спороношения гриба вблизи штриха микроорганизма.

Для выделения микроорганизмов использовали почву, взятую за городом вне зоны роста культурных растений. Микроорганизмы выделяли на средах МПА, 79 и MRS.

Результаты и обсуждение

Всхожесть семян по ГОСТУ была достаточно высокой и достигала у люцерны 84%, сафлора – 79%, пшеницы и ячменя – около 95 %. Лишь всхожесть сахарной свеклы была в пределах 28% и при замачивании семян в течение 60 мин повышалась до 60%.

Всхожесть всех семян на синтетической среде Ковровцева (без предварительного замачивания) очень низкая (пшеница – 0; ячмень – 0; сафлор – 19%; люцерна – 38%; сахарная свекла – 10%) из-за создания благоприятных условий для роста гнилостных и других бактерий, а также мицелиальных грибов, которыми загрязнены семена. Семена пшеницы сгнивали полностью, а люцерны и сафлора – большей частью. На рисунке 1 представлена всхожесть исследованных семян растений на среде Ковровцева (слева) и загрязнение семян мицелиальными грибами (справа). Высев семян на среду Чапека для мицелиальных грибов показал, что семена ячменя, сафлора и люцерны на 100% поражены мицелиальными грибами различной родовой принадлежности, пшеницы – на 45%.



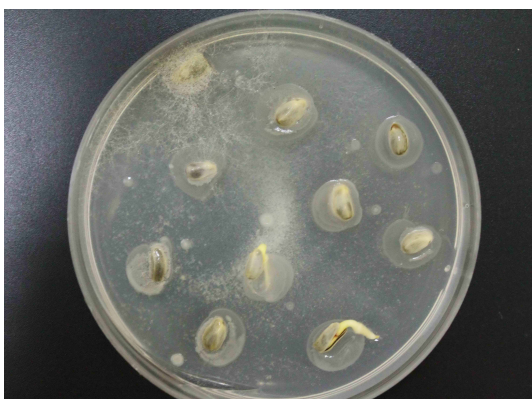
Люцерна



Пшеница



Ячмень



Сафлор

Рисунок 1 – Загрязненность семян различных растений

гнилостными и фитопатогенными бактериями и мицелиальными грибами

Семена сахарной свеклы были предоставлены филиалом Института земледелия и растениеводства в протравленном виде, однако на синтетических средах всхожесть была крайне низкой.

Лабораторная всхожесть семян в почве выше, чем на синтетических средах, но значительно ниже, чем всхожесть семян, определенная по ГОСТУ на фильтровальной бумаге и прокаленном песке, и варьирует для пшеницы от 50 до 90%, ячменя – от 20 до 90%, сафлора – от 20 до 50%, сахарной свеклы – от 30 до 50 %, люцерны – от 60 до 90%.

Более высокая всхожесть на бумаге и песке может объясняться дефицитом питательных веществ, тормозящих рост засоряющих бактерий и грибов, а также, возможно, более поздними сроками заражения проростков фитопатогенами и/или низкой контаминацией фитопатогенными видами. Быстрое же развитие гнилостных бактерий, а также плесневых грибов с поверхности семян, на синтетических средах приводит к резкому снижению всхожести и порче семян.

Наиболее низкая всхожесть отмечена в образцах почвы, взятых с мест культивирования растений, несмотря на применение при их выращивании севооборота.

При культивировании в почве всхожесть семян зависит от почвенных условий и микрофлоры. Так, при раскладывании семян ячменя на поверхности почвы на 70-80% семян отмечается разрастание мицелия грибов, такие семена либо не прорастают, либо образуют только корни.

Несмотря на высокую лабораторную всхожесть семян на общепринятых для таких испытаний субстратах, налицо высокая степень загрязнения семян бактериями и мицелиальными грибами.

С поверхности семян выделено 10 изолятов фитопатогенных и гнилостных бактерий и 5 видов фитопатогенных (*Fusarium*, *Alternaria*) и сапротрофных (*Aspergillus*) мицелиальных грибов. Отмечена очень высокая степень загрязненности семян различными видами грибов из рода *Aspergillus*, особенно *A. flavus*, которые не были выделены только с протравленных семян сахарной свеклы и характеризовались внутривидовыми различиями между штаммами, полученными с разных растений.

На люцерне и сафлоре часто встречались также *A. niger*.

18 культур целлюлолитических бактерий из коллекции лаборатории из родов *Bacillus* и *Brevibacterium*, обладающих антагонистической активностью в отношении фитопатогенов из родов *Fusarium* и *Alternaria*, проверены на способность к подавлению фитопатогенных и гнилостных бактерий. Бактериальных антагонистов среди исследованных культур не выявлено, что может объясняться тем, что целлюлолитические бактерии выступают в естественных условиях антагонистами именно мицелиальных грибов, конкурирующих с бактериями за целлюлозосодержащие субстраты.

Из садовой почвы выделено на мясопептонном агаре (МПА) 18 культур микроорганизмов, на среде №79 для азотфиксирующих микроорганизмов – девять

культур, и на MRS для молочнокис-лых бактерий – семь микроорганизмов. Выделенные культуры проверены на способность к подавлению роста мицелиальных грибов и гнилостных и фитопатогенных бактерий, изолирован-ных с поверхности семян. Из них десять культур (56% из изолированных), выделенных на среде МПА, четыре культуры со среды №79 (44%) и две культуры (29%) с MRS проявили в той или иной степени способность к подавлению роста тестовых культур грибов. Бактериальные тест-культуры подавляли только пять микроорганизмов. Отобраны культуры, способные к подавлению гнилост-ных и фитопатогенных бактерий, а также наиболее широкого спектра исследованных мицелиаль-ных грибов (рисунок 2). Выделены также антагонисты грибов *A. niger*, очень устойчивых к воз-действиям внешней среды, по отношению к которым ранее не было выявлено антагонистической активности среди целлюлолитических бактерий.

Таким образом, семена многих сельскохозяйственных культур растений даже при сохранении высокой лабораторной всхожести и достаточно высокой полевой, несут на себе, помимо отдельных представителей фитопатогенов, значительные количества гнилостных бактерий и оппортунисти-ческих мицелиальных грибов. Всхожесть таких семян зависит от непосредственных почвенных условий. Обсемененность же грибами спорами обеспечивает заражение растений и последую-щую контаминацию урожая, как конидиями, так и грибными микотоксинами. Аспергиллы же, в частности *A. niger* и *A. flavus*, выявленные в очень больших количествах на поверхности семян, условно-патогенны и аллергенны, они могут вызывать глубокие микозы, как человека, так и

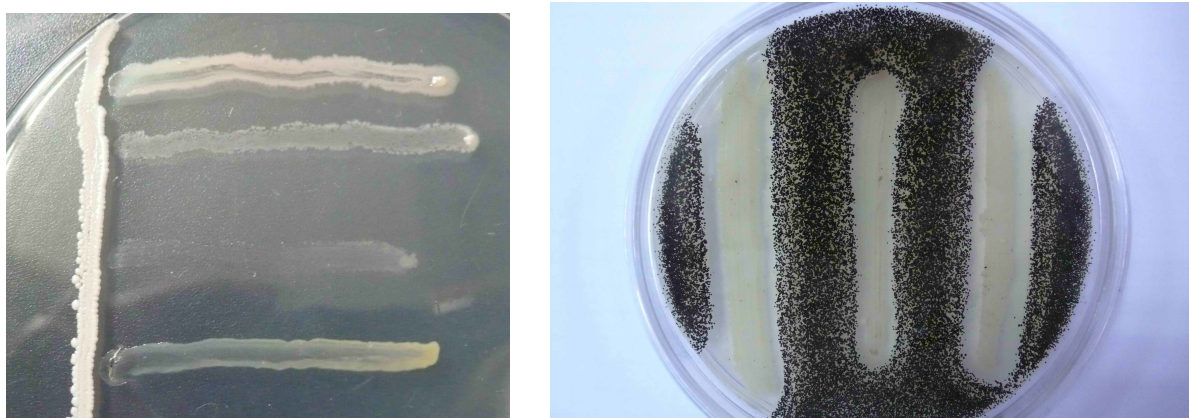


Рисунок 2 – Антагонистическая активность выделенных культур микроорганизмов по отношению к бактериальным и грибковым тест-культурам с семян

сельскохозяйственных животных, часто с летальным исходом. Высокая степень загрязнения зерна этими грибами требует принятия экстренных мер. В связи с этим приобретает большое значение оздоровление почвы и растений с помощью биобезопасных препаратов на основе почвенных микроорганизмов. При этом, как показали исследования, наиболее эффективно выделение антаго-нистически активных микроорганизмов на среде МПА. 56% изолированных на этой среде культур обладают в

той или иной степени ингибирующей активностью в отношении мицелиальных грибов с поверхности семян.

В результате проведенного исследования были отобраны микроорганизмы, способные к подавлению роста фитопатогенных и контаминирующих грибов и бактерий. Полученные культуры будут использованы при создании биопрепарата для защиты и стимуляции роста различных сельскохозяйственных растений и оздоровления окультуренных почв.

ЛИТЕРАТУРА

1 Леонтьевская Л.А., Добровольская Т.Г., Снег А.А., Балабко П.Н. Состав бактериальных сообществ аллювиальных почв и растений долины р. Оки в условиях интенсивного землепользования // Экология речных бассейнов. 2009: 5 Международная научно-практическая конференция, Владимир, 9-12 сент., 2009: Труды. – Владимир, 2009. – С. 114-117.

2 Пухова Н.Ю., Верховцева Н.В., Пухов Д.Э., Ларина Г.Е. Влияние интенсивного землепользования на микробный комплекс дерново-подзолистой почвы Рязанской области // Вестник Тамбовского Университета. Сер. естественные и технические науки. – 2013. – № 3. – С. 895-898.

3 Lugauskas A., Krasauskas A. Micromycetes recorded on grain and products of cereal // Микология и фитопатология. – 2005. – Т. 39, № 6. – С. 68-77.

4 Сеидова Г.М. Особенности распространения микотоксинов в пораженных фузариозом зерновых растениях // Проблемы медицинской микологии. – 2007. – № 2. – С. 32-33.

5 [Borutova R.](#), [Aragon Y. A.](#), [Nährer K.](#), [Berthiller F.](#) Co-occurrence and statistical correlations between mycotoxins in feedstuffs collected in the Asia–Oceania in 2010 // [Animal Feed Science and Technology](#). 2012. – [Vol. 178.](#) – [Issues 3–4.](#) – P. 190-197.

6 [Pleadin J.](#), [Vahniж N.](#), [Perši N.](#), [Ševelj D.](#), [Markov K.](#), [Frece J.](#) Fusarium mycotoxins' occurrence in cereals harvested from Croatian fields // [Food Control](#). – 2013. – [Vol. 32.](#) – [Issue 1.](#) – P. 49-54.

REFERENCES

1 Leont'evskaja L.A., Dobrovol'skaja T.G., Sneg A.A., Balabko P.N. *Jekologija rechnyh bassejnov. 2009: 5 Mezhdunarodnaja nauchno-prakticheskaja konferencija, Vladimir, 9-12 sent. Trudy.* Vladimir, **2009**. 114-117 (in Russ.).

- 2 Puhova N.Ju., Verhovceva N.V., Puhov D.Je., Larina G.E. *Vestnik Tambovskogo Universiteta. Ser. estestvennye i tehnicheckie nauki*. **2013**, №3, 895-898 (in Russ.).
- 3 Lugauskas A., Krasauskas A. *Mikologija i fitopatologija*. **2005**, T. 39, №6, 68-77 (in Eng.).
- 4 Seidova G.M. *Problemy medicinskoj mikologii*. **2007**, №2, 32-33 (in Russ.).
- 5 [Borutova R.](#), [Aragon Y. A.](#), [Nährer K.](#), [Berthiller F.](#) *Animal Feed Science and Technology*. **2012**, [V. 178, Issues 3–4](#), P. 190–197 (in Eng.).
- 6 [Pleadin J.](#), [Vahniuk N.](#), [Perši N.](#), [Ševelj D.](#), [Markov K.](#), [Frece J.](#) *Food Control*. **2013**, [V. 32, Issue 1](#), P. 49–54 (in Eng.).

Резюме

Е. А. Олейникова, Т. В. Кузнецова, М. Г. Саубенова

(РГП «Микробиология және вирусология институты» КН МОН РК, Алматы қ.)

АУЫЛШАРУАШЫЛЫҚ ӨСІМДІК ТҰҚЫМЫНЫҢ МИКРОБТЫҚ КОНТАМИНАЦИЯСЫ

ЖӘНЕ ҚҰРАМЫНДА МИКРООРГАНИЗМДЕР КУЛЬТУРАЛАРЫ БАР ТОПЫРАҚТЫҢ САУЫҒУЫ ҮШІН АНТАГОНИСТЕРДІ ІЗДЕУ

Бірқатар ауылшаруашылық өсімдіктері тұқымының фитопатогенді және шартты-патогенді микроорган-измдер арасындағы контаминациясы және ұқсастығы анықталды. Саңырауқұлақты және бактериялы микро-организмдермен тұқым контаминациясының жоғары дәрежесі көрсетілді. Биопрепарат дайындау мақсатында ауылшаруашылық өсімдіктерді қорғау және қоршаған ортаны сауықтыру үшін фитопатогенді және шартты-патогенді саңырауқұлақтарды, фитопатогенді және шірік бактерияларының өсуін тежейтін микроорганизм-дер іріктеліп алынды.

Кілт сөздер: фитопатогендер, шартты-патогенді саңырауқұлақтар, антагонисттер, топырақ микрофлора-сының сауығуы.

Summary

Y. A. Oleinikova, T. V. Kuznetsova, M. G. Saubenova

(Republic State Enterprise «Institute of Microbiology and Virology» Science Committee,
Ministry of Sci. and Ed., Republic of Kazakhstan, Almaty)

MICROBIAL CONTAMINATION OF AGRICULTURAL PLANTS SEEDS AND SEARCH FOR ANTAGONISTS FOR THE HEALTH IMPROVEMENT OF CULTIVATED SOILS

Germination and contamination of some agricultural plants seeds with phytopathogenic and opportunistic microorganisms were defined. The high degree of contamination the seeds with fungal and bacterial microorganisms was revealed. Microorganisms capable to inhibit growth of phytopathogenic and opportunistic fungi as well as phytopathogenic and putrefaction bacteria were isolated and selected for the creation of biopreparation for agricultural plants defense and environmental health improvement.

Keywords: phytopathogens, opportunistic fungi, antagonists, health improvement of soil microflora.

Поступила 04.07.2013 г.