

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЗАЦИИ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА МИКРОБНЫМИ ИЗОЛЯТАМИ ИЗ ВЕРМИКОМПОСТА

Н. Н. Терещенко, А. В. Кравец, А. И. Чиганова, Н. Б. Рогальская, Е. Е. Акимова

EFFICIENCY OF FIBER FLAXBACTERIZATION BY MICROORGANISMS ISOLATED FROMVERMICOMPOST

N. N. Tereshchenko, A. V. Kravets, A. I. Chiganova, N. B. Rogalskaya, E. E. Akimova

Лен-долгунец является одной из наиболее важных технических культур отечественной растениеводческой отрасли, имеющей большое народно-хозяйственное и стратегическое значение. И одновременно лен – это одна из наиболее сложных для возделывания сельскохозяйственных культур. В настоящее время применение биопрепаратов системного действия, сочетающих в себе свойства стимуляторов роста растений и средств защиты, является одним из наиболее эффективных приемов повышения всхожести льна и снижения его поражения возбудителями болезней. Результаты лабораторных и полевых испытаний показали эффективность бактеризации семян льна-долгунца накопительными культурами бактерий, изолированных из копролитов дождевых червей *Eisenia fetida*. Предпосевная обработка семян льна-долгунца (сорт ТОСТ-4 селекции ФГБНУ СибНИИСХиТ) в комплексе с опрыскиванием вегетирующих растений накопительной культурой фосфатмобилизующих бактерий оказали положительное воздействие на сохранность растений в полевом опыте, увеличение высоты растений, прибавку урожайности семян и соломки льна. Бактеризация семян льна *Pseudomonas* sp. снизила степень поражения растений фузариозом, увеличила массу 1000 семян и высоту растений.

Fiber flax is one of the most important industrial crops of the domestic crop sector, which is of great national economic and strategic importance. And at the same time fiber flax is one of the crops most difficult for cultivation. Currently, the use of biological preparations with systemic action, combining the properties of plant growth stimulators and means of protection, is one of the most effective methods to increase germination of fiber flax and its resistance to disease causing agents. The results of laboratory and field tests have shown efficiency of bacterization of fiber flax seeds by enrichment cultures of bacteria isolated from the coprolites of earth worms *Eisenia fetida*. Presowing treatment of fiber flax seeds (TOST-4 variety selectie in the Siberian Research Institute of Agriculture and Peat) along with spraying of vegetating plants with enrichment culture of phosphate bacteria had a positive effect on the plants' preservation in the field experiments, increase in plant height, yield of seed and flax straw. Bacterization of flax seeds by *Pseudomonas* sp. reduced the degree of *Fusarium* infection of plants, increased the weight of 1000 seeds and plant height.

Ключевые слова: лен-долгунец, бактеризация, фосфатмобилизующие бактерии, *Pseudomonas* sp., урожайность льносоломки, качество льноволокна.

Keywords: fiber flax, bacterization, phosphate bacteria, *Pseudomonas* sp., yield of flax straw, flax-fiber quality.

Лен-долгунец является одной из традиционных сельскохозяйственных культур нашей страны, практика возделывания которой в России насчитывает многие десятилетия. Однако, несмотря на большой исторический опыт работы с этой культурой, с точки зрения технологии возделывания и селекции лен по-прежнему остается одной из наиболее сложных культур. Кроме адаптивной селекции, призванной сочетать в одном сорте высокую потенциальную продуктивность и экологическую устойчивость, для получения стабильно высокого сбора льноволокна необходимо применять комплекс агротехнических приемов, учитывающих почвенные и климатические особенности региона возделывания. Кроме того, для повышения полевой всхожести и снижения пораженности растений возбудителями болезней весьма перспективным является применение биопрепаратов системного действия, сочетающих в себе свойства стимуляторов роста растений и средств защиты. Так, например, в работах Н. Г. Бачило с соавт. [2] и С. Л. Белопухова [3] показана высокая эффективность применения защитно-стимулирующих органических комплексов, включающих смесь гидроксикоричных и тритерпеновых кислот для реализации максимальной про-

дуктивности культуры льна и получения волокна с высокими физико-механическими характеристиками.

Согласно результатам исследований ряда отечественных авторов помимо жидких органоминеральных препаратов весьма перспективным также является применение бактериальных препаратов, оказывающих одновременно целый спектр положительных воздействий как на состояние ризосферы льна, так и на физиологические параметры самих растений [4; 5]. Поиск микробных штаммов, способных формировать устойчивые симбиотические ассоциации с культурой льна-долгунца, и разработка на их основе новых микробных препаратов, способных индуцировать реакции неспецифической устойчивости льна ко многим болезням грибного, бактериального и вирусного происхождения – одна из наиболее актуальных и своевременных задач современной отечественной биотехнологии, а также перспективный ресурс для увеличения урожайности льна-долгунца и качества получаемой на его основе технической продукции. Применение микробных препаратов на основе так называемой PGPR-микробиоты помимо сокращения рисков поражения льна корневыми гнилями и увеличения сбора льносоломки, также будет способствовать получению оздоровленного семенного материала.

Цель исследований – оценить влияние предпосевной обработки семян льна-долгунца накопительными культурами микроорганизмов, выделенных из вермикомпоста, на динамику роста, сохранность растений, устойчивость льна-долгунца к болезням и продуктивность.

Материалы и методы исследований

Чистые культуры исследуемых микроорганизмов выделяли из копролитов дождевых червей *Eisenia fetida* путем прямого посева из смешанной усредненной пробы копролита на мясопептонный агар, последующей серии пассажей на эту же среду и пересева в пробирки на косой агар. Принадлежность выделенных бактерий к роду *Pseudomonas* определяли в соответствии с морфологическими признаками колоний и клеток, а также биохимическими свойствами микроорганизмов.

В лабораторном эксперименте семена льна обрабатывали накопительной культурой бактерий (титр $10^7 - 10^8$ клеток/мл) из расчета 5 л/т семян (5,38 г семян + 0,4 мл бактериальной культуры). Семена закладывали в рулоны по 100 штук для проведения фитонализа и измерения длины и массы проростков. В контрольном варианте семена обрабатывали дистиллированной водой. Проращивание осуществляли между слоями увлажненной фильтровальной бумаги при температуре +22...+25 °С в течение 7 дней.

Схема лабораторного опыта: 1) контроль – обработка дистиллированной водой; 2) обработка культурой бактерий *Pseudomonas* sp.; 3) обработка культурой фосфатмобилизующих бактерий.

Закладку семян между слоями фильтровальной бумаги проводили дважды: сразу после обработки накопительными культурами бактерий и повторно после суточного выдерживания при комнатной температуре для проверки влияния периода хранения на уже обработанные семена.

Полевые исследования проводили на экспериментальных полях Богашевского подразделения ФБГНУ СибНИИСХиТ в 2012 году.

Схема полевого опыта:

1. Контроль (обработка семян водой).
2. Предпосевная обработка семян накопительной культурой *Pseudomonas* sp.
3. Предпосевная обработка семян накопительной культурой фосфатмобилизующих бактерий.
4. Предпосевная обработка семян и опрыскивание вегетирующих растений накопительной культурой *Pseudomonas* sp.
5. Предпосевная обработка семян и опрыскивание вегетирующих растений накопительной культурой фосфатмобилизующих бактерий.

Площадь делянки – 1,25 м², учетная площадь делянки – 1 м². Ширина междурядий – 10 см. Повторность опыта 3-х кратная.

В полевом опыте использовали семена льна-долгунца сорта ГОСТ-4 оригинальной элиты урожая 2011 г. Посевные качества семян: всхожесть – 97 %, зараженность болезнями – 66 %. Норма высева семян составила 23 млн/га (14 г на учетную делянку). Семена

на перед посевом бактериализовали путем опрыскивания накопительными микробными культурами с рабочим титром для *Pseudomonas* sp. $10^{10}-10^{11}$ кл/мл, для фосфатмобилизующих бактерий – 10^9 кл/мл, в дозе 5 л/т семян. В фазу елочка опытные варианты опрыскивали теми же накопительными культурами микроорганизмов в дозе 100 л/га ручным опрыскивателем.

Почва – серая лесная среднеподзоленная, среднесуглинистая. Реакция почвенного раствора слабокислая pH – 5,3, содержание гумуса в пахотном горизонте – 3,0 – 5,0 %, количество подвижного фосфора P₂O₅ – 39,3 мг/100 г, обменного калия K₂O₅ – 19,6 мг/100 г почвы. Мощность гумусового горизонта составляет 22 – 25 см.

Посев проводили 22 мая 2012 г. вручную. В качестве предшественника использовали чистый пар. Обработка почвы под посев льна включала зяблевую вспашку, весеннюю культивацию, предпосевное рыхление, выравнивание, прикатывание. Уборка делянок и учет урожая был проведен при наступлении физиологической зрелости семян (желтая спелость), обмолот снопов осуществлялся вручную с последующим взвешиванием семян и соломки [1]. Для оценки достоверности результатов данные обрабатывали при помощи пакетов прикладных программ Statistica 6.0 for Windows и Snedecor v.5 [6].

Результаты и обсуждение

Результаты лабораторного модельного эксперимента показали, что обработка накопительными культурами исследованных бактерий способствует снижению лабораторной всхожести семян льна-долгунца (таблица 1). При этом также снижаются показатели длины и массы проростков в варианте с бактериализацией *Pseudomonas* sp. В варианте с обработкой семян накопительной культурой фосфатмобилизующих бактерий длина проростков была на уровне контроля, а масса проростков незначительно меньше контроля. Несмотря на некоторое снижение морфометрических параметров проростков льна-долгунца под воздействием бактериализации, обработка одновременно снизила количество проростков, пораженных корневыми гнилями: с 12 % в контроле до 8 % в варианте с обработкой семян накопительной культурой *Pseudomonas* sp., и до 5 % в варианте с обработкой накопительной культурой фосфатмобилизующих бактерий.

Примечательно, что после суточного хранения в лабораторных условиях в варианте с применением *Pseudomonas* sp. было отмечено достоверное повышение всхожести семян льна и увеличение показателя длины проростков. В варианте с бактериализацией семян фосфатмобилизующими бактериями также наблюдалось увеличение длины проростков льна и их массы. При этом в контрольном варианте спустя сутки после обработки семян водой наблюдалось резкое снижение длины проростков (с 14 см сразу после смачивания до 4 см спустя 1 сутки) (таблица 2). Примечательно также, что суточное хранение свело на нет положительное воздействие бактериализации на снижение степени поражения проростков корневыми гнилями. Необычное изменение характера влияния бактериализации на всхожесть и морфометрические параметры проростков льна требует дальнейших исследований.

Влияние предпосевной обработки семян льна накопительными культурами бактерий на всхожесть, морфометрические показатели и количество больных семян в условиях лабораторного модельного опыта

Вариант	Пораженность корневыми гнилями, %	Длина 1-го проростка, см	Масса 1-го проростка, г	Масса 100 проростков, г	Всхожесть, %
1. Контроль	12	14,99 ± 3,52	0,24	0,36	96
2. <i>Pseudomonas</i> sp.	8	11,41 ± 2,69	0,21	0,36	83*
3. Фосфатмобилизующие бактерии	5	14,71 ± 3,16	0,23	0,34	86

Примечание. * – Здесь и далее различие с контролем достоверно при $p < 0,05$.

Таблица 2

Влияние периода 1-суточного хранения на эффективность предпосевной бактериализации семян льна-долгунца в условиях лабораторного модельного опыта

Вариант	Пораженность корневыми гнилями, %	Длина 1-го проростка, см	Масса 1-го проростка, г	Масса 100 проростков, г	Всхожесть, %
Контроль	7	4,42 ± 1,32	0,17	0,35	88
<i>Pseudomonas</i> sp.	5	13,51 ± 3,60*	0,23	0,38	98*
Фосфатмобилизующие бактерии	7	11,12 ± 3,68	0,24	0,38	84

Поскольку высев семян в полевом опыте был осуществлен спустя сутки после бактериализации, результаты, полученные в выше рассмотренном лабораторном опыте (таблица 2), позволяли надеяться на положительные эффекты от бактериализации семян льна-долгунца в полевых условиях.

По данным метеорологических наблюдений вегетационный период 2012 г. можно охарактеризовать как умеренно засушливый. Гидротермический коэффициент по Селянинову составил 0,93. Высокие температуры воздуха и отсутствие осадков совпали с фазами быстрого роста и цветения льна, когда растения больше всего нуждались в пониженных температурах и осадках.

В полном соответствии с ожидаемыми эффектами результаты полевого опыта показали положительное влияние бактериализации семян льна на динамику роста и развития растений. Предпосевная обработка семян накопительными культурами *Pseudomonas* sp. и фосфатмобилизующих бактерий заметно ускорила прохождение растениями льна-долгунца начальных фаз развития (всходов и елочки) и способствовала увеличению длины растений в данном варианте по сравнению с другими вариантами на 0,8 – 5,6 см. Дополнительная обработка вегетирующих растений, как в случае использования накопительной культуры *Pseudomonas* sp., так и фосфатмобилизующих бактерий, дополнительного положительного воздействия на рост и развитие растений льна не оказала (таблица 3).

Таблица 3

Влияние приема бактериализации семян льна-долгунца на высоту растений в фазу елочки

Вариант опыта	Фаза вегетации	
	елочка	бутионизация
Контроль	38,20 ± 1,89	51,10 ± 2,04
<i>Pseudomonas</i> sp.(предпосевная обработка)	43,80 ± 1,91	55,96 ± 0,78
<i>Pseudomonas</i> sp.(предпосевная обработка + обработка вегетирующих растений)	30,73 ± 0,78	48,50 ± 0,98
Фосфатмобилизующие бактерии (предпосевная обработка)	42,50 ± 3,70	54,70 ± 3,70
Фосфатмобилизующие бактерии (предпосевная обработка + обработка вегетирующих растений)	39,00 ± 0,70	50,30 ± 0,70
НСР ₀₅	3,36	4,88

Учет всхожести и количества растений перед уборкой льна показал, что максимальную выживаемость растений обеспечила предпосевная обработка семян льна накопительной культурой фосфатмобилизующих бактерий. При этом наибольшие показатели всхожести льна были отмечены в вариантах с предпосевной обработкой семян накопительной культурой *Pseudomonas* sp., а также двойной обработкой культурой фосфатмобилизующих бактерий (таблица 4).

Анализ корневых гнилей в полевом опыте выявил высокую эффективность обработки вегетирующих растений накопительными культурами бактерий, как *Pseudomonas* sp., так и фосфатмобилизующих бактерий. При этом только предпосевная бактериализация семян оказалась мало эффективной (таблица 4). К сожалению, бактериализация практически не оказала влияния на снижение пораженности растений льна возбудителями бактериозов – одной из основных причин снижения урожайности как зерна льна, так и льносолумы.

Влияние бактеризации семян на всхожесть и сохранность растений льна, а также на пораженность посевов фузариозом и бактериозом

Вариант опыта	Количество растений, шт./м ²		Полевая всхожесть, %	Сохранность растений, %	Фузариоз, %	Бактериоз, %
	всходы	уборка				
Контроль	1370,0	1281,2	59,5	93,0	8,1 ± 2,4	1,0 ± 0,3
<i>Pseudomonas sp.</i> (предпосевная обработка)	1514,4	1394,4	65,8	92,0	8,4 ± 1,9	1,1 ± 0,3
<i>Pseudomonas sp.</i> (предпосевная обработка + обработка вегетирующих растений)	1372,0	1294,4	59,7	94,3	6,5 ± 3,3	1,3 ± 0,3
Фосфатмобилизующие бактерии (предпосевная обработка)	1304,0	1297,2	56,6	95,2	10,6 ± 3,3	1,4 ± 0,5
Фосфатмобилизующие бактерии (предпосевная обработка + обработка вегетирующих растений)	1604,0	1516	69,7	94,2	5,1 ± 2,3	1,5 ± 0,3
НСР ₀₅	224,4	276,0	12,8	–	6,8	0,9

Одними из наиболее важных показателей качества льна-долгунца, как технической культуры являются высота растения и масса соломки. Результаты полевого опыта свидетельствуют о том, что предпосевная обработка семян льна-долгунца накопительной культурой фосфатмобилизующих бактерий способствует увеличению длины растений на 2 см. Данный

тип обработки также обеспечил 11 % увеличение массы соломки по сравнению с контролем. При этом, как видно из таблицы 5, дополнительная обработка вегетирующих растений культурой фосфатмобилизующих бактерий прибавки урожайности соломки не обеспечила. Все остальные виды обработки на данный показатель существенного влияния не оказали (таблица 5).

Таблица 5

Влияние бактеризации семян льна-долгунца на урожай соломки и семян

Вариант	Высота стебля, см	Урожайность, г/м ²		Масса 1000 семян, г
		соломки	семян	
Контроль	60,3 ± 1,7	0,274 ± 0,01	48,6 ± 2,7	3,9 ± 0,08
<i>Pseudomonas sp.</i> (предпосевная обработка)	60,3 ± 1,7	0,282 ± 0,03	48,0 ± 2,3	4,0 ± 0,05
<i>Pseudomonas sp.</i> (предпосевная обработка + обработка вегетирующих растений)	58,0 ± 0,6	0,254 ± 0,02	39,6 ± 3,8	4,2 ± 0,24
Фосфатмобилизующие бактерии (предпосевная обработка)	62,3 ± 1,2	0,304 ± 0,04	55,3 ± 10,5	4,0 ± 0,04
Фосфатмобилизующие бактерии (предпосевная обработка + обработка вегетирующих растений)	58,0 ± 1,5	0,290 ± 0,03	45,3 ± 4,7	4,1 ± 0,02
НСР ₀₅	6,5	0,09	17,8	0,4

Как известно, наряду с количественными показателями урожайности сельскохозяйственных культур, не меньшее значение имеет и качество получаемой продукции. В случае с культурой льна-долгунца речь идет о качестве льноволокна. В рассматриваемом полевом опыте качество полученного волокна и его пригодность к технологической обработке определяли по совокупности внешних признаков: блеск, цвет, шелковистость, степень отделяемости от тресты и хрупкость. По всем вышеуказанным показателям лучшим было волокно растений, полученных в варианте с предпосевной обработкой семян накопительной культурой фосфатмобилизующих бактерий вкупе с повторной обработкой вегетирующих растений, а также волокно растений, полученных в варианте с предпосевной бактеризацией семян *Pseudomonas sp.* (таблица 6).

Таким образом, применение накопительной культуры фосфатмобилизующих бактерий, выделенных из копролитов дождевых червей, для бактеризации семян льна-долгунца сорта ГОСТ-4 оказало положительное воздействие на сохранность растений в полевом опыте, высоту растений, урожайность семян и соломки льна. Бактеризация семян льна *Pseudomonas sp.* снизила степень поражения растений фузариозом, увеличила массу 1000 семян и высоту растений.

Влияние бактеризации семян льна-долгунца на качество льноволокна

Вариант	Высота растения, см	Диаметр стебля, мм	Количество на растении, шт.		Масса соломки, г
			коробочек	семян	
Контроль	48,81 ± 0,65	1,32 ± 0,55	5,26 ± 0,56	15,98 ± 4,51	175,0 ± 0,07
<i>Pseudomonas sp.</i> (предпосевная обработка)	49,92 ± 0,85	1,32 ± 0,38	8,21 ± 0,17*	20,40 ± 1,84*	220,0 ± 0,25
<i>Pseudomonas sp.</i> (предпосевная обработка + обработка вегетирующих растений)	43,50 ± 0,66 *	1,37 ± 0,03	4,53 ± 0,46	13,33 ± 2,58*	176,0 ± 0,25
Фосфатмобилизующие бактерии (предпосевная обработка)	49,87 ± 0,74	1,27 ± 0,03	6,41 ± 0,32	17,62 ± 1,34*	150,0 ± 0,25
Фосфатмобилизующие бактерии (предпосевная обработка + обработка вегетирующих растений)	47,72 ± 0,86	1,44 ± 0,03	7,58 ± 1,09*	18,47 ± 2,10*	215,00 ± 0,25
НСР ₀₅	2,15	0,10	1,52	4,72	5,03

Литература

1. Бачило Н. Г. Влияние биопрепаратов на рост и развитие льна-долгунца // Основные результаты и направления развития научных исследований по льну-долгунцу: научно-практическая конференция. Торжок, 2010. С. 263 – 269.
2. Белоухов С. Л. Роль защитно-стимулирующих комплексов в повышении качества семян льна-долгунца // Состояние с перспективы развития льноводства в Сибири: материалы межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Томской селекции льна (г. Томск, 27 – 28 июля 2007). Россельхозакадемия. СО СИБНИИСХиТ. Томск: Ветер, 2007. С. 73 – 74.
3. Белоухов С. Л., Крепков В. П. Перспективы применения защитно-стимулирующих комплексов для сортов льна-долгунца, выращиваемого в Сибири // Состояние с перспективы развития льноводства в Сибири: материалы межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 70-летию Томской селекции льна (г. Томск, 27 – 28 июля 2007). Россельхозакадемия. СО. СИБНИИСХиТ. Томск: Ветер, 2007. С.71 – 73.
4. Кудрявцев Н. А. Агат 25К для защиты льна // Карантин и защита растений. 2001. № 3. С. 29 – 30.
5. Максимов И. В., Абизгильдина Р. Р., Пусенкова Л. И. Стимулирующие рост растений микроорганизмы как альтернатива химическим средствам защиты от патогенов (Обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. № 4. С. 373 – 385.
6. Сорокин О. Д. Прикладная статистика на компьютере. Новосибирск, 2004. 162 с.

Информация об авторах:

Терещенко Наталья Николаевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Сибирского НИИ сельского хозяйства и торфа, Томск, ternat@mail.ru.

Natalia N. Tereshchenko – Doctor of Biology, Leading Research Associate at Siberian Research Institute of Agriculture and Peat.

Кравец Александра Владимировна – старший научный сотрудник Сибирского НИИ сельского хозяйства и торфа, kravets@sibmail.com.

Aleksandra V. Kravets – Senior Research Associate at Siberian Research Institute of Agriculture and Peat.

Чиганова Ангелина Игоревна – младший научный сотрудник Сибирского НИИ сельского хозяйства и торфа.

Angelina I. Chiganova – Junior Research Associate at Siberian Research Institute of Agriculture and Peat.

Рогальская Нина Борисовна – старший научный сотрудник Сибирского НИИ сельского хозяйства и торфа.

Nina B. Rogalskaya – Senior Research Associate at Siberian Research Institute of Agriculture and Peat.

Акимова Елена Евгеньевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Сибирского НИИ сельского хозяйства и торфа, akimovanell@mail.ru.

Elena E. Akimova – Candidate of Biology, Senior Research Associate at Siberian Research Institute of Agriculture and Peat.

Статья поступила в редколлегию 21.09.2015 г.