

Биопрепарат «Code of Balance F1» для контроля фузариоза сахарной свёклы

Н.Г. ВАСИЛЬЧЕНКО, ст. научн. сотрудник научн. отдела «Ростовской управляющей компании»¹, мл. научн. сотрудник²
(e-mail: wnikita37@gmail.com)

В.А. ЧИСТЯКОВ, д-р биолог. наук, руковод. научн. отдела¹, гл. научн. сотрудник² (e-mail: vladimirchi@yandex.ru)

А.В. ГОРОВЦОВ, канд. биолог. наук, вед. научн. сотрудник¹, доцент² (e-mail: gorovtsov@gmail.com)

Е.В. ПРАЗДНОВА, д-р биолог. наук, вед. научн. сотрудник¹, ст. научн. сотрудник² (e-mail: prazdnova@sfned.ru)

А.В. УСАТОВ, д-р биолог. наук, вед. научн. сотрудник¹, профессор² (e-mail: usatova@sfned.ru)

Л.Е. КУХАРЕНКО, гл. агроном агрохолдинга «Каневской»¹ (e-mail: kuharenko1608@gmail.com)

М.Л. ПАК, директор «Ростовской управляющей компании»¹ (e-mail: mlpakold@gmail.com)

¹ Концерн «Покровский»

² Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнология им. Д.И. Иванковского

Введение

Современное сельское хозяйство сталкивается с рядом проблем, которые обуславливают потери урожая или приводят к снижению его качества. Наиболее острой из них является поражение сельскохозяйственных культур различными патогенами. В частности, практически в каждом регионе России отмечаются вспышки заболеваний сельскохозяйственных растений, вызываемые грибами рода *Fusarium*. Для борьбы с фузариозами применяются различные подходы. Мы считаем наиболее оптимальным внедрение в систему защиты растений «экологической» стратегии, основанной на использовании биопрепаратов. Основные принципы такой стратегии и результаты её применения приведены в нашей предыдущей работе [5]. В настоящей статье демонстрируется эффективность данного подхода на примере технологии выращивания сахарной свёклы.

Цель исследования

Цель данной работы – оценка влияния различных способов обработки сахарной свёклы биопрепаратом «Code of Balance F1» на основе аэробных спорообразующих бактерий на поражённость корнеплодов грибами рода

Fusarium и инфекционный фон в исследуемых почвах, а также на урожайность и содержание сахара.

Анализ современного состояния проблемы

Распространённость грибов рода *Fusarium* в последнее время приобрела угрожающий характер, и при благоприятных условиях фузариоз наблюдается в большинстве регионов России. Так, на примере гриба *F. langsethiae* был показан высокий адаптационный потенциал данного вида к различным агроклиматическим условиям. Впервые обнаруженный в 2004 г., данный патоген получил широкое распространение в хозяйствах России уже к 2020 г. [1].

На степень распространённости и величину потерь урожая от поражения культур грибами рода *Fusarium* существенную роль оказывают различные биотические и агротехнические факторы. К таким факторам можно отнести повышенную влажность из-за обильных осадков [3], относительно невысокие температуры – около 23–25 °С, являющиеся оптимальными для развития грибковых инфекций [2], несоблюдение севооборотов [7] и использование технологий минимальной обработки почвы [6].

Данные патогены способны поражать широкий спектр возделываемых культур, среди которых различные зерновые (пшеница, кукуруза и др.), бобовые (горох, соя), а также технические культуры (подсолнечник, картофель). Известны фузариозные болезни и у сахарной свёклы, которые приводят к серьёзным потерям урожая и ухудшению качества корнеплодов во время их хранения [4].

В нашей работе [5] были частично представлены результаты по применению биопрепарата «Code of Balance F1» на основе аэробных спорообразующих бактерий для биологического контроля фузариозов сахарной свёклы. В работе продемонстрировано снижение инфекционной нагрузки грибами рода *Fusarium* в почве до 13 раз по сравнению с контролем, кроме того, растения, обрабатываемые биопрепаратом, сохраняли свой листовую аппарат в течение более длительного времени на фоне заболевания церкоспорозом, что, в свою очередь, способствовало повышению количества собранного урожая в целом.

Однако на настоящий момент отсутствуют данные о влиянии кратности обработки сахарной свёклы биопрепаратами на эффективность защиты растений от

негативных эффектов грибов рода *Fusarium*.

Материалы исследований

Материалами настоящего исследования послужили растения сахарной свёклы, собранные с обрабатываемых полей, а также образцы почв по вариантам опыта (контроль, однократная и двукратная обработка препаратом). Наименование хозяйств и полей, на которых проводили опыт и отбор проб, представлен в табл. 1.

Опыт с применением биопрепарата проводили по следующей схеме.

Свёклу обрабатывали однократно и двукратно по листу препаратом «Code of Balance F1» в жидкой форме. Норма внесения – 20 мл/га. Количество жизнеспособных бактерий в препарате составляло $1 \cdot 10^{10}$ КОЕ/мл.

Однократная обработка растений проводилась на стадии вилочки. Вторая обработка (при двукратной обработке) – на стадии смыкания листьев в междурядьях.

Отбор растений производили непосредственно в поле до уборочных мероприятий. Каждое растение помещали в индивидуальный пластиковый пакет и доставляли в лабораторию. В местах отбора растений производили изъятие почвы из слоя 0–10 см для последующей оценки уровня инфекционной нагрузки. Микробиологический анализ почв и растений начинали в день доставки в лабораторию.

Оценку поражённости растений и уровня инфекционной нагрузки в почвах проводили методом посева на питательную среду Чапека. Для оценки поражённости

корнеплоды тщательно мыли, поверхность обрабатывали 70%-ным этанолом. Стерильным ножом вырезали по 9 фрагментов объёмом 0,5 см³ из центра каждого корнеплода, после чего в стерильных условиях помещали фрагменты на поверхность питательной среды. Для оценки уровня инфекционной нагрузки в почвах проводили поверхностный посев из необходимого разведения. Учёт вели на 5–7-е сутки по морфологии колоний с подтверждением принадлежности к рода *Fusarium* с использованием микроскопии.

Для данных по поражённости растений сахарной свёклы и встречаемости грибов рода *Fusarium* в почве проводилась статистическая обработка с применением непараметрического U-критерия Манна-Уитни в целях попарного сравнения значений, полученных при проверке контрольного участка поля и участка с однократной обработкой, а также в паре между контрольным участком и участком с двукратной обработкой [8].

Статистическую обработку данных по урожайности сахарной свёклы выполняли с помощью непараметрического теста Вилкоксона для связанных выборок.

Результаты

При изучении эффективности различных вариантов обработки сахарной свёклы и почвы биопрепаратом «Code of Balance F1» оценивали встречаемость грибов рода *Fusarium* в корнеплодах сахарной свёклы (выражено в процентах фрагментов корнеплода, дающих рост фузариума при посеве на плотную питательную среду), а также в почве (выражено в числе КОЕ/г почвы). Данные по количественному содержанию грибов в почве приведены в виде среднего значения и ошибки среднего.

Процент поражённости корнеплодов сахарной свёклы представлен на рис. 1. Данные диаграммы

Таблица 1. Перечень хозяйств и полей, на которых проводили опыт

№	Название хозяйства	Номер поля
1	ОАО «Нива Кубани», ст. Брюховецкая	6501/086
2	ООО «Доминант», ст. Староминская	КАВ. 3.064,02/112
3	ОАО «Имени Ильича», ст. Ленинградская	ИМИ. 101301/116
4	ООО «Визит-Агро»	8/3
5	ООО «Успенский Агросоюз»	258
6	ООО «Продимекс»	213
7	ООО «Кедр»	18

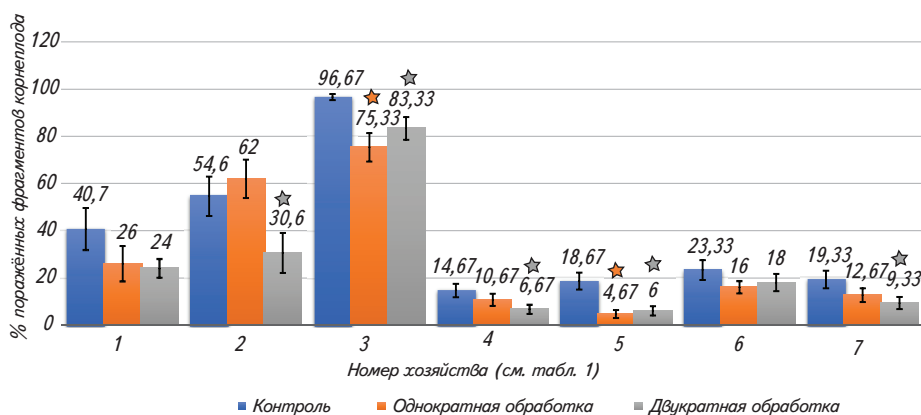


Рис. 1. Поражённость корнеплодов сахарной свёклы грибами рода *Fusarium*. ☆ – статистически значимые различия по сравнению с контролем при $p < 0,05$

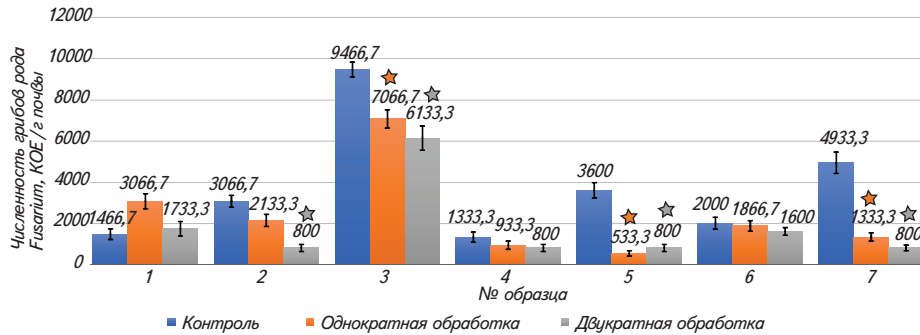


Рис. 2. Инфекционный фон в пробах почвы, отобранной под корнеплодами сахарной свёклы

☆ – статистически значимые различия по сравнению с контролем при $p < 0,05$

показывают, что вариант с однократной обработкой статистически значимо отличался от контроля лишь в образцах, отобранных в хозяйствах ОАО «Имени Ильича» (3) и в ООО «Успенский Агросоюз» (5). Так, в хозяйстве ОАО «Имени Ильича» при однократной обработке было отмечено снижение общего количества поражённых корнеплодов в 1,3 раза по сравнению с контролем. При этом в образцах, отобранных в хозяйстве ООО «Успенский Агросоюз» (5), препарат обеспечил более существенное снижение поражённости корнеплодов – в 4 раза по сравнению с контролем.

Статистически значимое снижение числа поражённых грибами рода *Fusarium* корнеплодов при двукратной обработке биопрепаратом по листу было отмечено во всех образцах, кроме отобранных с полей ОАО «Нива Кубани» (1) и ООО «Продимекс» (6). Снижение поражённости свёклы варьировало от 1,2 до 3,1 раза. Наибольший эффект отмечен в образцах хозяйства ООО «Успенский Агросоюз» (5), ООО «Визит-Агро» (4) и ООО «Кедр» (7) (3,1, 2,2 и 2,1 раза соответственно).

В последующем была проведена оценка инфекционного фона в почвенных пробах, взятых в тех же точках, где отбирали корне-

плоды. Данные по количественному учёту грибов рода *Fusarium* в почвенных пробах, отобранных под корнеплодами сахарной свёклы, представлены на рис. 2. Как следует из диаграммы, эффект от воздействия биопрепарата на содержание грибов рода *Fusarium* в почве схож с тем, что был обнаружен при изучении корнеплодов (см. рис. 1).

Однократная обработка биопрепаратом приводила к снижению численности возбудителей фузариоза в образцах почв хозяйств ОАО «Имени Ильича» (3), ООО «Успенский агросоюз» (5) и ООО «Кедр» (7). В данных образцах отмечено снижение в 1,3, 6,8 и 3,7 раза соответственно.

Двукратная обработка биопрепаратом приводила к статистически значимому снижению численности фитопатогенных грибов практически во всех почвенных образцах, за исключением образцов из хозяйств ОАО «Нива Кубани» (1), ООО «Визит-Агро» (4) и ООО «Продимекс» (6). При этом снижение численности грибов рода *Fusarium* в остальных почвах варьировало от 1,5 до 6,2 раза. Наименьший из статистически значимых эффектов был выявлен в образцах ОАО «Имени Ильича» (3) (1,5 раза), а наибольший эффект наблюдали в опытных образ-

цах, отобранных в ООО «Кедр» (7) (6,2 раза).

Полученные данные показывают, что применение препарата «Code of Balance F1» в большинстве случаев снижало как численность фитопатогенов в почве, так и степень поражённости корнеплодов свёклы. В ряде случаев, однако, отличия от контроля отсутствовали. При этом отсутствие статистически значимого эффекта наблюдалось на изначально низком инфекционном фоне (1333–2000 КОЕ/г), тогда как в тех хозяйствах, где отмечался высокий фон (3600–9466 КОЕ/г), наблюдалось его снижение. Это говорит о высоком потенциале препарата для биологического контроля возбудителей фузариоза в почве.

После оценки уровня инфицированности грибами рода *Fusarium* корнеплодов и почвенных образцов, в которых росли отобранные растения, была проведена оценка влияния обработки биопрепаратом в различных вариантах на урожайность сахарной свёклы. Полученные с исследованных полей данные представлены в табл. 2. Они свидетельствуют о том, что однократная обработка практически не приводила к прибавке урожая, за исключением хозяйства ООО «Доминант» (2), где прибавка составила 31 ц/га.

Двукратная обработка приводила к более заметным прибавкам урожая. Так, наибольшая прибавка была отмечена в хозяйствах ООО «Визит-Агро» (4), ОАО «Нива Кубани» (1) и ООО «Доминант» (2): 25 ц/га (4,17 %), 31 ц/га (10,8 %), и 74 ц/га (16,56 %) соответственно. В остальных хозяйствах прибавки либо не наблюдали вовсе, как в хозяйстве ООО «Успенский Агросоюз» (5), либо она варьировала от 2 до 7 ц/га. При этом медианная прибавка составила 7 ц/га.

Оценка доброкачественности и дигестии собранного урожая показала, что собранные с опытных

Таблица 2. Влияние различных вариантов обработки биопрепаратом на урожайность сахарной свёклы

Номер хозяйства	Контроль, ц/га	Однократная обработка		Двукратная обработка			
	Урожайность, ц/га	Урожайность, ц/га	Прибавка, ц/га	Прибавка, %	Урожайность, ц/га	Прибавка, ц/га	Прибавка, %
1	287	287	0	0	318	31	10,80
2	447	478	31	6,94	521	74	16,56
3	440	441	1	0,23	442	2	0,46
4	600	600	0	0	625	25	4,17
5	520	520	0	0	520	0	0
6	455	455	0	0	462	7	1,54
7	543	543	0	0	550	7	1,29
НСР ₀₅	10,58	10,58	3,78	—	10,58	3,78	—
Уровень значимости отличий от контроля		p = 0,1855	—	—	p = 0,0178	—	—

полей всех хозяйств корнеплоды статистически значимо не отличались от контроля, кроме образцов с полей ООО «Визит-Агро» (4). Дигестия была выше в 1,2 раза в обоих опытных вариантах, а доброкачественность составила 88,2 и 88,1 у корнеплодов с опытных полей и 86,4 с контрольного.

Прибавка урожая сахарной свёклы в проведённых экспериментах частично может быть обусловлена снижением уровня инфекционной нагрузки как в корнеплодах сахарной свёклы, так и в почвах. Снижение уровня инфекционной нагрузки обеспечивает более продолжительную вегетацию, что было отмечено в нашей предыдущей работе [5]. Кроме того, повышенная урожайность сахарной свёклы может быть обусловлена индукцией роста растений бактериями. Индукция роста, в свою очередь, зависит от наличия в их геномах генов, ответственных за выработку ферментов (протеазы, фитазы, целлюлазы, ксилониазы, фосфатазы и др.), фитогормонов

(индол-уксусная кислота, ауксин), соединений, снижающих негативное действие стрессовых факторов (АЦЦ-деаминаза, осмолиты, транспортёры Na⁺ и Cl⁻), синтеза сидерофоров и др. [9].

Для выявления механизмов индукции роста растений было проведено полногеномное секвенирование штаммов бактерий, входящих в состав биопрепарата. В ходе исследования обнаружено, что у 3 штаммов (K1.14, R4.24, R4.5) из 10 присутствуют кластеры генов синтеза сидерофоров (низкомолекулярные соединения, способствующие переводу железа, связанного с белками или водонерастворимыми соединениями, в доступную ионную форму Fe³⁺). У всех 10 штаммов выявлено большое количество генов, кодирующих литические ферменты, такие как кислые и щелочные фосфатазы (ферменты, способствующие отщеплению остатка фосфорной кислоты от органических соединений), фитазы (ферменты, осуществляющие высвобождение

фосфат-ионов из молекул фитиновой кислоты – молекула, на долю которой приходится до 60–80 % фосфора, содержащегося в семенах растений), гены целлюлаз, ксиланаз, глюкуронооксилаз (ферменты, способствующие разложению пожнивных остатков растений). Кроме того, у всех 10 штаммов были обнаружены гены синтеза предшественников растительных фитогормонов: индолуксусной кислоты (ген индол-3-глицеролфосфат синтазы, TrpC) и цитокинина (ген изопентил-дифосфат дельта-изомеразы 2 типа, 4-гидрокси-3-метилбут-2-енил дифосфат редуктазы).

Заключение

Препарат «Code of Balance F1» продемонстрировал различную эффективность при применении в разных хозяйствах. Так, в хозяйстве компании «Доминант» в ст. Староминской наблюдались значимые различия при двукратной обработке и в корнеплодах, и в почве, а в ОАО «Имени Ильича» в ст. Ленинградской – как при однократной, так и при двукратной обработке в корнеплодах и в почве. В хозяйстве «Визит-Агро» наблюдалось статистически значимое снижение при двукратной обработке, а в хозяйствах ООО «Успенский агросоюз» и ООО «Кедр» – как при двукратной, так и при однократной. Наблюдаемая разница в эффективности обусловлена отличающимися почвенно-климатическими условиями в районах Краснодарского края, в разной степени провоцирующими развитие фузариума в почве.

Среднее снижение обилия возбудителей фузариоза при двукратной обработке относительно необработанного контроля составило 2,06 раза для корнеплодов и 3,53 раза для почвы (учитывались только те опыты, где наблюдались статистически значимые различия).

Препарат демонстрировал наибольшую эффективность при высоком инфекционном фоне по фузариозу.

Двукратная обработка биопрепаратом чаще демонстрировала статистически значимые отличия от контроля по сравнению с однократной обработкой. В то же время на многих полях не установлено статистически значимой разницы между однократной и двукратной обработками.

В целом численность фузариума в корнеплодах достаточно хорошо соотносится с его численностью в почве, однако на некоторых полях эта закономерность нарушается. Так, численность фузариума в почве коррелировала с процентом встречаемости в корнеплодах при $r = 0,80$ ($p < 0,01$).

Применение двукратной обработки биопрепаратом чаще приводило к прибавке урожая сахарной свёклы, которая была различной и достигала 16,6 %, средняя прибавка на основании всех данных составила 5,9 %. Повышение урожайности в проведённых опытах, вероятно, обусловлено снижением инфекционной нагрузки и, как следствие, более длительным периодом вегетации, а также работой генов индукции роста растений у бактерий, входящих в состав биопрепарата «Code of Balance F1».

Таким образом, в нашей работе продемонстрирована высокая эффективность разработанного биопрепарата для контроля фузариоза сахарной свёклы.

Список литературы

1. Гаврилова, О.П. Новые сведения о распространении на территории России гриба *Fusarium langsethiae*, продуцирующего T-2 и HT-2 токсины / О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гагкаева // Вестник защиты растений. – 2020. – Т. 103. – № 3. – С. 201–206.

2. Запольская, Н.Н. Влияние температуры на развитие и патоген-

ность возбудителей гнилей сахарной свёклы / Н.Н. Запольская // Сахарная свёкла. – 2014. – № 4. – С. 33–35.

3. Соколова, Л.М. Влияние погодных условий на распространённость болезней и устойчивость моркови столовой / Л.М. Соколова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2019. – № 4 (174). – С. 21–26.

4. Стогниенко, О.И. Формирование комплекса возбудителей кагатной гнили сахарной свёклы / О.И. Стогниенко, А.И. Воронцова // Сахарная свёкла. – 2015. – № 7. – С. 34–38.

5. Чистяков, В.А. Экологическая стратегия контроля фузариоза может быть технологичной / В.А. Чистяков, А.В. Горюцов, Н.Г. Васильченко [и др.] // Сахар. – 2021. – № 2. – С. 42–45.

6. Шамин, А.А. Доли влияния приёмов агротехники на распро-

странённость гнилей в свекловичном агроценозе / А.А. Шамин, О.И. Стогниенко, М.Ю. Гаврилова // Аграрная наука. – 2019. – Т. 2. – С. 69–71.

7. Lupashku, G.A. The influence of crop rotation and fertilizers on root rots species composition and sugar beet sensitivity to them / G.A. Lupashku [et al.] // Mikologiya i Fitopatologiya. – 2010. – Т. 44. – № 3. – С. 255–261.

8. MacFarland, T.W. Mann-Whitney U Test / T.W. MacFarland, J.M. Yates // Introduction to nonparametric statistics for the biological sciences using R. – Springer, Cham, 2016. – С. 103–132.

9. Tiwari, S. Bacillus: Plant growth promoting bacteria for sustainable agriculture and environment / S. Tiwari, V. Prasad, C. Lata // New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. – Elsevier, 2019. – С. 43–55.

Аннотация. В статье представлены результаты полевых экспериментов в различных хозяйствах Краснодарского края по оценке воздействия биопрепарата «Code of Balance F1» на встречаемость грибов рода *Fusarium* в почве и корнеплодах сахарной свёклы, а также влияние различных видов обработки на урожайность и показатели дигестии сахарной свёклы. Среднее снижение обилия возбудителей фузариозов при двукратной обработке относительно необработанного контроля составило 2,06 раза для корнеплодов и 3,53 раза для почвы. Двукратная обработка биопрепаратом чаще приводила к прибавке урожая сахарной свёклы. Прибавка была различной и достигала 16,6 %, среднее значение на основании всех данных составило 5,9 %. Повышение урожайности сахарной свёклы в проведённых опытах, вероятно, обусловлено снижением инфекционной нагрузки и, как следствие, более длительным периодом вегетации, а также работой генов индукции роста растений у бактерий, входящих в состав биопрепарата «Code of Balance F1».

Ключевые слова: фузариоз, *Fusarium*, «Code of Balance F1», биофунгициды, технология, резистентность.

Summary. The article presents the results of field experiments in different agricultural enterprises of Krasnodar region to estimate the effect of biopreparation «Code of Balance F1» on the occurrence *Fusarium* fungi in the soil and roots of sugar beet, as well as the effect of different treatments on the yield and digestion parameters of sugar beet. The average *Fusarium* abundance with double treatment was 2.06 times lower for roots and 3.53 times lower for the soil compared to untreated control. Double treatment with biopreparation often resulted in sugar beet yield increase. The increase was different and reached 16.6 %, the average increase in yield based on all data was 5.9 %. Increased yield of sugar beet in the experiments is probably due to reduced infection load, and therefore, a longer growing season, as well as the influence of plant growth induction genes in bacteria included in the biopreparation «Code of Balance F1».

Keywords: fusariosis, *Fusarium*, «Code of Balance F1», biofungicides, technology, resistance.