Формирование состава микрофлоры ризопланы и ризосферы огурца в кокосовом субстрате

Николай Васильевич Смолин, Валентина Васильевна Лапина, Светлана Александровна Дудникова,
Наталья Васильевна Потапова, Илья Владимирович Потапов

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия
van20099@mail.ru.

Аннотация. Полученные результаты показали формирование различий в комплексах микроскопических грибов ризопланы и ризосферы в летне-осеннем культурообороте огурца при вторичном использовании кокосовых матов. Результаты определили и показали роль микроорганизмов, входящих в составные компоненты биопрепаратов, учет численности которых является важным и необходимым для обеспечения существования управляемого биоценоза кокосового субстрата. В процессе микробиологических исследований доказано, что при использовании биопрепаратов в сообществе микроорганизмов субстрата возникает прямая связь повышения численности антагонистов и снижение фитопатогенных видов. При внесении биопрепаратов отмечены наибольшие различия в микрофлоре субстрата. Это позволило более рельефно выявить изменения в структуре микрофлоры ризосферы и ризопланы огурца и стимулировало развитие в сообществе таких грибов, как *Trichoderma spp.*, а также бактерий рода *Bacillus spp.* и *Pseudomonas spp.* Однако выявленная динамика не носит глобального масштаба, так как состав и структура доминирующих и часто встречающихся других видов микробных сообществ контрольной группы во многом совпадали с опытной группой.

Ключевые слова: микромицеты; защищенный грунт; субстрат; кокос; биопрепарат; структура; комплекс; биоценоз; культурооборот; огурец.

Для цитирования: Смолин Н. В., Лапина В. В., Дудникова С. А., Потапова Н. В., Потапов И. В. Формирование состава микрофлоры ризопланы и ризосферы огурца в кокосовом субстрате // Аграрный научный журнал. 2022. № 3. С. 33–36. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i3pp33-36>.

AGRONOMY

Original article

Formation of the composition of the microflora of the rhizoplane and the rhizosphere of cucumber in the coconut substrate

Nikolai V. Smolin, Valentina V. Lapina, Svetlana A. Dudnikova, Natalya V. Potapova, Ilya V. Potapov

Mordovia State University named after N.P. Ogarev, Saransk, Russia
van20099@mail.ru.

Abstract. The obtained results showed the formation of differences in the complexes of microscopic fungi of rhizoplane and rhizosphere in the summer-autumn crop turnover of cucumber with the secondary use of coconut mats. The results determined and showed the role of microorganisms that are part of the components of biological products, accounting for the number of which is important and necessary to ensure the existence of a controlled biocenosis of coconut substrate. In the process of microbiological studies, it has been proved that when using biological products in the community of substrate microorganisms, there is a direct connection between an increase in the number of antagonists and a decrease in phytopathogenic species. When applying biological preparations, the greatest differences in the microflora of the substrate were noted. This made it possible to more clearly identify changes in the structure of the microflora of the rhizosphere and rhizoplane of cucumber and stimulated the development of fungi such as *Trichoderma spp.*, as well as bacteria of the genus *Bacillus spp.* and *Pseudomonas spp.* in the community. However, the revealed dynamics does not have a global scale, since the composition and structure of the dominant and frequently occurring other types of microbial communities of the control group largely coincided with the experimental one.

Keywords: micromycetes; protected soil; substrate; coconut; biological product; structure; complex; biocenosis; crop turnover; cucumber.

For citation: Smolin N. V., Lapina V. V., Dudnikova S. A., Potapova N. V., Potapov I. V. Formation of the composition of the microflora of the rhizoplane and the rhizosphere of cucumber in the coconut substrate. Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal. 2022;(3): 33–36. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i3pp33-36>.

Введение. Антропогенные факторы оказывают существенное влияние на активность микробных ассоциаций, среди которых наибольшее воздействие проявляют химические препараты [9, 14]. Регулярное внесение химических фунгицидов в период вегетации, протравливание и интенсивное прогревание семян в сочетании с разными типами обработок значительным образом изменяют микробные ценозы и не всегда в правильном направлении. Поэтому для фитосанитарной оптимизации агробиоценозов и регулирования численности популяции ряда фитопатогенных видов успешно применяются штаммы микробов-антагонистов и биопрепаратов, созданных на их основе.

Корни растений выделяют в окружающую среду экссудаты, привлекая микроорганизмы, которые в свою очередь обеспечивают растения витаминами, аминокислотами, ферментами, гетероауксинами [2, 6]. Развивающаяся корневая система проникает вглубь субстрата и вступает во взаимодействие с микроорганизмами. Вокруг корня формируется ризосфера и ризоплана, окружая корень пространством, в котором концентрируется наиболее высокая плотность микроорганизмов. По этой причине в естественных биоценозах формируется самая устойчивая плотность популяции. На сельскохозяйственных полях она немного меньше и совсем низкая в теплицах закрытого грунта из-за того, что субстрат для выращивания растений обеззараживают или используют готовый стерильный, например минераловатный [1].

Для каждого вида растения качественный и количественный состав микрофлоры ризосферы и ризопланы специфичен [12]. Ризоплановая и ризосферная зоны корневой системы защищают растения от фитопатогенных микроорганизмов, как механически за счет перекрытия сайтов адгезии на поверхности корней, так и за счет выделения широкого круга антибиотиков [15].

Имея значительную плотность популяции, микробы-антагонисты создают устойчивые экосвязи в микробиоценозе растения, которые способны эффективно защищать его от заражения возбудителями болезней различной этиологии [13]. Вследствие этого для создания оптимальных условий развития здорового растительного организма необходимо вносить в ризосферу растений биологические препараты. Их присутствие будет оказывать серьезное влияние на течение инфекционного процесса и позволит формировать биоценоз в нужном направлении. Поэтому для решения задач контроля и управления популяциями микроорганизмов, обладающих как полезными, так и неблагоприятными для растений свойствами, необходимы микробиологические исследования состава грунтов или субстратов. Особую ценность при изучении данного вопроса представляет характер изменений в микрофлоре кокосового субстрата и теплицы в целом [5]. Основываясь на этом, можно провести и дать оценку модельному эксперименту, составить реальное представление о масштабах изменений, которые могут происходить в микробиологической структуре ризопланы и ризосферы при использовании биопрепаратов в капельный полив, выявить принципы формирования устойчивости микробного ценоза в течение всего культурооборота.

Исходя из этого, нами были проведены исследования по выявлению основных закономерностей взаимовлияния популяций индуцированных штаммов микробов на состав патогенных микроорганизмов в условиях промышленной теплицы с выращиванием огурца на кокосовом субстрате.

Методика исследований. Эксперимент был проведен в 2016–2018 гг., с июля по ноябрь, в летне-осеннем культурообороте в промышленной теплице СХ АО «Овощевод» Самарской области. Предметом исследований служили маты из кокосового субстрата, которые использовались повторно в исследуемом культурообороте. Объектом исследований служили растения огурца (гибрид F₁ Кураж) селекции фирмы «Гавриш» и состав микроорганизмов, заселяющих кокосовый субстрат.

Согласно схеме исследований, осуществляли последовательное внесение микроорганизмов в субстрат, с помощью которых создавали управляемый биоценоз. Биопрепараты применяли по схеме, которая предусматривала использование трех биоагентов с различными способами и сроками внесения. Один цикл включал в себя внесение в капельный полив препаратов Бинал, Ж (*Bacillus subtilis*+*Trichoderma viride*) и Витариз Экстра, Ж (*Pseudomonas fluorescens*) [8, 11]. В течение культурооборота было проведено всего шесть циклов, интервал внесения между ними составлял 21 день.

Сопутствующие методики наблюдений за ростом, развитием и формированием урожая огурца и качества продукции, а также микробиологические исследования при использовании биопрепаратов были общепринятыми [3, 7]. В задачу исследований входило определение родовой принадлежности грибов [10] и бактерий [4], заселяющих кокосовый субстрат.

Результаты исследований. Для более глубокой оценки влияния систематического внесения биопрепаратов на микробную систему нами был охарактеризован видовой состав и определена структура комплекса микроскопических грибов и бактерий ризопланы и ризосферы.

Как уже отмечалось, рассаду огурца выставляли на маты, использованные ранее в зимне-весеннем культурообороте под томатами. Структура перед закладкой опыта и внесением биопрепаратов состояла в основном из бактерий, бацилл и нейтральных микромицетов, где доминирующее положение в микромицетном сообществе занимали виды рода *Penicillium spp.* и *Mucor spp.* (см. таблицу).

Однако, несмотря на сходную начальную динамику в значениях видов микроорганизмов и колониеобразующих единиц (КОЕ), исходное сообщество микромицетов в конце культурооборота изменялось и заметно отличалось от сформировавшегося биоценоза в начале. В первую очередь это выразилось в увеличении численности видов ризопланы и ризосферы, как на контроле, так и в опытном варианте с применением биопрепаратов. В результате этого состав доминантов стал существенно разнообразнее. При этом видовая структура микробиоценоза ризопланы была аналогична микробному сообществу ризосферы, как в начале, так и в конце периода культурооборота.

Было установлено, что таксономический состав ризосферы и ризопланы увеличился до восьми видов микромицетов, относящихся к нейтральным (*Acremonium spp.*, *Mucor spp.*, *Penicillium spp.*) токсинообразователям (*Aspergillus spp.*), фитопатогенам (*Alternaria spp.*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium debarianum*), антагонистам (*Trichoderma viride*), а также бактериям и бациллам, где показатели частоты встречаемости данных биотопов характеризовались различными показателями.

На контроле и в опыте уровень общего микробного числа ризопланы превышал соответствующий показатель ризосферы. Самые высокие показатели плотности колонизации и частоты встречаемости из всего видового спектра представителей микробиоценоза ризопланы и ризосферы отмечались у вида *Trichoderma viride* и бактерий.

Доминирующие популяции были представлены нейтральными видами. На протяжении всего культурооборота как в контроле, так и в опыте уровень присутствия их постепенно изменялся. Наибольшую активность проявляли микромицеты рода *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* и *Mucor spp.*

В опытном варианте полученные данные по изменению видового состава и структуры комплексов микромицетов отражали действие биопрепаратов на них. Биопрепараты оказывали положительное влияние на количество практически всех основных физиологических групп микробиоценозов. Повышение численности анаэробных микроорганизмов наблюдалось во всех опытных вариантах в течение всего периода культурооборота. Так, в структуре сообщества появилась доля микроорганизмов-антагонистов *Trichoderma viride*, которая ранее не обнаруживалась. Следует отметить, что эффективность применения биопрепарата Бинал, Ж (*Bacillus subtilis*) подтверждалась также наличием бацилл, входящих в этот

Микромицетный состав	Ризоплана			Ризосфера		
	начало культурооборота	конец культурооборота		начало культурооборота	конец культурооборота	
		контроль	опыт		контроль	опыт
<i>Acronium spp.</i>	–	2×10 ²	1×10 ⁵	1×10 ²	–	5×10 ⁶
<i>Alternaria spp.</i>	–	2×10 ³	–	–	3×10 ³	не>1×10 ²
<i>Apergillus spp.</i>	–	2×10 ⁵	2×10 ³	–	3×10 ²	не>1×10 ²
<i>Fusarium oxysporum</i>	–	3×10 ⁴	не>1×10 ²	–	2×10 ⁸	1×10 ³
<i>Mukorspp.</i>	5×10 ⁶	3×10 ⁶	5×10 ⁶	1×10 ²	5×10 ⁵	5×10 ⁶
<i>Penicillium spp.</i>	4×10 ⁶	3×10 ⁵	4×10 ⁷	1×10 ²	6×10 ⁴	5×10 ⁶
<i>Pythium debarianum</i>	–	1×10 ³	–	–	2×10 ²	–
<i>Trichoderma viride</i>	–	–	5,8×10 ⁵	–	–	5×10 ⁴
Бактерии	1×10 ³	1×10 ⁵	7×10 ⁶	1×10 ⁵	1×10 ⁵	8×10 ⁵
Бациллы	1×10 ²	2 ×10 ²	6×10 ³	1×10 ²	3×10 ³	5×10 ³

препарат. Повышение численности грамтрицательных бактерий из ризосферных псевдомонад с высокой степенью вероятности можно отнести к виду *Pseudomonas fluorescens*, который входит в состав биопрепарата Витариз Экстра, Ж.

Отмеченные изменения в микрофлоре кокосового субстрата в большей степени являются следствием применения биопрепаратов. При внесении их в кокосовый субстрат активность и численность микромицетов полезной микрофлоры значительно возросла. Внесенные с биопрепаратами микроорганизмы хорошо приживались и размножались на корнях и субстрате, формируя управляемый биоценоз в теплице. Таким образом, в ходе микроскопических исследований выявлена прямая связь увеличения в сообществе антагонистов и снижения фитопатогенов при использовании биопрепаратов.

Однако сравнение изменения состава и стабильности микрофлоры субстрата в контроле оказывалось не всегда в пользу растений. Количество видов фитопатогенных грибов в контроле ризопланы и ризосферы огурца возросло за счет представителей рода *Alternaria spp.*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium debarianum*. При этом не обнаруживались антагонисты и сократилось присутствие нейтральных видов.

Заключение. Полученные в ходе исследований данные расширяют представление о том, что систематическое применение биопрепаратов приводит к существенным изменениям структуры микрофлоры субстрата, где обнаруживались наибольшие различия. Кроме того, применение биопрепаратов позволило более рельефно выявить изменения в структуре микрофлоры ризосферы и ризопланы огурца: стимулировало развитие в сообществе таких грибов, как *Trichoderma spp.*, и бактерий рода *Bacillus spp.* и *Pseudomonas spp.* Однако установленные изменения не носят глобального характера, так как состав и структура доминирующих и часто встречающихся других видов микробных сообществ контрольной и опытной групп были сходными.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеева А. С., Потатуркина-Нестерова Н. И. Сравнительная характеристика микробиоценоза ризосферы и ризопланы *Lycopersicon esculentum* Mill. // Научное обозрение. Биологические науки. 2015. № 1. С. 30.
- Баубекова Д. Г. Ростостимулирующая активность микроорганизмов рода *Bacillus* // Universum: химия и биология. 2014. № 7. С.1.
- Билай В. И., Курбацкая З. А. Определитель токсинообразующих микромицетов. Киев : Наук. думка, 1990. 236 с.
- Возняковская Ю. М. Использование метода идентификации бактерий в исследованиях ризосферной микрофлоры и её роли в жизни растений // Труды ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. 1980. № 49. С. 48–63.
- Гиль Л. С., Пашковский А. И., Сулима Л. Т. Современное овощеводство закрытого и открытого грунта. Практическое руководство. Житомир: Рута, 2012. 468 с.
- Гуревич П. А., Крутьков В. М., Струнин Б. П. Антагонистическая активность некоторых штаммов рода *Bacillus* против фитопатогенных микромицетов // Вестник Казанского технологического университета. 2012. № 11. С.137–139.
- Доспехов Б. А., Ващенко С. В., Набатова Т. А. Особенности методики эксперимента с овощными культурами в сооружениях защищенного грунта. М.: ВАСХНИЛ, 1976. 108 с.
- Дудникова А. С., Лапина В. В. Роль биопрепаратов в формировании биоценоза кокосового субстрата при выращивании огурца // Защита и карантин растений. 2018. № 10. С. 45.
- Совершенствование системы защиты огурца в теплице для получения экологически безопасной продукции / С. А. Дудникова [и др.] // Аграрный научный журнал. 2020. № 9. С. 15–20.
- Кириленко Т. С. Атлас родов почвенных грибов. Киев : Наук. думка, 1977. 128 с.
- Формирование управляемого биоценоза при выращивании огурца на кокосовом субстрате / В. В. Лапина [и др.] // Аграрная наука. 2019. Т. 3. № 3. С. 20–22.
- Роль бактерий-антагонистов фитопатогенов в защите сельскохозяйственных растений от болезней / О. Н. Логинов [и др.]. Уфа: Гилем, 2001. 65 с.
- Новикова И. И., Литвиненко А. И. Биологическая эффективность биопрепаратов на основе микробов-антагонистов против корневой гнили огурца и вилта земляники и их влияние на видовой состав микромицетов почвы // Вестник защиты растений. 2011. № 2. С. 10–22.
- Эффективность применения регуляторов роста на огурце в защищенном грунте / Н. В. Смолин [и др.] // Аграрный научный журнал. 2019. № 1. С. 21–25.

15. Шапошников А. И., Белимов А. А., Кравченко Л. В. Взаимодействие ризосферных бактерий с растениями: механизмы образования и факторы эффективности ассоциативных симбиозов 166 (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 3. С.16–22.

REFERENCES

1. Alekseeva A. S., Potaturkina-Nesterova N. I. Comparative characteristics of the microbiocenosis of the rhizosphere and rhizoplane *Lycopersicon esculentum* Mill. *Scientific review. Biological sciences*. 2015;(1):30. (In Russ.).
2. Baubekova D. G. Growth-stimulating activity of microorganisms of the genus *Bacillus*. *Universum: chemistry and biology*. 2014;(7):1. (In Russ.).
3. Bilai V. I. Kurbatskaya Z. A. Determinant of toxin-forming micromycetes. Kiev : Nauk. Dumka; 1990. 236p. (In Russ.).
4. Voznyakovskaya Yu. M. The use of the method of identification of bacteria in studies of rhizospheric microflora and its role in plant life. *Proceedings of the Institute of Agricultural Microbiology*. 1980;(49):48–63. (In Russ.).
5. Gil L. S., Pashkovsky A. I., Sulima L. T. Modern vegetable growing of closed and open ground. Practical guide. Zhytomyr : Publishing house of Ruta; 2012. 468 p.
6. Gurevich P. A., Krutkov V. M., Strunin B. P. Antagonistic activity of some strains of the genus *Bacillus* against phytopathogenic micromycetes. *Bulletin of Kazan Technological University*. 2012;(11):137–139. (In Russ.).
7. Dospikhov B. A., Vashchenko S. V., Nabatova T. A. Features of the methodology of the experiment with vegetable crops in protected ground structures. M. : VASHNIL; 1976. 108 p. (In Russ.).
8. Dudnikova A. S., Lapina V. V. The role of biopreparations in the formation of coconut substrate biocenosis during cucumber cultivation. *Protection and quarantine of plants*. 2018;(10):45. (In Russ.).
9. Improving the cucumber protection system in a greenhouse to obtain environmentally safe products / S. A. Dudnikova et al. *Agrarian Scientific Journal*. 2020;(9):15–20. (In Russ.).
10. Kirilenko T. S. Atlas of genera of soil fungi. Kiev : Nauk. Dumka; 1977. 128 p. (In Russ.).
11. Formation of a controlled biocenosis when growing cucumber on a coconut substrate / V. V. Lapina et al. *Agrarian Science*. 2019;3(3):20–22. (In Russ.).
12. The role of bacteria-antagonists of phytopathogens in the protection of agricultural plants from diseases / O. N. Loginov et al. Ufa: Gilem; 2001. 65 p. (In Russ.).
13. Novikova I. I., Litvinenko A. I. Biological efficacy of biological preparations based on microbes antagonists against root rot of cucumber and wild strawberry and their effect on the species composition of soil micromycetes. *Bulletin of Plant Protection*. 2011;(2):10–22. (In Russ.).
14. The effectiveness of the use of growth regulators on cucumber in protected soil / N. V. Smolin et al. *Agrarian Scientific Journal*. 2019;(1):21–25. (In Russ.).
15. Shaposhnikov A. I., Belimov A. A., Kravchenko L. V. Interaction of rhizosphere bacteria with plants: mechanisms of formation and factors of effectiveness of associative symbioses 166 (review). *Agricultural biology*. 2011;(3):16–22. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 26.01.2022; одобрена после рецензирования 10.02.2022; принята к публикации 28.02.2022.

The article was submitted 26.01.2022; approved after reviewing 10.02.2022; accepted for publication 28.02.2022.