

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* НА ПОЧВЕННУЮ МИКРОБИОТУ ПРИ ПРЕДПОСАДОЧНОЙ ОБРАБОТКЕ КАРТОФЕЛЯ

В.С. Масленникова^{1,2}, В.П. Цветкова^{1,2}, к.с.-х.н, С.М. Нерсисян¹,
Е.В. Бедарева¹, И.М. Дубовский^{1,3}

¹Новосибирский государственный аграрный университет, ул. Добролюбова, 160, Новосибирская область, 630039, Российская Федерация

²ООО НПФ "Исследовательский центр", р.п. Кольцово, промзона, корпус 200, Новосибирская область, 630559, Российская Федерация

³Лаборатория Искусственных Микробных Консорциумов, Томский государственный университет, Томск, 634050, Российская Федерация
E-mail: vera.cvetkova.23.05@mail.ru

Исследование поддержано Министерством науки и образования Российской Федерации, грант в форме субсидий № 075-15-2021-1401

Приведены данные по влиянию биопрепарата Фитоп 8.67, на основе бактерий рода *Bacillus* на почвенную микробиоту при предпосадочной обработке картофеля в 2020-2021 г. Применение биологического препарата оказало положительное влияние на формирование благоприятной микробной среды, что способствовало лучшему росту и развитию растений. Фитоп 8.67 стимулировал большинство исследуемых групп почвенных микроорганизмов, особенно азотфиксирующих бактерий. Использование биопрепарата позволило получить более качественный и высокий урожай по сравнению с контрольным вариантом: в среднем за два года получена прибавка урожая 5,8 т/га.

Ключевые слова: биопрепарат, бактерии рода *Bacillus*, картофель, почвенная микрофлора, биологическая защита растений, урожайность.

Для цитирования: Масленникова В.С., Цветкова В.П., Нерсисян С.М., Бедарева Е.В., Дубовский И.М. Влияние бактерий рода *bacillus* на почвенную микробиоту при предпосадочной обработке картофеля// Плодородие. – 2022. – №1. – С. 50-53. DOI: 10.25680/S19948603.2022.124.13.

Почва – это среда обитания множества организмов, среди которых бактерии, водоросли, грибы и одноклеточные организмы. В современных защитных мероприятиях значительная роль отводится применению пестицидов. Их избыточное накопление в почве может привести к подавлению микробиоты и снижению почвенного плодородия. В свою очередь, бактерии, участвующие в круговороте азота, особенно N₂-фиксирующие и нитрифицирующие, наиболее чувствительны к пестицидам. Высокая восприимчивость этих физиологических групп микроорганизмов свидетельствует о побочных эффектах загрязнения окружающей среды, вызванных химическими пестицидами [1]. Проведенные эксперименты позволяют утверждать, что в результате длительного их контакта произошли изменения состава микробной ассоциации и нарастание содержания бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas*. Представители этих родов участвуют в основном в детоксикации почвы от различных ксенобиотиков [2].

Альтернативой химическим пестицидам служат биологические препараты, которые не только снижают численность патогенных микроорганизмов, но и увеличивают численность микроорганизмов, формирующих эффективное плодородие [3].

Ранее было установлено фунгицидное и ростостимулирующее действие биопрепарата Фитоп 8.67 на картофель [4], луке [5], моркови [6]. Однако изучение его влияния на почвенную микробиоту остается актуальным.

Цель исследования – оценить влияние биопрепарата Фитоп 8.67 на почвенную микробиоту и урожайность картофеля при предпосадочной обработке клубней.

Методика. Закладку полевых опытов проводили на полях УПХ «Сад Мичуринцев» в 2020-2021 г. в соответствии с методикой полевых исследований по Б.А. Доспехову [7]. Почвенный покров полей УПХ «Сад Мичуринцев» типичен для района – чернозем выщелоченный среднесуглинистый. Агрохимическая характеристика пахотного слоя (0-30 см) почвы: гумус (по Тюрину) – 4-6%, азот – 0,30 мг (по Кьельдалю), фосфор и калий (по Чирикову) – 25,0 мг/100 г почвы. Реакция почвы слабокислая и нейтральная (рН 5,9-6,3) [8, 9]. Основные элементы технологии возделывания картофеля соответствовали общепринятым для данного района. Агротехника картофеля включала зяблевую безотвальную вспашку в конце сентября – начале октября, весновспашку, культивацию (15-20 см). Посадка проводилась вручную (14 мая 2020 г. и 18 мая 2021 г.). Уход за посадками включал механическую прополку, междурядную обработку, окучивание. Предшественник – чистый пар. Густота посадки – 40,8 тыс/га, схема посадки 0,7 х 0,35 м. Все варианты в 3-кратной повторности. Площадь учетной делянки – 60 м², размещение вариантов систематическое. Перед посадкой клубни картофеля замачивали в течение 1 ч в биопрепарате (в концентрации 1·10⁶ КОЕ/мл), контролем служили клубни, замоченные в воде. Азотное удобрение вносили в лунку при посадке (норма расхода 1 кг/100 м²).

Объектами исследования являлись: препарат Фитоп 8.67 (смесь штаммов *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-10642, *B. amyloliquefaciens* ВКПМ В-10643, *B. subtilis*

ВКПМ В-10641), предоставленный ООО НПФ «Исследовательский центр», азотное удобрение «Карбамид» (производитель – АГРОСИНТЕЗ, 46% азота), раннеспелый сорт картофеля – Розара (производитель – фирма «Золотая сотка Алтай», супер-элиты).

Численность микроорганизмов определяли методом почвенных разведений [10]. Повторность микробиологических учетов – пятикратная. Учет численности почвенных микроорганизмов проводили на 4-ю неделю после посадки (15-20 июня), из образцов, взятых из прикорневой зоны растений картофеля каждого варианта.

Учет биологической урожайности и состояния клубней нового урожая производили путем взвешивания урожая с делянки и пересчета на 1 га (17 августа 2020 г. и 18 августа 2021 г.).

Статистическая обработка опытных данных проведена методом дисперсионного анализа с использованием пакета прикладных компьютерных программ SNEDECOR для Windows [11].

Важными условиями, определяющими развитие почвенных микроорганизмов, являются температура и влажность почвы и воздуха (табл. 1).

1. Гидротермические характеристики вегетационных периодов 2020 и 2021 г. (по ГМС «Огурцово»)

Месяц	Год исследования	Температура, °С					Осадки, мм				
		I	II	III	Среднее	Норма	I	II	III	Сумма	Норма
Май	2020	10,8	19,1	14,5	14,8	10,9	33	14	24	61	36,8
	2021	11,5	14,9	16,3	14,2		4	13	8	25	
Июнь	2020	13,4	15,5	18,9	15,9	16,9	18	12	6	36	54,9
	2021	16,7	17,3	14,6	16,2		22	2	48	72	
Июль	2020	20,9	19,9	16,4	19,1	20,0	23	20	52	95	60,3
	2021	20,4	18,8	20	19,7		18	4	0,3	22,3	
Август	2020	20,6	18,5	15,4	18,2	16,2	4	31	18	53	67
	2021	19,8	16,8	17,7	18,1		24	37	6	67	

Май 2020 г. был теплым и дождливым. Осадков выпало на 24 мм больше среднегодового значения (36,8 мм), температура составила 14,8 °С. Температура в июне (15,9 °С) была чуть ниже среднегодовых данных (16,9 °С). В июне стояла устойчивая воздушная засуха (осадков выпало всего 66 % от нормы), а в июле выпало 95 мм осадков, или 135,7% от среднемесячной суммы осадков, температура составила 19,1 °С, что способствовало развитию почвенных микроорганизмов.

В 2021 г. самым дождливым месяцем был июнь, осадков выпало на 17 мм больше среднегодового значения (54,9 мм), при этом температура была чуть ниже по сравнению со среднегодовыми данными. В июле стояла устойчивая воздушная засуха, осадков выпало всего 37 % от нормы.

Результаты и их обсуждения. Были проведены микробиологические исследования по влиянию бактериального комплекса препарата Фитоп 8.67 и минеральных удобрений на микробиоту почвы (табл. 2, рис. 1).

Минеральные удобрения, в частности азот, являясь питанием для микроорганизмов, стимулируют развитие

большинства их групп [12], а биологические препараты на основе агрономически полезных культур микроорганизмов способны повышать иммунный отклик растений, подавлять развитие фитопатогенной микрофлоры, влиять на биохимические процессы растений и усиливать их рост [13]. По данным двухлетнего эксперимента, можно сделать вывод, что оба исследуемых варианта влияют на численность и соотношение рассматриваемых эколого-трофических групп микроорганизмов, а также на активность микробиологических процессов. Наиболее сильно отреагировала группа азотфиксирующих бактерий, их численность увеличилась в варианте с обработкой микробным препаратом в 1-й год в 2 раза, во 2-й – более чем в 8 раз по сравнению с контролем. В варианте с применением азотного удобрения, численность бактерий данной группы увеличилась на 15% в 1-й год и почти в 2 раза – во второй. Повышение количества азотфиксирующих бактерий позитивно сказывается на развитии молодых растений и в итоге – на урожайности [14].

2. Влияние биопрепарата и азота на показатели почвенной микробиоты

Показатель	Контроль		Фитоп 8.67		Азотное удобрение	
	2020	2021	2020	2021	2020	2021
Влажность почвы, %	15,92	9,27	15,92	9,27	15,92	9,27
Численность сапротрофных почвенных грибов (среда Чапека), $\cdot 10^5$ КОЕ/г абсолютно сухой почвы	1,11	1,03	1,34	1,25	0,71	0,66
Численность р. <i>Fusarium</i> (среда Чапека), КОЕ/г абсолютно сухой почвы	66,6	31,7	47,7*	11,3*	109,4*	71,3*
Численность р. <i>Penicillium</i> (среда Чапека), КОЕ/г абсолютно сухой почвы	52,3	79,3	38,1*	3,3*	47,8*	33,1*
Численность бактерий, усваивающих органический азот (среда мясопептонный агар), $\cdot 10^5$ КОЕ/г абсолютно сухой почвы	2,62	0,81	1,47*	0,51	3,09*	0,15*
Численность бактерий, усваивающих минеральный азот (среда крахмало-аммиачный агар), $\cdot 10^5$ КОЕ/г абсолютно сухой почвы	2,2	0,44	3,72*	0,81	1,59	0,96
Численность целлюлозоразрушающих бактерий (среда Гетчинсона), $\cdot 10^5$ КОЕ/г абсолютно сухой почвы	2,62	0,95	2,46	2,13*	4,04*	1,25
Численность азотфиксирующих бактерий (среда Эшби), $\cdot 10^5$ КОЕ/г абсолютно сухой почвы	0,63	0,15	1,19*	1,32*	1,35*	0,29
Численность дрожжей (среда Ганзина), $\cdot 10^5$ КОЕ/г абсолютно сухой почвы	0,71	0,96	0,95	0,59	0,79	0,44

*Достоверно при $p < 0,05$.

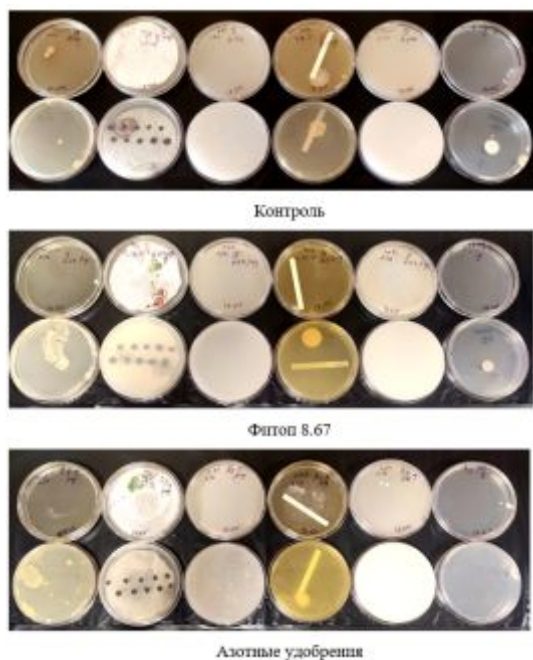


Рис. 1. Влияние изучаемых агентов на рост колоний микроорганизмов на средах (слева направо): Ганзена, Гетченсона, крахмалоаммиачный агар, мясоептонный агар, Эшби, Чапека

Необходимо отметить, что численность всех групп микроорганизмов была ниже во второй год по всем исследуемым вариантам в 2-3 раза, за исключением численности сапротрофных почвенных грибов, а также азотфиксирующих и целлюлозолитических бактерий в варианте с Фитопом. Вследствие чего по данным группам наблюдалась значительная разница по сравнению с контролем: в 8,8 и 2 раза соответственно. Общее снижение микроорганизмов связано с более низкой влажностью почвы и, следовательно, биологической активностью почвы, поэтому и развитие микроорганизмов протекало медленнее.

Развитие группы целлюлозоразрушающих микроорганизмов ежегодно активнее происходило при внесении азотного удобрения, их количество было выше на 14 и 93%, а также во второй год в варианте Фитоп более чем, в 2 раза, хотя в первый год было на уровне контроля.

Активность целлюлозолитических микроорганизмов создает для растений больше доступных форм питательных веществ, что положительно сказывается на их развитии [15].

Фитоп 8.67 и азотное удобрение увеличили численность почвенных дрожжей в первый год исследования, соответственно, на 30 и 11%. Дрожжи выделяют большое количество активных веществ (витаминов, фитогормонов и т.д.), стимулируя рост и развитие растений. Во второй год численность данной группы была ниже, чем на контроле на 38% (Фитоп) и в 2 раза (Азот). Это могло быть вызвано смещением соотношения микробного сообщества в направлении других групп, например, микроскопических грибов, бактерий, усваивающих минеральный азот или азотфиксирующих бактерий.

Фитоп 8.67 проявил свою фунгицидную активность в отношении фитопатогенных грибов: численность таких микроскопических грибов как, *Fusarium* и *Penicillium* снизилась на 28 и 27% соответственно в первый год, а во второй год почти в 3 и 24 раза. Это подтверждает его антагонистическую активность за счет включения механизмов регуляции инфекционных агентов и очищения почвы. Общая численность сапротрофных почвенных грибов, однако, в данном опытном варианте была выше приблизительно на 20%, как в первый, так и во второй годы, но без определения полного видового состава нельзя точно оценить влияние таких изменений. В варианте с применением минерального азота, наоборот, общая численность микроскопических грибов была ниже, чем на контроле, приблизительно на 35% в оба года, но в отношении *Fusarium* наблюдается значительная стимуляция – на 64% возросла численность в 2020 г. и более чем в 2 раза – в 2021 г. Это могло сказаться на количестве зараженных растений и качестве урожая. Численность *Penicillium* была на уровне контроля в первый год и в 2,5 раза ниже во второй.

Оценка интенсивности трансформации почвенного органического вещества показала, что в контрольном варианте преобладали аммонификаторы – бактерии, усваивающие органический азот, и в почве происходило накопление аммонийных форм азота (коэффициент минерализации составил 0,84 в 2020 г. и 0,54 в 2021 г.). В варианте с Фитопом, напротив, в оба года, преобладали бактерии, усваивающие минеральный азот, что свидетельствует о сдвиге в сторону накопления нитратных форм азота и активной минерализации органического вещества ($K_{мин.}$ – 2,53 и 1,59) [16]. При внесении азота коэффициент составил 0,52 в первый год, во второй – 6,4 (рис. 2).

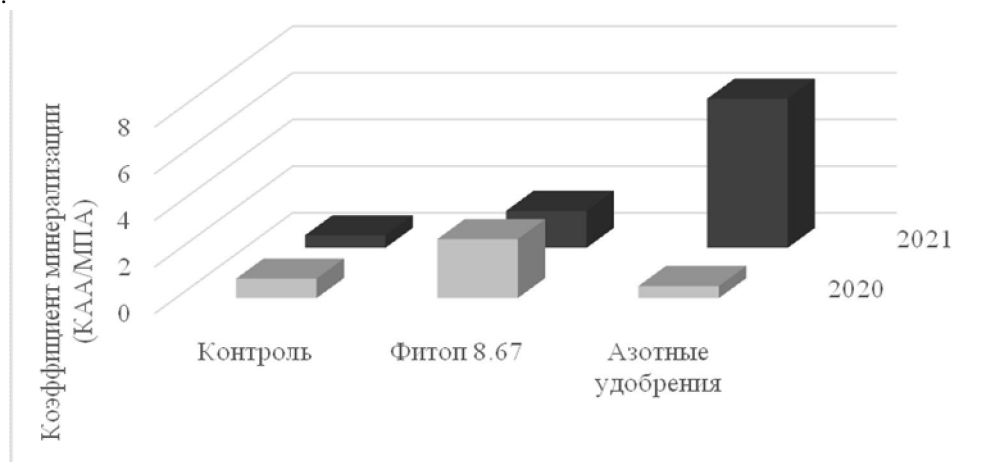


Рис. 2. Изменение коэффициента минерализации почвы под действием бактериального препарата и азота

Очевидно, что высокий показатель $K_{мин}$ связан с сильным снижением численности группы аммонифицирующих микроорганизмов в 2021 г. (в 20 раз по

сравнению с 2020 г.). Для объяснения причин этого требуются дополнительные исследования.

Применение биопрепарата Фитоп 8.67 на картофеле позволило получить более качественный и высокий урожай по сравнению с контрольным вариантом (рис. 3, табл. 3).



Рис. 3. Масса клубней картофеля сорта Розара с трех кустов (2021 г.)

В результате воздействия микробных агентов, входящих в препарат Фитоп 8.67, получены более крупные клубни и, следовательно, урожай увеличился в 1,2 раза (2020 г.) и в 1,4 раза (2021 г.). В среднем за два года прибавка урожая составила 5,8 т/га.

3. Влияние Фитопа 8.67 на урожайность и развитие ризктониоза на клубнях картофеля

Вариант опыта	Год исследования	Масса фракций, %			Урожайность, т/га	Распространенность болезней на клубнях нового урожая, %
		мелкая	средняя	крупная		
Контроль	2020	14,55	57,16	28,29	19,6	48,1
	2021	35,32	43,40	21,28	19,3	24,1
Фитоп 8.67	2020	11,00	46,08	42,93	24,1	6,3
	2021	19,28	53,46	27,26	26,4	3,5
Азотные удобрения	2020	6,10	20,10	73,79	23,6	21,4
	2021	21,33	30,05	48,61	24,2	14,2
НСР ₀₅					2,96	

Установлена прямая зависимость увеличения урожая за счет снижения пораженности клубней склероциальной и другими формами *Rhizoctonia solani* Kuhn в 6,7 (2021 г.) – 7,6 раза (2020 г.). Применение азотных удобрений также способствовало увеличению урожайности на 4 т/га (2020) – 4,9 т/га (2021) по сравнению с контрольным вариантом.

Заключение. Применение биологического препарата и азотного удобрения оказывало в основном положительное влияние на формирование благоприятной микробной среды, что способствовало лучшему росту и развитию растений. Фитоп 8.67 по сравнению с минераль-

ным удобрением сильнее стимулировал большинство исследуемых групп почвенных микроорганизмов, особенно в отношении азотфиксирующих бактерий, а также показал хорошие результаты по контролю фитопатогенов, в том числе снижал распространённость ризктониоза на клубнях нового урожая.

Литература

1. Cysioń, Mariusz Piotrowska-Seget, Zofia. Effect of selected pesticides on soil microflora involved in organic matter and nitrogen transformations: Pot experiment. Polish Journal of Ecology. 2007. – 55. – 207-220.
2. Ксенофонтова О.Ю., Иванова Е.В. Влияние пестицидов на микроорганизмы почв Саратовской области // Известия Саратовского университета. Серия Химия. Биология. Экология. – 2012. – С.75-81.
3. Безлер Н.В., Грошева Е.В., Сумская М.А. Взаимодействие внесенных в почву штаммов *Bacillus subtilis* с микробным сообществом чернозема выщелоченного // Мат. Всерос. науч. конф., посвященной 70-летию кафедры почвоведения и агрохимии Воронежского гос. ун-та. «Черноземы России: Экологическое состояние и современные почвенные процессы», Воронеж, 2006. – С. 260-263.
4. Масленникова В.С., Филиппова О.А., Цветкова В.П. Применение перспективного биологического агента для улучшения фитосанитарного состояния картофеля // В сб.: Интеллектуальный потенциал Сибири. Материалы 28-й Региональной научной студенческой конференции (в 3 частях) / Под. ред. Соколовой Д.О. – Новосибирск, 2020. – С. 43-45.
5. Цветкова В.П., Масленникова В.С. Биопрепарат для защиты и повышения урожайности лука // Картофель и овощи. – 2019. – №1. – С.14-16.
6. Цветкова В.П., Масленникова В.С., Нестеренко В.А. Эффективность биопрепарата Фитоп 8.67 на моркови // Вестник НГАУ. – 2020. – 2(55). – С. 69-75.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – М.: Альянс, 2014. – 350 с.
8. Черникова М.И. Агроклиматические ресурсы Новосибирской области // Ленинград: Гидрометеиздат, 1971. – 156 с.
9. Сляднев А.П. Почвенно-климатический атлас Новосибирской области // Новосибирск: Наука. – Сиб. отд., 1978. – 122 с.
10. Сэги Йо. Методы почвенной микробиологии / Йо Сэги; И.Ф. Куренного / Под ред. и с предисл. акад. ВАСХНИЛ Г.С. Муромцева. – М.: Колос, 1983. – 294 с.
11. Сорокин О.Д. СТЭК пакет программ статистической обработки экспериментальных данных для ЭВМ / О.Д. Сорокин // Научн.-техн. Бюл. ВАСХНИЛ, СО, 1985. – Вып. 48. – С.24-31.
12. Таскина В.М. Влияние удобрений на биологические процессы почвы и урожайность культур // Эффективность использования удобрений в Восточной Сибири. – Новосибирск, 1989. – С.120-126.
13. Dodd J.C., Belimow A.A. Rhizobacterial impacts on plant water use efficiency // Aspects of Applied Biology. 2010. – N 105.
14. Умаров М. М. Азотфиксация в ассоциациях организмов / М. М. Умаров // Проблемы агрохимии и экологии. – 2009. – № 2. – С. 22-26.
15. Черепухина И.В., Безлер Н.В. Микробиологическая трансформация соломы зерновых культур при внесении её с целлюлозолитическим микромикотом (*Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016) // Черноземы Центральной России: генезис, эволюция и проблемы рационального использования: сборник материалов научной конференции, посвященной 80-летию кафедры почвоведения и управления земельными ресурсами в 100-летней истории Воронежского государственного университета. – Воронеж, 2017. – С. 325-334.
16. Шатохина С. Ф., Христенко С. И., Ланта Л. И. Особенности функционирования основных азототрансформирующих групп микроорганизмов в черноземе южном при различных системах удобрения // Агрохимия. – 2000. – № 9. – С. 35-40.

INFLUENCE OF BACTERIA OF THE GENUS BACILLUS ON SOIL MICROBIOTA IN PRE-PLANTING TREATMENT OF POTATOES

V.S. Maslennikova^{1,2}, V.P. Tsvetkova^{1,2}, PhD in Agriculture, S.M. Nersesyan¹, E.V. Bedareva¹, I.M. Dubovskiy^{1,3}

¹-Novosibirsk State Agrarian University, build.160, Dobrolyubova St., Novosibirsk region, 630039, the Russian Federation

²-ООО НПФ "Исследовательский Центр", бул.200, Scientific and production Zone, Koltsovo, Novosibirsk region, 630559, the Russian Federation

³- Laboratory of Synthetic Microbial Consortia, Tomsk State University, Tomsk, 634050, Russian Federation

E-mail: vera.cvetkova.23.05@mail.ru

The paper provides the data on the effect of "Fitop 8.67" as *Bacillus* biological product on the soil microbiota in the pre-planting treatment of potatoes in 2020-2021. The use of the biological product had a positive effect on favorable microbial environment formation, which in turn contributed to improved plant growth and development. Fitop 8.67 stimulated most of the soil microorganism groups studied, especially nitrogen-fixing bacteria. The application of the biological product gave higher quality of crops and higher yield compared to the control group: the average yield increased by 5.8 t/ha in two years.

Keywords. Biological product, bacteria of the genus *Bacillus*, potato, soil microflora, biological plant protection, yield.