

КОМПЛЕКСНЫЕ БИОПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ПШЕНИЦЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РИЗОСФЕРНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

*Л. ТИТОВА¹, Н. ЛЕОНОВА¹, И. ВЕРХОТУРОВА¹,
А. ПИНДРУС¹, А. АНТИПЧУК², Г. ИУТИНСКАЯ¹*

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины,

²Открытый Международный Университет Развития Человека, «Украина»

Abstract. In laboratory, vegetation and field experiments the influence of complex bio-preparations for the increase of the wheat productivity and their influence on the rhizospheric microorganisms were studied. The work was conducted with the purpose of creating poly-functional preparations for a plant-grower on microorganisms basis related to different physiological groups and plant growth regulators.

Key words: Inoculation, Plant growth regulators, Productivity, Rhizospheric microorganisms, Wheat.

ВВЕДЕНИЕ

Важным условием повышения устойчивости земледелия является создание высокоинтегрированных микробно-растительных систем и их эффективное функционирование. Для этого применяют микробные препараты, в том числе на основе микроорганизмов нескольких видов (и/или их метаболитов), обладающих полезными для растений-хозяев свойствами (Е. Андреюк и др., 1999; Л. Титова и др., 2001; И. Тихонович и др., 2006). В состав таких многокомпонентных препаратов могут входить симбиотические, ассоциативные и ризосферные микроорганизмы. При этом следует учитывать, что на сообщество микроорганизмов корневой зоны влияние растения-хозяина проявляется сильнее, чем влияние абиотических факторов среды обитания (Lia Rocque Jeannine R. et al., 2004.). В литературе имеются сведения о том, что в почвах, находящихся в сельскохозяйственном использовании, состав и численность микроорганизмов тесно связаны с агрохимическими показателями (М. Назарько и др., 2005).

Чаще всего для создания бактериальных препаратов, способствующих повышению продуктивности сельскохозяйственных культур, используют микроорганизмы – представители

семейства *Rhizobiaceae*, а также родов *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*. Такие препараты экологически безопасны, поскольку созданы на основе микроорганизмов, выделенных из природных объектов. При подборе культур в качестве основы моно- или композиционных препаратов отдают предпочтение штаммам, способным продуцировать биологически активные вещества, проявлять фосфатазную активность, фиксировать азот атмосферы, подавлять развитие фитопатогенов и стимулировать формирование растений (А. Антипчук, Р. Канцелярук и др., 1985; А. Антипчук, В. Рангелова и др., 1997; С. Коць, Л. Титова и др., 2005; С. Хованская, Т. Лисицкая, 2007; Пат. 2322061 Россия МПК⁷ А01N 63/00 С12N 1/20. / Е. Афанасьев, И. Тюменцева и др., 2008; О. Струнникова, В. Шахназарова и др., 2008). При этом отобранные микроорганизмы должны обладать колонизирующей активностью по отношению к корневой системе растений и способностью сосуществовать в ризосфере (А. Антипчук, Н. Скочинская Н., 1993; Liu Xuming, Zhao Hongxing et al., 2006). Эффективность взаимодействия микроорганизмов-инокулянтов с растением-хозяином определяется не только их лектин-углеводным взаимодействием, но и плотностью популяции (эффект кворума) (E. Gonzalez Juan et al., 2003).

Из микробных препаратов на территории Украины зарегистрированы и используются нитрагин (ООО СХП «Нива», Украина), АГАТ 25К (ООО «БИО-БЕК», Россия), Бактофил (ООО «Агробио Украина», ООО «Биофил», Украина, Венгрия), Клепс (НПЦ «Энергия», Украина), Актофит (ОАО Производственно-научное предприятие «Укрзооветпромстач», Украина) и другие.

Целью настоящей работы было создание эффективных комплексных биопрепаратов для повышения продуктивности пшеницы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При изучении влияния предпосевной обработки семян пшеницы жидкими биопрепаратами на формирование проростков использовали сорта Зимоярка и Ранняя 93, препарат АГАТ 25К (эталон) в производственной дозе и штаммы *Pseudomonas* из рабочей коллекции отдела общей и почвенной микробиологии ИМВ НАН Украины. Семена стерилизовали 70% этанолом в течение 15 мин, промывали стерильной водопроводной водой. В этих и других опытах бактериальная нагрузка при инокуляции составляла 650-680 тыс. кл./семя.

Вегетационный опыт проводили на вегетационной площадке Института физиологии растений и генетики НАН Украины со стерильными семенами пшеницы сорта Зимоярка в сосудах Вагнера вместимостью 8 кг почвы на оподзоленном черноземе. Перед набивкой сосудов в почву вносили азотные, фосфорные и калийные удобрения из расчета $N_{60}P_{90}K_{90}$ на гектар. Для создания инокуляционных композиций использовали разработанными препаратами с рабочими названиями Экориз (на основе *Pseudomonas sp.* 59-1) и Экофосфорин (бинарная композиция *Pseudomonas sp.* 59-1 и *Bacillus megaterium* УКМ В-7168). Длительность инокуляции – 2 часа.

Полевой опыт проводили на опытном поле Уманского государственного аграрного университета с пшеницей сорта Коллективная 3 на черноземе оподзоленном малогумусном тяжелосуглинистом на лессе с содержанием подвижного фосфора 110-120 мг/кг, калия – 80-90 мг/кг, легкогидролизуемого азота – 100-110 мг/кг. рН солевой вытяжки 5,6-5,8. Для обработки семян использовали препарат Экориз, регуляторы роста растений (РРР) Эмистим С, Биолан и Радостим (МНТЦ «Агробиотех», Украина) в дозах, рекомендованных производителем.

Численность микроорганизмов различных эколого-функциональных групп в почве корневой зоны пшеницы определяли путем высева десятикратных разведений почвенных суспензий на питательные среды: аммонифицирующих – на мясопептонный агар, амилотических – на крахмало-аммиачный агар, олигоазототрофных – на среду Эшби, фосфатмобилизирующих – на среду Менкиной и прототрофных – на среду Красильникова.

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях определяли по методике F. Wellburn (1994), чистую продуктивность фотосинтеза – по А. Ничипоровичу (1956), азотфиксирующую активность ризосферного комплекса – ацетиленредуктазным методом R. Hardy et al. (1968). В вегетационных и полевых опытах учитывали урожай и его качество. Полученные данные обрабатывали статистически с помощью пакета программ *Microsoft Excel 2002*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Скрининг коллекционных штаммов показал, что испытанные культуры псевдомонад способствовали увеличению длины корней и массы бактеризованных проростков яровой пшеницы сорта Зимоярка (табл. 1).

Сорт Ранняя 93 оказался менее отзывчивым на инокуляцию. Наибольшая биомасса проростков формировалась при инокуляции семян штаммом *Pseudomonas sp.* 59-1: на сорте Зимоярка – при полной дозе инокулянта (+38,7% к контролю и 14,9% к эталону), на сорте Ранняя 93 – при половинной дозе инокулянта (+15% к контролю и +9% – к эталону). Этот перспективный штамм в дальнейшем использовали в вегетационном и полевом опытах.

При изучении влияния препаративных композиций микроорганизмов на микробное население корневой зоны яровой пшеницы, в условиях вегетационного опыта установлено, что в фазу кущения наибольшая численность амилотических и фосфатмобилизирующих микроорганизмов наблюдалась в варианте с Экофосфорином (соответственно на 30,0 и 53,3% больше, чем в контроле), а олигоазотрофов и прототрофов – в варианте с инокуляцией Экоризом (соответственно на 16,9 и 81,2% больше, чем в контроле) (рис. 1).

В фазу колошения по сравнению с предыдущей фазой было отмечено увеличение численности аммонифицирующих, амилотических и прототрофных бактерий во всех вариантах, а численности фосфатмобилизирующих бактерий – только в варианте с бинарной инокуляцией Экофосфорином. Количество олигоазотрофных микроорганизмов, как и в предыдущую фазу развития пшеницы, было наибольшим в варианте с Экоризом (соответственно на 16,9 и 7,8% больше, чем в контроле).

Ацетиленредуктазная активность почвы корневой зоны пшеницы в фазу кущения в вариантах с бактеризацией была достоверно больше, чем в контроле (табл. 2). В фазу колошения при общем снижении показателей в 4 раза азотфиксирующая активность ризосферного комплекса опытных вариантов была выше, чем в контроле на 11,0 - 15,0%.

Таблица 1

Размерно-весовые характеристики проростков пшеницы при инокуляции семян разными штаммами псевдомонад

Варианты опыта	Сорт пшеницы	Средняя длина, см		Масса 100 сухих проростков
		проростков	корней	
Контроль	Зимоярка	3,36±0,09	5,43±0,10	7,73
	Ранняя 93	3,17±0,10	5,87±0,48	8,71
Агат	Зимоярка	3,06±0,06	5,76±0,09	9,33
	Ранняя 93	3,22±0,13	5,00±0,14	9,19
<i>Pseudomonas sp.</i> 57м	Зимоярка	3,34±0,08	5,93±0,12	7,80
	Ранняя 93	3,00±0,12	4,84±0,16	7,60
<i>Pseudomonas sp.</i> 57м (0,5 дозы)	Зимоярка	3,35±0,11	6,28±0,10	9,79
	Ранняя 93	3,30±0,10	5,02±0,13	8,35
<i>Pseudomonas sp.</i> 59-1	Зимоярка	3,34±0,06	6,18±0,09	10,72
	Ранняя 93	3,26±0,14	5,02±0,13	6,82
<i>Pseudomonas sp.</i> 59-1 (0,5 дозы)	Зимоярка	3,17±0,06	6,05±0,10	8,43
	Ранняя 93	3,39±0,11	5,11± 0,14	10,02
<i>Pseudomonas sp.</i> 59-7	Зимоярка	3,39±0,09	6,23±0,07	8,94
	Ранняя 93	3,26±0,14	5,02±0,12	6,82
<i>Pseudomonas sp.</i> 59-7 (0,5 дозы)	Зимоярка	3,21±0,07	5,99± 0,10	9,14
	Ранняя 93	3,02±1,32	4,80± 0,17	6,96
<i>Pseudomonas sp.</i> кТ-2	Зимоярка	3,32±0,06	5,91± 0,10	8,92
	Ранняя 93	3,11±0,15	4,69±0,17	8,31
<i>Pseudomonas sp.</i> кТ-2 (0,5 дозы)	Зимоярка	3,37±0,17	5,82±0,10	9,27
	Ранняя 93	3,09±0,15	4,59±0,15	8,60

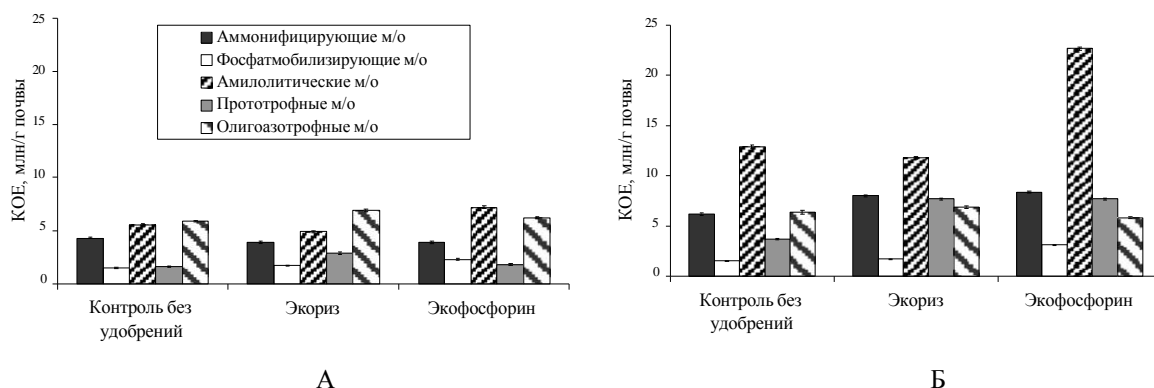


Рисунок 1. Влияние бактериальных препаратов на численность микроорганизмов в ризосфере яровой пшеницы сорта Зимоярка. А – фаза кущения, Б – фаза колошения.

Таблица 2

Ацетиленредуктазная активность ризосферной почвы яровой пшеницы сорта Зимоярка при использовании микробных препаратов (вегетационный опыт, фаза кущения)

Варианты	Фаза кущения		Фаза колошения	
	Ацетиленредуктазная активность (нмоль C ₂ H ₄ /раст. сутки)	% к контролю	Ацетиленредуктазная активность (нмоль C ₂ H ₄ /раст. сутки)	% к контролю
Контроль	18,3 ± 0,2	100	4,7 ± 0,2	100
Экориз	21,7 ± 0,3	119	5,2 ± 0,3	111
Экофосфорин	21,8 ± 0,5	119	5,4 ± 0,4	115

Анализ содержания фотосинтетических пигментов в листьях пшеницы проводили в фазу колошения (табл. 3). Тенденция к увеличению содержания хлорофиллов *a* и *b* (на 8,2- 9,5 % к контролю соответственно) отмечена в варианте с инокуляцией Экофосфоринном.

Таблица 3

Содержание фотосинтетических пигментов в листьях яровой пшеницы сорта Зимоярка при инокуляции комплексными микробными препаратами (вегетационный опыт, фаза колошения)

Варианты опыта	Содержание хлорофилла мг/г сырой массы	
	хлорофилл <i>a</i>	хлорофилл <i>b</i>
Контроль	1,83 ± 0,06	0,63 ± 0,01
Экориз	1,71 ± 0,11	0,57 ± 0,06
Экофосфорин	1,98 ± 0,15	0,69 ± 0,02

Контроль за развитием растений показал (табл. 4), что в фазу кущения величина их надземной массы мало различалась по вариантам. При инокуляции микробными препаратами отмечена тенденция усиления формирования корневой системы пшеницы. В фазу колошения надземная масса и корни растений в этих вариантах были достоверно (в 1,4-1,7 раза) больше, чем в контроле.

Данные по урожаю и содержанию в нем белка, представленные на рис. 2, свидетельствуют о том, что в условиях вегетационного опыта наибольший урожай обеспечила инокуляция Экофосфоринном (на 13,6% больше по сравнению с контролем). В этом же варианте прослеживалась тенденция положительного влияния бинарной бактериализации на содержание белка в урожае.

Таблица 4

Влияние микробных препаратов на развитие растений пшеницы сорта Зимоярка (вегетационный опыт)

Варианты опыта	Фаза кущения		Фаза колошения	
	Надземная масса 1 растения, г	Масса корня, г	Надземная масса 1 растения, г	Масса корня, г
Контроль	1,24±0,10	2,50±0,11	2,76±0,16	3,12±0,22
Экориз	1,39±0,05	2,70±0,05	4,36±0,20	4,29±0,04
Экофосфорин	1,18±0,03	2,75±0,16	4,56±0,30	4,67±0,08

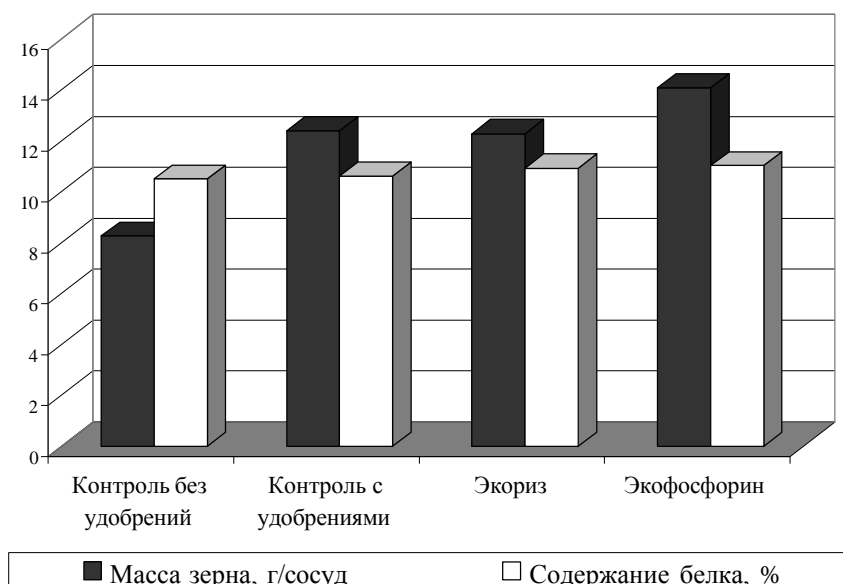


Рисунок 2. Урожай зерна яровой пшеницы сорта Зимоярка и содержание белка в зерне (вегетационный опыт)

В условиях полевого опыта обработка семян исследуемыми препаратами способствовала развитию более мощной листовой поверхности растений (табл. 5). Наиболее ярко это проявилось при инокуляции семян Экоризом. Все испытанные препараты способствовали увеличению продуктивности фотосинтеза у растений пшеницы (табл. 6). В фазе выхода в трубку и в фазе цветения в варианте с Экоризом показатели были выше, чем при использовании РРР. Эффект бактериализации усиливался сочетанием с РРР Биоланом или Эмистимом С.

Таблица 5

Влияние биопрепаратов и их композиций на развитие листовой поверхности растений яровой пшеницы сорта Коллективная 3 (полевой опыт)

Варианты опыта	Фаза выхода в трубку		Фаза цветения	
	Площадь листовой поверхности 1 растения			
	см ²	%	см ²	%
Контроль	63,9	100,0	89,5	100,0
Радостим	66,3	110,0	98,9	110,0
Эмистим С	90,9	142,3	96,2	107,5
Биолан	91,6	143,3	131,3	146,7
Экориз	92,3	145,5	150,3	167,9
Экориз + Радостим	85,6	134,0	129,6	144,8
Экориз + Эмистим С	98,3	153,8	133,1	147,7
Экориз + Биолан	99,6	155,9	152,7	174,1

Таблица 6

Продуктивность фотосинтеза и урожай яровой пшеницы сорта Коллективная 3 при использовании биопрепаратов и их композиций (полевой опыт)

Варианты опыта	Чистая продуктивность фотосинтеза, г/м ² сутки		Урожай	
	Фаза выхода в трубку	Фаза цветения	ц/га	% к контролю
Контроль	6,5	7,5	32,0	100,0
Радостим	7,1	8,2	37,4	116,9
Биолан	7,5	8,6	37,9	118,4
Эмистим С	7,4	8,4	37,7	117,8
Экориз	8,4	9,7	43,7	136,6
Экориз + Радостим	8,0	9,8	40,9	127,8
Экориз + Биолан	8,7	10,1	45,2	141,3
Экориз + Эмистим С	8,5	10,3	44,2	138,1

Данные по урожаю пшеницы (табл. 6) коррелировали с показателями чистой продуктивности фотосинтеза. При этом бактериализация обеспечила прибавку урожая на 36,6%, использованные РРР – на 17,0–18,0%. Наибольшее увеличение урожая по сравнению с контролем получено при использовании композиций Экориза с Эмистимом С и Биоланом – на 38,1 и 41,3% соответственно.

ВЫВОДЫ

Селекционированные штаммы псевдомонад и фосфат-минерализующих бацилл способствуют повышению продуктивности яровой пшеницы. Препараты на их основе, а также композиции псевдомонад с РРР Эмистимом С и Биоланом могут быть основой препаратов нового поколения с расширенным спектром действия.

*Авторы выражают благодарность доктору сельскохозяйственных наук, профессору Грицаенко З.М. и ее сотрудникам за организацию и проведение полевого опыта, а также доктору биологических наук, профессору Коцю С.Я. и его сотрудникам за проведение вегетационного опыта.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Андреюк, Е. И., Антипчук, А. Ф. и др. БТУ – новое комплексное удобрение // Микробиол. журн. – 1999. – 61, № 2. – С. 45-53.
2. Антипчук, А. Ф., Канцелярук, Р. М. и др. Влияние азотобактера на прорастание семян огурцов // Микробиол. журн. – 1985. – 47, № 2. – С.19-23.
3. Антипчук, А. Ф., Рангелова, В. М. и др. Вплив азотобактера на врожай та якість цукрових буряків // Микробиол. журн. – 1997. – 59, № 4, С. 90-95.
4. Антипчук, А. Ф., Скочинская, Н. Н. К вопросу о колонизирующей способности бактерий рода *Azotobacter* // Микробиол. журн. – 1993. – 55, № 3. – С. 44-47.
5. Коць, С. Я., Титова, Л. В. И др. Ефективність препаратів ризосферних діазотрофів при вирощуванні ярої пшениці // Живлення рослин: теорія і практика (Збірник наук. праць, присвячена 100-річчю від дня народження акад. АН УРСР та ВАСГНІЛП. А. Власюка). – К.: Логос, 2005. – С. 245-253.
6. Назарько, М. Д., Лобанов, В. Г. Действие интенсивного окультуривания на биохимические и микробиологические показатели плодородия почвы // Изв. Вузов. Пищ. технол. – 2005. – № 4. – С.59-61.
7. Ничипорович, А. А. Фотосинтез и теория получения высоких урожаев. – М: Изд-во АН СССР. – 1956. – 94 с.
8. Пат. 2322061 Россия МПК⁷ А01N 63/00 С12N 1/20. Биопрепарат для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и улучшения качества продукции/ Афанасьев, Е. Н., Тюменцева, И. С. и др. – № 2006112903/13; заяв. 19.04.2006; опуб. 20.04.2008.
9. Струнникова, О. К., Шахназарова В. Ю. и др. Взаимоотношения *Fusarium culmorum* и *Pseudomonas fluorescens* в ризосфере и ризоплане ячменя // Микология и фитопатология. – 2008. – № 1. – С. 70-77.

10. Титова, Л. В., Рой, А. А. и др. Комбинированные бактериальные препараты на основе глинистых минералов и композиций почвенных микроорганизмов//Вісник Одеського національного університету. – 2001. – Т.6. Вип. . – С. 305-308.

11. Тихонович, И. А., Круглов, Ю. В. Микробиологические аспекты плодородия почвы и проблемы устойчивого земледелия// Плодородие. – 2006, № 5. – С. 9-12.

12. Хованская, С. С., Лисицкая, Т. Б. Бактерии, стимулирующие рост растений: скрининг и ассоциации на их основе. 4-й Моск. междунар. Конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития». Москва, 12 – 16 марта 2007 г. Материалы конгресса. М. – 2007. – С. 213.

13. Gonsalez Juan, E., Marketon Melanie, M. Quorum sensing in nitrogen-fixing rhizobia // Microbial and Mol. Biol. Rev. – 2003. – 67, № 4. – P. 574-592.

14. Hardy, R. W. F., Holsten, R.D. et al. The acetylene-etylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation // Plant Physiol. – 1968. – 42, № 8. – P. 1185-1207.

15. Lia Rocque Jeannine, R., Bergholz Peter, W. et al. Influence of host plant-derived and abiotic environmental parameters on the composition of the diazotroph assemblage associated with roots of *Juncus roemerianus*/ /Antonie van Leewenhoek. – 2004. – 86, № 3. – P. 249-261.

16. Liu Xuming, Zhao Hongxing, Chen Sanfeng. Colonization of maize and rice plants by strain *Bacillus megaterium* C4 // Curr. Microbiol. – 2006. – 52, № 3. – P. 186-190.

17. Wellburn, F.R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b* as well as total carotenoids using various solvents with spectrophotometers of different resolution // Plant Physiol. – 1994. – 144, № 3. – P. 307-313.

Data prezentării articolului – 09.07.2009