

## Потенциал растительно-микробного взаимодействия в агроценозах бобовых культур\*

**С.В. Дидович**, к.с.-х.н., **Т.В. Горгулько**, мл.н.с., **О.П. Алексеев**, мл.н.с., ФГБУН НИИСХ Крыма

В природных условиях микроорганизмы существуют в виде структурированных сообществ с множеством устойчивых связей [1] и являются одним из главных факторов, определяющих процессы круговорота биогенных элементов (азотфиксация, фосфатомобилизация, денитрификация, восстановление сульфатов и металлов, метаногенез и прочее). В настоящее время микроорганизмы и их ассоциации применяются в биотехнологии, в том числе и для сельского хозяйства [2–6]. В связи с этим возникает необходимость научного подхода к формированию микробных ассоциаций/консорциумов в ризо- и филосфере, позволяющих удовлетворить потребность растений в минеральном питании, обеспечить их защиту от фитофагов и фитопатогенов, максимальной реализации растительно-микробного взаимодействия в агроценозах.

Для агроценозов Крыма большие перспективы имеют ценные и адаптированные к природно-климатическим условиям степной зоны зернобобовые культуры нут и горох, обладающие уникальными биологическими особенностями, способные в симбиозе с клубеньковыми бактериями усвоить за вегетацию до 100–150 кг/га молекулярного азота из воздуха и сформировать высокие урожаи семян без применения минеральных азотных удобрений.

Однако засорённость посевов сорными растениями значительно сказывается на продуктивности агроценозов, а применение гербицидов – на загрязнении почвы и растениеводческой продукции поллютантами. В связи с этим поиск экологически безопасных путей эффективного функционирования агроценозов и управления биологическими процессами, использования потенциала растительно-микробного взаимодействия за счёт применения агрономически полезных штаммов микроорганизмов для обеспечения удобрительного для бобовых культур эффекта и гербицидного воздействия на сорную растительность актуальны.

**Материал и методы исследования.** В опытах были использованы микроорганизмы из коллекции отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма», среди которых штаммы ризобий *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 2616 и *Mesorhizobium ciceri* 068, два перспективных азотфиксирующих штамма цианобактерий (альгологически чистых культур): *Nostoc linckia* (Roth; Born. et Flah 1880) 144 и *Nostoc sphaeroides* Kützing 4, депонированные в коллекции АСССИ Института физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН соответственно под № 271 и № 150 [7, 8].

Цианобактерии культивировали на рекомендованной для выращивания сине-зелёных водорослей среде [9]. Экспериментальный образец цианоризобиального консорциума готовили с учётом

\* Исследование выполнено в рамках государственного задания РАН №0834-2015-0005 и гранта РФФИ офи\_м № 15-29-01272

рекомендаций [10] и на основе разработанной оригинальной авторской среды для культивирования цианобактерий, её спутников и введённых в альгосферу штаммов клубеньковых бактерий. Фильтраты из цианобактерий готовили методом фильтрации гомогенизированной в жидкой среде культуры штамма в физиологически активную фазу его развития.

Вегетационный опыт проводили на растениях нута *Cicer arietinum* L. и гороха *Pisum sativum* L., которые выращивали в теплице в пластиковых сосудах объёмом 300 мл. Субстрат – чернозём южный агроценозов, содержащий 1,85% гумуса, подвижного фосфора ( $P_2O_5$ ) – 4,6–7,2 мг/100 г и обменного калия ( $K_2O$ ) – 30,0–39,0 мг/100 г, легкогидролизуемого азота – 0,35–1,28 мг/100 г, рН солевой вытяжки 7,7, рН водной – 8,3. Данные агрохимические показатели определяли общепринятыми методами: содержание гумуса проводили по Тюрину, подвижного фосфора ( $P_2O_5$ ) и обменного калия ( $K_2O$ ) – по Мачигину, легкогидролизуемого азота – по ГОСТу 26213-91. Показатели рН определяли по ДСТУ 10390-2001. Повторность в вегетационных опытах шестикратная.

Для изучения ингибирующего воздействия на растения применяли фильтраты штаммов цианобактерий для обработки растений в первые дни после всходов в дозе 3 л/га по аналогии применения глифосатного гербицида Раундап, который был контролем.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием компьютерной программы Statistica 7,0.

**Результаты исследования.** В результате проведённого исследования в вегетационном опыте на нуте во всех вариантах сформировались азотфиксирующие клубеньки на корнях растений, количество которых было в пределах ошибки опыта. В контрольном варианте с обработкой водой азотфиксирующие клубеньки сформировались за счёт ризобий из состава эпифитной микрофлоры семян, в остальных вариантах – за счёт бактериализации штаммом *M. ciceri* 068. Обработка нута цианоризобияльным консорциумом позволила увеличить фитомассу растений в 3,8 раза в сравнении с нитрагинизацией штаммом 068 и в 4,1 раза – в сравнении с контролем (табл. 1).

1. Эффективность предпосевной бактериализации растений *Cicer arietinum* L. штаммами клубеньковых бактерий и цианобактерий *N. linkia* 144 (вегетационный опыт, чернозём южный, 2016 г.)

Вариант	Зелёная масса, г/растение	Высота растений, см/растение
Контроль (вода)	1,4	36,6
<i>M. ciceri</i> 068	1,5	42,5
<i>N. linkia</i> 144	1,1	41,7
<i>N. linkia</i> 144 + 068	5,7	35,4
HCP <sub>05</sub>	0,9	7,0

В опыте с горохом было установлено, что максимальное количество азотфиксирующих клубеньков (14,3 ед/растение) сформировалось за счёт бактериализации штаммом 261б, и было в 1,7–2,5 раза больше по сравнению с контрольным вариантом и обработкой цианоризобияльным консорциумом на основе штаммов *N. linckia* 144 и *R. leguminosarum* 261б. Однако необходимо отметить, что обработка цианоризобияльным консорциумом повышала высоту растений на 19,2%, увеличивала фитомассу корней на 12,5% (в 1,1 раза) и надземную биомассу растений гороха – на 30,7% (в 1,3 раза) в сравнении с нитрагинизацией ризобияльным штаммом (табл. 2).

2. Эффективность предпосевной бактериализации растений *Pisum sativum* L. штаммами клубеньковых бактерий и цианобактерий *Nostoc* (вегетационный опыт, чернозём южный, 2015 г.)

Вариант	Количество клубеньков, ед/растение	Высота, см/растение	Зелёная масса, г/растение	Масса корней, г/растение
Контроль – вода	5,7	31,9	1,2	0,5
<i>R. leguminosarum</i> 261б	14,3	31,7	1,3	0,8
<i>N. linckia</i> 144 + 261б	8,6	37,8	1,7	0,9
HCP <sub>05</sub>	4,9	3,3	0,3	0,1

В условиях вегетационного опыта исследовали влияние фильтратов на основе штаммов цианобактерий *N. linckia* 144 и *N. sphaeroides* 4 на морфобиологические показатели культурных и сорных растений в агроценозах нута и гороха. Как свидетельствуют результаты опыта, в агроценозе нута обработка растений цианофильтратом на основе штамма 144 оказывала ингибирующее действие на растения *Amaranthus retroflexus* L. (табл. 3). В агроценозе гороха наблюдали аналогичный эффект угнетения ширицы.

Возможно предположить, что штамм ностока 144 способен оказывать стимулирующий и ингибирующий эффекты, которые зависят от способа обработки и биотехнологии приготовления препарата на его основе. В процессе гомогенизации происходит разрушение клеток, которые могут содержать специфичные ингибиторы роста. В литературе есть сведения о том, что при разрушении клеток цианобактерий происходит выброс токсинов в среду [11]. Необходимо продолжение исследования.

**Выводы.** В результате проведённого исследования впервые установлено, что консорциумы цианобактериальных штаммов могут оказывать стимулирующий и ингибирующий эффекты на растения агроценозов.

Предпосевная обработка гороха и нута цианоризобияльным консорциумом на основе штаммов *N. linckia* 144 и специфичных растению гороха

3. Влияние обработки фильтратами цианобактерий на морфобиологические показатели растений агроценоза *Cicer arietinum* L. (вегетационный опыт, чернозём южный, 2016 г.)

Вариант опыта	Нут ( <i>Cicer arietinum</i> L.)		Щирица запрокинутая ( <i>Amaranthus retroflexus</i> L.)		Марь белая ( <i>Chenopodium album</i> L.)		Вьюнок полевой ( <i>Convolvulus arvensis</i> L.)	
	m	h	h	m	m	h	m	h
Раундап	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>N. linckia</i> 144	7,1	42,2	–	–	–	–	–	–
<i>N. sphaeroides</i> 4	6,9	51,1	0,8±0,01	–	–	–	–	–
HCP <sub>05</sub>	2,8	7,2	–	–	–	–	–	–

Примечания: m – зелёная масса; г/растение; h – высота, см/растение

(*R. leguminosarum* 2616) и нута (*M. ciceri* 068) штаммов клубеньковых бактерий позволила увеличить фитомассу растений соответственно в 1,4 и 4,1 раза в сравнении с контролем; в 1,3 и 3,8 раза в сравнении с нитрагинизацией. Использование обработки растений фильтратом гомогенизированной культуры штамма *N. linckia* 144 оказывало ингибирующий эффект на сорное растение щирицу *Amaranthus retroflexus* L. и не снижало продуктивность гороха и нута.

Штамм цианобактерий *N. linckia* 144 является перспективным для биотехнологии и способствует реализации потенциала растительно-микробного взаимодействия при выращивании бобовых растений.

### Литература

1. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биоплёнка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? // Микробиология. 2007. Т. 76. № 2. С. 149–163.
2. Биопрепараты в сельском хозяйстве. Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве: сб. научных работ / Науч. ред. И.А. Тихонович, Ю.В. Круглова. М., 2005. 154 с.
3. Трефилова Л.В. Использование цианобактерий в агробиотехнологии: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Саратов, 2008. 13 с.

4. Курдіш І.К. Бактеріальні препарати як засіб корекції мікробних процесів в агроєкосистемах / І.К. Курдіш // ХПІ з'їзд Товариства мікробіологів України (Ялта, 1–5 жовтня 2013 р.): тез. доп. Сімферополь, 2013. С. 178.
5. Doreen Fischer. PGPR in Sugarcane When, Where and How? Initial Colonization of Different Bacterial Strains Visualized in situ Combined with PGPR Related Transcript Quantification / Doreen Fischer, Andreas Hofmann et al. // Book of Abstracts of 12th European Nitrogen Fixation Conference 25–28 August 2016 Budapest, Hungary. P. 309.
6. Wiebke Bünger. Cultivation of Plant-associated Bacteria Belonging to the Phylum Verrucomicrobia / Wiebke Bünger, Jana Müller et al. // Book of Abstracts of 12th European Nitrogen Fixation Conference 25–28 August 2016 Budapest, Hungary. P. 350.
7. Коллекция бактерий / HinWorld. [Электронный ресурс]. URL: <http://hin-project.com/theory/bacteria-collection/>.
8. Каталог коллекции // Сайт Альгологической коллекции ИФХиБПП РАН. [Электронный ресурс]. URL: <http://acssi.org/index.php/catalogue>.
9. Темралева А.Д. Современные методы выделения очистки и культивирования почвенных цианобактерий / А.Д. Темралева, С.А. Дронова, С.В. Москаленко, С.В. Дидович // Микробиология. 2016. Т. 85. № 4. С. 369–380.
10. Панкратова Е.М. Конструирование микробных культур на основе сине-зелёной водоросли *Nostoc paludosum* Kütz / Е.М. Панкратова, Р.Ю. Зяблих, А.А. Калинин, А.Л. Ковина, Л.В. Трефилова // Альгология. 2004. Т. 14. № 4. С. 445–458.
11. Ingrid Chorus Toxic Cyanobacteria in Water. A guide to their health consequences, monitoring and management / Ingrid Chorus, Jamie Bartram // World Health Organization, London: E&FN Spon, p. 1999–416.