

УДК 632.1

UDC 632.1

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БАКТЕРИЗАЦИИ
СЕМЯН НА РОСТ И РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ
ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ¹**

**STUDY OF THE INFLUENCE
BACTERIZATION SEED ON GROWTH AND
DEVELOPMENT OF FALL WHEAT**

Асатурова Анжела Михайловна
к.б.н.

Asaturova Anzhela Mikhailovna
Cand.Biol.Sci.

Надыкта Владимир Дмитриевич
академик, профессор

Nadykta Vladimir Dmitrievich
academician, professor

Исмаилов Владимир Яковлевич
к.б.н.

Ismailov Vladimir Yakovlevich
Cand.Biol.Sci.

Дубяга Валентина Михайловна

Dubyaga Valentina Mikhailovna

Томашевич Наталья Сергеевна

Tomashevich Natalia Sergeevna

Жарникова Марина Дмитриевна

Zharnikova Marina Dmitrievna

Жевнова Наталья Андреевна

Zhevnova Natalia Andreevna

Хомяк Анна Игоревна
*Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский
институт биологической защиты растений
Российской академии сельскохозяйственных наук,
Краснодар, Россия*

Homyak Anna Igorevna
*State Scientific Institution All-Russian Research
Institute of Biological Plant Protection of
Russian Academy of Agricultural Sciences,
Krasnodar, Russia*

В статье представлены результаты исследований по определению ростстимулирующей активности и влиянию на посевные качества семян озимой пшеницы перспективных штаммов бактерий-антагонистов возбудителей фузариоза. Отобраны активные штаммы, перспективные для разработки на их основе биопрепаратов полифункционального типа действия

The results of studies to determine growth-promoting activity and the effect on seed quality of fall wheat of perspective bacterial strains of antagonistic Fusarium pathogens are presented. We have selected the active strains perspective for the development of biopreparations, based on their type of multifunctional action

Ключевые слова: БАКТЕРИИ-АНТАГОНИСТЫ, ОЗИМАЯ ПШЕНИЦА, РОСТСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ, БИОПРЕПАРАТЫ

Keywords: BACTERIA-ANTAGONISTS, FALL WHEAT, GROWTH PROMOTING ACTIVITY, BIOPREPARATIONS

Введение

При отборе среди коммерческих штаммов потенциальных продуцентов биопрепаратов для защиты сельскохозяйственных культур от возбудителей болезней важным аспектом является не только проявление

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке МЦП ЕврАзЭС «Инновационные биотехнологии» на 2011-2015 гг. Министерства образования и науки РФ, государственный контракт № 16.М04.11.0026.

антифунгальной активности *in vitro*, но способности оказывать положительное влияние на рост и развитие культуры, а также обеспечивать эффективную защиту семян и проростков в лабораторных и полевых условиях [1, 2].

В процессе жизнедеятельности корни растений выделяют разнообразные экзометаболиты – аминокислоты, сахара, минеральные соли и т. д. Известно, что многие представители ризосферных микроорганизмов не только питаются за счет продуктов жизнедеятельности растения-хозяина, но и оказывают положительное влияние на его рост, развитие и продуктивность.

Такое положительное влияние ризосферной микробиоты на развитие растений может обеспечиваться несколькими возможными механизмами: улучшение фосфорного питания растений за счет гидролиза органических фосфатов или растворения минеральных солей фосфора; повышение эффективности азотфиксации в ассоциативных и симбиотических азотфиксирующих сообществах; опосредованная стимуляция роста за счет подавления патогенной микробиоты и повышения устойчивости растений к заболеваниям [3] и продукция фитогормонов [4-6].

Примечательно, что ростстимулирующий эффект ризосферных бактерий сохраняется не только в природных сообществах, но и при обработке растений в лабораторных и полевых условиях. Многими исследователями отмечалось увеличение всхожести, длины и биомассы проростков при инокуляции семян ризосферными штаммами, ускорение темпов роста растения, увеличение продуктивности фотосинтеза [7]. Положительное воздействие ризосферных микроорганизмов на сельскохозяйственные растения, начиная с самых ранних этапов развития, в дальнейшем выражается в снижении их пораженности фитопатогенами и увеличении урожайности [8].

Кроме того, опосредованное влияние биопрепаратов на основе живых культур микроорганизмов: повышение энергии прорастания и всхожести, позволяет сократить норму высева и получить прибавку урожая, вследствие чего сокращаются затраты на производство зерна. Как следствие, эффективность обработки тем выше, чем выше жизнеспособность семян.

Таким образом, ростстимулирующая активность и защитный эффект являются одними из важнейших критериев отбора перспективных коммерческих штаммов для создания на их основе биопрепаратов комплексного действия.

Цель настоящих исследований – выявить ростстимулирующую активность и влияние на посевные качества семян озимой пшеницы бактериальных штаммов-продуцентов биопрепаратов.

Материалы и методы

Объектом исследований служили: штаммы бактерий-антагонистов возбудителей фузариоза [9, 10], семена и проростки озимой пшеницы сорта Батько.

Для оценки ростстимулирующей активности штаммов-продуцентов биопрепаратов семена озимой пшеницы замачивались в бактериальной суспензии двухсуточной культуры в течение двух часов. Суспензии культур получали путем смывов бактериальной массы с чашки Петри и последующего их доведения стерильной водой до объема 50 мл. Через два часа бактериальную суспензию сливали, а семена подсушивали на фильтровальной бумаге. Через 20-24 ч. обработанные семена высевали в стаканчики с песком (объемом 0,45 л) по 30 штук в каждый. Повторность опыта трехкратная. Стаканчики с семенами инкубировали в теплице при температуре 24-28 °С и освещенности 11 тыс. люкс.

Через 14 дней производили учет длины корня и побега проростков, а также их сырой массы. Корни проростков предварительно тщательно отмывали от песка.

Для определения влияния опытных образцов на основе штаммов бактерий-антагонистов на посевные качества семян озимой пшеницы ЖК получали в условиях периодического культивирования на картофельно-глюкозной среде и среде Кинга В. Культивирование осуществляли на терморегулируемом орбитальном термостате ОВЕН ТРМ1 (200 об./мин.) в колбах объемом 450 мл [11].

Обработанное зерно проращивали во влажных камерах на фильтровальной бумаге. На 3 сутки определяли энергию прорастания, на 7 сутки – лабораторную всхожесть семян, обработанных различными нормами расхода ЖК опытных образцов биопрепаратов. Температура воздуха в период эксперимента $+22^{\circ}\text{C}$ – $+25^{\circ}\text{C}$, относительная влажность воздуха 60 %.

Статистическая обработка полученных данных производилась с использованием двухвыборочного t-теста с различными дисперсиями в программе Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и обсуждения

В результате предпосевной обработки семян озимой пшеницы суспензией штаммов бактерий-антагонистов наблюдалось статистически достоверное увеличение биометрических параметров двухнедельных проростков: увеличение длины побега от 5,0 до 7,4 %, длины корня от 10,9 до 22,0 %, массы побега от 9,4 до 13,3 % и массы корня от 23,0 до 45,4 % (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние активных штаммов бактерий-антагонистов на рост и развитие проростков озимой пшеницы

Вариант	Прибавка в длине побега, %	Прибавка в массе побега, %	Прибавка в длине корня, %	Прибавка в массе корня, %
Фитоспорин-М, Ж, биологический стандарт	0	0	4,3	0
BZR 148	0,1	0,3	12,7*	25,2*
BZR 241	5,0*	7,1	13,7*	42,3*
BZR 261	0	1,7	16,0*	23,0*
BZR 336 g	0	6,0	0	18,0
BZR 336 s	0	5,6	0,1	0
BZR 337	0	0	0	0
BZR 348	0	0	0	0
BZR 367	0	0	0,4	0
BZR 413	0	13,8	1,6	2,1
BZR 416	0	0	2,5	3,3
BZR 417	0	0	0	0
BZR 430	0	0	0	0
BZR 441	1,2	0,8	0	0
BZR 455	0	0	0	0
BZR 462	1,1	0	0	0
BZR 472	0,2	8,8	0	0
BZR 480	2,3	3,0	0	0
BZR 504	0	0	0	28,3
BZR 512	0	0	0	0
BZR 523-1	0,1	0	22,0*	45,4*
BZR 523-2	1,8	3,6	20,6*	37,2*
BZR 523-3	4,2	5,6	6,3	25,6*
BZR 537	0	0,7	0	0
BZR 538	0	0	0	0
BZR 576	0,8	0	15,0*	15,7
BZR 577	7,4*	5,9	0	0
BZR 658	6,0*	15,0	0	0
BZR 673	5,2	0	9,8	10,3
BZR 86	2,4	0	0	23,9*
BZR 59	7,4*	12,0	0	0
BZR 474	0	13,3*	10,9*	29,0*
BZR 517	2,8	9,4*	20,1*	15,6
BZR 854	0	0	2,4	2,1

* - данные статистически достоверны.

Максимальное увеличение длины побега наблюдалось после обработки семян штаммами BZR 577 (7,4%) и BZR 658 (6%), максимальное увеличение длины корня – после обработки штаммами

BZR 523-1 (22%), BZR 261 (15%). Максимальное увеличение массы побега наблюдалось при обработке семян суспензией на основе штамма BZR 413 (13,8%) массы корня при обработке штаммами BZR 523-1 (45,4%), BZR 241 (42,3%), BZR 474 (29%).

Отмечено, что увеличение массы корня происходило преимущественно за счет увеличения числа боковых корней у проростков, главным образом в верхней части корня (рис.1).

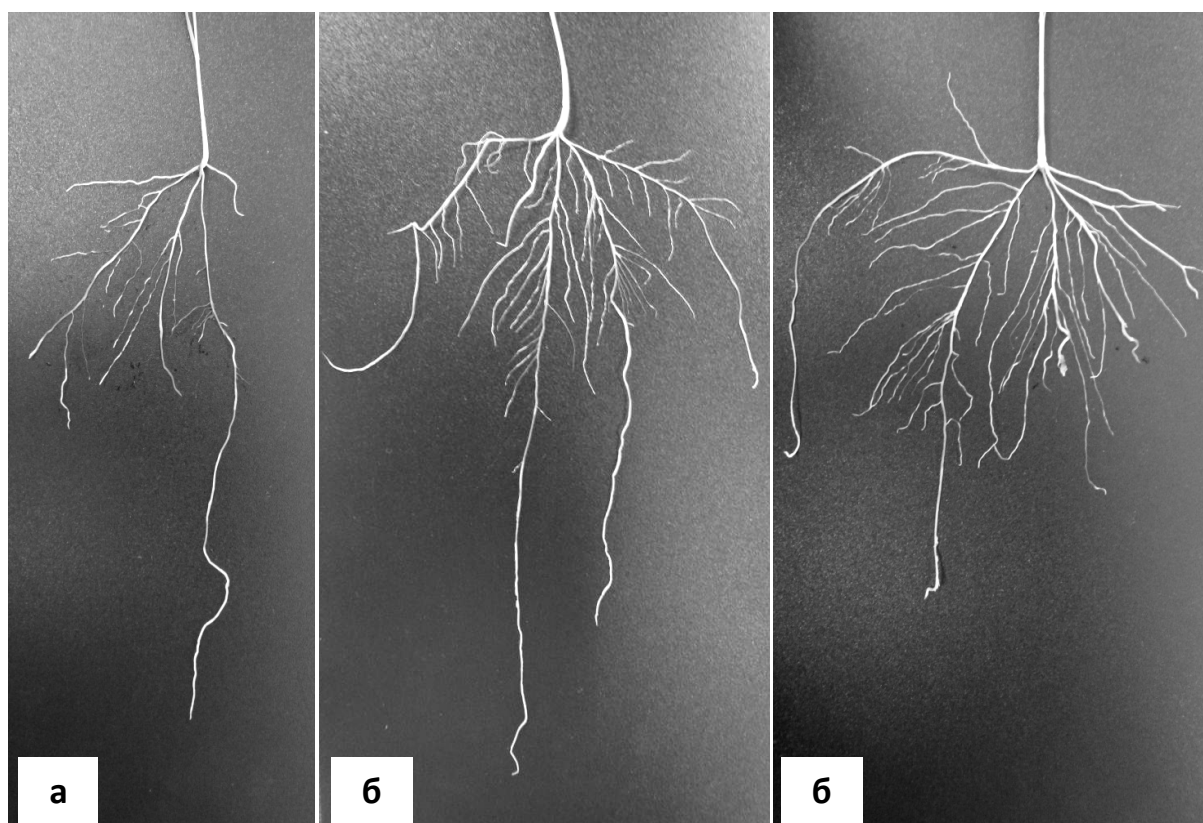


Рисунок 1 – Влияние перспективных бактериальных штаммов на развитие боковых корней у проростков озимой пшеницы сорта Батько

а – контроль; б - вариант, обработка различными опытными образцами BZR.

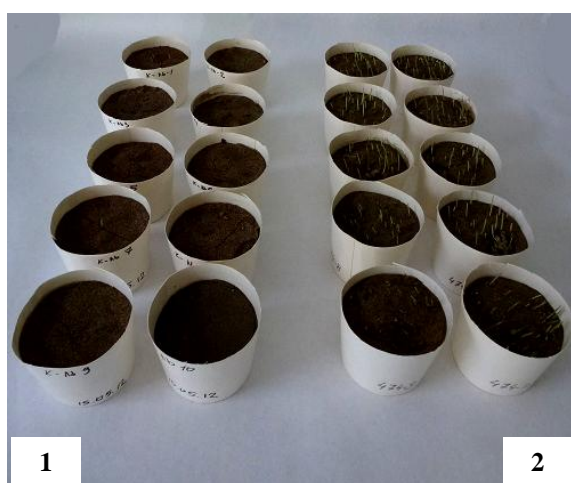
В результате интенсивного развития боковых корней увеличивалось число корней, приходящихся на единицу площади субстрата, что в полевых условиях, возможно, будет способствовать более эффективному поглощению почвенного раствора растением.

Обработка некоторыми штаммами вызывала увеличение сразу двух (BZR 523-1, BZR 261, BZR 148) или трех изученных биометрических параметров проростков пшеницы (BZR 241, BZR 517 и BZR 474).

Опытные образцы, при обработке которыми получено наибольшее статистически достоверное увеличение биометрических параметров проростков озимой пшеницы, в дальнейшем исследовались в опытах по ростстимуляции в динамике, что позволило рассмотреть особенности развития контрольных и обработанных проростков в течение десяти дней вегетации (рис. 2).

Необходимо отметить, что на четвертый-пятый день с момента появления всходов происходило замедление темпов роста побегов и корней проростков как в контроле, так и в большинстве вариантов. Вероятно, это объясняется исчерпанием запасов питательных веществ в эндосперме, и переходом растений на внешнее питание.

В результате обобщения данных обоих экспериментов по ростстимуляции были отобраны штаммы, наиболее эффективные по этому критерию: BZR 59, BZR 474, BZR 517, BZR 519, BZR 854 BZR 673, BZR 413, BZR 416 и BZR 336 g.



а



б

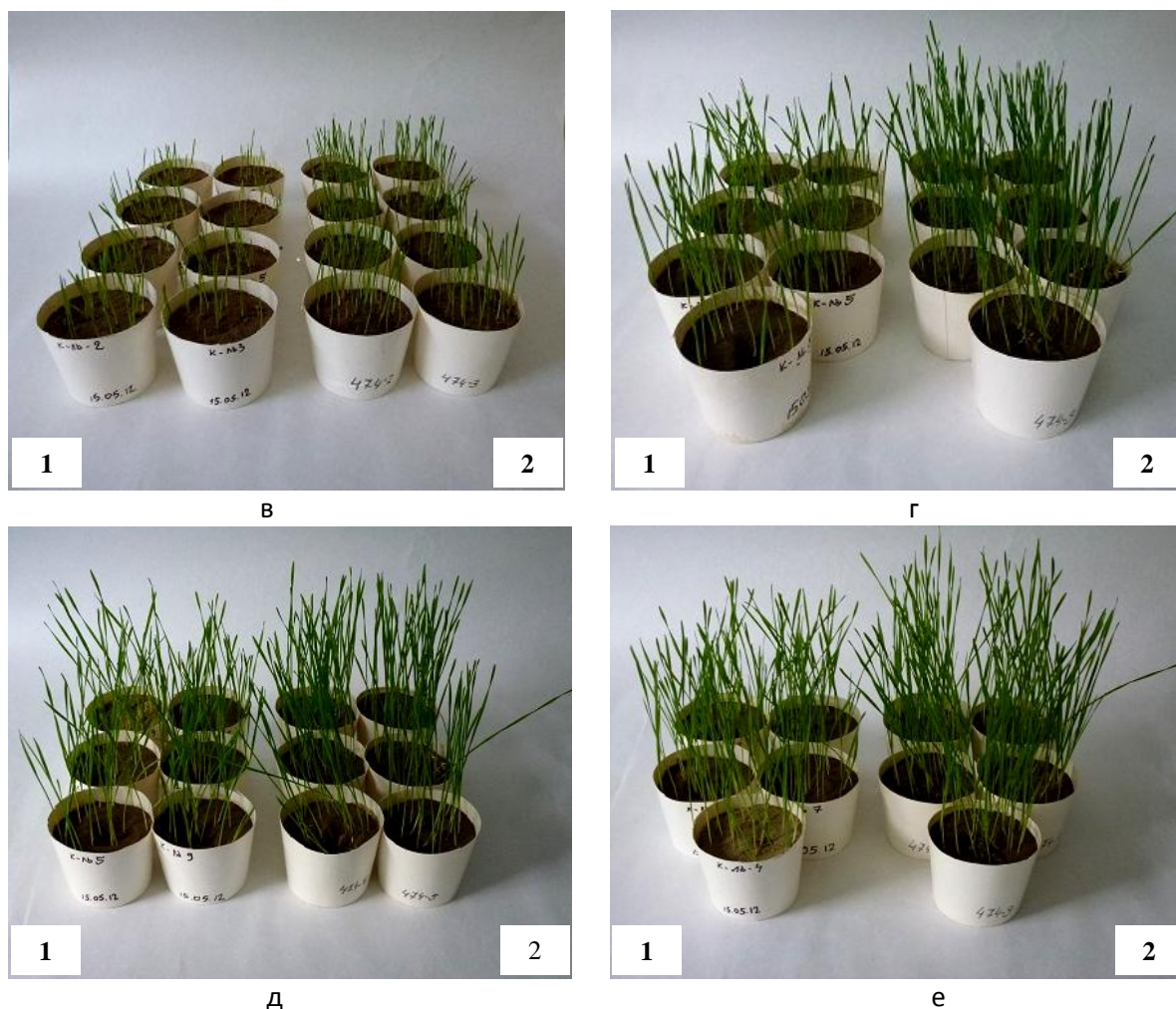


Рисунок 2 – Влияние перспективных опытных образцов биопрепаратов на рост и развитие растений озимой пшеницы сорта Батько в динамике

1 – контроль (без обработки); 2 – вариант, обработка опытным образцом BZR.

а – третий день; б – четвертый день; в – пятый день; г – шестой день; д – седьмой день; е – восьмой день.

Известно, что семенной материал должен полностью соответствовать ГОСТам в отношении сортовых и посевных качеств. Энергия прорастания и всхожесть – одни из важнейших видов оценки посевных качеств семян, так как семена с высокой энергией прорастания дружнее всходят, лучше используют факторы роста, всходы их меньше угнетаются сорняками, более устойчивы к внешним неблагоприятным условиям. При плохой всхожести получают изреженные посевы, что в значительной мере влияет на величину урожая сельскохозяйственных культур.

Анализ семенного материала озимой пшеницы сорта Батько при обработке ЖК опытных образцов биопрепаратов с различной нормой расхода показал, что энергия прорастания, лабораторная всхожесть и количество токсинообразующих грибов варьируют в зависимости от варианта опыта (табл. 2).

Таблица 2 – Влияние перспективных штаммов-продуцентов биопрепаратов на посевные качества семян озимой пшеницы сорта Батько

Вариант	Энергия прорастания, %	Лабораторная всхожесть, %	Количество токсинообразующих грибов, %			
			Fusarium sp.	Alternaria sp.	Penicillium sp.	Mucor sp.
1	2	3	4	5	6	7
Контроль без обработки	90,0	92,0	4,0	24,0	0	2,0
Кинто Дуо, КС химический эталон	96,0	98,0	0	16,0	0	0
Фитоспорин-М, Ж биологический эталон	88,0	88,0	4,0	18,0	0	0
BZR 59	<u>88,7</u> 84,0-94,0	<u>89,3</u> 84,0-96,0	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>35,3</u> 30,0-40,0	0	0
BZR 86	<u>84,7</u> 80,0-88,0	<u>86,7</u> 84,0-88,0	<u>1,3</u> 0-2,0	<u>33,3</u> 32,0-34,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
BZR 148	<u>84,7</u> 82,0-88,0	<u>86,7</u> 84,0-92,0	0	<u>31,3</u> 26,0-40,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
Продолжение таблицы 2						
1	2	3	4	5	6	7
BZR 187	<u>87,3</u> 84,0-90,0	<u>86,0</u> 80,0-90,0	<u>1,3</u> 0-2,0	<u>39,3</u> 38,0-42,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
BZR 261	<u>91,3</u> 88,0-96,0	<u>87,3</u> 86,0-90,0	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>31,3</u> 28,0-36,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
BZR 277	<u>86,0</u> 84,0-88,0	<u>89,3</u> 86,0-94,0	0	<u>33,3</u> 30,0-38,0	0	0
BZR 336 g	<u>88,7</u> 88,0-90,0	<u>89,3</u> 80,0-94,0	0	<u>24,7</u> 24,0-26,0	<u>1,3</u> 0-4,0	0
BZR 336 s	<u>89,3</u> 86,0-92,0	<u>92,7</u> 92,0-94,0	<u>1,3</u> 0-4,0	<u>44,7</u> 40,0-52,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
BZR 337	<u>90,7</u> 84,0-96,0	<u>92,0</u> 88,0-98,0	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>45,3</u> 38,0-54,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
BZR 348	<u>84,7</u>	<u>85,3</u>	<u>1,3</u>	<u>34,0</u>	<u>0,7</u>	<u>0,7</u>

	78,0-92,0	78,0-92,0	0-4,0	0-58,0	0-2,0	0-2,0
BZR 413	<u>92,0</u> 90,0-96,0	<u>92,7</u> 92,0-94,0	<u>2,0</u> 0-6,0	<u>22,7</u> 14,0-28,0	<u>0,7</u> 0-2,0	0
BZR 416	<u>83,3</u> 78,0-86,0	<u>90,0</u> 84,0-94,0	<u>2,0</u> 0-6,0	<u>44,7</u> 42,0-46,0	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>1,3</u> 0-2,0
BZR 417	<u>89,3</u> 84,0-96,0	<u>93,3</u> 90,0-98,0	0	<u>33,3</u> 26,0-40,0	<u>1,3</u> 0-2,0	<u>1,3</u> 0-2,0
BZR 430	<u>88,7</u> 84,0-96,0	<u>87,3</u> 84,0-92,0	<u>2,0</u> 0-6,0	<u>34,0</u> 24,0-44,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
BZR 474	<u>88,0</u> 84,0-94,0	<u>90,7</u> 84,0-96,0	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>28,7</u> 24,0-36,0	<u>1,3</u> 0-2,0	2,0
BZR 517	<u>87,3</u> 84,0-90,0	<u>91,3</u> 86,0-94,0	0	<u>43,3</u> 40,0-46,0	0	<u>1,3</u> 0-2,0
BZR 519	<u>87,3</u> 84,0-92,0	<u>89,3</u> 86,0-92,0	0	<u>33,3</u> 32,0-36,0	<u>2,0</u> 0-6,0	2
BZR 523-2	<u>84,0</u> 82,0-86,0	<u>94,0</u> 90,0-100	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>24,0</u> 18,0-30,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
BZR 576	<u>84,0</u> 82,0-88,0	<u>84,7</u> 82,0-86,0	0	<u>22,0</u> 14,0-26,0	0	0
BZR 577	<u>86,7</u> 82,0-92,0	<u>86,0</u> 82,0-92,0	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>22,0</u> 20,0-24,0	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>1,3</u> 0-2,0
BZR 658	<u>89,3</u> 88,0-92,0	<u>90,0</u> 86,0-92,0	0	<u>25,3</u> 24,0-26,0	0	<u>0,7</u> 0-2,0
BZR 673	<u>88,7</u> 88,0-90,0	<u>90,7</u> 90,0-92,0	<u>0,7</u> 0-2,0	<u>28,7</u> 28,0-32,0	<u>1,3</u> 0-2,0	0
BZR 854	<u>91,3</u> 88,0-94,0	<u>89,3</u> 88,0-90,0	0	<u>30,0</u> 28,0-34,0	<u>0,7</u> 0-2,0	0
<u>x</u> min-max при различных нормах расхода ЖК опытных образцов биопрепаратов.						

Из данных таблицы 2 видно, что энергия прорастания в контроле составила 90 %, в варианте с биологическим эталоном Фитоспорин-М – 88 %, с химическим эталоном Кинто Дуо – 96 %. При этом 21 опытный вариант имел показатели выше, чем в контроле; 34 опытных варианта – выше, чем в биологическом эталоне и один опытный вариант – выше, чем в химическом эталоне.

Лабораторная всхожесть в контроле составила 92 %, в варианте с биологическим эталоном Фитоспорин-М – 88 %, с химическим эталоном Кинто Дуо – 98 %. 15 опытных вариантов имели показатели выше, чем в контроле; 53 опытных варианта – выше, чем в биологическом эталоне и

один опытный вариант – выше, чем в химическом эталоне (рис. 3). Максимальный показатель лабораторной всхожести, равный 100 %, отмечен в варианте со штаммом BZR 523-2.

Фитоэкспертиза семенного материала озимой пшеницы сорта Батько выявила токсинообразующие грибы родов *Fusarium*, *Mucor* с преобладанием грибов рода *Alternaria* – в контроле – 24 %.

Против возбудителей альтернариоза эффект от применения опытных образцов биопрепаратов в различных дозировках был значительно ниже. 100 %-ную эффективность проявил лишь один опытный образец штамма – BZR 348. На уровне химического эталона сработали варианты BZR 413 и BZR 576, на уровне биологического эталона – BZR 523-2.

Учитывая, что в контроле наличие грибов рода *Penicillium* не отмечено, то оценить эффективность опытных штаммов против данного возбудителя не представлялось возможным.



а



б

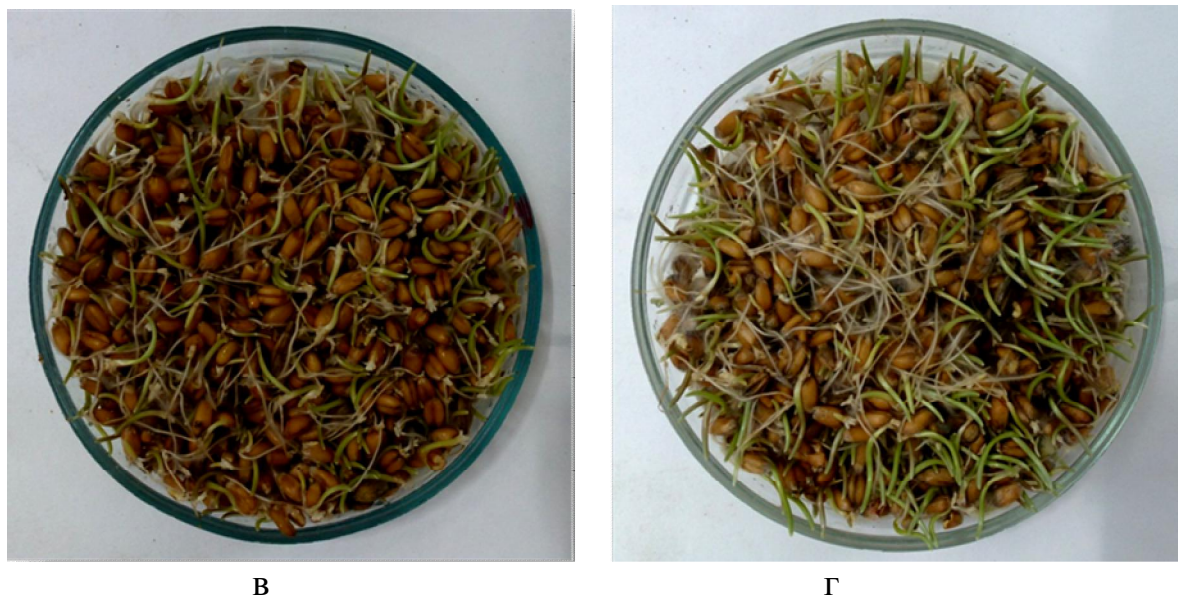


Рисунок 3 – Влияние опытных образцов биопрепаратов на посевные качества семян

- a* – контроль;
- б* – Кинто Дуо, КС химический эталон;
- в* – Фитоспорин-М, Ж биологический эталон;
- г* – опытный образец BZR 436.

Грибы рода *Miscor* присутствовали на семенах в очень малом количестве, всего лишь 2,0 % в контроле, поэтому оценить эффективность опытных штаммов против данного возбудителя также крайне сложно, хотя 53 опытных вариантов полностью подавляли развитие данного патогена.

Заключение

Показано, что опытные образцы на основе различных бактериальных штаммов увеличивали массу побега и корня на 13,3 и 45,4 % и длину побега и корня – на 7,4 и 22,0 % соответственно. При этом обработка суспензией отдельных опытных образцов вызывала увеличение сразу двух или трех изученных биометрических параметров проростков пшеницы.

Отмечено, что увеличение массы корней растений озимой пшеницы в случае предпосевной обработки семян опытными образцами

биопрепаратов происходило за счет увеличения числа боковых корней, главным образом в верхней части корня.

Установлено, что обработка семян озимой пшеницы опытными образцами биопрепаратов на основе бактериальных штаммов обеспечивала в лучших вариантах энергию прорастания семян от 90,0 до 96,0 %, и всхожесть – от 92,0 до 100 %. Тогда как в варианте с биологическим эталоном Фитоспорин-М, Ж изученные показатели составляли 88,0 %, с химическим эталоном Кинто Дуо, КС – 96,0 и 98,0 % соответственно.

Литература

1. Stepwise screening of microorganisms for commercial use in biological control of plant-pathogenic fungi and bacteria / Köhl J., Postma J., Nicot P. et al. // *Biological control*. – 2011. – Vol. 57. – P. 1-12.
2. Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Risotonia solani* in tomato/ Montealegre J.R., Reyes R., Perez L.M. et al. // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2003. – Vol. 6, № 2. – P. 116-127.
3. Боронин А.М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений // *Соросовский образовательный журнал*, – 1998. – № 109. – С. 25-31.
4. Цавкелова Е.А., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Образование ауксинов бактериями, ассоциированными с корнями орхидей // *Микробиология* – 2005. – Т. 71, № 1. – С. 55-62.
5. Микроорганизмы – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение (обзор) / Е.А. Цавкелова, С. Ю. Климова, Т. А. Чердынцева [и др.] // *Прикладная биохимия и микробиология* – 2006. – № 2. – С. 133-143.
6. Роль триптофана в корневых экзометаболитах для фитостимулирующей активности ризобактерий / Кравченко Л.В., Азарова Т.С., Макарова Н.М. [и др.] // *Микробиология* – 2004. – №2. – С. 195-198.
7. Мерзаева О.В., Широких И.Г. Образование ауксинов эндофитными актинобактериями озимой ржи // *Прикладная биохимия и микробиология* – 2010. – №1. – С. 51-57.
8. Боронин А.М., Кочетков В.В. Биологические препараты на основе псевдомонад // *АГРО XXI*. – 2000. – №3. – С. 3-5.
9. Отбор перспективных агентов биологического контроля для защиты озимой пшеницы от возбудителей фузариоза / Асатурова А. М., Дубяга В. М., Томашевич Н. С. [и др.] // *Научный журнал КубГАУ*. – 2012. - № 75 (01). Режим доступа [<http://ej.kubagro.ru/2012/pdf/37.pdf>].
10. Разработка экологически безопасного бактериального биопрепарата для защиты озимой пшеницы от возбудителей фузариоза и других болезней / Надыкта В.Д., Исмаилов В.Я., Асатурова А.М. [и др.] // *Тезисы докладов международной научно-практической конференции «Инновационные биотехнологии» в странах ЕВРАЗЭС*. – 2012. – с. 50-52.

11. Мосичев М.С., Складнев А.А., Котов В.Б. Общая технология микробиологических производств. – М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1982. – 264 с.