



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ PGPR-ШТАММОВ НА РАСТЕНИЯХ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Логинов О.Н.

Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, 450054, Российская Федерация, Уфа, Проспект Октября, 69, e-mail: biolab316@yandex.ru

Резюме

В условиях полевого опыта проведена оценка эффективности использования биопрепаратов на основе ростостимулирующих бактерий *Paenibacillus ehimensis* IB 739 (ВКМ В-2680D), *Pseudomonas koreensis* ИБ-4 (ВКМ В-2830D), *Pseudomonas chlororaphis* ИБ-51 для предпосевной обработки растений гороха (*Pisum sativum* L.) сорта Чижминский 229. Установлено, что предпосевная бактериализация гороха жидкими культурами штаммов *Paenibacillus ehimensis* IB 739 и *Pseudomonas koreensis* ИБ-4 положительно влияла на рост растений и клубенькообразование. Все биопрепараты способствовали снижению распространения корневых гнилей (биологическая эффективность 39,9-47,9 %), у биопрепарата на основе штамма *Pseudomonas koreensis* ИБ-4 отмечена незначительная эффективность против мучнистой росы. Кроме того, установлено, что в варианте с обработкой жидкой культурой штамма *Pseudomonas koreensis* ИБ-4 содержание азота в зеленой массе растений в фазу цветения превышало контрольное значение в 1,5 раза. При этом во всех вариантах опыта, где использовались биологические препараты, отмечено накопление азота преимущественно в надземных вегетативных органах, тогда как в контроле содержание азота в корнях и зеленой массе было приблизительно на одном уровне.

Ключевые слова: PGPR, горох посевной, азотфиксация, клубеньки, корневые гнили, мучнистая роса.

Цитирование - Кузина Е.В., Рафикова Г.Ф., Логинов О.Н. Изучение эффективности применения биопрепаратов на основе PGPR-штаммов на растениях гороха посевного (*Pisum sativum* L.). *Биомика*. 2018. 10(1). С. 28-32. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-7

RESEARCH OF EFFICACY BIOPREPARATIONS ON THE BASIS OF PGPR-STRAINS ON PEA PLANTS (*PISUM SATIVUM* L.)

Kuzina E.V., Rafikova G.F., Loginov O.N.

Ufa Institute of Biology – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 69 Prospekt Oktyabrya, Ufa, Russian Federation, 450054, e-mail: biolab316@yandex.ru

Resume

In the conditions of the field experiment, the efficiency of using biological preparations based on the growth-stimulating bacteria *Paenibacillus ehimensis* IB 739 (VKM B-2680D), *Pseudomonas koreensis* IB-4 (VKM B-2830D), *Pseudomonas chlororaphis* IB-51 for preseeding pea plants (*Pisum sativum* L.). It was found that the presowing treatment of pea cultures strains *Paenibacillus ehimensis* IB 739 and *Pseudomonas koreensis* IB-4 has a positive effect on plant growth and nodule formation. All biological preparations help to reduce the spread of root rot (biological efficiency 39.9-47.9%). Minor effectiveness against powdery mildew was noted for the biopreparation based on the strain *Pseudomonas koreensis* IB-4. It was found that the content of nitrogen in the green mass exceeded the control values by a factor of 1.5 during the flowering phase in the variant where the plants were treated with a biological preparation based on *Pseudomonas koreensis* IB-4. In all the variants of the experiment where biological preparations were

used, it was noted that nitrogen accumulates mainly in the above-ground vegetative organs (leaves and stems), whereas in the control the nitrogen content in the roots and green mass is approximately at the same level.

Keywords: PGPR, seed peas, nitrogen fixation, nodules, root rot, powdery mildew

Citation – Kuzina E.V., Rafikova G.F., Loginov O.N. Research of efficacy biopreparations on the basis of PGPR-strains on pea plants (*Pisum sativum* L.). *Biomics*. 2018. 10(1). P. 28-32. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-7 [In Russian]

Изучение симбиотических отношений в микробно-растительных ассоциациях и биотехнологических перспектив их использования являются предметом обсуждения научного сообщества на протяжении многих лет [Berg, 2009; Raaijmakers et al., 2009; Van Loon, 2007]. Очевидно, что с точки зрения биотехнологии для растениеводства наиболее перспективными считаются микробиологические препараты комплексного действия, при этом в основе препарата может быть, как один активный штамм, так и консорциум микроорганизмов.

Как правило, для того чтобы гарантировать бобовой культуре полноценное развитие при ее выращивании используют препарат, содержащий подходящий вид ризобий. Клубеньковые бактерии успешно выполняют функцию обеспечения растений дополнительным азотом, но, к сожалению, не могут защитить макросимбионта от пагубного воздействия фитопатогенов. В этой связи представляется перспективной работа по созданию комбинированных препаратов для бобовых растений, содержащих активные штаммы ризобий, а также RGP-микроорганизмы, способные подавлять рост различных возбудителей болезней бобовых культур [Akhtar et al., 2010; Mishra et al., 2009]. На сегодняшний день в списке биофунгицидов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, зарегистрирован единственный препарат, рекомендованный для защиты гороха от фузариозной гнили – Фитоспорин-М (*Bacillus subtilis* 26 Д). Применение комбинации из штаммов клубеньковых бактерий и Фитоспорина-М, а также Фитоспорина-М в чистом виде способствовало снижению заболеваний и положительно сказалось на продуктивности гороха, а также фасоли [Иванчина и др., 2008; Гарипова и др., 2016; Фомина, 2009].

Штаммы, использовавшиеся в данном эксперименте, *Paenibacillus ehimensis* IB 739 (ВКМ В-2680Д), *Pseudomonas koreensis* ИБ-4 (ВКМ В-2830Д), *Pseudomonas chlororaphis* ИБ-51, являются антагонистами широкого спектра фитопатогенных грибов, что объясняется наличием у них способности к синтезу низкомолекулярных метаболитов антибиотической природы. Штамм *P. ehimensis* IB 739

также продуцирует комплекс внеклеточных ферментов, участвующих в деградации клеточных стенок микромицетов. Все штаммы оказывают положительное влияние на фитогормональный статус растений путем выработки рострегулирующих веществ. Штаммы *P. ehimensis* IB 739 и *Ps. koreensis* ИБ-4 также обладают способностью к фиксации атмосферного азота [Мелентьев, 2007; Логинов, 2005].

В качестве препаратов для обработки семян растений использовали свежую жидкую культуру штаммов бактерий с титром 10^8 - 10^9 КОЕ/мл. Семена инокулировали непосредственно перед посевом из расчета 10^5 клеток на семя. Биопрепараты на основе клубеньковых бактерий для обработки не применялись. Поскольку в нашем регионе горох является достаточно распространенной сельскохозяйственной культурой, в почве имеется большое число диких штаммов специфических ризобий, и дополнительная инокуляция клубеньковыми бактериями не всегда оправдана [Стемпоржецкий и др., 2009]. Почва опытного участка представляла собой черноземом глинисто-иллювиальный (общий гумус – 4,2 %; общий азот – 0,5 %; подвижный фосфор – 5,6 мг/100 г почвы, $pH_{вод}$ – 6,3). Данные характеристики почвы можно считать благоприятными с точки зрения наличия в почве активных форм спонтанных штаммов клубеньковых бактерий.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что наибольшая отзывчивость гороха наблюдалась в вариантах с биопрепаратами на основе штаммов *P. ehimensis* IB 739 и *Ps. koreensis* ИБ-4 (отмечено увеличение роста растений и клубенькообразования), но только применение препарата на основе штамма *Ps. koreensis* ИБ-4 позволило получить достоверную прибавку урожайности – 1,4 ц/га (табл.1). Вариант опыта с использованием штамма *Ps. chlororaphis* ИБ-51 не отличался от контроля. Это говорит о том, что далеко не всегда внесение PGPR оказывает на растения благоприятное воздействие; более того эффективность бактериальных обработок может различаться даже на разных сортах одного вида сельскохозяйственной культуры.

Таблица 1.
Влияние инокуляции семян штаммами бактерий на морфофизиологические показатели растений гороха и фитосанитарное состояние посевов.
Table 1. The effect of seed inoculation with bacterial strains on morphophysiological characteristics of pea plants and phytosanitary state of crops.

Вариант Variant	Длина надземной части, см Length of the aerial part, cm	Кол-во клубеньков, шт./растение The number of nodules, pieces/plant	Урожайность, ц/га Yield, centner/hectare	Распространение корневых гнилей, % The spread of root rot, %	Биологическая эффективность, % Biological effectiveness, %	Распространение мучнистой росы, % The spread of powdery mildew, %	Биологическая эффективность, % Biological effectiveness, %
Контроль	95,8	40,6	10,3	66,7	-	89,3	-
IB 739	108,5*	54,3*	10,9	38,5*	42,3	76,3	-
IB-4	102,5*	58,2*	11,7*	34,7*	47,9	68,8*	22,9
IB-51	100,3	48,1	10,4	40,1*	39,9	79,0	-

* - статистически значимые отличия от контроля при P=0,95.

* - statistically significant differences from control at P=0,95.

Таблица 2.
Содержание азота в растениях и почве (в фазе цветения), %
Table 2. The nitrogen content in plants and soil (in the flowering stage), %

Вариант Variant	Зеленая масса Green mass	Корни Roots	Почва Soil
Контроль (с растениями) Control (with plants)	3,91	3,72	0,82
Контроль (без растений) Control (without plants)	-	-	0,66*
IB 739	4,18	2,82	0,82
IB-4	5,98*	3,78	0,79
IB-51	4,21	2,86	0,90

* - статистически значимые отличия от Контроля (с растениями) при P=0,95.

* - statistically significant differences from control (with plants) at P=0,95.

Установлено, что использование бактериальных препаратов способствовало снижению развития болезней гороха. Эффективность исследуемых штаммов против корневых гнилей в фазе цветения составила 39,9-47,9 % (табл.1). В связи с метеорологическими условиями, способствующими интенсивному развитию мучнистой росы, выявлено почти 90%-ное поражение посевов данным заболеванием. Биологическая эффективность препаратов в данных условиях оказалась очень низкой. Поскольку в рамках эксперимента проводилась только предпосевная обработка семян без опрыскивания вегетирующих растений, данные об эффективности препаратов против мучнистой росы нельзя считать окончательными, этот вопрос требует дополнительного изучения.

Известно, что зернобобовые в отличие от многолетних культур большую часть усвоенного азота направляют на формирование плодов, причем расходуют его примерно столько же, сколько привносят. Таким образом, однолетники не обогащают почву азотом, а лишь по сравнению с другими культурами меньше ее истощают. В нашем эксперименте во всех вариантах, в том числе в контрольном варианте (с растениями) отмечено незначительное увеличение азота в почве по сравнению с чистым контролем (без растений) (табл. 2). При этом во всех вариантах опыта, где использовались биологические препараты, азот накапливался преимущественно в надземных вегетативных органах, тогда как в контроле содержание азота в корнях и зеленой массе находилось приблизительно на одном уровне. Максимальное количество азота обнаружено в зеленой массе растений, инокулированных штаммом *Ps. koreensis* ИБ-4 (табл. 2).

Таким образом, установлено, что бактериализация семян гороха исследуемыми штаммами бактерий родов *Paenibacillus* и *Pseudomonas*, обладающих комплексом положительных для растений свойств, способствовала увеличению клубенькообразования, улучшению азотного питания растений, а также снижению поражения растений корневыми гнилями. По результатам проведенных исследований штамм *Pseudomonas koreensis* ИБ-4 признан перспективным для использования на культуре гороха посевного, в том числе совместно с биопрепаратами на основе клубеньковых бактерий.

Литература / References

1. Гарипова С.Р., Иргалина Р.Ш., Дмитриева Д.Ф., Кутуева А.Г. Оценка новых штаммов эндофитных бацилл и ризобий при инокуляции фасоли сорта Уфимская в условиях Предуралья // Доклады Башкирского университета. 2016. Т.1. С. 705-710. (In Russian) [Garipova S.R., Irgalina R.Sh., Dmitrieva D.F., Kutueva A.G. Evaluation of new strains of endophytic bacilli and rhizobia when inoculated of common bean Ufimskaya variety under South Ural // Reports of Bashkir state University. 2016. V.1. P. 705-710].
2. Иванчина Н.В., Гарипова С.Р., Шавалеева Д.В., Уразбахтина Н.А., Захарова Р.Ш., Хайруллин Р.М. Влияние штаммов *Bacillus subtilis* на продуктивность растений гороха при автономной и совместной инокуляции со штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 1078 // Агрохимия. 2008. № 10. С.34-39. (In Russian) [Ivanchina N.V., Garipova S.R., Shavaleeva D.V., Urazbakhtina N.A., Zakharova R.Sh., Khairullin R.M.. Effect of *Bacillus subtilis* strains on the yield of pea (*Pisum sativum* L.) at monoinoculation and in combination with *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 1078 // Agricultural Chemistry. 2008. № 10. P. 34-39].
3. Логинов О.Н. Бактерии *Pseudomonas* и *Azotobacter* как объекты сельскохозяйственной биотехнологии / М.: Изд-во «Наука». 2005. 166 с. (In Russian) [Loginov O. N. The bacteria *Pseudomonas* and *Azotobacter* as the objects of agricultural biotechnology / М.: Izd-vo «Science». 2005. 166 s.]
4. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus* Cohn в агроэкосистемах / М.: Изд-во «Наука». 2007. 147 с. (In Russian) [Melentyev A. I. Aerobic spore-forming bacteria *Bacillus* Cohn in agroecosystems / М.: Izd-vo «Science». 2007. 147 s.]
5. Стемпоржецкий Е.А., Воронкова Н.А. Эффективность применения минеральных и бактериальных удобрений при возделывании гороха на черноземных почвах Западной Сибири // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2009. № 6(56). С. 26-30. (In Russian) [Stamporzhetzsky E. A., Voronkova N.A. Efficiency of application of mineral and bacterial fertilizers in the cultivation of peas on chernozem soils of Western Siberia // Bulletin of Altai state agrarian University. 2009. № 6(56). P. 26-30].
6. Фомина Н.Ю. Применение регуляторов роста, биопрепаратов, микроудобрений и фунгицидов на горохе посевном в Южной лесостепи Зауралья // Аграрный вестник Урала. 2009. № 3(57). С. 61-63. (In Russian) [Fomina N.Y. Application of regulators of growth, biological products, microfertilizers and fungicides on peas sowing in southern forest-steppe of Zauralye // Agrarian Bulletin of the Urals. 2009. № 3(57). P. 61-63].
7. Akhtar M.S., Shakeel U., Siddiqui Z.A. Biocontrol of *Fusarium* wilt by *Bacillus pumilis*, *Pseudomonas alcaligenes* and *Rhizobium* sp. on lentil // Turk J. Biol. 2010. V. 34. P.1-7. doi: 10.3906/biy-0809-12
8. Berg G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture

- // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2009. V. 84. P. 11-18. doi: 10.1007/s00253-009-2092-7
- 9 Mishra P.K., Mishra S., Selvakumar G., Bisht J.K., Kundu S., Gupta H.S. Coinoculation of *Bacillus thuringiensis*-KR1 with *Rhizobium leguminosarum* enhances plant growth and nodulation of pea (*Pisum sativum* L.) and lentil (*Lens culinaris* L.) // World J. Microbiol. Biotechnol. 2009. V. 25. P.753–761. doi: 10.1007/s11274-009-9963-z
- 10 Raaijmakers J.M., Paulitz T.C., Steinberg C., Alabouvette C., Möenne-Loccoz Y. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms // Plant and Soil. 2009. V. 321. P. 341-361. doi: 10.1007/s11104-008-9568-6
- 11 Van Loon L.C. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria // Eur. J. Plant Pathol. 2007. V. 119. P. 243-254. doi: 10.1007/s10658-007-9165-1