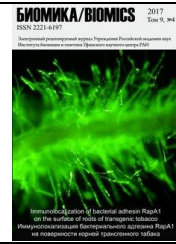




**БИОМИКА/BIOMICS**

<http://biomics.ru>



## КЛУБЕНЬКОВЫЕ БАКТЕРИИ КАК ОСНОВА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫХ БИОУДОБРЕНИЙ ДЛЯ БОБОВЫХ КУЛЬТУР

Гуменко Р.С.<sup>1</sup>, Кашапова Г.М.<sup>2</sup>, Владимирова А.А.<sup>1</sup>, Кагирова А.С.<sup>2</sup>, Баймиев Ан.Х.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия,

<sup>2</sup>Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

e-mail: r.gumenko@yandex.ru

### Резюме

Азот является абсолютно необходимым элементом для всех живых организмов. Однако представители растительного и животного мира не способны черпать азот непосредственно из атмосферы воздуха. Такой способностью обладают микроорганизмы (азотфиксаторы), а процесс связывания азота атмосферы этими организмами и перевод его в доступную для усвоения растениями форму называют биологической азотфиксацией. Наибольший вклад в биологическую фиксацию азота вносят симбиозы азотфиксирующих бактерий (ризобий) и бобовых растений. Одним из приемов современного земледелия является применение препаратов для растениеводства на основе полезных микроорганизмов. Долгое время сельское хозяйство решало эту проблему с помощью использования минеральных азотных удобрений, что позволило резко повысить продуктивность основных сельскохозяйственных культур. Но их интенсивное использование привело к необходимости экологизации с/х производства, что побудило страны мира к переходу к экологичному с/х (органическое земледелие), под которым следует понимать производство продукции с помощью максимального использования биологических факторов повышения плодородия, не оказывающих отрицательного воздействия на природу. Одним из приемов современного земледелия является применение препаратов для растениеводства на основе полезных микроорганизмов. Применение биопрепаратов повышает продуктивность растений, улучшает их качество за счет повышения содержания белка, крахмала, витаминов и других соединений, позволяет получить более раннюю продукцию, улучшает ее сохранность. Кроме того, их использование позволяет снизить норму минеральных азотных удобрений, что положительно сказывается на уровне нитратов и нитритов в продукции.

**Ключевые слова:** азот, клубеньковые бактерии, бобовые растения, удобрения, симбиоз, сельское хозяйство, урожайность, плодородие

## NODULE BACTERIA AS THE BASIS OF HIGHLY EFFECTIVE BIOFERTILIZERS FOR LEGUMES

Gumenko R.S.<sup>1</sup>, Kashapova G.M.<sup>2</sup>, Vladimirova A.A.<sup>1</sup>, Kagirova A.S.<sup>2</sup>, Baymiev An.Kh.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Scientific Center of RAS, Ufa, Russia

<sup>2</sup>Bashkir State University, Ufa, Russia

e-mail: r.gumenko@yandex.ru

### Resume

Nitrogen is an absolutely necessary element for all living organisms. However, representatives of the plant and animal world can not draw nitrogen directly from the air atmosphere. This ability is possessed by microorganisms (nitrogen fixers), and the process of nitrogen binding of the atmosphere by these organisms

and transferring it into a form readily available for assimilation by plants is called biological nitrogen fixation. The greatest contribution to the biological fixation of nitrogen is made by symbiosis of nitrogen-fixing bacteria (rhizobia) and leguminous plants. One of the methods of modern farming is the use of preparations for plant growing based on beneficial microorganisms. For a long time, agriculture has solved this problem through the use of mineral nitrogen fertilizers, which has greatly increased the productivity of the main agricultural crops. But their intensive use led to the problem of the ecologization of agricultural production, which in turn prompted the countries of the world to switch to organic agriculture (organic farming), which should be understood as the production through the maximum use of biological factors of increasing fertility that do not have a negative impact on nature. One of the methods of modern farming is the use of preparations for plant growing based on beneficial microorganisms. The use of biopreparations increases the productivity of plants, improves their quality by increasing the content of protein, starch, vitamins and other compounds, allows you to get earlier products, improve its safety. In addition, their use makes it possible to reduce the rate of mineral nitrogen fertilizers, which positively affects the level of nitrates and nitrites in products.

**Key words:** nitrogen, nodule bacteria, leguminous plants, fertilizers, symbiosis, agriculture, productivity, fertility

Традиционное сельское хозяйство играет важную роль в обеспечении продовольствием растущего населения Земли, что приводит к увеличению зависимости от химических удобрений и пестицидов. Использование вызывает загрязнение воздуха и грунтовых вод [Larmola, 2014]. Инновационный взгляд на сельское хозяйство приводит к увеличению спроса на биоорганические удобрения в качестве альтернативы агрохимикатам [Lechene, 2007].

Наибольший вклад в биологическую фиксацию азота вносят симбиозы азотфиксирующих бактерий (ризобий) и бобовых растений. Но в естественных условиях бобовые используют только 10-30% своего азотфиксирующего потенциала, что приводит к дефициту азота в почве (Dávila, 2015).

Насыщенность почвы различными элементами определяется наличием в ней бактерий. Нехватка бактерий приводит к замедлению роста и неправильному развитию [Youssef, 2015]. Для устранения этой проблемы используют, так называемые, бактериальные удобрения. Их относят к самым безвредным видам подкормок [Abd-Alla, 2014]. В сельском хозяйстве ризобияльные удобрения представляют собой экономически эффективные и экологичные заменители химических азотных удобрений [Nova-Franco, 2014]. Они являются микробиологическими инокулянтами, которые улучшают питание всех сельскохозяйственных культур. При попадании данных удобрений в грунт, они обеспечивают усиление биохимических процессов и способствуют более качественному питанию растений. Говоря о биодоброениях, чаще всего имеют в виду бактериальные удобрения, которые повышают биодоступность минеральных и органических

соединений фосфора, магния, кальция, железа и цинка.

Микроудоброения на основе ризобий получили широкое распространение после того, как было обнаружено их положительное влияние на рост и урожайность бобовых культур. Взаимная выгода состоит в том, что бактерии потребляют из воздуха азот и отдают его растениям, а растения насыщают бактерии нужными питательными веществами [Bhardwa, 2014]. Человечество уже относительно давно научилось выделять и отбирать эффективные клубеньковые бактерии и получать из них бактериальные удобрения [Kraap, 2015].

Использование препаратов клубеньковых бактерий для заражения семян бобовых растений является обязательным, когда в определенной местности вводят новые культуры бобовых [Oldroyd, 2014]. Такая потребность возникает, например, при возделывании сои (*Glycine max*) в новых зонах земледелия, когда клубеньков на корнях бобовых растений образуется мало или не образуется совсем. Инокуляция может способствовать обеспечению образования клубеньков и азотфиксацию. В результате увеличивается урожайность и содержание белка в растительной массе и зерне [Udvardi, 2013].

Предполагается, что биодоброения являются безопасной альтернативой химических удобрений для минимизации экологического ущерба. Они увеличивают урожайность на 10-40% , повышают содержание азота в почве на 40-50%, улучшают качество почвы, её pH и другие свойства [Remigi, 2016]. Другим плюсом является то, что после нескольких лет непрерывного использования биодоброений, изменяется микробный состав почвы, в результате необходимость в постоянном применении биодоброений отпадает [Cheng, 2016; Terpolilli, 2016].

Дополнительные преимущества биодобрений заключаются в том, что они не оказывают неблагоприятного воздействия на экосистемы. Они сохраняют почвенную среду, богатую всеми видами микро- и макроэлементов путем фиксации азота, фосфата и калия. Когда биодобрения применяются в комплексе с семенами или почвенными модификаторами, они размножаются и участвуют в повышении урожайности сельскохозяйственных культур. Но имеется существенное требование для биодобрений – это использование безвредных бактерий для здоровья человека и животных, учитывая, что некоторые патогенные бактерии человека, такие как *Klebsiella pneumoniae*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, или *Acinetobacter* хотя и способствуют росту растений, но не могут быть использованы из-за их патогенности [Stucke, 2017].

Инокуляция бобовых растений ризобиями может значительно увеличить их урожайность. В обмен на фиксированный азот, ризобии получают углеводы для поддержания процесса фиксации азота [Suganuma, 2014]. Клубеньковые бактерии рода *Rhizobium* можно выращивать на различных средах. Далее этими культурами клеток можно обрабатывать семена или почву, чтобы обеспечить формирование эффективного симбиоза. Бактерии данного рода производят большое количество индолилуксусной кислоты (ИУК), которая способствует росту растений. Имеются данные, что инокуляция семян мукуны жгучей (*Mucuna pruriens*) штаммами рода *Rhizobium* приводит к увеличению содержания общего органического углерода, азота, фосфора и калия в почве, увеличивает рост растений, растительную биомассу, попутно сокращая популяцию сорняков, а также повышает качество микробного состава почвы [Кнеір, 2007]. Кроме того, они выделяют комплекс витаминов группы В, гиббереллины, нафталин, уксусную кислоту и другие вещества, которые ингибируют корневые патогены и улучшают рост корней.

Эффективное использование ризобий требует знаний об их биоразнообразии и симбиотических характеристиках. Биоразнообразие ризобий интенсивно изучается во всем мире. Большинство опубликованных работ касается симбиоза клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* с бобовыми растениями, которые относятся к родам *Phaseolus*, *Vicia*, *Lathyrus*, *Medicago*, *Melilotus*, из-за их экономической важности и распространения во всем мире [Rondon, 2007; Knoth, 2014].

Нами была исследована возможность использования клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых как основы высокоэффективных биодобрений. Было

проанализировано около 200 штаммов микросимбионтов, относящихся к родам: *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*. Исследовались микросимбионты таких растений как: горошек заборный (*Vicia sepium* L.), г. лесной (*V. sylvatica* L.), г. гороховидный (*V. pisiformis* L.), г. мышинный (*V. cracca* L.), чина весенняя (*Lathyrus vernus* L. Bernh.), ч. луговая (*L. pratensis* L.), ч. лесная (*L. sylvestris* L.), ч. гороховидная (*L. pisiformis* L.), люцерна гибридная (*Medicago varia* Mart.), донник белый (*Melilotus albus* Medik.), д. желтый (*M. officinalis* (L.) Pall.), произрастающих на территории Южного Урала. Апробация данных штаммов была проведена на таких культурах как: горох посевной (*Pisum sativum* L.), вика посевная (*Vicia sativa* L.), люцерна посевная (*Medicago sativa* L.). Эффективность данных штаммов сравнивалась со штаммами клубеньковых бактерий, входящих в состав коммерческих биопрепаратов, представленных на рынке России. По результатам оценки для некоторых испытываемых штаммов были получены сопоставимые результаты эффективности, а в некоторых случаях нитрогеназная активность клубеньковых бактерий на 5-10% превышала нитрогеназную активность штаммов, входящих в состав коммерческих биодобрений. Поскольку взятые в анализ микроорганизмы являются аборигенными штаммами для Южного Урала, можно предполагается, что они будут более приспособлены к данным почвенно-климатическим условиям.

Таким образом, микроорганизмы, полученные из клубеньков дикорастущих бобовых растений вполне пригодны в качестве материала для селекции эффективных штаммов клубеньковых бактерий для использования их как основы высокоэффективных биодобрений бобовых культур. Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ-Поволжье № 17-44-020201.

#### Литература

1. Abd-Alla M. H. et al. Synergistic interaction of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* and arbuscular mycorrhizal fungi as a plant growth promoting biofertilizers for faba bean (*Vicia faba* L.) in alkaline soil // Microbiological research. 2014. V. 169. P. 49-58. doi:10.1016/j.micres.2013.07.007
2. Bhardwaj D. et al. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity // Microbial Cell Factories. 2014. V. 13. P. 66. doi:10.1186/1475-2859-13-66
3. Cheng G. et al. Multiplicity of sulfate and molybdate transporters and their role in nitrogen fixation in *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* Rlv3841 //

- Molecular Plant-Microbe Interactions. 2016. V. 29. P. 143-152. doi:10.1094/MPMI-09-15-0215-R
4. Dávila D. Z., Ormeño-Orrillo E., Martínez-Romero E. Biodiversity of nitrogen-fixing nodule bacteria associated with Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in its domestication centers // Araújo ASF, Lopes Â. CA, Gomes RLF, editors. *Phaseolus lunatus: Diversity, Growth and Production*. Nova Science Publishers. 2015. P. 91-102.
  5. Kneip C. et al. Nitrogen fixation in eukaryotes—new models for symbiosis // *BMC Evolutionary Biology*. 2007. V. 7. P. 55. doi:10.1186/1471-2148-7-55
  6. Knoth J. L. et al. Biological nitrogen fixation and biomass accumulation within poplar clones as a result of inoculations with diazotrophic endophyte consortia // *New Phytologist*. 2014. T. 201. P. 599-609. doi: 10.1111/nph.12536
  7. Krapp A. Plant nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces // *Current Opinion in Plant Biology*. 2015. V. 25. P. 115-122. doi:10.1016/j.pbi.2015.05.010
  8. Larmola T. et al. Methanotrophy induces nitrogen fixation during peatland development // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2014. V. 111. P. 734-739. doi:10.1073/pnas.1314284111
  9. Lechene C. P. et al. Quantitative imaging of nitrogen fixation by individual bacteria within animal cells // *Science*. 2007. V. 317. P. 1563-1566. doi: 10.1126/science.1145557
  10. Nova-Franco B. et al. The micro-RNA172c-APETALA2-1 node as a key regulator of the common bean-*Rhizobium etli* nitrogen fixation symbiosis // *Plant Physiology*. 2015. V. 168. P. 273-291. doi: 10.1104/pp.114.255547
  11. Oldroyd G. E. D., Dixon R. Biotechnological solutions to the nitrogen problem // *Current Opinion in Biotechnology*. 2014. V. 26. P. 19-24. doi: 10.1016/j.copbio.2013.08.006
  12. Remigi P. et al. Symbiosis within symbiosis: evolving nitrogen-fixing legume symbionts // *Trends in microbiology*. 2016. V. 24. P. 63-75. doi:10.1016/j.tim.2015.10.007
  13. Rondon M. A. et al. Biological nitrogen fixation by common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) increases with bio-char additions // *Biology and fertility of soils*. 2007. V. 43. №. 6. P. 699-708. doi: 10.1007/s00374-006-0152-z
  14. Scott J. T., McCarthy M. J., Carole S. Nitrogen fixation may not balance the nitrogen pool in lakes over timescales relevant to eutrophication management // *Limnology and Oceanography*. 2010. V. 55. P. 1265-1270. doi:10.1093/aob/mct048
  15. Sohm J. A., Webb E. A., Capone D. G. Emerging patterns of marine nitrogen fixation // *Nature Reviews Microbiology*. 2011. V. 9. P. 499-508. doi: 10.1038/nrmicro2594
  16. Stucke N. et al. Synthetic Nitrogen Fixation with Mononuclear Molybdenum (0) Phosphine Complexes: Occupying the trans-Position of Coordinated N<sub>2</sub> // *Springer*. 2017. P. 1-40.
  17. Sukanuma N. Lotus Genes Involved in Nodule Function and Nitrogen Fixation // *The Lotus japonicus Genome*. Springer Berlin Heidelberg. 2014. P. 79-84. doi: 10.1007/978-3-662-44270-8\_8
  18. Terpolilli J. J. et al. Lipogenesis and redox balance in nitrogen-fixing pea bacteroids // *Journal of Bacteriology*. – 2016. V. 198. P. 2864-2875. doi:10.1128/JB.00451-16
  19. Udvardi M., Poole P. S. Transport and metabolism in legume-rhizobia symbioses // *Annu. rev. Plant Biology*. 2013. V. 64. P. 781-805. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120235
  20. Youssef M. M. A., Eissa M. F. M. Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes. A review // *J. Biotechnol. Pharm. Res*. 2014. V. 5. P. 1-6.