

CZU 631.25:631.582 (478)

УДК 579.64:631

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЗАЦИИ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ ЯРОВОЙ НОВЫМ ШТАММОМ *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* T79

Е. КИРИЧЕНКО¹, Л. ТИТОВА², С. КОЦЬ¹

¹Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины,

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного
Национальной академии наук Украины,

Abstract. The efficiency of the pre-sowing treatment of spring wheat seeds by *Azotobacter chroococcum* T79 on the physiological parameters development as well as on plant productivity and also the amount of nitrogen-fixing rhizospheric microorganisms were studied. The efficiency of the inoculation suspension action was shown in the intensification of plant growth, plant vegetation part formation, in chlorophyll and sugars content in leaves, in the wheat yield, and also in the amount of a diazotrophic microorganisms population in wheat rhizosphere.

Key words: *Azotobacter chroococcum* T79, Nitrogen-fixing rhizospheric microorganisms, Pre-sowing treatment of seeds, Spring wheat, Wheat yield.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из актуальных направлений развития современного земледелия является создание микробных биотехнологий, способствующих интенсификации сельскохозяйственного производства и сохранению плодородия почв (В. Смирнов и др., 2002; В. Патица и др., 2003; А. Salantur и др., 2006). Почвенные микроорганизмы рода *Azotobacter* характеризуются положительными эффектами действия на растения, среди которых определяющими являются способность к фиксации молекулярного азота атмосферы, синтезу веществ гормональной и антибиотической природы, витаминов (В. Патица и др., 2003; Е. Цавкелова и др., 2006), поэтому перспективным является изучение возможности использования этих микроорганизмов в практике растениеводства и биологического земледелия (В. Смирнов и др., 2002; В. Патица и др., 2003; Е. Цавкелова и др., 2006).

Целью данной работы было изучение влияния бактеризации семян пшеницы яровой новым штаммом *Azotobacter chroococcum* T79 на развитие и урожай растений, биологические показатели ризосферной почвы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Штамм *A. chroococcum* T79 выделен методом аналитической селекции из черноземной почвы Полтавской области (Украина) в отделе симбиотической азотфиксации Института физиологии растений и генетики НАН Украины (ИФРГ НАНУ) (С. Коць и др., 2003). Пшеница яровая (*Triticum aestivum* L.) сортов Ранняя 93 (2003 г.) и Коллективная 3 (2004 г.). Культуру бактерий выращивали на питательной безазотистой среде Эшби (В. Патица и др., 2003) при температуре 28 °С в течение 3 суток. Семена опытного варианта за час до посева бактеризовали штаммом *A. chroococcum* T79 (10⁸ кл/мл), контрольного – обрабатывали водой.

Вегетационные опыты проводили на площадке ИФРГ НАНУ при природных освещении и температуре в 7-кратной повторности по вариантам в 9-килограммовых сосудах Вагнера на почвенном субстрате, содержащем основные макроэлементы – фосфор, азот, калий и рН соответственно – 0,28; 1,32; 0,81%, 6,9 (2003 г.) и 0,25; 0,28; 0,21%, 6,6 (2004 г.). Отборы растений и ризосферной почвы проводили на протяжении вегетации растений. Оценивали динамику накопления вегетативной массы растениями, содержание хлорофилла по Арнону после экстракции растительного материала в диметилсульфоксиде (J. Hiscox, R. Israelstam, 1979), выражали в мг на грамм сырой ткани листьев и сахаров в листьях по Починку (1976), выражали в процентах в пересчете на глюкозу, зерновую продуктивность пшеницы. Для учета количества азотфиксирующих микроорганизмов в ризосферной почве использовали метод последовательных

разведений (А. Нетрусов 2005) с дальнейшим высевом суспензии на питательную селективную безазотистую среду Эшби и подсчетом количества колониеобразующих единиц микроорганизмов. Ростстимулирующую активность ризосферной почвы определяли методом фитотестов по Гродзинскому (1991).

Полевой опыт проводили на базе научно-производственного отдела ИФРГ НАНУ (смт. Глеваха, Киевская обл.) на светло-серой оподзоленной легкосуглинистой почве. Площадь опытных участков 10 м², повторность в вариантах 4-кратная. Объект – пшеница яровая сорта Ранняя 93. Бактеризацию семян проводили перед посевом в дозе 100 мл суспензии на гектарную норму семян при титре культуры не меньше 10⁸ кл/мл. Вегетативную массу растений и азотфиксирующую активность ризосферных микроорганизмов (определяли ацетиленовым методом по Hardy с соавт. (1968) на приборе “Chromatograf 504” (Польша, “Mera Elwro”)), оценивали в фазу выхода в трубку и колошения–начала цветения. Урожай собирали комбайном. Статистику выполняли с использованием программы *Statgraphyc Plus*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При бактеризации семян пшеницы штаммом *A. chroococcum* T79 отмечено стимулирующее действие бактерий на рост и развитие растений (табл. 1): активно формировалась надземная масса и, особенно, корневая система, что связано со способностью бактерий рода *Azotobacter* синтезировать вещества гормональной и, прежде всего, ауксиновой природы, а также целый комплекс других ростактивирующих веществ – витаминов, аминокислот (В. Патика и др., 2003; Е. Цавкелова и др., 2006).

Таблица 1

Влияние инокуляции семян пшеницы яровой Azotobacter chroococcum T79 на формирование вегетативной массы и элементов структуры урожая растениями

Вариант	Ранняя 93		Коллективная 3	
	Масса надземной части, г	Масса корня, г	Масса надземной части, г	Масса корня, г
	фаза кушения			
Контроль (вода)	1,63±0,19	0,28±0,04	1,47±0,07	0,30±0,02
<i>A. chroococcum</i> T79	2,52±0,25*	0,49±0,06*	1,57±0,07	0,37±0,02*
	фаза выхода в трубку – начало колошения			
Контроль (вода)	8,33±0,75	1,42±0,03	2,53±0,02	0,90±0,03
<i>A. chroococcum</i> T79	11,31±0,78*	1,50±0,15	2,95±0,07*	0,93±0,03
	фаза полной спелости зерна			
	Количество зерен в колосе	Масса зерен в колосе	Количество зерен в колосе	Масса зерен в колосе
Контроль (вода)	22,0±1,1	0,86±0,04	11,4±0,2	0,40±0,01
<i>A. chroococcum</i> T79	25,5±1,5*	0,94±0,08	14,1±0,4*	0,52±0,02*

Бактеризация оказывала положительное влияние на накопление зеленых фотосинтетических пигментов в листьях пшеницы. Содержание хлорофилла у растений опытного варианта в фазу трубкования составило 1,79±0,01 и 2,87±0,01 мг/г листьев для сортов Коллективная 3 и Ранняя 93, что на 22 и 10 % превышало показатели контроля (1,47±0,02 и 2,60±0,01 мг/г листьев), что может свидетельствовать об интенсификации фотосинтетической активности растений (Т. Шадчина и др., 2006), образовании вегетативной массы и урожая (табл. 1). Полученные нами результаты согласуются с результатами, указывающими на положительное влияние бактеризации семян зерновых культур азотфиксирующими бактериями (В. Патика и др., 2003; А. Salantur и др., 2006). Первичными продуктами фотосинтетической деятельности растений являются углеводы (Т. Шадчина и др., 2006). Установлено, что в результате бактеризации семян пшеницы интенсифицируется процесс накопления сахаров в листьях. Для сорта Коллективная 3 (опытный вариант) содержание сахаров в фазы кушения и трубкования составляло соответственно 0,51 и 0,37% в пересчете на глюкозу, что в 2,9 и 3,7 раз превышало

контрольные значения (0,17 и 0,10 % соответственно). Содержание сахаров в листьях сорта Ранняя 93 в фазу молочно-восковой спелости зерна составило 0,09 % в пересчете на глюкозу, что в 1,8 раз превышало контрольный показатель (0,05 %).

Анализ структуры урожая пшеницы сортов Ранняя 93 и Коллективная 3 засвидетельствовал увеличение показателей количества и массы зерен в колосе растений опытного варианта на 16 и 9 %, 24 и 30 % соответственно (табл. 1).

Установлено положительное влияние бактеризации семян штаммом *A. chroococcum* T79 на биологические показатели почвы, а именно, количество азотфиксирующих микроорганизмов и ростстимулирующую активность ризосферной почвы (табл. 2).

Таблица 2

Влияние бактеризации семян пшеницы штаммом A. chroococcum T79 на количество диазотрофов и ростстимулирующую активность ризосферной почвы пшеницы

Вариант	Ранняя 93			Коллективная 3		
	Фаза развития растений					
	кущения	выхода в трубку	полной спелости зерна	кущения	выхода в трубку	полной спелости зерна
	Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов / г абсолютно сухой почвы					
	10 ⁹ кл	10 ⁹ кл	10 ⁶ кл	10 ¹² кл	10 ¹² кл	10 ⁹ кл
I	9,1±0,9	24,7±0,9	1,5±0,1	11,9±1,2	12,4±1,0	48,8±6,7
II	12,9±0,9*	33,2±1,7*	1,7±0,1	15,8±2,0	16,3±0,4*	87,9±9,6*
	Ростстимулирующая активность ризосферной почвы (тест-объект – кресс-салат, масса проростка, мг)					
I	10,4±0,2	19,7±0,5	29,2±0,7	7,5±0,5	13,0±1,3	13,0±1,3
II	11,0±0,1*	20,5±0,1	30,6±1,0	11,6±1,4*	23,3±1,0*	23,3±1,0*

Примечание: I – обработка семян водой (контроль), II – инокуляция *A. chroococcum* T79

В ризосфере сорта Ранняя 93 в фазы кущения и трубкования показатель КОЕ увеличился на 42 и 34 %, что может свидетельствовать о внедрении в ризосферу значительного числа микробных единиц, присутствующих в инокуляционной суспензии. Для сорта Коллективная 3 количество азотфиксирующих микроорганизмов возросло в 1,3 и 1,8 раз (табл. 2). В почве, взятой для анализа после сбора урожая пшеницы, количество диазотрофов превышало показатель контроля в 1,1 и 1,8 раз, что указывает на активное развитие популяции агрономично полезных ризосферных азотфиксирующих бактерий и может свидетельствовать об улучшении экологического состояния почвы при использовании бактеризации семян. На ризосферной почве опытных вариантов более активно развивались проростки кресс-салата (табл. 2), что может указывать на накопление ростактивирующих веществ, повышении ростстимулирующей активности ризосферной почвы и на отсутствие токсического действия на почву бактерий-интродуцентов.

Результаты полевых исследований показали (табл. 3), что растения опытного варианта характеризовались интенсивным ростом и накоплением надземной массы, которая в разные вегетационные периоды превышала контрольный показатель на 48 и 23 %. Азотфиксирующая активность ризосферного комплекса микроорганизмов опытного варианта, при этом увеличивалась лишь на 16 и 11 %, что может свидетельствовать о более важном влиянии данного штамма, как продуцента биологически активных веществ (Патика В.П. и др., 2003; Цавкелова Е.А. и др., 2006), оказывающих прямое гормональное влияние на растения. Результатом положительного влияния *A. chroococcum* T79 стало увеличение урожая зерна на 10,9 % (2,98 ц/га) по сравнению с контролем (табл. 3).

ВЫВОДЫ

Представленные нами результаты указывают на перспективность использования нового

Таблица 3

Влияние предпосевной бактеризации семян пшеницы яровой сорта Ранняя 93 *Azotobacter chroococcum* T79 на формирование надземной массы, урожая растений и азотфиксирующую активность ризосферных микроорганизмов (полевой опыт)

Вариант	Масса надземной части растения, г	Азотфиксирующая активность ризосферных микроорганизмов, нмоль C ₂ H ₄ / (растение·час)	
	фаза выхода в трубку		
Контроль	2,08±0,20	0,68±0,11	
<i>A. chroococcum</i> T79	3,08±0,25*	0,79±0,03	
фаза колошения			
Контроль	3,35±0,46	0,79±0,04	
<i>A. chroococcum</i> T79	4,12±0,39	0,88±0,06	
фаза полной спелости зерна			
	урожай, ц/га	прибавка урожая	
		ц/га	%
Контроль	32,53	0	0
<i>A. chroococcum</i> T79	35,51*	2,98	10,9
НСР _{0,05}		2,71	

штамма *A. chroococcum* T79 для предпосевной бактеризации семян пшеницы яровой с целью активизации развития растений, повышения их зерновой продуктивности и улучшения экологического состояния ризосферной почвы.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Гродзинский, А.М. Аллелопатия растений и почвоутомление. К.: Наукова думка, 1991, 432 с.
2. Патент. Штам бактерій *Azotobacter chroococcum* T79 для одержання бактеріального добрива під сою. С. Коць и др. Україна, № 62820А, 2003, С05F11/08, С12N1/20.
3. Патица, В. П. и др. Біологічний азот. К: Світ, 2003, 424 с.
4. Починок, Х.Н. Методы биохимического анализа растений. К.: Наукова думка, 1976, 334 с.
5. Практикум по микробиологии: Уч. пособие для студентов высших учебных заведений. Под ред. А.И. Нетрусова. М.: ИЦ "Академия", 2005, 608 с.
6. Смірнов, В.В., Патица, В.П., Підгорський и др. Мікробні біотехнології в сільському господарстві. // Агроекологічний журнал, 2002, № 3, с. 3–9.
7. Цавкелова, Е.А., Климова, С.Ю., Чердынцев, Т.А. и др. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов. // Прикладная биохимия и микробиология, 2006, т. 42, № 3, с. 261–268.
8. Шадчина, Т.М., Гуляев, Б.І., Кірізій, Д.А. и др. Регуляція фотосинтезу і продуктивність рослин: фізіологічні та екологічні аспекти. К.: Фітосоціоцентр, 2006, 384 с.
9. Hardy, R.W.F., Holsten, R.D., Jackson, E.K. et al. The acetylene–ethylene assay for N₂–fixation: laboratory and field evaluation. // Plant Physiol., v. 43, N 8, 1968, p. 1185–1207.
10. Hiscox, J.D., Israelstam, R.J. The method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. // Can. J. Bot., v. 57, N 12, 1979, p. 1332–1334.
11. Salantur, A., Ozturk, A., Akten, S. Growth and yield response of spring wheat to inoculation with rhizobacteria. // Plant Soil and Environment, v. 52, N 3, 2006, p. 111–118.

Data prezentării articolului - 10.03.2010