

Биолог. журн. Армении, 1-2 (58), 2006

УДК 631.461

## ВЛИЯНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В АССОЦИИИ С ПОЧВЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ НА АЗОТФИКСАЦИЮ СОИ И ПШЕНИЦЫ

Т.У. СТЕПАНЯН, Н.М. АЛЕКСАНЯН, Ф.С. МАТЕВОСЯН, С.А. АРУТЮНЯН

*Институт микробиологии НАН Армении, 2201, г. Абовян*

Показано, что эффективность симбиоза можно повысить, используя смешанную культуру *Azotobacter* и *Bacillus polymyxa* совместно с клубеньковыми бактериями сои и восприимчивые к инокуляции сорта сои. При обработке смешанными культурами семян озимой пшеницы в два раза увеличивается урожай зерна и содержание сырого протеина.

Յույց է տրված, որ սիմբիոզի էֆեկտիվությունը կարելի է բարձրացնել զգալազործելով *Azotobacter*-ի և *Bacillus polymyxa*-ի խառը կուլտուրան սոյայի աշխարհակտերիաների հետ համատեղ և ինոկուլացիային ընկալունակ սոյայի սորտեր և շնանացան ցորենը խառը կուլտուրաներով մշակելիս կրկնակի անգամ ավելանում է հատիկի քերքը և հում պրոտեինի պարունակությունը:

It is shown that the effectiveness of symbiosis can be increased using mixed culture with *Azotobacter*, *Bacillus polymyxa* and inoculation receptive sorts of soya-bean with nodule bacteria. Cultivation of winter seeds of wheat by mixed cultures increases cereals crop twice and content of raw protein.

### *Клубеньковые бактерии сои - микробные ассоциации*

До последнего времени бактериальные культуры, используемые в сельском хозяйстве, отбирали по высокой азотфиксирующей способности в виде чистых культур [5, 8, 12]. Исследования показали, что увеличение эффективности азотфиксации этим путем не дает хороших результатов, потому что клубеньковые бактерии, находясь в антагонистических отношениях с другими микроорганизмами почвы, часто теряют жизнеспособность и не выдерживают конкуренции [2, 3]. Целесообразным считается использование микробных ассоциаций, которые мало изучены [6, 9, 10, 11].

С другой стороны, нами установлено, что азотфиксирующая способность клубеньковых бактерий к небобовым растениям – пшенице и овсу неодинакова и зависит от штаммовых особенностей, некоторые из них, например, клубеньковые бактерии сои дают большой прирост на корнях злаковых растений [1].

Задачей настоящей работы было создание в лабораторных условиях ассоциаций свободноживущих почвенных микроорганизмов с клубеньковыми бактериями и изучение их влияния на эффективность азотфиксации бобовых и других растений, а также получение эффективных удобрений, которые

можно применять для инокуляции как для бобовых, так и для злаковых растений.

**Материал и методика.** В условиях вегетационного и полевого опыта испытывали хранившиеся в коллекции азотфиксирующих микроорганизмов НИМНА НАН РА штаммы клубеньковых бактерий сои *Bradyrhizobium japonicum* - В5783, В - 5784, В - 5789, азотобактера *Azotobacter chroococcum* 6111 и штамма *Bacillus poytuxa* - В-280, выделенного из чернозема Армении. Клубеньковые бактерии и *B. poytuxa* были выращены на среде с бобовым экстрактом и маннитом, а последний на среде следующего состава:  $K_2HPO_4$  - 0,2г,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  - 0,2г, NaCl - 0,2г,  $CaCO_3$  - 3,0г, сахароза - 15г, агар-агар - 20г, вода - 1000мл, стерилизация 121° - 15 мин, азотобактер - на среде Эшби [4].

В качестве растений - хозяев служили местные и американские сорта сои - Вагаршапати-2, Ходсон, Golden и др., озимая пшеница сорта - Армянка. Растения выращивали в условиях вегетационного опыта и открытого грунта.

Вегетационный опыт был поставлен в 3-килограммовых вазонах в стерильной песчаной культуре. Песок заранее был обогащен средой Прянишникова [7]. Растения изучали в фазе полного цветения.

Полевые опыты по нитрофикации сои проводили на экспериментальном участке Института микробиологии НАН РА. Повторность опытов трехкратная. Минеральный азот в почву не вносили. Перед посевом стерильные семена сои обрабатывали суспензией живых клеток культур *Bradyrhizobium japonicum* при заражении монокультурой или смешанной с *Azotobacter chroococcum* и *Bacillus poytuxa* культурой в соотношении 1:0,1:0,1. Клубеньковые бактерии сои составляли 250-300 млрд/га. Посев семян производили из расчета 50-60кг/га.

Азот определяли методом Кьельдаля, статистическую обработку экспериментальных данных проводили по методике Плохинского [7].

**Результаты и обсуждение.** Данные по влиянию смешанных культур почвенных микроорганизмов на урожайность сои приведены в табл. 1. Показано, что в условиях вегетационного опыта исследуемые монокультуры клубеньковых бактерий значительно повышали вес сухой зеленой массы растений сои, содержание общего азота и сырого протеина в ней, оказывая благоприятное влияние на процесс клубенькообразования у исследуемых трех сортов сои. У сорта «Кировоградская» прирост веса сухой зеленой массы растений составлял 42-55%, у американского сорта Голден 54-75%, а у местного сорта «Вагаршапати-2» - 48-61% по сравнению с контролем. Применение инокуляции смешанными культурами способствовало увеличению результатов. Так, у сорта «Кировоградская» при применении смешанных культур вес зеленой массы увеличился на 59-63%, у сорта Голден на 67-81%. У сорта «Вагаршапати-2» эта величина составляла 56,9-69,6%. Соответственно процент содержания азота в надземной части растений составлял 2,5-2,88% у сорта «Кировоградская», 2,46-2,54% у американского сорта «Голден» и 2,82-2,96% у сорта «Вагаршапати-2». Тогда как при применении монокультур клубеньковых бактерий для инокуляции у указанных сортов сои содержание азота в сухой надземной части растений составляло 1,78-1,90%, 2,38-2,80% и 2,28-2,55% соответственно. Если рассмотреть количество и вес клубеньков на корнях растений, видно что применение инокуляции смешанным препаратом эффективнее, чем инокуляция монокультурами.

Для большей достоверности полученных результатов были заложены полевые опыты. Рассматривалась урожай зерна сои как конечного продукта вегетации и содержание азота в зерне. Опыты проводили на разных сортах

сои В табл. 2 представлены данные по 8-и сортам. Для инокуляции использовался штамм *B. japonicum* В-5783 ИНИИА, штамм азотобактера-6111 и штамм *B. polytuxa* - 280. По весу семян наилучшим были варианты со смешанной культурой сортов «Белоснежка», «Вагаршапат-2» и «Голден» -10,45-11,80г, азот 5,50-5,80%. По содержанию азота в зерне отличались сорта «Волгоградская», «Кировоградская» и «Пламя» – 9,0-9,90%. В целом, по сравнению с контролем, наблюдалось значительное увеличение содержания азота в зерне.

Таблица 1. Влияние смешанных культур на урожай сои. Вегетационный опыт 2002г. (расчитано на 10 растений, фаза цветения)

Сорт Штамм	Клубеньки		Вес надземной массы, г	%	Рост растений, см	Азот, %
	количество	вес, г				
<b>I. «Голден»</b>						
К-без заражения	-	-	14,2	100	17,5	1,44
<i>B. japonicum</i> 5783	146	0,7	24,9	175,3	22,1	2,30
5789	136	1,0	24,0	169,0	22,0	2,28
5784	265	1,7	22,0	154,0	20,9	2,55
5783+смешанная культура <sup>1</sup>	230	1,0	25,8	181,6	26,5	2,54
5789+смешанная культура <sup>2</sup>	144	1,2	23,8	167,0	20,8	2,46
5784+смешанная культура <sup>1</sup>	253	1,05	24,4	171,8	23,8	2,56
<b>II. «Вагаршапат-2»</b>						
К-без заражения	-	-	16,5	100,0	17,2	1,90
<i>B. japonicum</i> 5783	107	0,6	26,6	161,2	21,8	2,80
5789	185	1,2	25,0	151,5	18,6	2,40
5784	301	2,5	24,5	148,4	26,8	2,38
5783+смешанная культура <sup>1</sup>	160	0,88	28,0	169,6	27,1	2,90
5789+смешанная культура <sup>2</sup>	195	1,40	25,9	156,9	23,8	2,82
5784+смешанная культура <sup>1</sup>	235	1,35	26,0	157,5	25,5	2,96
<b>III. «Кировоградский-5»</b>						
К-без заражения	-	-	15,4	100,0	21,0	1,66
<i>B. japonicum</i> 5783	277	1,2	23,7	153,8	25,5	1,90
5789	320	1,5	22,0	142,08	25,4	1,80
5784	300	1,3	24,0	155,8	23,6	1,78
5783+смешанная культура <sup>1</sup>	270	1,0	24,5	159,0	27,7	2,88
5789+смешанная культура <sup>2</sup>	265	1,7	26,0	168,8	28,6	2,50
5784+смешанная культура <sup>1</sup>	247	1,9	25,2	163,6	29,7	2,80

<sup>1</sup>*B. japonicum* 5783 + *Az. chroococcum* 53 + *B. polytuxa* 280

<sup>2</sup>*B. japonicum* 5789 + *Az. chroococcum* 53 + *B. polytuxa* 280

<sup>3</sup>*B. japonicum* 5784 + *Az. chroococcum* 53 + *B. polytuxa* 280

Совместная обработка семян сои смешанным препаратом способствовала увеличению накопления азота в семенах до 6,2%. Содержание азота в зерне сои при инокуляции монокультурой клубеньковых бактерий составляло 4,8-5,1%. Такая обработка позволила собрать урожай зерна до 23,8-24,4ц/га, тогда как урожай необработанных контрольных растений составлял 15,0-

Таблица 2. Влияние смешанных культур на урожай разных сортов сои в полевых условиях (вес семян, г, азот, %). 2002г.

Варианты опыта	Сорт															
	Вагаришпяти-2		Годсен		Волгоградский		Пламя		Вьсь		Кировоградский		Волна		Белоснежка	
	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот	вес 50 семян	азот
К-без заражения	8,50	4,80	7,40	4,5	6,80	4,34	6,65	4,60	8,75	4,59	7,25	4,70	7,56	3,80	9,20	4,30
<i>В. жароустойчив 5783 + Az. chrysoosmitt 6111 - В. ролутуха</i>	11,0	5,80	10,48	5,8	7,63	6,30	9,00	6,20	9,80	5,30	9,10	5,60	9,90	5,80	11,2	5,50

Таблица 3. Сравнение урожая сои при инокуляции монокультурой и смешанным препаратом (полевой опыт)

Варианты	Вагаришпяти-2			Холсен		
	вес 500 семян, г	азот %	Урожай зерна, ц/га	вес 500 семян, г	азот %	Урожай зерна, ц/га
К-без заражения	85,0	3,86	15,0	90,5	4,76	15,4
<i>В. жароустойчив 5783</i>	94,0	4,80	19,8	109,8	5,10	19,0
<i>В. жароустойчив 5783 + Az. chrysoosmitt 6111 + В. ролутуха 280</i>	114,5	6,20	24,4	120,0	6,02	23,8

15,4ц/га, а при обработке монокультурой было собрано 19,0-19,8ц/га зерна сои (табл. 3).

Нами рассматривался вопрос о возможности применения смешанной композиции клубеньковых бактерий с другими почвенными бактериями. В табл. 4 приведены результаты обработки семян озимой пшеницы смешанной культурой клубеньковых бактерий сои - *V. japonicum* с *Az. chroococcum* и *V. polytuxa* в полевых условиях. Опыт был поставлен в селе Маралик Ширакского марза на 1 га необработанной почвы. Из таблицы видно, что при применении смешанной композиции вес зерен озимой пшеницы увеличивался почти в два раза, сырой протеин у обработанных растений составлял 15,39%, тогда как у контрольных необработанных растений - всего 10,26%.

Таблица 4. Урожай озимой пшеницы при обработке смешанным препаратом. Маралик, 2002 г.

Варианты	Вес 1000 зерна	Азот, %	Протеин, %
К - без обработки	24,80	1,8	10,26
Смешанный препарат*	36,20	2,7	15,39

\* *V. japonicum* 5783 + *Az. chroococcum* 6111 + *V. polytuxa* 280

Таким образом, в вегетационных опытах и в полевых условиях метод обработки семян смешанным препаратом, состоящим из азотфиксирующих симбиотических бактерий и свободноживущих азотфиксаторов, оказался эффективным как для сои, так и для озимой пшеницы.

На основе проведенных исследований в лабораторных условиях был приготовлен сухой препарат, который проходит испытания в различных фермерских хозяйствах РА.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авакумова Е.П., Арутюнян С.А. Биолог. журн. Армении. 43, 2, 116-119, 1990.
2. Антипчук А.Ф., Андреев Е.И. Микробиол. журн. 59, 3, 59-65, 1997.
3. Африкян Э.К., Туманян В.Г. Изв. АН Арм. ССР, 11, 2, 37-46, 1958.
4. Каталог культур микроорганизмов Изд-во Гитутюн. НАН РА Ереван, 1996.
5. Матевосян Ф.С., Арутюнян С.А., Алексанян Н.М., Степанян Т. Биолог. журн. Армении. 55, 4, 316-323, 2003.
6. Мельникова Н.Н., Булавенко Л.В., Курдюш И.К., Титова Л.В., Коць С.Я. Прикл. биохим. и микробиол. 38, 4, 427-432, 2002.
7. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Изд-во МГУ, 303, 1991.
8. Налбандян А.Д., Аветисян В.А. Биолог. журн. Армении. 41, 2, 147-149, 1988.
9. Никогосян В.Г. Автореф. доктора биол. наук, 31, 1998.
10. Петросян А.П., Хачикян Р.Е. Вопр микробиол., 6, (16), 20-29, 1973.
11. Суховицкая Л.А., Сафронова Г.В., Клышко Г.М., Короленок И.В. Прикл. биохим. и микробиол., 38, 1, 73-78, 2002.
12. Zvyagintsev D. Trans. 14 Int. Congr. Soil Sci. Kyoto, 3, 3, 535-543, 1990.

Поступила 18.X.2005