



Биол. журн. Армении, 3 (62), 2010

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В АССОЦИИ С ПОЧВЕННЫМИ СВОБОДНОЖИВУЩИМИ БАКТЕРИЯМИ ДЛЯ ИНОКУЛЯЦИИ НЕБОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Т.У. СТЕПАНЯН, С. А. АРУТЮНЯН, Н.М. АЛЕКСАНИЯ,
Ф.С. МАТЕВОСЯН, Ж. И. АКОПЯН

Центр микробиологии и депонирования микробов НАН РА
Абовян, 378510 Армения, Phone/fax: (374222) 21622, (374222) 21622
E-mail: microbio@pnas.sci.am

В результате трехгодичных экспериментов, проведенных в различных почвенно-климатических зонах Армении, выяснилось, что комбинированное удобрение, приготовленное нами на основе клубеньковых бактерий родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, а также свободноживущих бактерий видов *Azotobacter chroococcum* и *Paenibacillus polymyxa*, способствовало росту растений озимой пшеницы, ячменя, кукурузы и накоплению в них азота в условиях полевого опыта. Подобный результат получен также в условиях вегетационного опыта с растениями двух сортов рапса. Схожие результаты зарегистрированы также в вариантах, инокулированных с цеолитом.

*Клубеньковые бактерии – свободноживущие почвенные бактерии –
небобовые растения – цеолит*

Հայաստանի տարբեր հողակլիմայական գոտիներում իրականացված երեք տարվա փորձերի արդյունքում պարզվել է, որ *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* ցեղերի պալարաբակտերիաների և հողի ազատ ապրող *Azotobacter chroococcum* և *Paenibacillus polymyxa* տեսակների բակտերիաների հիման վրա մեր կողմից պատրաստված կոմբինացված պարարտանյութը նպաստել է աշնանացան ցորենի, գարու, եգիպտացորենի բույսերի աճին ու ազոտի կուտակմանը դաշտային փորձերում և ռապսի (հլածուկ) բույսերի երկու տրոսերում, վեգետացիոն փորձի պայմաններում: Նմանատիպ արդյունքներ են գրանցվել նաև ցեոլիտի հետ ինոկուլացված տարբերակներում:

*Պալարաբակտերիաներ Սինորի ազատ ապրող բակտերիաներ Ս
նշ ընդավոր բույսեր - ցեոլիտ*

As a result of three- year field experiments in various soil-climatic zones of Armenia it is shown that combined preparation on the basis of symbiotic nodule bacteria of genus *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* and free-living soil bacteria of species *Azotobacter chroococcum* and *Paenibacillus polymyxa* stimulates growth and accumulation of nitrogen in wheat, barley, maize and canola in vegetation experiments. The same results are obtained in variants inoculating with zeolite.

Nodule bacteria – free living soil bacteria – non legume plants – zeol

Огромны запасы азота в природе, но преобладающая часть этого соединения находится в атмосфере в элементарном, газообразном состоянии и не доступна ни растениям, ни животным. Связывание атмосферного азота и превращение его в доступную для растений форму осуществляется в основном двумя способами: химическим – который обходится дорого и не во всех случаях оправдывает себя, и биологической фиксацией атмосферного азота.

Две группы почвенных бактерий - симбиотические и свободноживущие способны в значительном количестве ассимилировать элементарный азот атмосферы для удовлетворения потребности физиологических функций, обогащая почву азотистыми соединениями [14, 15].

Среди микроорганизмов - фиксаторов атмосферного азота особую роль играют симбиотические клубеньковые бактерии родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mezorhizobium*. Изучению воздействия клубеньковых бактерий на ассоциативную азотфиксацию, стимулированию роста и урожая сельскохозяйственных культур уделяется значительное внимание [1,2, 9-13].

В настоящей работе сделана попытка разработки технологии получения биопрепарата на основе симбиотических клубеньковых бактерий гороха, сои, нута, фасоли, эспарцета со свободноживущими почвенными микроорганизмами – азотобактером и бациллами (*Azotobacter chroococcum* и *Paenibacillus polymyxa*), с использованием смеси микроорганизмов с измельченным цеолитом, из расчета 200 кг на один гектар. Цеолиты – это алюмосиликаты вулканического происхождения, которые содержат в своем составе оксиды щелочных, щелочноземельных металлов, отличающихся строго регулярной структурой пор, которые в обычных температурных условиях заполнены водой. Был использован цеолит, измельченный до 2-х мм в диаметре из Ноемберянского месторождения, находящегося у села Кохб.

Было испытано действие комбинированного биоудобрения на рост и урожайность растений пшеницы, ячменя, кукурузы в полевых условиях, а также на некоторые биометрические показатели растений рапса, выращенного в условиях вегетационного опыта.

Материал и методика. В формуле комбинированного удобрения были использованы высокоэффективные штаммы клубеньковых бактерий родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, которые защищены авторскими свидетельствами, патентом Франции и многократно испытаны в полевых экспериментах в Армении и Франции, а также свободноживущих ассоциативных бактерий *Azotobacter chroococcum*, штамм-6111 ИНМИА и *Paenibacillus polymyxa*, штамм-280 ИНМИА [1,10]. Соотношение микроорганизмов в суспензии 10 : 10 : 1. Начальный титр клубеньковых бактерий составлял порядка 10⁸-10⁹ кл/мл.

Полевые опыты проведены в 2004-06 гг. в фермерских хозяйствах в рамках минигрантов Министерства сельского хозяйства Армении на земельных участках марзов Вайка, Арабата и вблизи города Абовяна. Для испытаний были отобраны сорта озимой пшеницы "Армянка 60", "Муш"- ячменя и кукурузы сорта Краснодарский.

Статистическую обработку данных проводили по методу, описанному Доспеховым [6].

В вегетационном опыте исследовали растения рапса ярового, сорта "Кубанский" и озимого масличного Эчмиадзинского воспроизводства сорта ВАУ-2. Растения рапса выращивали в 3-килограммовых сосудах с песком, обогащенным средой Прянишникова, активность азотфиксации определяли по количеству содержания общего азота методом Кьелдаля [3]. Из обезвоженной растительной навески жир экстрагировали эфиром. Определение сырого жира в листьях и семенах проводили по массе обезжиренного остатка по методу, описанному Плешковым [8].

Результаты и обсуждение. Рапс считается модельной культурой и изучается многими исследователями в разных аспектах [5,7,13]. Результаты опытов по инокуляции проростков рапса суспензией комбинированного биоудобрения, содержащего клубеньковые бактерии сои, люцерны, нута, эспарцета и штаммы 6111-

азотобактера и 280-бацилл приведены в табл. 1. Данные таблицы свидетельствуют о том, что обработанные растения по сравнению с контрольными, необработанными растениями значительно отстают и в росте, и по ряду биохимических показателей. Сухой вес надземной зеленой массы у контрольных растений составлял 4,8 г у ярового и 3,5 г у озимого сорта, а у инокулированных растений 6,8 г и 4,8; прирост составлял 41,6% и 37,1%, соответственно. Кроме того, варианты, бактеризованные вместе с цеолитом, отличались большей массой по сравнению с таковыми, но без цеолита. В процентном отношении прирост составлял 52,0 и 45,7. Содержание общего азота в листьях и семенах у ярового составляло 0,58% и 1,42% соответственно, а у наиболее выделяющегося варианта с цеолитом - 1,1% азота в листьях и 1,58% в семенах. Контрольные варианты ярового рапса по содержанию сырого жира -2,8% уступали инокулированным вариантам: у ярового сорта он составлял 35,0%, а у озимого масличного- 40%.

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что обработка растений рапса комбинированным препаратом способствовала увеличению роста, веса зеленой массы, содержания азота и сырого жира.

Оценку эффективности инокуляции комбинированным удобрением на зерновые культуры проводили в полевых условиях фермерских хозяйств Вайка, Арарата и в Абовяне. Получены достоверные прибавки урожая у всех изученных вариантов и с цеолитом и без него. В табл. 2 представлены результаты трехлетних экспериментов. По сравнению с контролем прибавка урожая у пшеницы составляла от 3.2 ц/га до 5.2 ц/га, у ячменя - от 2.3–2.6 ц/га, у кукурузы – 4.4 ц/га. В процентном выражении прибавка урожая зерна пшеницы, ячменя и кукурузы составляла 11, 17 и 19 соответственно. При этом прирост сырого протеина составлял 2,2-2,4 %, 3,6-3,8% и 2,1% соответственно.

Таблица 1. Влияние комбинированного удобрения на озимую и яровую сорта рапса

Варианты	Яровой, сорт Кубанский							Озимый, сорт ВАН-2						
	высота растений, см	зеленая масса, г	%	содержание общего азота %		содержание сырого жира %		высота растений, см	зеленая масса, г	%	содержание общего азота, %		содержание сырого жира, %	
				лист	семя	лист	семя				лист	семя		
Конт- роль	17.2	4.8	100.0	0.58	1.42	16.0	28.0	15.6	3.5	100	0.56	1.37	15,0	34,0
Конт- роль + цеолит	19.0	5.2	108.3	0.62	1.44	18.8	*	6.4	4.0	114.5	0.60	*	15,5	*
Комбини- рованное удобрение	23.4	6.8	141.6	1.0	1.50	21.4	*	20.2	4.8	137.1	1.06	*	20,0	*
Комбини- рованное удобрение	25.0	1.3	152.0	1.1	1.58	25.0	35,0	20.6	5.1	145.7	1.06	1.51	24,0	40,0

* не исследовали

Следует особо отметить, что применение комбинированного удобрения в смеси с цеолитом в определенном соотношении дает огромные преимущества: 1. – цеолит сам по себе поддерживает почвенную структуру, что способствует посто-

янной аэрации почвы, 2.- значительно удерживает влажность в почве, благодаря своей структуре, 3. – способствует дозированному использованию биопрепарата, удлиняя сроки его действия и реактивации, а также обладает еще одной важной способностью: заметно повышает устойчивость семян к различного рода заболеваниям.

Таблица 2. Влияние комбинированного удобрения на урожай пшеницы, ячменя и кукурузы

Варианты	Ячмень, сорт Муш				Пшеница, сорт Армянка 60				Кукуруза, сорт Краснодарский			
	высота растений, см	масса 1000 семян, г	Сырой протеин, %	урожай, ц/га	высота растений, см	масса 1000 семян, г	сырой протеин, %	урожай, ц/га	высота растений, см	масса 1000 семян, г	сырой протеин, %	урожай, ц/га
Контроль, без бактериализации	69.6	45.8	12.0	22.5	78.0	47.6	14.3	26.8	155	328	10.3	24.8
Контроль + цеолит	73.1	48.0	12.1	23.0	80.2	50.0	15.0	27.1	*	*	*	*
Комбинированное удобрение	81.6	55.7	14.2	24.8	88.0	56.0	17.9	30.0	220	360	12.4	29.2
Комбинированное удобрение + цеолит	85.5	59.8	14.6	25.1	90.0	56.2	18.1	32.0	*	*	*	*

* не исследовали

Таким образом, выявлено, что применение предлагаемого нами комбинированного биоудобрения улучшает азотное питание исследуемых злаковых растений, что выражается в увеличении урожая и содержания протеина в зерне и благоприятно влияет на некоторые биометрические показатели растений рапса. Приведенный материал также позволяет сделать заключение, что данный способ инокуляции способствует получению экологически чистого урожая, что важно для человека и животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Аввакумова Е.Н., Арутюнян С.А.* Способ получения штаммов клубеньковых бактерий образующих азотфиксирующие клубеньки на корнях злаковых культур. Авторское свидетельство N1536737, 1989.
2. *Арутюнян С. А., Асланян С.Г., Алексанян Н.М., Степанян Т.У., Матевосян Ф.С.* О возможности инфицирования клубеньковыми бактериями злаковых культур. Биолог. журн. Армении 53, 1-2, 2001.

3. Большой практикум по физиологии растений. Под ред. Б.А. Рубина, М., "Высшая школа", 407с., 1978.
4. *Волова Т.Г.* Биологические удобрения. Биотехнология, Под ред. акад. И.И. Гиттельсона, Новосибирск, Изд-во СО РАН, с. 190-193, 1999.
5. *Глаголева О. Б., Ковальская Н. Ю., Киреев И.И., Лобакова Е.С. Умаров М.М.* Паранодуляция рапса при инокуляции азотфиксирующими ризосферными бактериями. Микробиология, 66, с. 545-552, 1997.
6. *Ковальская Н.Ю., Е.С. Лобакова, М.М.* Формирование искусственного азотфиксирующего симбиоза у растений рапса (*Brassica Napus* var *Napus*) в нестерильной почве. Микробиология, 70, 5, с.701-708, 2001.
7. *Плешков Б.А.* Практикум по биохимии растений. Изд- во "Колос", М. 178с., 1968.
8. *Степанян Т.У., Алексанян Н.М., Матевосян Ф.С., Арутюнян С.А.* Влияние клубеньковых бактерий в ассоциации с другими почвенными микроорганизмами на азотфиксацию растений сои и пшеницы. Биол. журн. Армении 58, 1-2, 43-47, 2006.
9. *Akopian J., Stepanian T., Matevossian F., Alexanian N.* Le nitragin et la zeolite naturelle: nouveaux procedes de leur utilizarion dans l'agroculture. 06. 06. 08, Brevet d' invention, N0603146, Republique Francaise.
10. *Aleksanyan N., Stepanyan T., Harutyunian S., Matevosyan F., Akopian J., Saghian A.* Nitragin and natural zeolites-new wayes of their implementation in agriculture. International conferense State-of the-Art Biotechnology in Armenia &ISTC contribution, Tsakhkadzor, Republic of Armenia, Sept.28-Oct.-02, 2008.
11. *Galleguillos C., Aguirre C., Barea J.M., Azcon R.* Growth promoting effect of two *Sinorhizobium meliloti* strains (a wild type and its genetically modified derivative) on a non-legume plant species in specific interaction with two arbuscular mycorrizial fungi. Plant Sci., 159, p. 57-63, 2000.
12. *Noel T. C., Sheng C., Yost C. K., Pharis R. P., Hynes M. F.* *Rhizobium leguminosarum* as a plant-promoting rhizobacterium: direct growh promotion of canola and lettuce. Can. J. Microbiol., 42, p. 279-283, 1996.
13. *Rajae S., Alikhani H.A., Raiesi F.* Effect of plant growth promoting potentials of *Azotobacter chroococcum* native strains on growth, yield and uptake of nutrients in wheat. J.of Sciense and Technology of Agriculture and Natural Resources, 11, 41, p. 297, 2007.
14. *Young Y.M., Park D.C* Probably synonymy of the nitrogen fixing genus *Azotobacter* and genus *Pseudomoas*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57, p. 2894- 2901, 2007.

Поступила 16.07.2010.