

CZU: 631.461.5:633.15

DOI: <http://doi.org/10.5281/zenodo.4431633>

КЛУБЕНЬКОВЫЕ БАКТЕРИИ КАК СТИМУЛЯТОРЫ И СРЕДСТВА БИОЛОГИЧЕСКОЙ БОРЬБЫ ДЛЯ НЕБОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Василе ТОДИРАШ, Мария МЕЛНИК, Светлана ПРИСАКАРЬ,
Леонид ОНОФРАШ, Анжела ЛУНГУ, Штефан РУСУ*, Думитру ЕРХАН**

*Институт микробиологии и биотехнологии
Институт зоологии

BACTERIILE DE NODOZITĂȚI CA STIMULATORI ȘI AGENȚI DE BIOCONTROL PENTRU PLANTELE NELEGUMINOASE

A fost studiat efectul stimulator al bacteriilor din genul *Rhizobium* asupra proceselor de creștere și dezvoltare la plantele de porumb. De asemenea, s-a investigat și efectul bacteriilor asupra nematodelor parazitare din genul *Ditylenchus* (*Ditylenchus destructor*).

Cuvinte-cheie: bacterie, metaboliți, nematode, stimulare, dezvoltare, porumb.

NODULE BACTERIA AS STIMULATORS AND BIOCONTROL AGENTS FOR NON-LEGUMINOUS PLANTS

The stimulating effect of root nodule – colonising bacteria of the *Rhizobium* genera on the growth and development of corn plants was studied. Also, the effect of bacteria on phytoparasitary nematodes of genera *Ditylenchus* (*Ditylenchus destructor*) was investigated.

Keywords: bacteria, metabolites, nematodes, stimulation, development, Zea mais.

Введение

В последние годы в аграрном секторе производства стали обращать большее внимание изучению микроорганизмов с целью их использования для выращивания сельскохозяйственных культур. Изучение взаимного сосуществования микроорганизмов и растений актуально, поскольку ассоциации микробио-vegetативных симбиозов обладают преимуществом для выживания в неблагоприятных условиях среды. Особенно большим вниманием в этом плане пользуются клубеньковые бактерии (КБ) из родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* и *Sinorhizobium*, эволюционно связанные с корневой системы растений.

Наряду со сказанным, большой интерес представляет корреляция неспецифических ассоциаций клубеньковых бактерии с корневой системой небобовых растений (к примеру – злаковых культур) [1,2].

Индийские исследователи установили, что при бактеризации семян пшеницы КБ не все сорта одинаково реагируют на инокуляцию. Лучше всего на этот прием реагируют карликовые сорта. Инокуляция семян этих сортов штаммами КБ *Rhizobium japonicum*, *Rh. glicine*, *Rh. leguminosarum*, *Rh. trifoli* и *Rh. lupini* в полевых условиях привели к росту продуктивности растений. Наилучший эффект был зафиксирован в случае использования штаммов с *Rhizobium japonicum* 631 и *Rh. glicine* 464, где сухая масса достигала 17,1-32,8%, а урожайность зерна – более 43%. По количеству аккумулированного азота в биомассе пшеницы отличились *Rhizobium leguminosarum* и *Rh. trifoli*, где было зафиксировано от 11,3 кг/га до 52,3 кг/га [3,4].

Положительные результаты были получены и другими исследователями на других культурах (на томатах, картофеле и др.) [5,6,7]. Бактеризация семян томатов клубеньковыми бактериями сои привела к увеличению урожайности на 35%, а качество полученной продукции было намного выше, чем в контроле.

Поскольку кукуруза в Молдове – растение первой необходимости, исходя из вышесказанного нами были проведены исследования, целью которых было выявить способность бактерий рода *Rhizobium* стимулировать рост и развитие растений кукурузы, а параллельно исследовать их с точки зрения возможности подавления вредителей типа нематод на картофеле.

Материалы и методы

В качестве материала для проведения опытов использовали клубеньковые бактерии, нематоды из рода *Ditylenchus*, растения кукурузы и картофеля. Под этим углом зрения исследованы бактерии *Rhizobium japonicum* 646a; *Rh. japonicum* RD2, *Rh. japonicum* RR2, *Rh. phaseoli* F1, *Rh. meliloti* 19K, кукуруза (гибриды Молдовенеск 257, Молдовенеск 450) и картофель (сорт Rokko).

Определение стимулирующей активности метаболитов КБ на проростках кукурузы проводили согласно методам [8, 9].

В опытах были использованы культуральные жидкости (КЖ) исследуемых бактерий, согласно следующей схеме:

1. Контроль – семена, замоченные в воде
2. Разведение КЖ 1: 50
3. Разведение КЖ 1: 100
4. Разведение КЖ 1: 200
5. Разведение КЖ 1: 300

Эффективность каждой бактерии оценивалась по проценту энергии прорастания, всхожести семян, сырому и сухому весу проростков, количеству корешков.

Опыты выполнялись в 3-4-кратной повторности.

Математическую обработку полученных данных проводили по Б.Доспехову (10).

Результаты исследований

А) Тестирование клубеньковых бактерий из рода *Rhizobium* на рост и развитие растения кукурузы

В результате проведенных опытов установлено, что все испытанные бактерии способны увеличивать сухой вес растения кукурузы в пределах от 11,8% до 21,8%, а всхожесть семян – 3,5-7,6% (табл. 1).

Таблица 1

Влияние метаболитов клубеньковых бактерий на развитие проростков кукурузы (Лабораторный опыт)

Вариант *)	Разведение культуральной жидкости	Всхожесть семян, %	Сухой вес проростков	
			г М ± м	Прирост к контролю, %
Инокуляция семян кукурузы, гибрид – Молдовенеск 450, симбиотрофными штаммами				
Контроль (вода)	-	91,7	4,237±0,08	-
<i>Rhizobium japonicum 646a</i>	1: 300	91,7	4,706±0,01	11,8
<i>Rhizobium japonicum RD2</i>	1:1000	88,3	5,204±0,02	21,8
<i>Rhizobium japonicum RR2</i>	1:500	96,3	4,835±0,04	14,1
Инокуляция семян кукурузы, гибрид – Молдовенеск 257, симбиотрофными штаммами				
Контроль (вода)	-	90,8	6,170±0,06	-
<i>Rhizobium japonicum 646a</i>	1:500	98,3	7,021±0,05	13,8
<i>Rhizobium japonicum RD2</i>	1:300	88,3	7,450±0,12	21,1
<i>Rhizobium japonicum RR2</i>	1:500	94,3	7,214±0,03	16,9
<i>Rhizobium phaseoli F1</i>	1:500	98,3	7,320±0,02	18,6
<i>Rhizobium meliloti 19K</i>	1:1000	80,6	7,012±0,03	13,6

*) В таблицу включены только те бактерии и концентрации, которые дали наилучшие результаты.

Из полученных данных установлено, что метаболиты клубеньковых бактерий больше влияют на накопление сухой биомассы и в меньшей степени – на всхожесть семян.

Для подтверждения результатов нами проведены и вегетационные опыты в сосудах в нестерильной почве с соблюдением параметров, приближенных к тем, что в полевых условиях, т.е. температуры, влажности, естественного освещения и др. Для исследования были отобраны те же бактерии, кукуруза-гибрид Молдовенеск 257.

Результаты проведенных опытов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние метаболитов клубеньковых бактерий на рост и развитие растений кукурузы, гибрид – Молдовенеск 257 (Вегетационный опыт. Данные в среднем на одно растение)

Вариант опыта	Высота растений		Длина корней		Сухая масса растений	
	см М ± м	Прибавка, %	см М ± м	Прибавка, %	г М ± м	Прибавка, %
Контроль (вода)	48,9±1,5	-	26,4±2,0	-	0,358±0,04	-
<i>Rhizobium japonicum 646a</i>	52,0±1,3	6,3	28,2±1,1	6,8	0,368±0,03	2,8

<i>Rhizobium japonicum RD2</i>	53,5±1,3	9,4	30,1±3,2	14,0	0,426±0,02	19,0
<i>Rhizobium japonicum RR2</i>	52,4±1,5	7,2	28,9±1,4	9,5	0,405±0,01	13,1
<i>Rhizobium phaseoli F1</i>	52,9±2,0	8,2	28,7±3,7	8,7	0,410±0,05	14,5
<i>Rhizobium meliloti 19K</i>	50,0±2,1	2,3	24,7±2,3	-	0,386±0,03	7,8

Для консолидации результатов в 2019 г. нами были проведены повторные вегетационные опыты, которые подтвердили, что метаболиты КБ способны влиять на процессы роста и развития растений кукурузы.

Б) Нематицидное свойство клубеньковых бактерий *Rhizobium japonicum RD2*

Исследования по выявлению штаммов, способных подавлять развитие нематод, которые встречаются на растениях картофеля, проведены совместно с Институтом зоологии Министерства образования, культуры и исследования (МОКИ). В результате тестирования *in vitro* у ряда бактерий рода *Rhizobium* такая способность была выявлена. Таким свойством обладали клубеньковые бактерии *Rhizobium japonicum RD2*, *Rhizobium japonicum 646a*, *Rhizobium phaseoli F1*, которые подавляли развитие нематод *Ditylenchus destructor* и *D.dipsaci* в пределах 75-98%. Более эффективными оказались бактерии *Rhizobium japonicum RD2*, с которыми проведены эксперименты.

В течение ряда лет проводились исследования по борьбе с нематодой *Ditylenchus destructor* на инвазированном семенном картофеле с применением методов биоконтроля. В вегетационных экспериментах было применено воздействие штамма бактерий *Rhizobium japonicum RD2* на семенной картофель сорта Рокко, инвазированного *Ditylenchus destructor* в первых фазах дитиленхоза (1;2). Перед посадкой опытный картофель обрабатывали культуральной жидкостью, полученной на основе бактерии *Rhizobium japonicum RD2* в разведениях: 1:50 (Вариант 1; В1); 1:100 (Вариант 2; В2) и 1:200 (Вариант 3; В3) в течение 16 часов и высаживали на опытных делянках (почва без нематод). На контрольных делянках семенной инвазированный картофель высаживали без обработки (почва без нематод).

Результаты опыта приведены в таблице 3.

Таблица 3

Учет фитотоксичности культуральной жидкости бактерии *Rhizobium japonicum RD2* на развитие растений картофеля в фенофазе посадка-бутонизация (данные в среднем на одно растение)

Вариант опыта	Участок	Разведения / время выдержки	Количество побегов, шт.	Высота растений, см	Диаметр растения, мм
В 1	1	1:50 – 16 часов	3	45	3,5
В 2	2	1:100 – 16 часов	4	50,3	3,8
В 3	3	1:200 – 16 часов	6	73,6	9,7
Контроль	4	-	3	60,5	4,2

Полученные результаты продемонстрировали нематицидную активность на опытных делянках В-3 (КЖ в разведении 1:200 с выдержкой 16 часов). В период вегетации препарат отличился повышенной стимулирующей активностью на рост и развитие растений, средняя высота которых была на 13,1 см выше, чем у растений с контрольного участка, количество побегов, а также их диаметр – более чем в 2 раза. В период уборки урожая количество клубней/1 растение, а также их вес, были в 4-6 раз больше, соответственно, чем с контрольного участка.

Эффективность использования биоконтроля в борьбе с нематодой не эквивалентна эффективности химикатов, что способствует полному снижению инвазированности семенного материала нематодой, но приоритет заключается в повышении иммунитета растений со стороны биологического препарата, в результате чего достигается активирование развития растений. В проведенных нами исследованиях снижение инвазированности картофеля с опытных участков весьма ощутимое – 27,5-30%. В более высоких концентрациях КЖ – 1:50 и 1:100, *Rhizobium japonicum RD2* оказывал слабую фитотоксичную активность на развитие клубней картофеля.

Выводы

1. Метаболиты клубеньковых бактерий *Rhizobium japonicum RD2*, *Rh. japonicum RR2*, *Rh. phaseoli F1* способны увеличивать сухой вес растения на 14,1 -21,8%, а всхожесть семян на 4,6-7,5% по отношению к контролю.

2. Выявлена способность клубеньковых бактерии (*Rhizobium japonicum RD2*, *Rhizobium japonicum 646a*, *Rhizobium phaseoli F1*) подавлять развитие нематод *Ditylenchus destructor* и *D.dipsaci* в пределах 75-98%. Наиболее эффективными оказались бактерии *Rhizobium japonicum RD2*.

3. Выявлена нематитцидная активность культуральной жидкости клубеньковых бактерии *Rhizobium japonicum RD2* в разведении 1:200 с выдержкой 16 часов. При этой концентрации КЖ растения были выше на 13,1 см, количество побегов – более чем в 2 раза, а урожайность клубней – более чем в 4 раза по сравнению с контролем.

4. Бактерии *Rhizobium japonicum RD2* могут быть использованы в качестве природных биорегуляторов, снижающих численность и распространение паразитической нематоды *Ditylenchus destructor* на семенном картофеле.

Литература:

1. *Биологическая фиксация молекулярного азота*. Киев: Наукова думка, 1983. 255 с.
2. KAVIMANDAN, S.K. Root nodule bacteria to improve yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *Plant Soil*, 1985, vol. 86, nr.2, Abs.1731.
3. KAVIMANDAN, S.K. Influence of Rhizobial inoculation on yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *Plant Soil*, 1986, vol.95, no.2, p.297-300.
4. KAVIMANDAN, S.K., SINGH, R., BAJAJ, D. 15N-Dilution in Wheat-Rhizobium sytem and practical feasibility of such inoculations under field conditions. In: *Transactions of the 14th International Congress of Soil Science*. Kyoto, 1990, vol.3, p.111-139.
5. ТИЛЬБА, В.Ф., БЕГУН, С.А., ЯКИМЕНКО, М.В. Использование штаммов ризобий сои для стимулирования роста и оздоровления сельскохозяйственных культур. В: *Главный агроном*, 2005, №5, с.10-12.
6. ЕФРЕМОВА, С.П., ОХЛЮПКОВА, П.П. Продуктивность сеянцев картофеля в зависимости от применения клубеньковых бактерий и биогумуса в условиях Якутии. В: *Сиб. с/х науки*, 2008, №10, с.129-136.
7. ЧЕНЦОВ, Б., ВАСЮК, Л., ИВАНОВ, И. Влияние клубеньковых бактерий на урожай пшеницы в условиях водных культур. В: *Актуальные проблемы сельскохозяйственной микробиологии*. Ленинград: Колос, 1974, с.32-34.
8. ВОЗНЯКОВСКАЯ, Ю.М. *Микрофлора растений и урожай*. Ленинград: Колос, 1969. 240 с.
9. DIGAT, V. Modes d'action et effete des rhizobacteries promotrices de la croissance et du developpement des plante. In: *Colloq. INRA*, 1983, no.18, p.234-253.
10. ДОСПЕХОВ, Б.А. *Методика полевого опыта*. Москва: Колос, 1979. 412 с.

Date despre autori:

Vasile TODIRAȘ, doctor în științe agricole, conferențiar cercetător; LCȘ *Microbiologia Solului*, Institutul de Microbiologie și Biotennologie al MECC.

Leonid ONOFRĂȘ, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător; LCȘ *Microbiologia Solului*, Institutul de Microbiologie și Biotennologie al MECC.

Maria MELNIC, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător; LCȘ *Parazitologie și Helminnologie*, Institutul de Zoologie al MECC.

E-mail: mariamelnic232@gmail.com

Dumitru ERHAN, doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător; LCȘ *Parazitologie și Helminnologie*, Institutul de Zoologie al MECC.

E-mail: dumitruerhan@yahoo.com

Ștefan RUSU, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător; LCȘ *Parazitologie și Helminnologie*, Institutul de Zoologie al MECC.

E-mail: rusus1974@yahoo.com

Prezentat la 16.08.2020