

**ПРЕДПОСЕВНАЯ БАКТЕРИЗАЦИЯ СЕМЯН
КАК ФАКТОР ОПТИМИЗАЦИИ ЧИСЛЕННОСТИ
МИКРООРГАНИЗМОВ В РИЗОСФЕРЕ ПШЕНИЦЫ ОЗИМОЙ
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Чайковская Людмила Александровна

*д-р с.-х. наук, ст. научный сотрудник, главный научный сотрудник
лаборатории растительно-микробного взаимодействия
ФГБУН «НИИСХ Крыма»,
295000, РФ, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150
E-mail: ludachaika@mail.ru*

Баранская Марина Ивановна

*канд. с.-х. наук, зав. лабораторией растительно-микробного взаимодействия
ФГБУН «НИИСХ Крыма»,
295000, РФ, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150
E-mail: baranskaya@rambler.ru*

Овсиенко Ольга Леонидовна

*научный сотрудник лаборатории растительно-микробного взаимодействия
ФГБУН «НИИСХ Крыма»,
295000, РФ, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150
E-mail: olovsien@mail.ru*

Клименко Нина Николаевна

*научный сотрудник лаборатории растительно-микробного взаимодействия
ФГБУН «НИИСХ Крыма»,
295000, РФ, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150
E-mail: ninaklymenko@yandex.ru*

**PRESSOVING SEED BACTERIZATION
AS A FACTOR OF MICROORGANISMS QUANTITY OPTIMIZATION
IN THE WINTER WHEAT RHIZOSPHERE
BY HEAVY METALL POLLUTION**

Ludmila Chaikovska

Doctor of Agricultural Sciences, Senior Research scientist, chief research officer of plant-microbe interaction Laboratory, Federal state budgetary institution of science “Scientific Research Institute of Agriculture of Crimea”, 295000, Russia, Republic of Crimea, Simferopol, Kievskaya st., 150

Marina Baranska

Candidate of Agricultural Sciences, Head of plant-microbe interaction Laboratory, Federal state budgetary institution of science “Scientific Research Institute of Agriculture of Crimea”, 295000, Russia, Republic of Crimea, Simferopol, Kievskaya st., 150

Olga Ovsienko

Research scientist of plant-microbe interaction Laboratory, Federal state budgetary institution of science “Scientific Research Institute of Agriculture of Crimea”, 295000, Russia, Republic of Crimea, Simferopol, Kievskaya st., 150

Nina Klymenko

Research scientist of plant-microbe interaction Laboratory, Federal state budgetary institution of science “Scientific Research Institute of Agriculture of Crimea”, 295000, Russia, Republic of Crimea, Simferopol, Kievskaya st., 150

АННОТАЦИЯ

В условиях вегетационных опытов определено влияние предпосевной инокуляции (комплекс микробных препаратов КМП) семян озимой пшеницы на численность в ризосфере бактерий, трансформирующих труднорастворимые фосфаты, а также бактерий, утилизирующих соединения азота, при загрязнении почвы (чернозем южный тяжелосуглинистый) тяжелыми металлами (Pb, Cr, Cu). Выявлено негативное воздействие ТМ на численность аммонификаторов и бактерий, разлагающих малорастворимые фосфаты, а также бактерий, принимающих участие в трансформации минеральных форм азота и фосфора – она снижалась на 29–44 % и в 2–3 раза соответственно по сравнению с контролем. Установлено положительное воздействие инокуляции

на возрастание численности микроорганизмов при загрязнении почвы ТМ (5 ПДК): аммонифицирующих и фосфатмобилизаторов – в 1,5–2,5 раза, а бактерий, утилизирующих минеральные соединения азота, – до 20 % против контроля соответственно. Отмечено увеличение продуктивности бактеризованных растений и их высоты – на 46–90 % и 12–47 % соответственно по сравнению с контролем.

ABSTRACT

The influence of preseeding inoculation (a complex of microbial preparations КМР) of winter wheat seeds on a number of the rhizosphere bacteria that transforming hardsoluble phosphates and also of the bacteria utilizing compounds of nitrogen in conditions of greenhouse experiments at pollution of soil (the southern chernozem loamy) by heavy metals (Pb, Cr, Cu) had been determined. It was identified the negative impact of HM on a quantity of ammonificating bacteria and bacteria that break down hardsoluble phosphates, and also the bacteria involved in the transformation of mineral forms of nitrogen and phosphorus. Their number decreased on 29–44 % and in 2–3 times, respectively, compared to control. The positive influence of inoculation on increase of a number of microorganisms in soil polluted by ТМ (5 МРС) had been established: ammonificating and phosphatemobilizing - in 1.5–2.5 times, and bacteria utilizing mineral nitrogen compounds – up to 20 % against control respectively. It was showed the increase of productivity plants and their heights in the presence of bacterization – on 46–90 % and 12–47 % respectively in comparison with control.

Ключевые слова: инокуляция, микроорганизмы ризосферы, озимая пшеница, тяжелые металлы.

Keywords: inoculation, rhizosphere microorganisms, winter wheat, heavy metals.

Применение микробных препаратов, созданных на основе бактерий, обладающих комплексом полезных свойств, – один из важных аспектов

современного земледелия [4; 7, с. 3–9]. Биопрепараты улучшают минеральное питание растений, повышают их устойчивость к заболеваниям и вредителям, что способствует повышению урожайности и качества сельскохозяйственной продукции [2, с. 352–404; 3, с. 113–131]. Однако в современных условиях происходит неизбежное загрязнение окружающей среды различными поллютантами, в частности тяжелыми металлами (ТМ). Аккумулируясь в почве, ТМ существенно влияют на состав почвенной микробиоты, ингибируют процессы минерализации и синтеза органических веществ, подавляют жизнедеятельность микроорганизмов, что, в конечном итоге, оказывает негативное воздействие на развитие и продуктивность культурных растений [5, с. 59–67]. В то же время известно, что микроорганизмы являются демпфирующим компонентом между растениями и различными неблагоприятными факторами, в том числе и ТМ [1, с. 17–22]. В наших предыдущих исследованиях установлено положительное воздействие микробных препаратов на стабилизацию микробоценоза ризосферы пшеницы, выращенной в условиях загрязнения почвы ТМ, а также на содержание хлорофиллов в листьях и продуктивность растений [8, с. 45–48; 9, с. 21–25; 10, с. 13–19; 11, с. 84–88].

С учетом вышеизложенного цель наших исследований состояла в изучении влияния предпосевной инокуляции семян озимой пшеницы на численность ризосферных бактерий: фосфатмобилизующих и утилизирующих соединения азота, а также высоту и продуктивность растений при загрязнении почвы ТМ в условиях вегетационного опыта.

Растения озимой пшеницы *Triticum durum* L. выращивали в сосудах (объем 0,5 л), почва – чернозем южный карбонатный тяжелосуглинистый. Продолжительность опытов 6 недель, повторность – пятикратная. Перед посевом семян в каждый сосуд с почвой вносили растворы солей ТМ: $Pb(CH_3COOH)_2$, $CuSO_4$, $K_2Cr_2O_7$ исходя из расчетов, соответствующих уровням загрязнения 1ПДК; 2,5ПДК; 5ПДК. Для предпосевной инокуляции семян использовали комплекс микробных препаратов (КМП), разработанный в отделе

с/х микробиологии ФГБУН «НИИСХ Крыма». Основой КМП являются 3 эффективных штамма бактерий: *Rhizobium radiobacter* 204 (обладает азотфиксирующей и ростостимулирующей способностью), *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 (трансформирует малорастворимые соединения фосфора в доступные для растений формы, продуцент фитогормонов), *Paenibacillus polymyxa* П (продуцент хитиназы и антифунгальных компонентов). В контроле инокуляцию семян не проводили и не вносили в почву ТМ. Количество бактерий определяли общепринятыми методами – путем высева почвенных суспензий на агаризованные среды [6]. Учет колониеобразующих единиц (КОЕ) проводили на пятые сутки культивирования: аммонификаторы и бактерии, утилизирующие преимущественно минеральные соединения азота – на МПА и КАА соответственно; бактерии, трансформирующие малорастворимые фосфаты – на среде Менкиной и глюкозо-аспарагиновом агаре с добавлением $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Ризосферные бактерии, способные трансформировать соединения фосфора и азота, – это важнейшие с агрономической точки зрения группировки микроорганизмов, в значительной мере определяющие минеральное питание растений. Анализ результатов наших исследований показал негативное воздействие загрязнения почвы ТМ (особенно при уровне 5ПДК) на численность КОЕ учитываемых бактерий (табл. 1). Так, количество аммонификаторов и бактерий, разлагающих органические труднорастворимые фосфаты, снизилось при загрязнении на уровне 5ПДК ТМ до 2,7 и 2,2 млн КУО/1г сухой почвы соответственно: на 29 % и 44 % по сравнению с контролем (фон). Наши исследования свидетельствуют о том, что группировки бактерий, принимающие участие в трансформации преимущественно минеральных форм азота и фосфора, более уязвимы к воздействию ТМ. Их численность при загрязнении почвы на уровне 5ПДК ТМ уменьшилась по сравнению с контролем (фон) в 2,2 раза (бактерии, утилизирующие минеральные соединения азота) и в 3 раза (бактерии, растворяющие фосфаты) и составила 4,0 и 2,3 млн КУО/1г сухой почвы соответственно.

Таблица 1.

Влияние инокуляции на численность бактерий в ризосфере пшеницы озимой при воздействии ТМ, млн КОЕ/г сухой почвы (чернозем южный карбонатный тяжелосуглинистый)

Вариант	Бактерии, утилизирующие соединения азота, преимущественно		Бактерии, трансформирующие малорастворимые фосфаты, преимущественно	
	органические	минеральные	органические	минеральные
<i>Фон (без ТМ)</i>				
Без инокуляции	3,8±0,43	9,0±0,62	3,9±0,15	6,9±0,17
КМП	6,9±0,15	9,9 ±0,72	3,8±0,58	8,0±0,42
<i>ТМ (1ПДК)</i>				
Без инокуляции	5,5±0,32	6,8±0,52	3,4±0,06	6,6±0,35
КМП	6,6±0,27	9,8±0,17	3,9±0,20	12,1±0,21
<i>ТМ (2,5ПДК)</i>				
Без инокуляции	3,6±0,18	6,5±0,66	2,8±0,16	4,6±0,49
КМП	5,0±0,40	6,9±0,49	3,3±0,22	11,0±0,35
<i>ТМ (5ПДК)</i>				
Без инокуляции	2,7±0,18	4,0±0,24	2,2±0,30	2,3±0,29
КМП	4,2±0,27	4,9±0,52	4,3±0,23	6,0±0,37

Предпосевная инокуляция семян способствовала возрастанию численности бактерий, трансформирующих малорастворимые фосфаты и утилизирующих соединения азота, по сравнению с контролем – в большей степени эффект проявился при загрязнении почвы ТМ (см. табл.1). Так, численность КОЕ почти всех группировок бактерий (за исключением утилизаторов минеральных соединений азота) в ризосфере бактеризованных растений при загрязнении почвы на уровне 1 и 2,5ПДК ТМ превышала значения контроля (фон). Однако на более высоком уровне загрязнения почвы (5 ПДК ТМ) количество КОЕ аммонификаторов и бактерий, трансформирующих труднорастворимые фосфаты, в ризосфере инокулированных растений возрастало по сравнению с вариантом без инокуляции в 1,5–2,5 раза; а численность бактерий, утилизирующих минеральные соединения азота, – до 20 %.

Таким образом, предпосевная бактеризация семян способствует оптимизации структуры микробоценоза ризосферы озимой пшеницы при загрязнении почвы ТМ.

Загрязнение почвы ТМ оказывает негативное влияние не только на микроорганизмы ризосферы, но и на рост и продуктивность озимой

пшеницы. Отмечено снижение высоты растений на уровне 2,5 и 5 ПДК ТМ: на 6 % и 25 % соответственно по сравнению с контролем (фон) (рис. 1). Инокуляция КМП способствовала возрастанию высоты бактеризованных растений во всех вариантах: на 12 % (без ТМ) и до 47 % (на фоне ТМ) (см. рис.1).

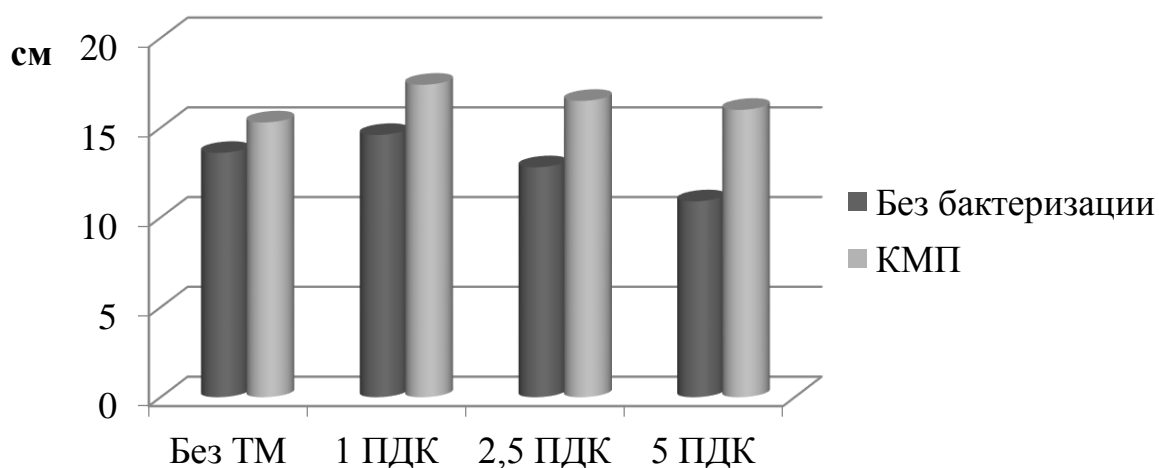


Рисунок 1. Высота пшеницы озимой при загрязнении почвы ТМ (чернозем южный карбонатный тяжелосуглинистый, 2015)

Следует отметить, что даже невысокие уровни загрязнения почвы ТМ (1 и 2,5 ПДК) приводят к уменьшению продуктивности фитомассы пшеницы. Наибольшее снижение выявлено при загрязнении почвы на уровне 5 ПДК ТМ – в 2,4 раза по сравнению с контролем. Рассмотрим влияние бактеризации на продуктивность фитомассы пшеницы. Полученные результаты показали, что продуктивность фитомассы бактеризованных растений превышала контроль во всех вариантах опыта – в 1,4–1,9 раза (рис. 2).

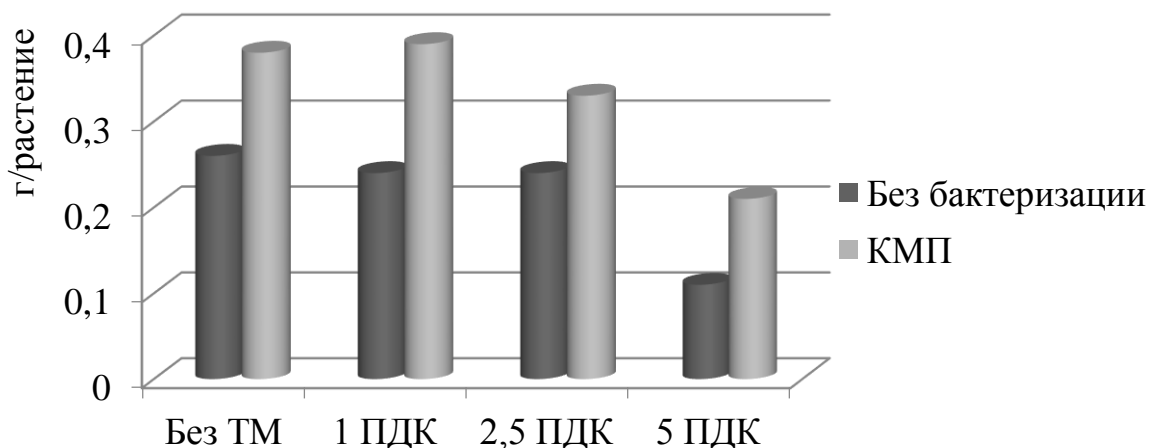


Рисунок 2. Продуктивность фитомассы пшеницы озимой при загрязнении почвы ТМ (чернозем южный карбонатный тяжелосуглинистый, 2015)

Таким образом, загрязнение чернозема южного карбонатного ТМ приводит к негативному воздействию на численность бактерий, утилизирующих соединения азота и принимающих участие в трансформации труднорастворимых фосфатов, а также высоту и продуктивность фитомассы озимой пшеницы. Использование КМП для предпосевной бактеризации семян способствует оптимизации микробоценоза ризосферы и нивелирует негативное влияние ТМ на рост и продуктивность озимой пшеницы.

Список литературы:

1. Белимов А.А., Тихонович И.А. Микробиологические аспекты устойчивости и аккумуляции тяжелых металлов у растений // Сельскохозяйственная биология: серия биология растений. – 2011. – № 3. – С. 17–22.
2. Биорегуляция микробно-растительных систем: Монография / под общей ред. Г.А. Иутинской, С.П. Пономаренко. – К.: Ничлава, 2010. – 464 с.
3. Біотехнологія ризосфери овочевих рослин: Монографія / за ред. В.П. Патики. – Київ, 2015. – 266 с.
4. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. – М.: Изд-во ВНИИА, 2005. – 302 с.

5. Иутинская Г.А., Колпа Ю.В., Степашко В.С. Моделирование динамики численности микроорганизмов в почве, загрязненной тяжелыми металлами // Микробиологический журнал. – 2002. – Т. 64, № 3. – С. 59–67.
6. Теппер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2005. – 256 с.
7. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты // Сельскохозяйственная биология: серия биология растений. – 2011. – № 3. – С. 3–9.
8. Чайковська Л.О., Баранська М.І., Овсієнко О.Л. и др. Бактеризація як чинник оптимізації біологічної активності ґрунту в ризосфері пшениці озимої за дії важких металів // Вісник аграрної науки. – Київ, 2014. – № 2. – С. 45–48.
9. Чайковская Л.А., Баранская М.И., Овсиенко О.Л. и др. Влияние биопрепарата Диазофит на численность микробиоты ризосферы озимой пшеницы при загрязнении почвы тяжелыми металлами // Сб. научных трудов по итогам II Межд. науч.-практ. конф. «Перспективы развития современных сельскохозяйственных наук». – Воронеж, 2015. – № 2. – С. 23–25.
10. Чайковская Л.А., Баранская М.И., Овсиенко О.Л. и др. Влияние комплекса биопрепаратов на микробиоту ризосферы озимой пшеницы при загрязнении почвы тяжелыми металлами // Естественные и математ. науки в современном мире / сб. ст. по материалам XI межд. науч.-практ. конф. – № 3 (38). – Новосибирск: Изд.АНС «СибАК», 2016. – С. 13–19.
11. Чайковская Л.А., Баранская М.И., Овсиенко О.Л. и др. Содержание хлорофиллов в листьях пшеницы озимой при инокуляции комплексом биопрепаратов в условиях загрязнения почвы тяжелыми металлами // Научная дискуссия: вопросы математики, физики, химии, биологии. / Сб. ст. по материалам XXXIX межд. науч.-практ. конф. – № 3(31). – С. 84–88.