

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ *RHIZOBIUM LUPINI* НА БОБОВЫЕ И ЗЛАКОВЫЕ КУЛЬТУРЫ

Е.Р. Каримова<sup>1</sup>, Г.Г. Худайгулов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений с опытно-экспериментальным производством АН РБ, г. Уфа, Россия

В последнее время все больше научных исследований направлено на изучение фиксации «биологического азота», а именно микроорганизмов-симбионтов и биологических препаратов на их основе. Многолетние опыты и производственная практика убедительно показывают, что микроорганизмы, фиксирующие азот, имеют большее значение для обогащения почвы азотом и повышения урожайности. Клубеньковые бактерии рода *Rhizobium*, находясь в симбиозе с бобовыми растениями, усваивают из атмосферы и снабжают растение необходимым количеством биологически связанного азота. Исходя из этих данных была сформулирована цель нашего исследования – изучить влияние биопрепарата на всхожесть, рост и вес вегетативной массы бобовых и злаковых культур. Был проведен сравнительный анализ биопрепарата на основе бактерий *Rhizobium lupini* штамм RL-1 с коммерческими бактериальными препаратами. В эксперименте были использованы сельскохозяйственные культуры: горох, пшеница, рапс, фасоль. В результате было установлено, что препарат RL-1 оказывает положительное влияние на всхожесть, длину и массу вегетативной массы растений. Так, у гороха длина побега больше на 73 %, у рапса на 44 %, у пшеницы на 60 %, у фасоли на 12 %. По весу зеленой массы препарат показал также положительный эффект, так у гороха масса растений на 50 % больше по сравнению с контролем, у рапса на 12 %, у пшеницы на 90 %, у фасоли на 14 %. Исследование относится к разработке микробиологического удобрения растений. В результате анализа установлено, что исследуемый биопрепарат на основе клубеньковых бактерий *R. lupini* способствует росту, лучшей всхожести, увеличению зеленой массы посевных культур.

**Ключевые слова:** азотфиксация, клубеньковые бактерии, *Rhizobium*, микробиологические препараты, азотфиксирующие бактерии.

В настоящее время при возделывании полевых культур, в перспективе получения высоких урожаев, большое внимание уделяется проблеме «биологического азота». В связи с экологическим и экономическим кризисом возрастает интерес, который заключается в возможностях естественных экосистем, в частности микроорганизмов – азотфиксаторов. Решение проблемы «биологического азота» связано с деятельностью азотфиксирующих микроорганизмов, усваивающих азот из атмосферы. Среди них выделяются симбиотические азотфиксаторы рода *Rhizobium* [7, 9, 10].

Фиксация молекулярного азота воздуха биологическим путем – процесс связывания и усваивания азота микроорганизмами. Он имеет большое практическое значение, поскольку промышленное производство химических азотных удобрений требует значительных затрат энергоресурсов, а сами по себе они могут быть вредны с точки зрения экологии [1, 12, 15]. Всестороннее изучение данного вопроса

обусловлено в необходимости создания новых препаратов, а именно препаратов на основе азотфиксирующих бактерий. Создание и применение биопрепаратов на основе азотфиксирующих микроорганизмов – наиболее эффективный прием повышения продуктивности растений и качества их урожая, позволяющий сохранять естественное плодородие почв и экологическое равновесие окружающей среды [1, 5, 14]. Одним из наиболее перспективных микроорганизмов для получения биопрепаратов являются клубеньковые бактерии рода *Rhizobium*. В род *Rhizobium* объединены бактерии, вызывающие образование клубеньков на корнях бобовых растений и способные фиксировать азот в условиях симбиоза с ними [3, 11, 13]. Для клубеньковых бактерий (ризобий) характерно образование клубеньков на бобовых растениях, в которых они живут как внутриклеточные симбионты. Эффективность бобово-ризобияльного симбиоза определяется наличием у штаммов клубеньковых бактерий

симбиотических признаков: вирулентности, азотфиксирующей активности, конкурентоспособности, хозяйской специфичности [4, 6, 8]. **Главная задача** данного исследования – изучение влияния биопрепарата на основе азотфиксирующих бактерий *Rhizobium lupini* на рост бобовых культур и определение ростостимулирующей активности по вегетативной массе растений

#### Объекты и методы исследования

Лабораторные исследования проводились в ГБУ «Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений с опытно-промышленным производством Академии Наук Республики Башкортостан». Объекты исследований: горох посевной сорт «Чишминский 95», рапс посевной сорт «Урал», пшеница сорт «Башкирская красавица», фасоль сорт «Белозерная», клубеньковые бактерии *Rhizobium lupini*. Эксперимент проводили в условиях лаборатории.

Препарат был получен следующим образом. Культуру *Rhizobium lupini* культивировали в бобовой среде 48 ч с постоянным перемешиванием, при температуре 28 °С, 120 об/мин. Титр – 10<sup>9</sup> КОЕ/мл. После получения культуральной жидкости был приготовлен рабочий раствор в соотношении 1:100. Для сравнения был выбран также коммерческий биопрепарат «Байкал» (ООО «ЭМ-Кооперация»), в качестве контроля – дистиллированная вода.

Семена исследуемых культур вначале дезинфицировались раствором Хлорамина Б, затем промывались дистиллированной водой. После этого семена обрабатывались рабочими растворами препаратов – с *Rhizobium lupini* и препаратом «Байкал». Время выдержки семян в рабочих растворах препаратов – 60 минут. Затем была произведена посадка семян в грунт, в качестве грунта использовался стерильный песок. Повторность была трехкратная, в каждой повторности по 20 семян. При выращивании культур поддерживался контролируемый режим: освещенность 20 тысяч люкс в течении 16 часов, без освещения – 8 часов в сутки; температура 20 °С; влажность воздуха 70 %; полив через день водопроводной водой на уровне 60 % от полевой влагоемкости.

#### Результаты исследования

Первоначальной оценкой результатов была всхожесть семян. Всхожесть оценивалась в соответствии с ГОСТ 12038-84 [2, 8], на седьмые сутки (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1  
Всхожесть на седьмые сутки, среднее значение в трех повторностях

С/х культура	Препарат	Всхожесть, %
Горох	Контроль	56
	<i>Rhizobium lupini</i>	68
	«Байкал»	58
Фасоль	Контроль	67
	<i>Rhizobium lupini</i>	80
	«Байкал»	70
Пшеница	Контроль	85
	<i>Rhizobium lupini</i>	90
	«Байкал»	87
Рапс	Контроль	50
	<i>Rhizobium lupini</i>	60
	«Байкал»	47

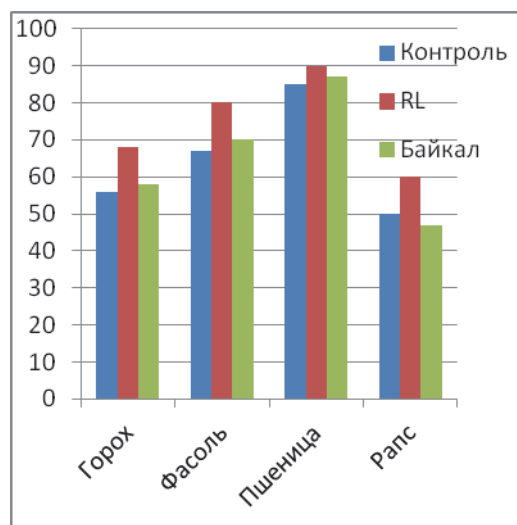


Рис. 1. Всхожесть на седьмые сутки

Продолжительность вегетационного опыта – 14 дней. По прошествии двух недель, были произведены замеры. Учет результатов осуществлялся путем срезания надземных частей растения и определения их сырой массы, а также вегетативных частей растения. Длина и масса растений рассчитывались как среднее арифметическое во всех трех повторностях. Эффективность препарата определялась в процентах относительно контроля (табл. 2). Была рассчитана эффективность по

Влияние препарата на вегетативную массу

С/х культу-ра	Образец	Длина рас-тения, см	Эффектив-ность по дли-не, %	Вес сырой массы 100 растений, г	Эффектив-ность по ве-су, %
Горох	Контроль	15	73,3	37,6	50
	<i>Rhizobium lupini</i>	26		56,5	
	«Байкал»	16	6,7	32,9	12,5
Рапс	Контроль	5	44	0,5	12
	<i>Rhizobim lupini</i>	7,2		0,56	
	«Байкал»	5	0	0,49	-2
Пшеница	Контроль	15	60	6,5	90,9
	<i>Rhizobium lupini</i>	24		12,4	
	«Байкал»	22	46,7	11,2	72,7
Фасоль	Контроль	25	12	188,2	14,1
	<i>Rhizobium lupini</i>	28		214,7	
	«Байкал»	24	-8	187,1	-0,6

длине (рис. 2) и эффективность по сырой мас-се (рис. 3).

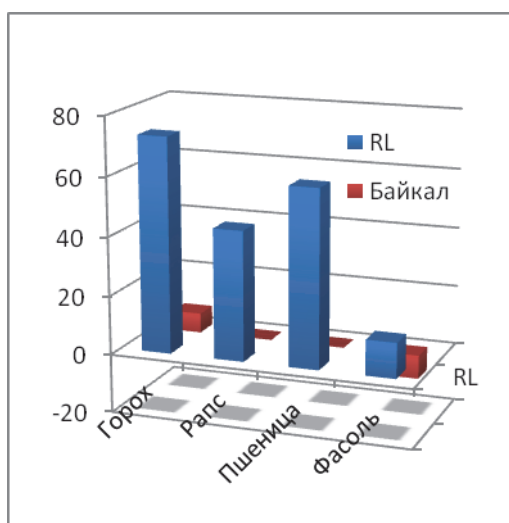


Рис. 2. Эффективность по длине по сравнению с контролем

Установлено, что микробиологический препарат на основе клубеньковых бактерий *Rhizobium lupini* эффективен для роста и развития бобовых и злаковых растений, а именно для гороха, фасоли и пшеницы. Исследования показали, что при обработке семян препаратом перед посевом у растений наблюдалась лучшая всхожесть, по сравнению с необработанными семенами (см. рис. 1). Также в ходе

проведенного сравнительного анализа длины побегов установлено, что у растений, семена которых обрабатывались препаратом на основе клубеньковых бактерий *R. lupini*, размер вегетативного побега больше, чем у контрольных растений: у гороха длина побега больше на 73 %, у рапса на 44 %, у пшеницы на 60 %, у фасоли на 12 % (см. рис. 2). По весу зеленой массы препарат показал также положительный эффект, так, у гороха масса растений на 50 % больше по сравнению с контролем, у рапса на 12 %, у пшеницы на 90 %, у фасоли на 14 % (см. рис. 3).

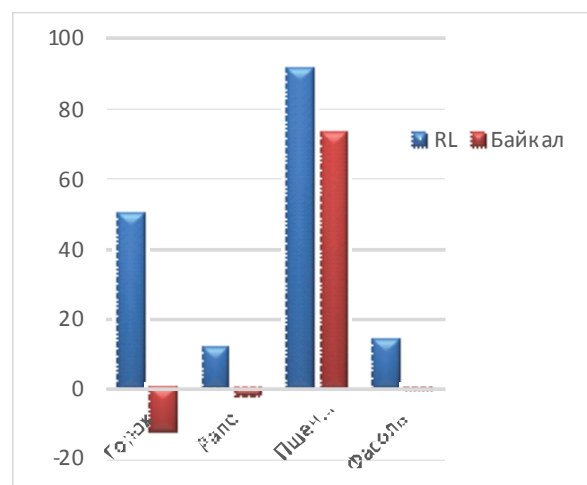


Рис. 3. Эффективность по весу сырой массы по сравнению с контролем

**Выводы**

Таким образом, биопрепарат на основе клубеньковых бактерий *Rhizobium lupini*, оказывает ростостимулирующую активность бобовых и злаковых культур. Данный препарат оказывает положительное воздействие на формирование урожайности в бобово-злаковом агроценозе.

**Литература**

1. Сытников, Д.М. Актуальность проблемы биологической фиксации азота атмосферы / Д.М. Сытников // *Современные взгляды на эволюцию органического мира: программа и тезисы докладов междунар. науч. конференции, Украина, Киев, 18–20 ноября 2009 г.* – Киев, 2009. – С. 77.
2. Новикова, Н.И. Современные представления о филогении и систематике клубеньковых бактерий / Н.И. Новикова // *Микробиология.* – 1996. – Т. 65, № 4. – С. 437–450.
3. Мишустин, Е.Н. Микробиология / Е.Н. Мишустин, В.Т. Емцев. – М.: Агропромиздат, 1987. – 368 с.
4. Кононов, А.С. Роль азотфиксирующих микробиологических удобрений в повышении урожайности бобово-злакового агроценоза / А.С. Кононов. – Брянск, 2003.
5. ГОСТ 12038-84 Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями № 1, 2, с Поправкой).
6. Мирюгина, Т.А. Повышение продуктивности горохово-злаковых смесей путем инокуляции семян клубеньковыми бактериями в комплексе с ассоциативными и свободноживущими diaзотрофами: автореф. дис. ... канд. с-х наук / Т.А. Мирюгина. – СПб., 1997. – 21 с.
7. Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве). – М. 2005. – 154 с.
8. Минеев, В.Г. *Агрохимия* / В.Г. Минеев. – М.: Наука, 2006. – 720 с.
9. Молекулярные механизмы взаимодействия ассоциативных микроорганизмов с растениями / отв. ред. В.В. Игнатов. – М.: Наука, 2005. – 259 с.
10. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / под ред. Г. Спайнка, А. Кондороши, П. Хукаса; рус. перевод под ред. И.А. Тихоновича, Н.А. Проворова – СПб., 2002. – 567 с.
11. Лебедев, В.Н. Ассоциативные штаммы бактерий как современный элемент экологизации выращивания капустных растений / В.Н. Лебедев // *Известия Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена.* – 2014. – № 168. – С. 49–53.
12. Сидельникова, Н.А. Влияние ризосферных diaзотрофов на всхожесть, и биомассу растений кукурузы / Н.А. Сидельникова // *Биологические проблемы природопользования: материалы международной научно-производственной конференции.* – Белгород, 2012. – С. 128.
13. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. – М.: Колос, 1993. – 175 с.
14. Толстопятова, Н.Г. Влияние ассоциативных и симбиотических diaзотрофов на продуктивность ячменя и многолетних трав в смешанных посевах / Н.Г. Толстопятова // *Агрохимия.* – 2004. – № 9. – С. 63–67.
15. Волков, Е.Г. Влияние биопрепаратов на урожайность и качество зерна озимой ржи и ячменя / Е.Г. Волков // *Бюл. ВИУА.* – 2001. – №115. – С. 122–123.

**Каримова Елена Робертовна**, магистрант кафедры биохимии и технологии микробиологических производств технологического факультета, Уфимский государственный нефтяной технический университет (г. Уфа), pretty-lenysik77@mail.ru

**Худайгулов Гайсар Гараевич**, кандидат биологических наук, заместитель начальника ГБУ республики Башкортостан «Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений с опытно-экспериментальным производством АН РБ» (г. Уфа), bio.logos@yandex.com

Поступила в редакцию 2 мая 2018 г.

## STUDY OF THE EFFECT OF THE BIOLOGICAL PRODUCT BASED ON *RHIZOBIUM LUPINI* NODULE BACTERIA ON LEGUMES AND CEREALS

E.R. Karimova<sup>1</sup>, G.G. Khudaigulov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Institute of Herbicides AS RB State-Financed Organization, Ufa, Russian Federation

More and more scientific research has been aimed at studying the fixation of “biological nitrogen”, namely microorganisms-symbionts and biological preparations based on them recently. Many years of experiments and production practice clearly show that the microorganisms that fix nitrogen are of greater importance to enrich the soil with nitrogen and increase yields. Rhizobium nodule bacteria, being in symbiosis with bean plants, are absorbed from the atmosphere and supply the plant with the necessary amount of biologically bound nitrogen. Based on these data, the aim of our study is to study the effect of the biological product on the germination, growth and weight of the vegetative mass of legumes and cereals. A comparative analysis of the biological product based on Rhizobium lupini bacteria RL-1 strain with commercial preparations has been carried out. In the experiment the following agricultural crops have been used: peas, wheat, rapeseed, beans. As a result it has been found that RL-1 has a positive effect on the germination, length and mass of vegetative mass of plants. Thus, the length of pea’s offshoots is more by 73 %, rapeseed – by 44 %, wheat – by 60 %, beans – by 12 %. The preparation has also shown a positive effect to the weight of green mass, for example, the weight of peas plants is 50% higher than the controlled ones, rapeseed – by 12 %, wheat – by 90 %, beans – by 14 %. The study relates to the development of microbiological fertilizer plants. As a result of the analysis it was found that the investigated biopreparation based on nodule bacteria *R. lupini* promotes growth, better germination, increase the green mass of crops.

**Keywords:** nitrogen fixation, nodule bacteria, Rhizobium, microbiological preparations.

### References

1. Sytnikov D.M. [Relevance of the problem of biological fixation of atmospheric nitrogen]. *Sovremennyye vzglyady na evolyutsiyu organicheskogomira: programma i tezisy dokladov mezhdunar.nauch. konferentsii* [Modern views on the evolution of the organic world: program and abstracts of the international reports. Scientific conferences]. Kiev, 2009, p. 77. (in Russ.)
2. Novikova N.I. [Modern concepts of phylogeny and taxonomy of nodule bacteria]. *Mikrobiologiya* [Microbiology], 1996, vol. 65, no. 4, pp. 437–450. (in Russ.)
3. Mishustin E.N., Emtsev V.T. *Mikrobiologiya* [Microbiology]. Moscow, 1987. 368 p.
4. Kononov A.S. *Rol' azotfiksiruyushchikh mikrobiologicheskikh udobreniy v povyshenii urozhaynosti bobovo-zlakovogo agrotsenoza* [The role of nitrogen-fixing microbiological fertilizers in increasing the yield of legume-cereal agrocenosis]. Bryansk, 2003.
5. *GOST 12038-84 Semena sel'skokhozyaystvennykh kul'tur. Metody opredeleniya vskhozhesti (s Izmeneniyami N 1, 2, s Popravkoy)* [GOST 12038-84 Seeds of agricultural crops. Methods for determination of germination (with Amendments No. 1, 2, Amendment)].
6. Miryugina T.A. *Povysheniye produktivnosti gorokhovo-zlakovykh smesey putem inokulyatsii semyan kluben'kovymi bakteriyami v komplekse s assotsiativnymi i svobodnozhivushchimi diazotrofami* [Increasing the productivity of pea-cereal mixtures by inoculation of seeds with nodule bacteria in combination with associative and free-living diazotrophs]. Autoref. dis. kan. of agricultural Sciences. St. Petersburg, 1997. 21 p.
7. *Biopreparaty v sel'skom khozyaystve. (Metodologiya i praktika primeneniya mikroorganizmov v rasteniyevodstve i kormoproizvodstve)* [Biological preparations in agriculture. (Methodology and practice of application of microorganisms in crop and feed production)]. Moscow, 2005. 154 p.

8. Mineev V.G. *Agrokimiya* [Agrochemistry]. Moscow, 2006. 720 p.
9. Ignatov V.V. (Ed.) *Molekulyarnyye mekhanizmy vzaimodeystviya assotsiativnykh mikroorganizmov s rasteniyami* [Molecular mechanisms of interaction of associative microorganisms with plants]. Moscow, 2005. 15 p.
10. Spinka G., Kondorosi A., Jukasa P. (Eds.) *Molekulyarnaya biologiya bakteriy, vzaimodeystvuyushchikh s rasteniyami* [Molecular biology of bacteria that interact with plants]. St. Petersburg, 2002. 567 p.
11. Lebedev V.N. [Associative strains of bacteria as a modern element of greening the cultivation of cabbage plants]. *Izvestiya Rossiyskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta im. A.I. Gertsena* [Proceedings of the Russian State Pedagogical University A.I. Herzen], 2014, no. 168, pp. 49–53. (in Russ.)
12. Sidelnikova N. [The influence of rhizosphere diazotrophs on germination and biomass of maize plants]. *Biologicheskiye problemy prirodopol'zovaniya. Materialy mezhdunarodnoy nauchno-proizvodstvennoy konferentsii* [Biological problems of nature. Materials of the international scientific and production conference]. Belgorod, 2012, p. 128. (in Russ.)
13. Tepper E.Z., Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I. *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on Microbiology]. Moscow, 1993. 175 p.
14. Tolstopyatov N.G. [Effect of associative and symbiotic Diazotrophs on the productivity of barley and perennial grasses in mixed crops]. *Agrokimiya* [Agrochemistry], 2004, no. 9, pp. 63–67. (in Russ.)
15. Volkov E.G. [The impact of biological preparations on the yield and quality of winter rye and barley grain]. *Byul. VIUA* [Bul. VIA], 2001, no. 115, pp. 122–123.

**Elena R. Karimova**, Student of Biochemistry and Technology of Microbiological Production Department, Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, pretty-lenysik77@mail.ru

**Gaisar G. Khudaigulov**, Candidate of Sciences (Biology), Deputy Chief of Research Technological Institute of Herbicides and Regulation of Plant Growing with an Experimental Production of Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Ufa, bio.logos@yandex.com

*Received May 2, 2018*

#### ОБРАЗЕЦ ЦИТИРОВАНИЯ

Каримова, Е.Р. Изучение влияния биопрепарата на основе клубеньковых бактерий *Rhizobium lupini* на бобовые и злаковые культуры / Е.Р. Каримова, Г.Г. Худайгулов // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». – 2018. – Т. 6, № 2. – С. 52–57. DOI: 10.14529/food180207

#### FOR CITATION

Karimova E.R., Khudaigulov G.G. Study of the Effect of the Biological Product Based on *Rhizobium lupini* Nodule Bacteria on Legumes and Cereals. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2018, vol. 6, no. 2, pp. 52–57. (in Russ.) DOI: 10.14529/food180207