

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 307 (2015), 125 – 129

**METHODS AND DOSES OF INOCULATION OF BEAN CULTURES
BY PREPARATIONS OF NODULE BACTERIA****A. K. Sadanov¹, T. N. Dadonova², N. N. Gavrilova¹, I. A. Ratnikova¹**¹Institute of Microbiology and Virology" CS MES RK, Almaty, Kazakhstan,²AS «Parasat»*, Astana, Kazakhstan.

E-mail: iratnikova@list.ru

Key words: nodule bacteria, methods of application, dose, adhesives, stimulants, stabilizers.

Abstract. The efficacy of preparations on the basis of the nodule bacteria not only depends on the strains of the used microorganisms, but also on the dose and methods of their application. For the increase of efficiency of preparations in their composition enter different additions as adhesives and also for the increase of viability of bacteria and stimulation of their growth. Besides known adhesives, for stimulation of growth of bacteria and their activity polysaccharides, organ-mineral complexes, zeolite, artificial associations of microorganisms, stabilizers are used.

УДК 631.461 632.937.15 579.64 (476)

**СПОСОБЫ И ДОЗЫ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН БОБОВЫХ КУЛЬТУР
ПРЕПАРАТАМИ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ****А. К. Саданов¹, Т. Н. Дадонова², Н. Н. Гаврилова¹, И. А. Ратникова¹**¹РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,²АО «Парасат», Астана, Казахстан

Ключевые слова: клубеньковые бактерии, способы применения, дозы, прилипатели, стимуляторы, стабилизаторы.

Аннотация. Эффективность действия препаратов на основе клубеньковых бактерий зависит не только от штаммов используемых микроорганизмов, но и от дозы и способов их применения. Для повышения эффективности препаратов в их состав вводят различные добавки в качестве прилипателей, а также для повышения жизнеспособности бактерий и стимуляции их роста. Помимо известных прилипателей, для стимуляции роста бактерий и их активности используют полисахариды, органно-минеральные комплексы, цеолит, искусственные ассоциации микроорганизмов, стабилизаторы.

Известно, что эффективность биопрепаратов для предпосевной инокуляции семян бобовых растений в значительной степени зависит от правильно подобранной их дозы и способа применения.

Судя по литературным источникам, дозы известных препаратов на основе клубеньковых бактерий находятся в пределах 150-600 г (мл) на одну гектарную норму семян. Так, расход известного аргентинского жидкого инокулянта для зернобобовых культур Ноктин А составляет 150-300 мл на гектарную норму семян. Рекомендуемый срок обработки семян – непосредственно перед посевом. Препарат ризоторфин имеет норму расхода 300 г на гектарную норму семян. Рекомендуемые дозы внесения препарата ризоторфин-Б: на 1 гектарную норму семян козлятника – 1000 г, сои, бобов кормовых – от 500-1000 грамм [1, 2].

Для повышения эффективности клубеньковых бактерий в состав препаратов вводят различные стимуляторы их роста и активности. Так, жидкий препарат Оптимайз производства США является двухкомпонентным инокулянтом, в состав которого входят: липо-хитоолигосахарид, являющийся естественным стимулятором образования клубеньков, и бактерии рода *Rhizobium*. Расход препарата на гектарную норму составляет 200 мл.

При формировании бобово-ризобияльного симбиоза важным компонентом взаимодействия симбиопартнеров являются полисахариды, синтезируемые азотфиксирующими бактериями. Возможно, под действием именно этих веществ, выступающих индикаторами ранних этапов морфогенеза клубеньков, происходит активация ряда растительных генов, которые «молчат» в корнях неинокулированных ризобиями растений [3].

Показано, что клетки клубеньковых бактерий при действии экзогенных полисахаридов (бактозоль) усиливали рост, продуцировали в большом объеме биомассу и изменяли активность некоторых энзимов азотного обмена [4, 5].

Выявлено стимулирующее действие синтетического полисахарида (ПС МОД-19) на рост ризобий, накопление биомассы и изменение их метаболизма при выращивании бактерий на твердой и жидкой средах. При обработке семян гороха (*Pisum sativum L.*) перед посевом полисахаридом ПС МОД-19 у растений обнаружено усиление ризогенеза, активности пероксидазы растительных клеток, а также повышение эффективности симбиоза в целом за счет вторичного образования клубеньков на боковых корнях и пролонгирования периода их активной азотфиксации [5]. В этой связи синтетические полисахариды могут представлять интерес как биологически активные вещества для практического применения, в частности, для расширения номенклатуры веществ, способных стимулировать ростовую активность ризобий и, в большей степени, усиливающих и пролонгирующих азотфиксирующую активность клубеньков, образуемых на корнях бобовых растений.

В работах украинских исследователей показана также эффективность биопрепаратов клубеньковых бактерий, модифицированных гомологичным лектином, и экономическая целесообразность их применения [6, 7].

Для украинского торфяного инокулянта Нитрофикс С на основе бразильских штаммов бактерий рекомендован способ инокуляции по методу КПИС (комплексное предпосевное инкрустирование с использованием специфичного раствора плёнкообразователя). Срок хранения обработанных по методу КПИС семян – до 15 суток.

Положительные результаты были получены при использовании в агробиотехнологии искусственных альгоризобияльных ассоциаций для инокуляции семян лядвенца, гороха и клевера [8, 9]. Доказано усиление эффекта нитрогенизации бобовых растений под влиянием искусственных консорциумов на основе *Nostoc* и различных видов *Rhizobium* [10, 11]. В дополнительную поставку биоудобрения для сои «НИТРАГИН КМ производства ООО «НТЦ БИО» (Белгородская область) входит органно-минеральный комплекс, обеспечивающий прилипание препарата к семенам, его сохранность и дополнительное питание клубеньковых бактерий [12].

Для большинства биопрепаратов предпосевную обработку семян бобовых культур рекомендуют проводить в день посева, а ещё лучше небольшими партиями непосредственно перед посевом. Обработанные биопрепаратами семена берегут от прямых солнечных лучей и перегрева. Высев рекомендуют производить во влажную почву.

Компания «Систесис Кимика», эксклюзивным дистрибьютором продукции которой на территории России и Беларуси является группа компаний «Агролига России», предлагает при инокуляции семян Ноктин А консервант-стабилизатор ПроНок Мульти. Этот специально разработанный продукт позволяет производить инокуляцию не в день высева, а заблаговременно, за 3 недели до высева (в зарубежной практике даже до 4-х месяцев). При соблюдении правил инокуляции и хранения обработанных семян бактерии полностью сохраняют свою жизнеспособность на семенном материале и активизируются только в момент начала прорастания семян.

Для повышения эффективности действия препаратов предлагаются и другие способы инокуляции. Один из таких способов – применение гранулированных препаратов клубеньковых бактерий, вносимых в почву одновременно с высевом семян. Эффективность применения гранулированных препаратов выше, чем обработка семян порошковидным препаратом. Так, внесение

6 кг/га гранулированного ризоторфина под клевер красный обеспечило максимальную прибавку сухого вещества (37,8% по сравнению с обработкой семян порошковидным ризоторфином). Эффективность ризоторфина в многолетних опытах с зернобобовыми культурами, выполненных в Белоруссии, составляет 10-20% [13].

Разработан способ внесения в почву азотфиксирующих бактерий под бобовые культуры, исключаящий трудоемкую операцию предпосевной обработки семян бактериальным препаратом. Согласно этому способу, азотфиксирующие бактерии попадают в почву путем внекорневой обработки вегетирующих растений раствором соответствующего бактериального препарата в количестве, соответствующем гектарной норме расхода бактерий [14].

Традиционно предпосевную обработку семян препаратами проводят вручную или механизированным способом. Механизированную обработку семян биопрепаратом осуществляют машинами для протравливания семян по технологии, аналогичной с протравливанием. Перед работой машины для протравливания тщательно очищают от ядохимикатов, промывают и обезвреживают согласно санитарным правилам. При обработке семян придерживаются главного правила: на гектарную норму семян должна быть нанесена гектарная порция биопрепарата, а количество воды в суспензии должно обеспечивать равномерное распределение препарата на семенах и их сыпучесть. Соотношение водной суспензии препарата к массе семян должно составлять 1,5-2,0 % [15].

В результате фенологического наблюдения за развитием растений установлено, что оптимальной дозой казахстанских препаратов серии «Ризовит-АКС» с титром бактериальных клеток $\times 10^9$ КОЕ/г является 200 г на одну гектарную норму семян.

При ручной и механизированной обработке семян люцерны дозой препарата 200 мл/га произошло повышение содержания каротина в зеленой массе растения по сравнению с контролем на 16,92 и 17,58 мг/кг, соответственно, при дозе 100 мл/га – на 6,8-6,2 мг/кг, соответственно. Содержание сырого протеина и азота в зеленой массе люцерны в опытных вариантах было на 7,1 % выше по сравнению с контрольным вариантом, кормовых единиц – на 2,7%. Установлено, что для предпосевной обработки семян сои также более оптимальным является механизированный способ с дозой препарата 200 г/га. При этом урожайность сои превосходила контрольный вариант на 7,7%, количество бобов – на 66,6%, массовая доля азота в зерне – на 15,2%, массовая доля белка – на 1,5 %. Показано, что цеолит в составе препаратов «Ризовит-АКС» любой формы оказывает положительное влияние на рост бобовых растений [16]. Так, в полевых опытах установлено положительное влияние предпосевной инокуляции семян бобовых культур разными формами биопрепаратов серии «Ризовит-АКС» с цеолитом на рост, массу растений и количество образуемых клубеньков. При этом значительно увеличивается продуктивность и урожайность различных бобовых растений, культивируемых в Казахстане. При использовании лиофильно высушенного препарата с цеолитом урожайность сои возрастает на 11,2 ц/га (26,2%), гороха – на 8,8 ц/га (34,6 %), чечевицы – на 5,8 ц/га (49,6 %), нута – на 1,3 ц/га (28,3 %) по сравнению с контрольным вариантом. Это дало основание рекомендовать добавку цеолита во все формы препаратов серии «Ризовит-АКС» для повышения их эффективности при применении.

Таким образом, эффективность действия препаратов на основе клубеньковых бактерий зависит не только от штаммов используемых микроорганизмов, но и от дозы и способа их применения. Для повышения эффективности препаратов в их состав вводят различные добавки в качестве прилипателей, а также для повышения жизнеспособности бактерий и стимуляции их роста. Помимо известных прилипателей, для стимуляции роста бактерий и их активности используют полисахариды, органно-минеральные комплексы, цеолит, искусственные ассоциации микроорганизмов, стабилизаторы.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Методы культивирования азотфиксирующих бактерий, способы получения и применения препаратов на их основе: Методические рекомендации / Под ред. А. В. Хотяновича. – Л., 1991.
- [2] По материалам сайта AgroXX1.ru Бактериальные удобрения для бобовых, 24. 10.2012.
- [3] Сытник Д.М. Биотехнология микроорганизмов-азотфиксаторов и перспективы применения препаратов на их основе // Биотехнология. – 2012. – Т. 5, № 4. – С. 34-45.
- [4] Кругова О.Д., Мандровська Н.М., Охріменко С.М. Вплив бактеріального Екзополіса-хариду на ефективність симбіотичної азотфіксації рослин гороху і сої // Физиол. биохим. культ. раст. – 2002. – Т. 34, № 3. – С. 239-244.
- [5] Косенко Л.В., Мандровская Н.М., Кругова Е.Д., Варбанец Л.Д. Действие роста-мулягора растений бактозоля на *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* 260a и его азотустойчивый мутант М-71 в условиях различной обеспеченности азотом // Микробиология. – 2003. – Т. 72, № 1. – С. 40-47.
- [6] Сытник Д.М., Коць С.Я., Маличенко С.М. Эффективность симбиотической системы соя – *Bradyrhizobium japonicum* при действии гомологичного лектина в условиях различного обеспечения минеральным азотом // Физиол. биохим. культ. раст. – 2005. – Т. 37, № 6. – С. 394-401.
- [7] Сытник Д. М. Экономическая целесообразность применения ризобияльных препаратов, модифицированных гомологичным лектином // Микробиология і біотехнологія. – 2012. – № 1 (17). – С. 76-83.
- [8] Панкратова Е.М., Зяблых Р. Ю., Калинин А.А. и др. Конструирование микробных культур на основе синезеленой водоросли *Nostoc paludosum* Kutz // Микробиология і біотехнологія. – 2004. – Т. 14, № 4. – С. 446-468.
- [9] Пацко Е.В., Воробей Н.А., Паршикова Т.В., Коць С.Я. Перспективность использования ассоциаций азотфиксирующих микроорганизмов для повышения урожайности растений // Бюл. Моск. общ. исп. прир. – 2009. – Т. 114, вып. 2. – С. 84-86.
- [10] Панкратова Е.М., Трефилова Л.В., Зяблых Р.Ю., Устюжанин И.А. Цианобактерия *Nostoc paludosum* Kutz как основа для создания агрономически полезных микробных ассоциаций на примере бактерий рода *Rhizobium* // Микробиология. – 2008. – Т. 77, № 2. – С. 266-272.
- [11] Сытник Д.М., Воробей Н.А., Пацко Е.В. Реакция сои на инокуляцию альго-ризоби-альными композициями // Биотехнологія. – 2010. – Т. 3, № 6. – С. 42-48.
- [12] По материалам сайта agroliga.ru Зернобобовые Новые подходы к технологии возделывания и минерального питания, 23.01. 2014 .
- [13] Чиканова В.М. Бактериальные удобрения. Минск: "Уражай", 1988. – 94 с.
- [14] Патент РФ № 2193837. Способ внесения в почву азотфиксирующих бактерий // Киров Е.И., Майстренко В.И., Куценкогий К.П. Опубликовано. 10.12.2002.
- [15] Азаров Б.Ф. Симбиотический азот в земледелии Центрально-Черноземной зоны Российской Федерации: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. – М., 1995. – 59 с.
- [16] НИИ отчет по теме: «Разработка носителей на основе природного цеолита для препаратов клубеньковых бактерий под бобовые культуры». Рег. номер 0113РК00879, научн. руководитель Т. Б. Мусалдинов. – Алматы, 2014. – 72 с.

REFERENCES

- [1] Cultivation techniques of nitrogen-fixing bacteria, methods of production and application of drugs based on them: methodical recommendations. Ed. A. V. Khotyanovich, Leningrad, 1991. (in Russ.).
- [2] On materials of a site: AgroXX1.ru Bacterial fertilizers for legumes, 24. 10.2012. (in Russ.).
- [3] Sytnikov D.M. Biotechnology of nitrogen-fixing microorganisms and prospects of the use of drugs based on them. Biotechnology. 2012. Vol. 5, N 4. P. 34-45. (in Russ.).
- [4] Kruglova O.D., Mandrovska N.M., Okhrimenko S.M. Vpliv bakterialnogo Ekzopolisa parrotfish on effektivnist simbiotichnoi azotfiksații Roslyn peas i soi. Fiziol. biochem. cult. extensible. 2002. Vol. 34, N 3. P. 239-244. (in Ukr.).
- [5] Kosenko L.V., Mandrovskaya N.M., Kruglova E.D., Varbanets L.D. Action на growth-stimulant for plants baktozolya on *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* 260a and nitrogen stable mutant M-71 in conditions of different provision nitrogen. Microbiology. 2003. Vol. 72, N 1. P. 40-47.
- [6] Sytnikov D.M., Kots S.Ya., Malichenko S.M. The effectiveness of the symbiotic system soybeans - *Bradyrhizobium japonicum* under the action of a homologous lectin in different provision of mineral nitrogen. Physl. biochem. cult. plants. 2005. Vol. 37, N 6. P. 394-401.
- [7] Sytnikov D.M. Economic feasibility of *Rhizobium* drug use modified by homologous lectin. Mikrobiologiya i biotekhnologiya. 2012. N 1 (17). P. 76-83.
- [8] Pankratov E.M., Zyablyh R.Yu., Kalinin A.A. et ot. Construction of microbial cultures on the basis of blue-green algae *Nostoc paludosum* Kutz. Mikrobiologiya i biotekhnologiya. 2004. Vol. 14, N 4. P. 446-468.
- [9] Patsko E.V., Vorobei N.A., Parshikova T.V., Kots S.Ya. Prospects of the use of nitrogen-fixing microorganisms associations to increase yield of plants. Bull. Mosk. Society. App. nature. 2009. Vol. 114, ed. 2. P. 84-86.
- [10] Pankratov E.M., Trefilov L.V., Zyablyh R.Yu., Ustyuzhanin I.A. Cyanobacterium *Nostoc paludosum* Kutz as the basis for the creation of agronomically useful microbial associations in case of bacteria of the genus *Rhizobium*. Microbiology. 2008. Vol. 77, N 2. P. 266-272.
- [11] Sytnikov D.M., Vorobei N.A., Patsko E.V. Reaction of soybean on inoculation of algo -rhizobia compositions. Biotechnology. 2010. Vol. 3, N 6. P. 42-48.
- [12] On materials of a site agroliga.ru. Legumes. New approaches to technology of cultivation and mineral nutrition, 23.01. 2014.

- [13] Chikanova V.M. Bacterial fertilizers. Minsk: "Urazhay", 1988. 94 p.
- [14] The patent of the RF № 2193837. Method of soil application of nitrogen-fixing bacteria // Kirov E.I., Maystrenko V.I., Koutsenogii K.P. Publ. 10.12.2002.
- [15] Azarov B.F. Symbiotic nitrogen in agriculture of Central Black Earth region of the Russian Federation: Autoref. dis. agricultural sciences. M., 1995. 59 p.
- [16] Research Institute report on the theme: "Development of the carriers on the basis of natural zeolite for drugs nodule bacteria under legumes." Reg. number 0113RK00879 scientific research. Head of Musaldinov T.B., Almaty. 2014. 72 p.

БҰРШАҚ ТҰҚЫМДАС ДАҚЫЛДАРДЫҢ ДӘНДЕРІН ТҮЙНЕК БАКТЕРИЯЛАРЫНАН ДАЯРЛАНҒАН ПРЕПАРАТТАРМЕН ӨНДЕУДІҢ ӘДІСТЕРІ МЕН МӨЛШЕРЛЕРІ

А.К. Саданов¹, Т.Н. Даданова², Н.Н. Гаврилова¹, И.А. Ратникова¹

¹ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан

²«Парасат» АҚ, Астана, Қазақстан

Тірек сөздер: түйнек бактериялары, қолдану әдістері, мөлшерлері, тұтқыр заттар, стимуляторлар, стабилизаторлар.

Аннотация. Түйнек бактерияларының негізінде даярланған препараттардың әсер ету тиімділігі, тек пайдаланылатын микроорганизмдердің штамдарына ғана емес және олардың қолдану әдістері мен мөлшеріне де тығыз байланысты болады. Препараттардың тиімділігін жоғарлату үшін, сондымен қатар бактериялардың тіршілік әрекетін арттыруға және олардың өсуін жандандыру үшін, олардың құрамына тұтқыр зат ретінде әртүрлі қосымша заттар енгізіледі. Бактериялардың өсуі мен олардың белсенділігін арттыру үшін, белгілі тұтқыр заттардан басқа полисахаридтер, органикалық-минералды кешендер, цеолит, микроорганизмдердің жасанды құрамалары, стабилизаторлар пайдаланылады.

Поступила 27.02.2015 г.