

ВЛИЯНИЕ МИКРОБИЛОГИЧЕСКИХ ИНОКУЛЯТОВ НА МОРФО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) В УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВАЦИИ НА ЖИДКИХ СУБСТРАТАХ

М. Д. РАКОВА, Т. И. ПЯТАКОВА

ЗАО «Струнные технологии»,
г. Минск, Республика Беларусь, 220089, e-mail: ma.rakova@unitsky.com

И. В. НАЛЕТОВ

УО «Белорусская государственная орденов Октябрьской Революции
и Трудового Красного Знамени сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Республика Беларусь, 213407, e-mail: grozer27@gmail.com

(Поступила в редакцию 18.03.2025)

Применение почвенных бактерий может существенно увеличивать урожайность целого ряда сельскохозяйственных культур, поскольку микроорганизмы более экологично воздействуют как на почву, так и на растения, обеспечивая последних необходимыми элементами питания, в частности азотом, фосфором и калием, делая их более биодоступными для растений. В результате исследований проведена комплексная морфологическая оценка реакции гороха посевного на действие агрономически ценных ризосферных микроорганизмов, выделенных из Мирового банка почв и Terra, расположенного на территории крестьянского фермерского хозяйства «Юницкого» (Минская область, Пуховичский район, Новосёлковский сельский совет). Объектом данного исследования являются микробиологические инокуляты на основе азотфиксирующих бактерий: Buh A2, Buh A21, Buh Эш, Buh Эш1, Chel A2, NH A2, NH A21, NH A22, NH A23, PLORG A2. Наилучшие показатели получены у растений, обработанных микробиологическим инокулятом, содержащим штамм NH A23: площадь корней составила 122,651 см², площадь листьев – 77,654 см², увеличение надземной части растения – на 15,5 см., масса сырая – 6,170 г, масса сухая – 2,206 г, на корнях образовались зачатки клубеньков, а также на растениях отсутствовали какие-либо повреждения насекомыми или иной природы. На основе полученных экспериментальных данных можно сделать вывод, что внесение бактериологических суспензий в питательный субстрат благоприятно влияет на рост и развитие растений, в частности гороха посевного. Лучшие результаты продемонстрировали бактериальные штаммы NH A2, NH A22, NH A23, применение которых ускорило наступление периода цветения и завязывания плодов у гороха посевного, а также стимулировало образование клубеньков.

Ключевые слова: почвенные микроорганизмы, горох посевной, ростовые показатели, сельское хозяйство, биологическая эффективность.

Using of soil bacteria can significantly increase the yield of a number of crops, since microorganisms have a more environmentally friendly effect on both soil and plants, and provide the latter with the necessary macronutrients, in particular nitrogen, phosphorus and potassium, making them more bioavailable to plants. The current study presents a comprehensive morphological assessment of the reaction of seeded peas to the action of agronomically valuable rhizosphere microorganisms isolated from the World Soil Bank uTerra, located on the territory of the Yunitskiy peasant farm (Minsk region, Pukhovichi district, Novoselkovsky village). The object of this study is microbiological inoculates based on nitrogen-fixing bacteria: Buh A2, Buh A21, Buh Esh, Buh Esh1, Chel A2, NH A2, NH A21, NH A22, NH A23, PLORG A2. The best indicators for plants treated with a microbiological inoculum containing the NH A23 strain are: root area – 122.651 cm², leaf area – 77.654 cm², an increase in the aboveground part of the plant by 15.5 cm, raw weight – 6.170 g, dry weight – 2.206 g, nodule rudiments formed on the roots, and there was no damage by insects or other nature. Based on the experimental data obtained, it can be concluded that the introduction of bacteriological suspensions into the nutrient substrate has a beneficial effect on the growth and development of plants, in particular seed peas, the best results were demonstrated by bacterial strains NH A2, NH A22, NH A23, accelerating the onset of the flowering period and fruit setting, as well as stimulating the formation of nodules.

Key words: soil microorganisms, seed peas, growth indicators, agriculture, biological efficiency.

Введение

В современном земледелии применение минеральных удобрений является важным критерием получения высоких и устойчивых урожаев сельскохозяйственных растений [1–3].

На 2024 г. с белорусских химических заводов было запланировано поставит 1,6 млн т д. в. минеральных удобрений, в том числе: 703,7 тыс. т д. в. с «Гродно Азот», 139,1 тыс. т д. в. с «Гомельский химический завод» и 740 тыс. т д. в. с «Беларуськалий» [4].

Однако применение минеральных удобрений в больших объемах не только повышает урожайность сельскохозяйственных культур, но и может оказывать определенное негативное влияние на почвенное плодородие, в частности состояние микробиоценоза, включающего большое разнообразие микроорганизмов, в том числе ризосферных бактерий [5, 6].

Микроорганизмы играют важную роль в сельском хозяйстве с точки зрения обеспечения растений доступными питательными веществами, поскольку. В последние годы бактерии, стимулирующие рост растений (PGPB), широко используются в сельском хозяйстве в качестве биологических удобрений

ний [7]. Биоудобрения могут стать решением ряда проблем связанных с использованием химических удобрений за счет поддержания плодородия почвы и снижения кумулятивных рисков химических удобрений для окружающей среды [8]. PGPB – это свободноживущие штаммы бактерий, которые напрямую влияют на развитие растений и корневых систем посредством фиксации азота, растворения минералов и высвобождения многих фитогормонов [9]. Ученые во многих странах сосредоточились на стабилизации и подготовке типов бактериальных ассоциаций для улучшения общего состояния растений, роста и урожайности. Распространенные роды бактерий PGPB, используемые в сельском хозяйстве, включают *Bacillus*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Gluconacetobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Paenobacillus* и *Lactobacillus* [5, 6, 10].

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) является ценной бобовой культурой и богатым источником белка, фенолов, танинов и флавоноидов, а также антиоксидантов [2, 11, 12]. Бобовые культуры поддерживают биоразнообразие почвы, фиксируют атмосферный азот в почве с помощью клубеньковых бактерий, извлекают питательные элементы из труднодоступных соединений, что, в конечном итоге, снижают потребность в агрохимикатах [13–17].

В настоящее время есть необходимость в продолжении и масштабировании исследований в области разработки и использования биоудобрений по воздействию бактерий PGP на рост и урожайность сельскохозяйственных культур [18].

Цель исследования – изучить биологическую эффективность перспективных почвенных штаммов микроорганизмов, выделенных из Мирового банка почв uTeга, на морфо-биологические показатели гороха посевного (*Pisum sativum* L.) в условиях культивирования на жидких субстратах.

Основная часть

Исследование проводилось в лабораторных условиях в течение месяца с использованием модифицированной среды Эллиса ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ – 1 г/л, MgSO_4 – 5 г/л, KH_2PO_4 – 3 г/л, NH_4SO_4 – 1 г/л, хелат – 5 г/л, MnSO_4 – 0.02 г/л, CuSO_4 – 0.01 г/л, ZnSO_4 – 0.01 г/л) (из состава были исключены соли, содержащие азот).

Объектом исследования являются микробиологические инокуляты, полученные с использованием перспективных штаммов микроорганизмов, выделенных из Мирового банка почв uTeга, расположенного на территории крестьянского фермерского хозяйства «Юницкого». Сбор и пополнение Мирового банка почв ведется с 2020 г., на данный момент банк почв содержит более 105 образцов почв со всего мира. В актуальном исследовании было проанализировано 10 штаммов азотфиксаторов: Buh A2, Buh A21, Buh Эш, Buh Эш1, Chel A2, NH A2, NH A21, NH A22, NH A23, PLORG A2 (табл. 1).

Таблица 1. Список использованных штаммов микроорганизмов

Условное обозначение	Регион сбора образца
Buh A2	Румыния
Buh A21	Румыния
Buh Эш	Румыния
Buh Эш1	Румыния
Chel A2	Россия
NH A2	США
NH A21	США
NH A22	США
NH A23	США
PLORG A2	Индия

Для получения бактериальных растворов были приготовлены культуры выделенных штаммов бактерий. Для этого необходимо было инокулировать 5 мл ГРМ-бульона одиночной колонией целевого штамма, выращивать ночь на качалке при оптимальной температуре, далее необходимо перенести 1 мл ночной культуры в 250 мл питательного бульона и выращивать культуру на качалке при оптимальной температуре. После 1 мл наработанного инокулята необходимо внести в заранее подготовленные емкости со средой Эллиса 300 мл.

В качестве тест-растения был выбран горох посевной, принадлежащий к семейству бобовые (*Fabaceae*). Семена были пророщены во влажной среде, образовавшиеся проростки гороха посевного были обернуты в спанбонд и помещены в подготовленные емкости с питательной средой и внесенной бактериальной суспензией. В данном лабораторном исследовании поддерживались стабильные климатические условия для выращивания растений: температурный режим +25 °С, уровень влажности 40–50 %, освещенность 4000–6000 лк.

Фенологические наблюдения по фазам роста и развития растений проводили ежедневно, анализ площадей корней и листьев осуществляли при помощи специализированных программ: RhizoVision-Explorer и ImageJ соответственно [19, 20]. Полученные данные отражены в табл. 2 и табл. 3.

Таблица 2. Морфо-биологические показатели гороха посевного под воздействием бактериальных суспензий в первый и последний день эксперимента

Штамм микроорганизмов / день вегетации	Длина корня, см		Ветвление корня, число корней	Высота надземной части, см	
	1-й день	30-й день		30-й день	1-й день
Контроль	6,5	7	15	4,5	5
Buh A2	6,5	11	13	5,5	9
Buh A21	4	13,5	23	4	4,5
Buh Эш	9	12,5	34	5,5	13
Buh Эш1	10,5	11,2	4	6,5	7
Chel A2	5	7,5	22	5	6
NH A2	10	34	60	4	19
NH A21	5	6	22	6	9
NH A22	7,5	15	40	6	13
NH A23	8	10,5	62	6,5	22
PLORG A2	5	6	25	4	10

Таблица 3. Показатели продуктивности гороха посевного под воздействием бактериальных суспензий в последний день эксперимента

Штамм микроорганизмов	Масса сырая, г	Масса сухая, г	Наличие клубеньков	Площадь листьев, см ²	Площадь корней, см ²	Стадия развития растения	Повреждения листьев
Контроль	0,473	0,083	–	5,455	6,751	вегетативный рост	тля, отсохли нижние листья
Buh A2	0,533	0,128	–	6,839	8,310	вегетативный рост	отсохли нижние листья, паутинный клещ
Buh A21	0,351	0,056	–	2,283	9,481	вегетативный рост	отсохла верхняя часть листьев
Buh Эш	1,703	0,097 + 0,334 (бооб)	–	10,669	19,017	цветение на 17 день, образование плода на 21 день	отсохли нижние листья
Buh Эш1	0,260	0,029	–	1,286	2,077	вегетативный рост	растение полностью высохло
Chel A2	0,792	0,133	–	14,503	13,301	вегетативный рост	отсохли нижние листья
NH A2	3,680	0,433	+	52,882	108,552	вегетативный рост	отсохли нижние листья
NH A21	0,791	0,135	–	6,175	14,567	цветение на 17 день, плод не образовался	отсохли нижние листья
NH A22	2,915	0,178 + 0,820 (бооб)	+	46,770	82,728	цветение на 17 день, образование плода на 21 день	отсохли нижние листья
NH A23	6,170	0,531 + 1,675 (бооб)	+	77,654	122,651	цветение на 17 день, образование плода на 21 день	отсутствуют
PLORG A2	1,112	0,170	–	35,281	29,682	цветение на 30 день	отсохли нижние листья

Анализ полученных данных показывает, что растения гороха посевного, обработанного бактериальной суспензией штамма NH A2, характеризуются наибольшим приростом корня по сравнению с остальными образцами – 24 см, наименьшим приростом корня обладают контрольные растения – 0,5 см. Наибольшей разветвленностью корневой системы обладают варианты, обработанные штаммами NH A23 и NH A2 – на данных растениях образовалось 62 и 60 боковых корней соответственно. Растения, обработанные штаммом Buh Эш1, имеют меньше всего боковых корней, всего 4 боковых корня, т. к. в начале вегетации образовалось 9 корней, которые постепенно отмирали, не образуя новые. Наибольшим приростом надземной части обладали растения, в среду которых были добавлены бактериальные суспензии NH A23 и NH A2, что составляет 15,5 см и 15 см соответственно. Наименьшим приростом надземной части, равном 0,5 см, отличались растения, культивируемые со штаммами микроорганизмов Buh A21, Buh Эш1, а также контроль.

Результаты показывают, что по окончании эксперимента, наибольшей сырой и сухой массой обладали образцы гороха посевного, инокулированные бактериальным штаммом NH A23: масса сырая составила 6,170 г, масса сухая – 2,206 г. Наименьшую сырую и сухую массу имели растения из группы, обработанной штаммом Buh Эш1: масса сырая – 0,260 г, масса сухая – 0,029 г. Также стоит отметить, что на корнях растений, растущих совместно с бактериальными штаммами NH A2, NH A22, NH A23, образовались клубеньки, на растениях из других групп клубеньки не образовались. Растения, культивируемые со штаммами микроорганизмов Buh Эш1, характеризовались наименьшей площадью листьев – 1,286 см². Наибольшей площадью листьев и площадью корневой системы обладали растения, обработанные штаммом NH A23 – 77,654 см² и 122,651 см² соответственно. Растения, обработанные штаммом Buh Эш1, имели наименьшую общую площадь корней, которая составила 2,077 см². Большая часть гороха посевного по окончании эксперимента осталась на стадии вегетативного роста, в стадию плодоношения вышли растения, обработанные бактериальными суспензиями, содержащие штаммы: Buh Эш, NH A22 и NH A23.

Необходимо отметить, что наибольшую массу плода имели растения, развивающиеся на среде с внесенным штаммом NH A23 – 1,675 г. Растения гороха посевного, инокулированные штаммами NH A21 и PLORG A2, также вышли в стадию цветения на 17-й и 30-й день соответственно, но не перешли в стадию плодоношения. Важно отметить, что растения из всех групп, кроме обработанных штаммом NH A23, подверглись определенной патогенной нагрузке, в том числе на контрольных растениях в середине опыта появилась тля, которая не распространилась на соседние экспериментальные варианты. На растениях, растущих на среде со штаммом Vuh A2, отмечалось появление паутинного клеща. Остальные варианты, за исключением группы, обработанной штаммом NH A23, имели некоторое количество пожелтевших и сухих листьев, что сказалось на показателях сырой массы растений.

Заключение

В результате лабораторных исследований установлено, что проанализированные штаммы микроорганизмов являются агрономически ценными, оказывающими положительное влияние на морфологические характеристики растений гороха посевного. Наилучшие показатели у растений гороха посевного получены в образцах, обработанных микробиологическим инокулятом, содержащим штамм NH A23: площадь корней составила 122,651 см², площадь листьев – 77,654 см², увеличение надземной части растения – на 15,5 см, масса сырая – 6,170 г, масса сухая – 2,206 г, на корнях образовались зачатки клубеньков, а также на растениях отсутствовали какие-либо повреждения насекомыми или иной природы.

Результаты исследований подтверждают необходимость проведения дальнейших работ по поиску и анализу эффективных штаммов микроорганизмов для разработки соответствующих биоудобрений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Босак, В. Н. Оптимизация питания растений / В. Н. Босак. – Saarbrücken: Lambert Academic Publishing, 2012. – 203 с.
2. Козловская, И. П. Производственные технологии в агрономии / И. П. Козловская, В. Н. Босак. – М.: Инфра-М, 2016. – 336 с.
3. Лапа, В. В. Минеральные удобрения и пути повышения их эффективности / В. В. Лапа, В. Н. Босак; Ин-т почвоведения и агрохимии. – Минск, 2002. – 184 с.
4. Сафроновская, Г. Рынок удобрений Беларуси: итоги и новые разработки / Г. Сафроновская // ГлавАгроном [Электронный ресурс]. – URL: <https://glavagronom.ru/articles/rynok-udobreniy-belarusi-itogi-i-novye-razrabotki> (дата обращения: 12.11.2024).
5. Босак, В. Н. Применение бактериальных препаратов при возделывании зернобобовых культур / В. Н. Босак // Научные труды Академии управления при Президенте Республики Беларусь. – 2015. – Вып. 17. – С. 46–52.
6. Применение микробного препарата агромик при возделывании пряно-ароматических культур / В. Н. Босак, Т. В. Сачивко, М. П. Акулич [и др.] // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2020. – № 2. – С. 117–121.
7. Jama, M. A. Farming Legumes for Food Security and Agricultural Sustainability in Somalia / M. A. Jama, A. Kaframan, A. Bayrac // Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences. – 2024. – Vol. 38, No. 1. – P. 147–157.
8. Biofertilizers Improve the Plant Growth, Yield, and Mineral Concentration of Lettuce and Broccoli / D. Halil [et al.] // Agronomy. – 2023. – Vol. 13, No. 8. – P. 2031.
9. Microbial diversity of psychrotolerant bacteria isolated from Wild Flora of Andes Mountains and Patagonia of Chile towards the selection of plant growth-promoting bacterial consortia to alleviate cold stress in plants / P. Vega-Celedón [et al.] // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – P. 538.
10. Enhancing plant growth promoting rhizobacterial activities through consortium exposure: A review / A. Singh [et al.] // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2023. – Vol. 11. – P. 1099999.
11. Приемы возделывания бобовых овощных культур / В. Н. Босак, Т. В. Сачивко, О. Н. Минюк [и др.]. – Горки: БГСХА, 2022. – 183 с.
12. Сачивко, Т. В. Оценка хозяйственно полезных признаков различных сортов овощного гороха / Т. В. Сачивко, В. Н. Босак // Известия ФНЦО. – 2020. – № 3–4. – С. 85–91.
13. Босак, В. Н. Особенности биологической азотфиксации в земледелии Республики Беларусь / В. Н. Босак // Научные труды Академии управления при Президенте Республики Беларусь. – 2014. – Вып. 16. – С. 71–80.
14. Босак, В. Н. Симбиотическая азотфиксация в посевах зернобобовых культур / В. Н. Босак, Т. В. Колоскова, О. Н. Минюк // Земляробства і ахова раслін. – 2010. – № 5. – С. 28–30.
15. Посыпанов, Г. С. Биологический азот. Проблемы экологии и растительного белка / Г. С. Посыпанов. – М.: Инфра-М, 2017. – 251 с.
16. Продуктивность и азотфиксирующая способность бобовых овощных культур / В. Босак, О. Минюк, В. Скорина, Т. Колоскова // Овощеводство и тепличное хозяйство. – 2014. – № 11. – С. 22–24.
17. Legumes in Cropping Systems: A Way Toward Agricultural Sustainability and Diversification / S. Kumar [et al.] // Communications in Soil Science and Plant Analysis. – 2024. – Vol. 55. – P. 596–608.
18. Responses of Pea (*Pisum sativum* L.) to Single and Consortium Bio-Fertilizers in Clay and Newly Reclaimed Soils / G. A.-E. Mahmoud [et al.] // Plants. – 2023. – Vol. 12. – P. 3931.
19. RhizoVision Explorer: Open-source software for root image analysis and measurement standardization / A. Seethepalli [et al.] // AoB Plants. – 2021. – Vol. 13, No. 6. – P. 1–14.
20. Schneider, C. A. NIH image to imagej: 25 years of image analysis / C. A. Schneider, W. S. Rasband, K. W. Eliceiri // Nature Methods. – 2012. – Vol. 9. – P. 671–675.