

---

# МИКРОБИОЛОГИЯ

---

Известия ТСХА, выпуск 1, 1992 год

УДК 633.35:631.461.5:577.175.1

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН ГОРОХА ПРИ ОБРАБОТКЕ РАСТЕНИЙ СИНТЕТИЧЕСКИМИ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА

В. К. ШИЛЬНИКОВА, О. Г. ВОЛОБУЕВА, Г. П. ГУРЬЕВ

(Кафедра микробиологии)

В лабораторных условиях изучали влияние регуляторов роста (кампазана, тебепаса, хлорхолинхлорида, оксикарбама, ПАБК) на клубеньковые бактерии гороха (штамм 250<sup>a</sup>) и его симбиотическую активность. Обработка семян гороха и опрыскивание посевов кампазаном и тебепасом отрицательно влияли на эффективность симбиоза (снижалась активность нитрогеназы и урожайность растений). Симбиотическая активность гороха (сорт Норд) значительно возрастила при обработке семян ПАБК и оксикарбамом.

Практическое использование симбиотической азотфиксации в настоящее время осуществляется путем бактеризации бобовых культур соответствующими препаратами высокоэффективных и конкурентоспособных клеток клубеньковых бактерий. Предпринимаются также попытки повысить активность бобоворизобиального симбиоза с помощью комбинирования биологических и химических мероприятий. В частности, ведется поиск новых физиологически активных веществ и интенсифицируются исследования механизма их воздействия на продуктивность и качество урожая [4, 9, 10]. Наряду с природными привлекают внимание синтетические регуляторы роста — активные полимеры, нередко являющиеся прямыми

аналогами или антагонистами природных фитогормонов. Механизм их действия (как система гормонального контроля), дающий возможность сбалансированно регулировать развитие растений и обеспечивающий при правильной агротехнике наивысшую продуктивность симбиотических культур, изучается достаточно эффективно [3, 6, 7]. Однако внедрение синтетических регуляторов роста в практику тормозится рядом ограничительных факторов: отсутствием широких испытаний в полевых условиях, недостаточной изученностью доз и сроков обработки семян различных сельскохозяйственных культур.

В данной работе ставилась задача выявить оптимальные дозы синтетических регуляторов роста (хлор-

холинхлорида, кампозана, оксикарбама, тебепаса и ПАБК) для обработки семян гороха и характера их влияния на симбиотическую активность растений.

### Методика

В опытах использовали клубеньковые бактерии гороха (штамм 250<sup>a</sup>, ризоторфин, приготовленный на этом штамме), горох сортов Ориентир (1987 и 1988 гг.), Вятыч (1989 г.), Норд (1990 г.). Ориентир (Орловчанин) — среднеспелый, неосыпаемый, высокоурожайный (масса 1000 семян — 250 г) сорт; Вятыч — среднеспелый, осыпаемый, среднеурожайный (масса 1000 семян — 200—250 г) сорт; Норд — раннеспелый, неосыпаемый, устойчивый к полеганию, высокоурожайный (масса 1000 семян — 250—270 г) сорт. Сорта Ориентир и Вятыч — селекции ВНИИ ЗБК (Орел), сорт Норд — селекции ВНИИ ЗБК (Орел и Полтавского СХИ).

Оптимальные концентрации используемых в опыте регуляторов роста для растений определяли в лабораторных условиях методом Бабаяна [1] — семена, замоченные в растворе биорегуляторов в течение 2 ч, проращивали в рулонах фильтровальной бумаги и полиэтилена; для клубеньковых бактерий — методом штрихов (в питательном агаре в чашке Петри вырезали канавку, в нее вливали 1 мл биорегулятора в концентрациях: 1,0; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001; 0,00001; 0,000001, через сутки перпендикулярно к ней штрихами высевали клубеньковые бактерии). Тебепас представляет собой препарат, состоящий из смеси хлорхолинхлорида, 2-хлорэтилфосфоновой кислоты (кампозана) и дихлоризобутират азотия в соотношении 2:1:1/8.

Семена гороха перед посевом об-

рабатывали одновременно ризоторфином, молибденовокислым аммием (50 г на 100 кг семян) и замачивали в течение 18 ч в растворах регуляторов роста с учетом данных, полученных в лабораторном опыте. Обработку семян хлорхолинхлоридом проводили из расчета 3,0 кг д. в. на 1 га, кампозаном — 1,5, тебепасом и оксикарбамом — 1,0 кг д. в. на 1 кг семян, концентрация ПАБК составляла 0,25 и 0,005 %.

В случае использования регуляторов роста для опрыскивания посевов гороха применяли хлорхолинхлорид в дозе 3,0 кг, кампозан, тебепас и оксикарбам — 1,0 кг д. в. на 1 га, ПАБК — в концентрации 0,005 и 0,25 %.

Полевые опыты (1987—1990 гг.) проводили на темно-серой лесной почве (ВНИИ зернобобовых и крупяных культур, г. Орел). Агротехническая характеристика почвы:  $pH_{sol}$  — 4,8;  $H_r$  — 5,31 мг·экв/100 г, содержание гумуса — 4,93 %, легко-гидролизуемого азота по Корнфильду — 15,03 мг;  $P_2O_5$  и  $K_2O$  по Кирсанову — 18,9 и 13,2 мг на 100 г.

Площадь делянки составляла 25—30 м<sup>2</sup> (в зависимости от года). Расположение вариантов рендомизированное, повторность 4-кратная. Посев осуществляли рядовым способом мелкоделяночной сеялкой СН-16. Норма высева семян — 330 кг на 1 га, масса 1000 семян — 253,3 г, их всхожесть — 95 %, чистота — 100 %. Опыты проводили на фоне 60Р60К и NPK (норма азота — 30 кг д. в. на 1 га). По фону 60Р60К азот вносили также в соответствии со схемой опыта — 17 кг аммиачной селитры и 17 кг азота в виде внекорневой подкормки в фазу бутонизации.

В процессе вегетации вели фенологические наблюдения, учитывали массу клубеньков и активность

в них нитрогеназы ацетиленовым методом на газовом хроматографе «Цвет-106» по методу Орлова с соавторами [5].

## Результаты

Все испытанные регуляторы роста в концентрациях 1,0—0,01 ингибировали степень прорастания и всхожесть семян гороха, хлорхолинхлорид и кампозан в концентрации 0,001 % стимулировали, а тебепас и оксикарбам практически не влияли на всхожесть семян, но несколько повышали скорость прорастания. Клубеньковые бактерии гороха (чистые культуры) были устойчивы к высоким концентрациям регуляторов роста (1,0; 0,1). В присутствии хлорхолинхлорида и оксикарбама в концентрациях 0,001—0,00001 %

наблюдалась некоторая стимуляция их развития.

Результаты, полученные нами при проверке действия регуляторов роста на семена и клубеньковые бактерии, а также литературные данные [2] служили обоснованием концентраций регуляторов роста, используемых в полевых опытах.

Всходы появлялись на 11—17-е сутки после посева в зависимости от года проведения опыта (на 11-е — в 1989 г.; 14-е — 1987, 1990; 17-е — в 1988 г.) и применяемого регулятора. Так, при обработке семян тебепасом и кампозаном прорастание задерживалось на 3—4 дня, при этом изреживались посевы, замедлялся темп роста растений, уменьшалась масса клубеньков и нитрогеназная активность (по сравнению с контролем). Хлорхо-

Таблица 1  
Рост гороха в фазу бутонизации при использовании регуляторов роста (здесь и в последующих таблицах числитель — РК, знаменатель — НРК)

Показатель	Контроль	Хлорхолинхлорид	Кампозан	Тебепас	Оксикарбам, %		ПАБК, %			
					0,01	0,001	0,00001	0,005	0,01	0,25
<i>1987 г., сорт Ориентир</i>										
Высота, см	40	52	20,6	27,8	46,4					
	35,6	44,5	21,8	24,5	44,5					
Масса, г/растение	6,6	7,0	2,0	6,8	2,7					
	6,4	6,9	2,0	6,8	2,9					
<i>1988 г., сорт Ориентир</i>										
Высота, см	52,2	57	45	51,5	56					
	50	55,5	41,5	50,5	58,0					
Масса, г/растение	7,5	10,5	8,5	9,5	11					
	8,5	11,5	7,5	10,5	12,1					
<i>1989 г., сорт Вятич</i>										
Высота, см	42,5	44	—	—	49	—	—	52,5	—	49,5
	46	51	—	—	54,9	—	—	48,5	—	45,5
Масса, г/растение	13,4	16,3	—	—	15,2	—	—	15,5	—	14,4
	15,5	16,8	—	—	14,8	—	—	16,0	—	14,5
<i>1990 г., сорт Норд</i>										
Высота, см	41	—	—	—	43	44	43	43	—	—
Масса, г/растение	12,9	—	—	—	16,3	16,3	15,2	14,4	13,6	—

линхлорид и оксикарбам существенно ускоряли рост растений, что выразилось в увеличении длины и массы растений (табл. 1), массы клубеньков и нитрогеназной активности (табл. 2 и 3). Данная закономерность сохранялась в процессе вегетации по фону РК и особенно по фону НРК. Известно, что горох, как и другие бобовые культуры, в симбиозе с клубеньковыми бактериями в значительной мере удовлетворяет свою потребность в азоте за счет азота атмосферы, однако неясно, может ли процесс азотфиксации обеспечить максимальную продуктивность растений [8].

Количество и масса клубеньков в присутствии регуляторов роста практически во всех вариантах и во все фазы развития растений были выше, чем в контроле, где клубеньки формировались спонтанно местными штаммами клубеньковых бактерий. Действие кампозана и тебе-

паса было нестабильным: в 1987 г. в посевах гороха сорта Ориентир, которые отличались наибольшей изреженностью, эффект оказался отрицательным, в то время как в 1988 г.— положительным.

Уровень нитрогеназной активности почти не коррелировал с массой клубеньков. Наивысших значений он достигал у растений сорта Вятич в фазу 4—5 листьев, у сорта Норд — в фазу 8 листьев, у сорта Ориентир — в фазу бутонизации. Обычно в указанные периоды масса клубеньков весьма низкая, поэтому, очевидно, уровень активности определялся не столько общей массой клубеньков, сколько большой долей активной бактериальной ткани в них [9]. Сортовые особенности растений влияли не только на процесс инфицирования и нитрогеназную активность (табл. 2 и 3), но и на урожайность растений (табл. 4). Так, при обработке семян и опрыскива-

Таблица 2

**Нитрогеназная активность клубеньков гороха сорта Ориентир при использовании регуляторов роста**

Показатель	Контроль	Хлорхолинхлорид	Кампозан	Тебепас	Оксикарбам
<i>1987 г., фаза 6—7 листьев</i>					
Масса клубеньков, мг/растение	45 28	75 29	25 15	20 8	65 20
Активность нитрогеназы, нмоль/растение·ч	3160 1339	3570 1304	496 0	884 71	2331 756
<i>1988 г.; фаза 6—7 листьев</i>					
Масса клубеньков, мг/растение	82 77	118 76	86 102	80 82	78 76
Активность нитрогеназы, нмоль/растение·ч	461 529	469 375	247 307	289 453	537 1185
<i>Фаза бутонизации</i>					
Масса клубеньков, мг/растение	30 12	42 46	14 40	28 36	45 70
Активность нитрогеназы, нмоль/растение·ч	1874 826	1428 1020	1108 567	723 987	2285 1160

Таблица 3

## Нитрогеназная активность клубеньков гороха при использовании регуляторов роста

Показатель	Контроль	Хлорхолинхлорид	Оксикарбам, %			ПАБК, %				
			0,01	0,001	0,00001	0,005	0,25	0,01		
<i>1989 г., сорт Вятич</i>										
<i>Фаза 4—5 листьев</i>										
Масса клубеньков, мг/растение	90 60	86 70	100 54	—	—	102 58	104 62	—		
Активность нитрогеназы, нмоль/растение·ч	9494 2558	7248 4878	6197 4059	—	—	7900 3914	7465 4240	—		
<i>Фаза бутонизации</i>										
Масса клубеньков, мг/растение	13 24	28 58	30 54	—	—	28 30	80 84	—		
Активность нитрогеназы, нмоль/растение·ч	696 1326	1421 1812	1667 3573	—	—	906 2703	891 2645	—		
<i>1990 г., сорт Норд</i>										
<i>Фаза 6 листьев</i>										
Масса клубеньков, мг/растение	48	—	57	50	60	54	—	62		
Активность нитрогеназы, нмоль/растение·ч	290	—	254	515	558	261	—	667		
<i>Фаза 8 листьев</i>										
Масса клубеньков, мг/растение	15	—	35	50	62	32	—	27		
Активность нитрогеназы, нмоль/растение·ч	1145	—	2087	1334	3464	1355	—	2087		
<i>Фаза бутонизации</i>										
Масса клубеньков, мг/растение	15	—	35	50	62	32	—	27		
Активность нитрогеназы, нмоль/растение·ч	1145	—	2087	1334	3464	1355	—	2087		

нии растений сорта Ориентир хлорхолинхлоридом, оксикарбамом и ПАБК урожай на безазотном фоне был несколько выше, чем в вариантах с кампозаном и тебепасом, резко снижавшими продуктивность растений. На азотном фоне эта тенденция была слабее выражена. Урожайность гороха сорта Норд при использовании хлорхолинхлорида и оксикарбама оказалась достоверно выше. Установлена тенденция к увеличению урожайности гороха сорта Вятич (1989 г.) при обработке семян хлорхолинхлоридом, оксикарбамом

и опрыскиванием посевов последним. Наиболее эффективна была обработка растений сорта Норд ПАБК в концентрациях 0,005 и 0,01 % и оксикарбамом в концентрациях 0,01, 0,001 и 0,00001 %. Обработка оксикарбамом и ПАБК приводила к повышению урожайности гороха сорта Норд в среднем на 14—25 %. Наибольший урожай получен при обработке оксикарбамом 0,00001 % (61,4 ц/га) и ПАБК 0,005 % (60,7 ц/га); НСР<sub>05</sub> — 3,5 (1987 г.); 3,9 (1988 г.); 3,2 (1989 г.); 5,2 (1990 г.).

Таблица 4

Урожайность гороха (ц/га) при использовании регуляторов роста (в скобках даны результаты опрыскивания посевов регуляторами роста)

Год	Контроль	Хлор-кодин-хлорид	Кампопозан	Тебебепас	Оксикарбам, %			ПАБК, %		
					0,01	0,001	0,00001	0,005	0,01	0,25
<i>Сорт Orientир</i>										
1987	<u>45,0</u> 40,9	<u>47,0</u> 42,1 (45,9) (47,2)	<u>35,5</u> 35,3 (46,4) (43,5)	<u>40,3</u> 43,1 (49,3) (45,3)	<u>43,4</u> 43,1 (29,5) (27,8)	—	—	—	—	—
1988	<u>33</u> 27	<u>31,3</u> 29,8 (31,0) (29,2)	<u>23,6</u> 22,3 (30,1) (31,4)	<u>27,3</u> 25,5 (27,1) (30,0)	<u>29,5</u> 27,8 (27,1) (30,0)	—	—	—	—	—
<i>Сорт Вятич</i>										
1989	<u>24,9</u> 23,8	<u>26,5</u> 24,5 (25) (27)	—	—	<u>26,7</u> 24,2 (26,1) (24,2)	—	—	<u>25,8</u> 23,8 (26,1) (24,1)	—	<u>25,8</u> 25,6
<i>Сорт Норд</i>										
1990	<u>49,1</u> —	—	—	—	58,7	59,0	61,4	60,7	56,0	—

Итак, обработка семян гороха кампопозаном и тебебепасом отрицательно влияет на эффективность симбиоза, что выражается в снижении активности нитрогеназы и урожайности. Усиление симбиотической активности и повышение урожайности гороха (сорт Норд) наблюдались при обработке семян ПАБК и оксикарбамом.

Полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности управления продуктивностью инокулированных растений гороха с учетом их сортовых особенностей с помощью синтетических регуляторов роста.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаян Р. С. Проращивание семян в рулонах из фильтровальной бумаги и

полиэтиленовой пленки.— С.-х биология, 1981, т. 16, вып. 3, с. 473—475.— 2. Долгополова Л. Н., Лоханов А. П., Забабурна В. Н., Протопопова Е. Г. Эффективность применения препарата тур при возделывании гороха.— Науч. тр., т. 5. Орел, 1976, с. 103.— 3. Жолобак Г. М. Влияние комплексной обработки растений гороха фитогормонами — активаторами роста на азотфиксацию, утилизацию азота и продуктивность.— Физиол. раст., 1986, т. 18, вып. 3, с. 279.— 4. Казакова В. Н., Вяткин Ю. А. Перспективные регуляторы роста растений.— Химия в сельск. хоз-ве, 1986, вып. 8, с. 49.— 5. Орлов В. П., Орлова И. Ф., Щербина Е. А. и др. Методика оценки активности симбиотической азотфиксации селекционного материала зернобобовых культур ацетиловым методом.— ВНИИЗБК, Орел, 1984.— 6. Орманджи К. С., Стефанский В. В., Майстренко Г. С. и др. Операционная технология возделывания и уборки зерно-

бобовых культур.— М.: Россельхозиздат, 1987, с. 6—26.— 7. *Переправо Н. И., Антонов В. И.* Влияние регуляторов роста на семенную продуктивность клевера лугового.— Химия в сельск. хоз-ве, 1984, т. 22, вып. 11, с. 34—36.— 8. *Мищустин Е. Н., Елагин И. Н., Черепков Н. И. и др.* Минеральный и биологический азот в земледелии СССР.—

М.: Наука, 1985.— 9. *Чайлахян М. Х.* Гормональная регуляция онтогенеза растений.— М.: Наука, 1984.— 10. *Чайлахян М. Х.* Роль регуляторов роста в жизни растений и в практике сельского хозяйства. Серия Биология, вып. 1. М.: Изд-во АН СССР, 1982, с. 5—25.

Статья поступила 1 июня 1991 г.

## SUMMARY

The effect of growth regulators (campozan, tebepas, chlorocholinechloride, oxicarbam, PABK) on pea nodule bacteria (strain 250<sup>a</sup>) and its symbiotic activity was studied under laboratory conditions. Treatment of pea seeds and spraying the stands with campozan and tebepas produced unfavourable effect on symbiotic efficiency (nitrogenase activity and plant yield became lower). Symbiotic activity of pea (Nord variety) increased considerably after treating the seeds with PABK and oxicarbam.