

УДК 631.81: 547.29.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭНДОФИТНЫХ ШТАММОВ *Bacillus Subtilis* К МОБИЛИЗАЦИИ ПОЧВЕННЫХ ФОСФАТОВ

Солиев З.М., к.с.-х.н., Усмонова Ш.Х., к.б.н., Каримов А., преподаватель филиала технологического университета Таджикистана в г. Исфаре (ИФТУТ), Рахимов Ф.Г., стар. науч. сотр. лаборатории биотехнологии Ветеринарного института ТАСХН.

Ключевые слова: штамм *Bacillus Subtilis*, фосфор, мобилизация фосфатов, фосфоритная мука, пшеница.

Введение Фосфор имеет первостепенное значение в функционировании обмена фосфорных соединений. Он связан с обменом веществ в растительных организмах. Являясь самым распространенным элементом, фосфор включается во все стороны обменных процессов. Фосфор принимает активное участие в построении молекул сложных белков, нуклеиновых кислот, фосфатидов, фитина, ферментов, крахмала и других важнейших соединений.

По современным представлениям фосфору отводится необыкновенная роль в энергетике живой клетки благодаря созданию им фосфорорганических объединений, несущих огромные резервы энергии. Энергию невозможно незамедлительно потратить – ее нужно запасать. «Банком энергии» считается аденозинтрифосфорная кислота (А-Р-Р~Р). Это важное вещество производится из аденозина (А) и 3-х кольцевых групп, содержащих фосфор (Р).

Фосфор считается одним из важнейших минеральных составляющих растений, которые готовы усваиваться, лишь в форме неорганических фосфат-анионов, большей частью в облике $H_2PO_4^-$ (Lamberset al., 2008).

Несмотря на большое содержание общего фосфора в основе, его биодоступность, как правило, считается лимитирующим моментом для подъема, становления и продуктивности растений, собственно, что почти многими авторами характеризуется как «фосфорный парадокс» (Bielecki, 1973; Marschner, 1995; Lamberset al., 2006). Так, сосредоточение недорогого для растений фосфора в почвенном растворе составляет в пределах 1 мМ и изредка достигает 10 мМ (Bielecki, 1973; Lamberset al., 2006). Связыванию фосфора с жесткой фазой земли, в основном, содействуют такие процессы, такие как осаждение и адсорбция, и большинстве случаев их непросто отделить друг от друга (Afifetal., 1993).

В связи с этим, интерес многих исследователей притягивают бактерии, стимулирующие рост растений (plant growth promoting bacteria), увеличивающие доступность трудно растворимых фосфатов, что собственно считается одним из основных факторов употребления перспективных бактерий для производства, так называемых биоудобрений (Thakuriaet al., 2004; Pérez-Garcíaetal., 2011).

Одними из более интенсивных мобилизаторов фосфатов числятся представители родов *Pseudomonas* и *Bacillus* (Rodriguezet al., 1999). Бактерии рода *Bacillus* больше перспективны в качестве компонентов биоудобрений, потому что образуют споры, долговременно сохраняющие жизнеспособность и устойчивые к повреждающим влияниям. С другой стороны, среди представителей данного таксона несколько видов, которые являются патогенными (например, *Bacillus anthracis*, *B. cereus* и некоторых других). Совместно с тем, нередко для изготовления биоудобрений используют штаммы бактерий, которые способны не только увеличивать доступность для растений элементов питания в основе, но и подавлять развитие фитопатогенных грибов (Selosseetal., 2004; Pérez-Garcíaetal., 2011). При этом не исключено, что такие антагонистические бактерии, в особенности эндофитные их штаммы, подавляют также развитие и микоризных грибов, играющих весомую роль в обеспечении растений фосфатами.

В связи с этим, целью работы стало изучение возможности штамма *Bacillus subtilis* к мобилизации фосфатов, а еще их воздействие на микоризацию корней пшеницы.

Bacillus subtilis (Субтилбен), который был применен в наших опытах, был доставлен при сотрудничестве с Ветеринарным институтом ТАСХН. Субтилбен – пробиотический препарат, широкого диапазона воздействия, который имеет комплекс взвеси живых микробных клеток местных штаммов, обладающих выраженными бактерицидными свойствами в отношении большинства штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий. Состав: комплекс взвеси живых микробных клеток районных штаммов *Bacillus subtilis* (Субтилбен) и бентонита-пектиновая смесь. Порошок беловато-серого цвета, срок годности препарата при температуре + 10-25°C, 24 месяца.

1. Объекты, материалы и методы

С целью повышения количества, бактерии культивировали при 37°C на водянистых калорийных средах, таких как: 5% глюкоза и белковая массы на основе пшеничной муки с составом: вода- 200 мл, пшеничная мука 20 г. Нами был поставлен вегетационный опыт в четырёх вариантах, в 4 кратной повторности. Опыт проводили по способу Нейбауэр – Шнейдера. Было принято решение - изучить доступность фосфора фосфорита, способом проростков по Нейбауэру. Мысль способности использования этого способа аналогичных исследовательских работах, была высказана Юдиным Ф. А. Но в отличие от последнего, в наших опытах сопоставление производительности велось по сведениям содержания совместного и минерального фосфора в проростках, без учета его содержания в корнях и совместного выноса фосфора проростками.

Принцип метода основан на извлечении элементов питания из почвы проростками растений за короткий промежуток времени – 14 дней, с большим количеством растений и малым количеством почвы. [1]

Обоснованием этому явилось то, что собственно в исходных этапах роста, т.е. в фазе проростков, растения пшеницы питаются за счёт вспомогательных форм, составляющих питания имеющихся в эндосперме, и численность поступающих элементов питания и за пределами имеет возможность определиться способом тканевой диагностики. При этом, определяются минеральные формы составляющих питания, поступающие из почвы и вносимых удобрений.

В задачу изучения входило еще, исследование поступления фосфора в проростки пшеницы из фосфорита, при замачивании пшеницы особым веществом с штаммом *Bacillus subtilis*.

Для проведения опыта были применены полиэтиленовые стаканы диаметром 13 см и высотой 7.5 см. В каждый стаканчик было отвешено 500 г сероземной почвы с содержанием 29.2 мг/кг подвижного фосфора.

Одинарная норма удобрений приравнивалось 50 мг N, 25 мг P₂O₅ на кг земли, что собственно соответствовало годичный норме 200 кг N. а. и 100кг/га P₂O₅ в расчете внесения удобрений на 1 га пахотного слоя земли (0 – 30см) с большим весом 1.3.

В согласовании с этим, одинарная норма внесения азота в один стаканчик приравнивалось 5 мг азота и 2.5 мг P₂O₅ на 100 г земли. Замачивание семян пшеницы велось лишь только в 3 и 4 вариантах особым веществом с штаммом *Bacillus subtilis*.

В таблице 1 приведена схема опыта и внесенные расчетные нормы удобрений.

Таблица 1 - Схема опыта

№	Варианты опыта	мг на 100 г почвы			
		Удобрения (NH ₄ NO ₃)	N	Удобрения (Фосфоритная мука)	P ₂ O ₅
1	ФОН - N (Контроль)	-	-	-	-
2	ФОН+P100	15	5	31,25	2,5
3	ФОН+Pc 100 +смачивание семян пшеницы в растворе <i>Bacillus subtilis</i>	15	5	31,25	5,0
4	Совместное смачивание ФОН+Pc 100 + семена пшеницы в растворе <i>Bacillus subtilis</i>	15	5	31,25	2,5

ФОН – NH₄NO₃

Рф.м. – фосфоритная мука Исфаринского месторождения

Поглощение фосфора из земли корнями растений представляет собой очень трудный процесс. Он формируется из физических, химических, физико- химических, био и физических явлений, протекающих, в одно и тоже время, и, совокупно, в ходе становления растений. Впрочем, основная масса исследователей, в последнее время пришли к выводу, что поглощение фосфора из земли растениями совершается, в основном, в ходе физико-химической, или же обменной адсорбции. Ионы (катионы, анионы) почвенного всасывающего ансамбля, или же почвенного раствора, при содействии с корешками растений обмениваются на ионы (катионы, анионы), выделяемые клетками. Поступление фосфат – ионов, как – ионов, как и иных ионов, случается с разной интенсивностью и скоростью, у различных растений. Одни растения поглощают большие фосфат – ионов, иные – меньше.

Юдина Ф. Ю. считала, о что внедрение способа Нейбауэра- Шнейдера считается одним из действенных, в исследовании потребности растений в удобрениях.

Для того, чтобы ответить на эти вопросы, нами были установлены вегетационные эксперименты по способу проростков Нейбауэра- Шнейдера, с 4 вариациями в четырёхкратной повторности с посевом пшеницы.

Для проведения опыта, были применены полиэтиленовые стаканы весом 8,7 г, поперечник 13 см, высота 7,5 см. В любой стаканчик посеяли 50 шт. семян пшеницы, авторитет которой составлял $\approx \pm 2,5$ г. В каждый стаканчик отвесили 50 г песка, сначала промытого с соляной кислотой и дистиллированной водой, и высушенного. В середине стаканчика была вставлена стеклянная трубочка для того, чтобы поливать дистиллированной водой. Сухая биомасса пшеницы дана в табл. 2.

Таблица 2 - Рост и вес сухой биомассы пшеницы по вариантам опыта (г)

№	Варианты опыта	Повторности								Средние	
		1		2		3		4		Рост (см)	Вес (г)
		Рост (см)	Вес (г)	Рост (см)	Вес (г)	Рост (см)	Вес (г)	Рост (см)	Вес (г)		
1	ФОН - N (Контроль)	15.5	4.3	16.5	4.6	14.5	3.6	14.5	3.5	15.2	4
2	ФОН+P100	14.5	3.6	17.5	4.5	17.5	5.1	14.5	3.5	16.0	4.2
3	ФОН+P100+смачивание семена пшеницы в растворе <i>Bacillus subtilis</i>	20	5.3	18.5	5.0	18	4.8	18.5	5.1	18.7	5.05
4	Совместное смачивание ФОН+P100 + семена пшеницы в растворе <i>Bacillus subtilis</i>	18.7	5.2	18.5	4.9	17.7	4.8	17.2	4.7	18.0	4.9

Из таблицы 2 видно, что наилучшим вариантом оказался вариант третий, и по росту, и по весу, где было смачивание семян пшеницы в растворе *Bacillus subtilis* +100 кг/га P205 фосфоритной муки, разница по весу сухой биомассы, относительно к первому (контрольному) варианту, составляет по росту - 3.5 см и по весу - 1.05г. Далее проведём в растительных образцах химический анализ.

Исходя из полученных данных, можно сделать следующие выводы:

1. Для увеличения доступности фосфоритной муки растениям, следует перед посевом пшеницы замачивать семена в растворе с штаммом *Bacillus subtilis*.
2. Полученные данные демонстрируют, для отображения поглощения или поступления питательных веществ из земли в растения, лучшим способом является тканевая диагностика.
3. Метод тканевой диагностики считается преобладающим способом при определении подвижного фосфора в растениях.
4. Фосфор, как химическое и питательное вещество, играет очень весомую роль в жизни земли и растений. Его значение невозможно переоценить в земледелии. Вследствие этого, всестороннее исследование фосфора, как основы удобрений, нужно всемирно усиливать и углублять.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гинзбург К.Е. Агрохимические методы исследования почв. – М.: Наука, 1975. – 260с.
2. Адерихин П. Г. Фосфор в почвах и в земледелии центрально - черноземной полосы. Воронеж, Воронежский университет, 1970. - 248с.
3. Войтович Н. В. Фосфориты России и Ближнего Зарубежья. / Войтович Н. В., Сушеница Б. А., Капранов В. Н. - М.: ВНИИА, 2005.- 448с.
4. Джуманкулов Х. Д., Тетерина М. Тканевая диагностика растений. «Руководство Методы определения макро и микроэлементов в растениях, почве и воде», Душанбе, Тараз, 2002. 76 — 86с.
5. Сушеница Б. Мобилизация труднодоступных фосфатов почвы: журнал «Хлопководство», вып. 11, Душанбе, 1982. -20 - 21с.
6. Чумаченко И.Н., Агрохимия фосфора и нетрадиционного минерального сырья./ Чумаченко И.Н., Сушеница Б.А., Алиев Ш.А. – М.: 2001.- 289с.
7. Journal of Siberian Federal University. Biology 2 (2011 4) 172-182
8. Материалы международной конференции «Эффективность применения фосфоритов в земледелии», Душанбе, 2000.- 85с.
9. Минеев В.Г. (2001) Практикум по агрохимии. 2-е изд. М.: Изд-во МГУ, 689 с.

АННОТАЦИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭНДОФИТНЫХ ШТАММОВ *Bacillus Subtilis* К МОБИЛИЗАЦИИ ПОЧВЕННЫХ ФОСФАТОВ

Изучены возможности *Bacillus subtilis* к мобилизации труднорастворимых минеральных фосфатов. Были проведены вегетационные опыты с различными вариантами по изучению действия фосфоритов на рост и развитие растения пшеницы. В эксперименте показано, что

обработка семян пшеницы эндофитными штаммами бактерий *Bacillus subtilis*, лучше всего мобилизует фосфаты. Также, были изучены различные среды питания для увеличения рода бактерий *Bacillus subtilis*.

АННОТАЦИЯ

ОМУЗИШИ ТАЪСИРИ ШТАММҲОИ ЭНДОФИТИИ *Bacillus Subtilis* БА ФАЪОЛГАРДОНИИ (МОБИЛИЗАТСИЯ) ФОСФАТҲОИ ҲОК

Имкониятҳои *Bacillus subtilis* ба фаъолгардонии фосфатҳои минералии сусти ҳалшаванда омӯхта шуданд. Таҷрибаҳои нашвӣ бо вариантҳои гуногун оид ба омӯхтани таъсири фосфоритҳо ба афзоиши ва инкишофи растании гандум гузаронида шуданд. Озмоиш нишон дод, ки коркарди тухми гандум бо штаммҳои эндофитии бактерияҳои *Bacillus subtilis* фосфатҳоро аз ҳама беҳтар фаъол мегардонанд. Инчунин муҳитҳои гуногуни ғизодиҳӣ барои зиёд намудани бактерияи навъи *Bacillus subtilis* омӯхта шудааст.

Калимаҳои калидӣ: *штамми Bacillus Subtilis, фосфор, фаъолгардонии фосфат, ордаки фосфорит, гандум*

ANNOTATION

STUDY OF THE INFLUENCE OF ENDOPHYTIC BACILLUS SUBTILIS STRAINS TO THE MOBILIZATION OF SOIL PHOSPHATES

The possibilities of *Bacillus subtilis* to mobilize poorly soluble mineral phosphates were studied. Vegetative experiments were carried out with various options to study the effect of phosphorites on the growth and development of a wheat plant. The experiment has shown that treatment of wheat seeds with endophytic strains of bacteria *Bacillus subtilis*, best of all mobilizes phosphates. Various nutritional media have also been studied to increase the genus *Bacillus subtilis*.

Key words: *Bacillus Subtilis strain, phosphorus, phosphate mobilization, phosphate rock, wheat.*