

СТРУКТУРНАЯ БОТАНИКА, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 577.124

ЭФФЕКТЫ МИКРОБНЫХ ОБРАБОТОК ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ КУЛЬТУРОЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

М. А. Ханадеева¹, Н. И. Старичкова²

¹*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской Академии наук
Россия, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, 13
E-mail: marina.kushneruk@mail.ru*

²*Саратовский национальный исследовательский государственный
университет имени Н. Г. Чернышевского
Россия, 410010, г. Саратов, ул. Астраханская, 83
E-mail: natstar-12@mail.ru*

Поступила в редакцию 05.10.2019 г.

После доработки 16.10.2019 г.

Принята к публикации 29.10.2019 г.

Приводятся данные о влиянии предпосевных микробных обработок семенного материала яровой мягкой пшеницы культурой *Azospirillum brasilense* Sp245 на показатели продуктивности и качества зерна. Получены данными о нестабильности результатов инокуляции и их зависимости от климатических условий. Высокие результаты получены при выращивании пшеницы в стрессовых условиях. Изучение влияния предпосевной микробной обработки пшеницы на содержание лектина в зерне нового урожая показало, что признак является стабильным. Не подтвердилась гипотеза о том, что при обработке азоспириллой сортов с высоким содержанием АЗП в зерне будет получен наибольший положительный эффект от инокуляции.

Ключевые слова: яровая мягкая пшеница, лектин пшеницы, ризобактерии.

DOI: 10.18500/1682-1637-2019-4-225-234

В настоящее время при возделывании культурных растений, и в частности хлебных злаков, достаточно часто стали использовать бактериальные удобрения, которые являются микробными препаратами и содержат бактерии, относящиеся к группе ростстимулирующих ризобактерий. Изучение ризобактерий в настоящее время несомненно актуально, так как замена агрохимикатов на биопрепараты – перспективное как в экологическом, так и в экономическом отношении направление в современном сельскохозяйственном производстве.

Одними из признанных модельных объектов в исследованиях растительно-микробной ассоциативности служат бактерии рода *Azospirillum*. В ризосфере злаков азоспириллы формируют высокоэффективные ассоциации, оказывающие стимулирующий эффект на рост и развитие растений, включая пшеницу, однако детали этого взаимодействия пока остаются неизвестными. Исследования показали, что молекулярным сигналом в симбиозах растений с ризобактериями является белок агглютинин зародышей пшеницы (АЗП), относящийся к группе лектинов. Установлено, что лектин пшеницы способствует колонизации растения полезными для него микробами и принимает участие в ответе растения на стрессы (Антонюк, Евсеева, 2005; Гулий и др., 2015).

В течение восьми лет с 2008 года был проведен эксперимент, включающий лабораторные и полевые испытания с целью оценить влияние предпосевных микробных обработок семенного материала яровой мягкой пшеницы культурой *Azospirillum brasilense* на продуктивность и качество зерна сортов пшеницы, выведенных в саратовском селекционном центре. В задачи работы входило: 1) оценка сортов яровой мягкой пшеницы по содержанию АЗП в семенах; 2) проведение полевого эксперимента с предпосевной обработкой семян бактериями *A. brasilense* Sp245; 3) определение влияния предпосевной обработки семян культурой бактерий *A. brasilense* Sp245 на продуктивность и качество зерна исследуемых сортов пшеницы; 4) изучение влияния предпосевной микробной обработки пшеницы на лектиновую активность семян нового урожая.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Лабораторные эксперименты, включавшие в себя биохимическую оценку зерна и получение культуры *A. brasilense* Sp245, проводились в лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений

ЭФФЕКТЫ МИКРОБНЫХ ОБРАБОТОК ПШЕНИЦЫ

и микроорганизмов РАН (г. Саратов). Содержание АЗП оценивали по его биологической активности – способности агглютинировать эритроциты кролика в реакции гемагглютинации, полученные данные выражались в виде титра – максимального разведения экстракта, еще выявляющего агглютинирующую активность. Для анализа были взяты двадцать пять сортов яровой мягкой пшеницы, выведенных в саратовском селекционном центре: Альбидум 28, Альбидум 29, Альбидум 43, Саратовская 29, Саратовская 33, Саратовская 36, Саратовская 38, Саратовская 39, Саратовская 42, Саратовская 44, Саратовская 45, Саратовская 46, Саратовская 48, Саратовская 49, Саратовская 50, Саратовская 51, Саратовская 52, Саратовская 54, Саратовская 60, Саратовская 64, Саратовская 68, Саратовская 70, Саратовская 210, Лебедушка, Фаворит.

Полевой опыт проводился на базе Научно-исследовательского института сельского хозяйства Юго-Востока (НИИСХ Юго-Востока, г. Саратов). Эксперимент состоял из контрольного посева (семена не обрабатывались бактериями) и опытного посева, включающего предпосевную микробиологическую обработку культурой *A. brasilense* Sp245 с уровнем инокуляции 10^6 бактериальных клеток на зерновку. Опытный и контрольный варианты высевали рендомизировано трехрядковыми деланками в трехкратной повторности в полевом севообороте на поле лаборатории селекции яровых пшениц НИИСХ Юго-Востока, предшественник – черный пар. По краям деланок и между экспериментальными посевами высевали защитные полосы сорта Саратовская 68, урожай с которых убирался отдельно и в эксперименте не учитывался. Урожайность растений в каждой повторности определяли по показателю «масса зерна с деланки».

Качество зерна оценивали в лаборатории технологии и качества зерна НИИСХ Юго-Востока методом SDS-седиментации, который имеет высокую положительную корреляцию с физическими свойствами теста и используется для тестирования мягких пшениц. Метод SDS-седиментации основан на способности белков клейковины набухать в слабокислой среде с добавлением SDS – додецилсульфата натрия, образуя осадок в пробирке, величина которого измеряется в мм и является показателем SDS-седиментации (SDS-объем).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2003 и Microsoft

Office Excel XP. Доверительные интервалы определяли для 95% уровня значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве первого этапа в решении этой задачи изучали сортовую вариабельность АЗП в зерне 25 сортов яровой мягкой пшеницы саратовской селекции. Анализ тестируемых сортов показал, что генотипическая вариабельность признака «содержание лектина в зерне» у яровых мягких пшениц саратовской селекции исключительно высока: максимальные и минимальные значения этого признака имеют примерно 40-кратные отличия.

Исследование сортов позволило выделить три группы: с высоким, низким и средним содержанием лектина. В группу с высокой лектиновой активностью вошли: Саратовская 60, Саратовская 64, Саратовская 68 (титры 1:178, 1:96 и 1:64 соответственно). Сорта с низкой лектиновой активностью: Альбидум 28, Альбидум 29, Лебедушка (титры 1:6, 1:4 и 1:5 соответственно). Остальные сорта занимают промежуточное положение по содержанию АЗП в семенах – средние конечные разведения экстрактов, выявляющие тестируемый белок, колебались в этой группе между значениями 1:21 и 1:64. Важно отметить отсутствие резких границ между группой сортов со средним уровнем АЗП, с одной стороны, и группами с низким или высоким содержанием лектина, с другой (Старичкова и др., 2008).

С учетом итогов оценки лектиновой активности семян, для полевого эксперимента было выбрано шесть сортов. Из них сорта с высокой лектиновой активностью: Саратовская 60, Саратовская 64, Саратовская 68 и сорта с низкой лектиновой активностью: Альбидум 28, Альбидум 29, Лебедушка. Разница в содержании АЗП между минимальными значениями в группах (титры 1:4 и 1:64) была 16-кратной; разница в содержании АЗП между максимальными значениями в группах (титры 1:11 и 1:171) была также примерно 16-кратной.

Полученные в ходе полевых экспериментов результаты показали, что использование микробных препаратов не всегда положительно влияет на урожайность. Не все сорта (генотипы), вступая в симбиоз с ризобактериями, реагировали усиленным ростом на эту связь; положительный эффект инокуляции семян культурой *A. brasilense* Sp245 был получен только при сочетании аномально сильного температурно-

ЭФФЕКТЫ МИКРОБНЫХ ОБРАБОТОК ПШЕНИЦЫ

го стресса и сильной засухе. В крайне экстремальных климатических условиях 2010 года: отклонение температуры в течение летних месяцев составило + 17.6°C, что выше нормы на 27%, а дефицит влаги равнялся –101.2 мм – меньше нормы на 87.3%. При таком сочетании климатических условий проявился антистрессовый эффект инокуляции азоспириллой, характер проявления которого в эксперименте зависел прежде всего от сорта. Прибавка урожая по сравнению с контролем у сорта Альбидум 28 составила 36.7%, у сорта Альбидум 29 – 91.3%, у сорта Саратовская 60 – 77.3%. При этом наблюдались статистически достоверные различия по показателю «продуктивная кустистость», как одного из основных показателей структуры урожая, между «старыми» и недавно созданными сортами. Результаты, полученные в каждом варианте опыта 2010 года показали высокую симбиотическую активность ризобактерий, которая положительно повлияла на проявление признака «продуктивная кустистость» у всех тестируемых сортов: показатель увеличился в пределах от 26% до 57% по сравнению с контролем.

В полевых экспериментах в последующие годы, в которые климатические условия были в основном в пределах нормы, т.е. на уровне средних статистических показателей вегетационного периода в зоне Юго-Востока, были получены следующие результаты. Показатель «масса зерна с делянки» значимо не различается между сортами в пределах контроля и опыта, однако абсолютная величина признака у «старых» сортов в среднем была зафиксирована ниже, чем у «новых», выведенных в последние годы. Различия показателя «продуктивная кустистость» между опытным и контрольным посевами у большинства сортов также были статистически недостоверны. Следует отметить, что в опыте 2009 года значимое увеличение показателя «продуктивная кустистость» было отмечено у низкоколкотинового сорта Альбидум 28: показатель увеличился на 35%. Этот факт является косвенным подтверждением уже высказывавшейся ранее точки зрения, что реакция растения на колонизацию бактериями-эндوفитами (к которым относится и штамм Sp245) закреплена генетически.

Обработка посевного материала суспензией культуры *A. brasilense* Sp245 в течение всего эксперимента не оказывала статистически достоверного влияния на показатель SDS-седиментации у большинства изученных сортов. При значительном положительном эффекте инокуляции (прибавка урожая выше 50%) у двух сортов, Альбидум 29

и Саратовская 64 в 2010 году, не снижалось качество зерна – показатель SDS-объема не изменялся. У сорта Лебедушка отмечено достоверное незначительное снижение качества зерна в 2009 году; у сорта Альбидум 28 в условиях 2010 года при максимальном значении данного показателя в контроле, инокуляция вызывала небольшое снижение показателя SDS-объема, которое даже при снижении было высоким. При этом, в отсутствии положительного эффекта (урожайность не увеличивалась) инокуляция приводила к улучшению качества зерна: в течение эксперимента в разные годы возрастал показатель SDS-объема у сортов Альбидум 28, Саратовская 64 и Саратовская 66.

Также были проведены лабораторные исследования для изучения влияния предпосевной микробной обработки пшеницы на лектиновую активность семян нового урожая. Из полученного в ходе полевого эксперимента семенного материала получали АЗП-содержащие экстракты, которые затем анализировали на содержание АЗП. Данные анализа представлены в таблице. Было установлено, что в вариантах, не подвергавшихся микробным обработкам, содержание АЗП в семенах до полевого эксперимента и после него различалось.

Таблица. Влияние инокуляции на гемагглютинирующую активность зерна пшеницы

Table. Effect of inoculation on hemagglutinating activity of wheat grain

№ п.п.	Сорт пшеницы Wheat variety	Титр РГА / Title RGA		
		Посевной материал Sowing material	Контроль Control	Опыт* Experiment*
1.	Альбидум 28 Al'bidum 28	1 : 4	1 : 8	1 : 4
2.	Альбидум 29 Al'bidum 29	1 : 11	1 : 4	1 : 7
3.	Саратовская 60 Saratovskaya 60	1 : 17	1 : 7	1 : 8
4.	Саратовская 64 Saratovskaya 64	1 : 96	1 : 11	1 : 13
5.	Саратовская 68 Saratovskaya 68	1 : 64	1 : 8	1 : 8
6.	Лебедушка Lebedushka	1 : 5	1 : 13	1 : 16

Примечание: * – обработка *A. brasilense* Sp245.

Note: * – treatment of *A. brasilense* Sp245.

ЭФФЕКТЫ МИКРОБНЫХ ОБРАБОТОК ПШЕНИЦЫ

У низколектиновых сортов пшеницы Альбидум 28 и Лебедушка происходило увеличение гемагглютинирующей активности, у остальных сортов содержание АЗП уменьшалось. Следовательно, предпосевная обработка семян культурой *A. brasilense* Sp245 в целом не оказывала влияния на содержание АЗП в зерне нового урожая. Исключение составили только два сорта Альбидум, выведенные на Краснокутской селекционной станции, расположенной в Левобережье Саратовской области. Климатические условия на этой станции считаются близкими к полупустынным и позволяют выводить сорта с исключительно высокой засухоустойчивостью. Оба этих сорта продемонстрировали некоторую «неустойчивость» по признаку «содержание АЗП в семенах»: у сорта Альбидум 28 происходило небольшое снижение содержания лектина при предпосевной обработке семян азоспириллой. В случае сорта Альбидум 29, наоборот, наблюдалось небольшое повышение при обработке азоспириллой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение влияния предпосевной микробной обработки пшеницы на лектиновую активность семян нового урожая показало, что признак является стабильным: у четырех сортов *T. aestivum* (Саратовская 60, Саратовская 64, Саратовская 68 и Лебедушка) обработка не влияла на содержание лектина, а у сортов Альбидум 28 и Альбидум 29 влияла незначительно.

Результаты проведенного эксперимента указывают на необходимость дальнейшего изучения симбиотического взаимодействия зерновых культур с ризобактериями. Полученные данные согласуются с ранее полученными данными о нестабильности результатов инокуляции и их зависимости от климатических условий года, а также других факторов, часть из которых остается неизвестной. Не подтвердилась гипотеза о том, что при обработке азоспириллой сортов с высоким содержанием АЗП в зерне будет получен наибольший положительный эффект по сравнению с низколектиновыми сортами. Для выявления факторов, влияющих на взаимодействие растений пшеницы с ризобактериями, следует уделить внимание изучению ответной реакции отдельных сортов яровой пшеницы при создании им стрессовых условий вегетации.

Результаты, полученные в ходе полевых и лабораторных испытаний, показывают возможность применения культуры *A. brasilense* для увеличения продуктивности, применительно к определенным сортам яровой пшеницы, возделываемых в условиях Саратовской области. При этом увеличение урожайности не оказывает негативного влияния на показатель SDS-объема у этих сортов и на качество полученного зерна соответственно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Антонюк Л. П., Евсеева Н. В. Лектин пшеницы как фактор растительно-микробной коммуникации и белок стрессового ответа // Микробиология. 2006. Т. 75, № 4. С. 544 – 549.

Гулий О. И., Соколова М. К., Соколов О. И., Игнатов О. В. Изменение морфологии корневой системы пшеницы при инокуляции *Azospirillum brasilense* Sp7 и бактериофагом ФАб-Sp7 // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50, № 3. С. 315 – 322.

Старичкова Н. И., Надкерничная Е. В., Крапивина Л. И., Безверхова Н. В., Антонюк Л. П.: Оценка перспективных сортов яровой пшеницы по содержанию лектина // Известия Саратовского Университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2010. Т. 10, № 1. С. 35 – 40.

Образец для цитирования:

Ханадеева М. А., Старичкова Н. И. Эффекты микробных обработок яровой мягкой пшеницы культурой *Azospirillum brasilense* // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. 2019. Т. 17, вып. 4. С. 225 – 234. DOI: 10.18500/1682-1637-2019-4-225-234.

**EFFECTS OF MICROBIAL TREATMENTS OF SPRING SOFT
WHEAT CULTURE AZOSPIRILLUM BRASILENSE**

M. A. Chanadeeva¹, N. I. Starichkova²

¹*Institute of biochemistry and physiology of plants and microorganisms
of the Russian Academy of Sciences*

13 Prospekt Enthusiastov, Saratov 410049, Russia

E-mail: marina.kushneruk@mail.ru

²*N. G. Chernyshevsky Saratov State University*

83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410010, Russia

E-mail: natstar-12@mail.ru

Received October 05, 2019

Revised October 16, 2019; Accepted October 29, 2019

The data on the influence of pre-sowing microbial treatments of seed material of spring soft wheat culture *Azospirillum brasilense* Sp245 on the productivity and quality of grain. Data on instability of inoculation results and their dependence on climatic conditions were obtained. High results were obtained when growing wheat under stressful conditions. The study of the effect of pre-sowing microbial treatment of wheat on the content of lectin in the grain of the new crop showed that the trait is stable. The hypothesis that the treatment of azospirilla varieties with a high content of AWG in the grain will have the greatest positive effect on inoculation was not confirmed.

Key words: spring bread wheat, wheat lectin, rhizobacteria.

DOI: 10.18500/1682-1637-2019-4-225-234

REFERENCES

Antonyuk L. P., Evseeva N. V. Wheat lectin as a factor of plant-microbial communication and stress response protein. *Microbiology (Mikrobiologiya)*, 2006, vol. 75, iss. 4, pp. 470 – 475.

Gulii O. I., Sokolova M. K., Sokolov O. I., Ignatov O. V. Changes in the morphology of the root system of wheat inoculated with *Azospirillum brasilense* Sp7 and bacteriophage FAB-Sp7. *Agricultural biology*, 2015, vol. 50, iss. 3, pp. 315 – 322. (in Russian).

М. А. Ханадеева, Н. И. Старичкова

Starichkova N. I. Nadterechnaya E. V., Krapivina L. I., Bezverkhova N. V. Antonyuk L. P. Evaluation of promising varieties of spring wheat on the content of lectin. *Izvestiya of Saratov University. New series. Chemistry Series. Biology. Ecology*, 2010, vol. 10, iss. 1, pp. 35 – 40. (in Russian).

Cite this article as:

Chanadeeva M. A., Starichkova N. I. Effects of microbial treatments of spring soft wheat culture *Azospirillum brasilense*. *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2019, vol. 17, iss. 4, pp. 225 – 234. (in Russian).

DOI: 10.18500/1682-1637-2019-4-225-234.