

ХАРАКТЕРИСТИКА РОСТА ШТАММОВ *V. ELKANII* НА МИНИМАЛЬНОЙ СРЕДЕ С ВОЗРАСТАЮЩИМИ ДОЗАМИ NH_4NO_3

И.Ю. Татаренко, М.В. Якименко, А.И. Сорокина

ФГБНУ ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский институт сои, г. Благовещенск, Россия, e-mail: tigy@vniisoi.ru

Аннотация. При использовании аммиачной селитры в хозяйствах Приамурья, встаёт важный вопрос выживаемости дальневосточных природных популяций клубеньковых бактерий сои – важной составляющей почвенного биоценоза региона. Цель данной работы определить безопасные концентрации аммиачной селитры для роста и развития чистых культур *V. elkanii*, выделенных из аборигенных популяций этих микроорганизмов, выявить штаммы ризобий устойчивые к повышенной концентрации аммиачной селитры в питательной среде на базе ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои.

Ключевые слова: ризобии, аммиачная селитра, аммиак, *V. elkanii*, штаммы, клубеньки.

Введение. Дальневосточный соесеющий регион – единственный в России, где в почвах повсеместно распространены природные популяции клубеньковых бактерий сои. Формирование их в естественно-историческом плане связано с распространением в регионе дикорастущей (уссурийской) сои, а позднее – с систематическим расширением посевов культурной сои. Фактически дальневосточные природные популяции ризобий – это значимый природный ресурс, позволяющий вести отбор наиболее ценных по хозяйственно-полезным свойствам штаммов. Исследования ризобий на Дальнем Востоке до недавнего времени ограничивались изучением вида *Rhizobium japonicum*, так как считалось, что Амурская природная популяция специфичных для сои ризобий представлена одним медленнорастущим видом *Rhizobium japonicum*. После появления публикаций зарубежных исследователей об обнаружении в почвах Дальнего Востока быстрорастущих бактерий, способных вступать в эффективный симбиоз с растениями сои, были изменены представления о ризобиях способных нодулировать сою [1].

Задача нашего исследования узнать, как будут себя вести чистые культуры клубеньковых бактерий сои при повышении концентрации аммиачной селитры в среде.

На предприятиях используются различные способы обогащения азотом, для обеспечения высокими показателями продуктивности сельскохозяйственных культур. Не редко хозяйства не хотят отказываться от проверенного годами химического подхода – внесения в почву аммиачной селитры. При использовании NH_4NO_3 , выясняли отношения бактерий к повышенной дозе в питательной среде аммиачной селитре и выбирали устойчивые к высоким дозам. Аммиачная селитра, или нитрат аммония, NH_4NO_3 – кристаллическое вещество белого цвета, содержащее 35% азота в аммонийной и нитратной формах, обе формы азота легко усваиваются растениями. Гранулированную аммиачную селитру применяют в больших масштабах перед посевом и для всех видов подкормок.

Нормы внесения селитры при использовании под основную обработку почвы составляют расход до трех центнеров на 1 га, а при использовании в качестве подкормки от одного до двух центнеров на 1 га. Подкормка зерновых культур позволяет увеличивать урожайность в среднем от трех до пяти центнеров на 1 га [2].

Используемое количество селитры определяется свойствами почвы. По нормам внесения аммиачной селитры в хозяйствах – как основное удобрение с заделкой под почву (10-20 г на 1 кв. м), и используется для внеподкорневых подкормок (50 г на 100 л воды на 100 кв. м) (таблица 1) [3].

Таблица 1. Дозы применения аммиачной селитры.

| Культура | Доза применения препарата | Способ, время, особенности применения препарата |
|--------------|---|---|
| Все культуры | 20-30 г на 1 м ² | Основное внесение на окультуренных почвах |
| | 30-50 г на 1 м ² | Основное внесение на неокультуренных почвах |
| | 4-6 г на 1 погонный метр и 3-4 г в лунки | При высадке рассады |
| | 30-40 г сухом виде или растворе (то же количество удобрения на 10 л воды) на 10м ² | Подкормки |

В наибольшей степени вероятность потери азота за счет вымывания уменьшается при использовании удобрения в качестве подкормки, приуроченной к периоду максимального потребления растениями. На известковых почвах способствует подкислению почвы [4].

Материалы и методы. Объектами исследований являлись - аммиачная селитра в возрастающих дозах и штаммы ризобий сои, выделенные в чистую культуру из клубеньков вигны *V. unguiculata* (индекс Ву), *V. radiata* (индекс Вр), *V. angularis* (индекс ФЗ), вигны *V. radiata* выращенной на почве Магаданской области (индекс Мд) (22 штамма).

Устойчивость штаммов ризобий к нитрату аммония изучали на минимальной среде следующего состава, г/л: K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 0,2; NaCl – 0,1; NH_4NO_3 – 0,1; 5,0; 10,0; 20,0; агар-агар – 20,0. Все необходимые материалы стерилизовали в автоклаве. Микробиологические работы проводили в боксе. Для стерилизации поверхностей и горения спиртовки использовали этиловый спирт. Каждый изучаемый штамм высевали в две пробирки на косяк агаризованной питательной среды, во всех четырёх вариантах. Пробирки с засеянной культурой ризобий термостатировали при температуре +27...+28 °С в течение 9 суток. Интенсивность роста штриха каждого штамма оценивали по балльной шкале: 1 – скудный; 2 – умеренный; 3 – хороший; 4 – обильный [5].

Основная часть. В контрольном варианте с дозой аммиачной селитры 0,1 г/л в питательной среде все штаммы ризобий показали хороший и обильный рост бактериальной массы. Причём, штаммы ризобий Ву-25, Ву-33, Вр-29, ФЗ-3, Мд-0 и Мд-7 показали максимальный, обильный рост штриха бактериальной массы (таблица 2).

Таблица 2. Интенсивность роста штаммов ризобий, отнесённых к виду *B. elkanii* на 9-е сутки на минимальной среде с возрастающими дозами NH_4NO_3

| Штамм | Концентрация NH_4NO_3 , г/л | | | |
|-------|-------------------------------|-----|------|------|
| | 0,1 | 5,0 | 10,0 | 20,0 |
| Ву-4 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| Ву-5 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Ву-6 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Ву-20 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Ву-23 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Ву-25 | 4 | 2 | 2 | 2 |
| Ву-33 | 4 | 2 | 2 | 2 |
| Вр-1 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Вр-9 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Вр-22 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| Вр-24 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| Вр-29 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| Вр-31 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| ФЗ-3 | 4 | 2 | 2 | 2 |
| ФЗ-5 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| ФЗ-22 | 3 | 1 | 1 | 1 |
| ФЗ-23 | 3 | 1 | 1 | 1 |

| | | | | |
|----------|----|----|----|----|
| ФЗ-30 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| ФЗ-31 | 3 | 1 | 1 | 1 |
| Mg-0 | 4 | 2 | 1 | 1 |
| Mg-7 | 4 | 1 | 1 | 1 |
| Mg-19 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| Σ баллов | 68 | 41 | 35 | 35 |

Результаты. При внесении в минимальную среду 5 г/л аммиачной селитры интенсивность роста штриха бактериальной массы 17 изучаемых штаммов снижается до умеренного, четырёх штаммов (ФЗ-22, ФЗ-23, ФЗ-31, Мд-7) – до скудного. В то же время штамм Вр-31 сохранил хороший рост штриха бактериальной массы.

При увеличении дозы NH_4NO_3 в минимальной среде до 10 г/л количество скуднорастущих штаммов возрастает до 10 (Ву-4, Вр-24, Вр-29, ФЗ-22, ФЗ-23, ФЗ-30, ФЗ-31, Мд-0, Мд-7, Мд-19). Штамм ризобий Вр-31 сохранил хороший рост штриха бактериальной массы. Остальные 11 штаммов ризобий сохранили умеренный рост штриха бактериальной массы.

Дальнейшее увеличение дозы NH_4NO_3 в минимальной среде до 20 г/л не изменило характеристику роста испытываемых штаммов ризобий в сравнении с 10 г/л NH_4NO_3 в среде (таблица 2).

Заключение. В целом, доза 0,1 г/л аммиачной селитры является оптимальной для жизнеспособности ризобий сои. При повышении дозы NH_4NO_3 в питательной среде происходит подавление роста изучаемых штаммов. Штамм Вр-31 показал стабильно хороший рост штриха чистой культуры по всем экспозициям/вариантам.

Библиографический список

1. Соя на Дальнем Востоке / А.П. Ващенко, Н.В. Мудрик, П.П. Фисенко, Л.А. Дега, Н.В. Чайка, Ю.С. Капустин / науч. ред. А.К. Чайка. Владивосток: Дальнаука, 2010. 435 с.
2. Игнатенков В.И., Бесков Б.С. Примеры и задачи по общей химической технологии. – М.: ИКЦ “Академкнига”, 2005.
3. Аммиачная селитра и применение на дачных участках [Электронный ресурс] // ГКУ КК "Кубанский с/х ИКЦ". 2022. URL: <http://www.kaicc.ru/otrasli/udobrenija/ammiachnaja-celitpa-i-primenenie-na-dachnyh-uchastkah> – Загл. с экрана (дата обращения: 15. 02. 2023).
4. Якименко М.В., Бегун С.А. Основные направления исследований дальневосточных природных популяций // Вестн. ДВО РАН. 2016. № 2. С. 45–49.
5. Бегун С.А. Способы, приемы изучения и отбора эффективных штаммов клубеньковых бактерий сои. Методы аналитической селекции: методические рекомендации / С.А. Бегун. – Благовещенск: ПКИ «Зея». – 2005. – 70 с.