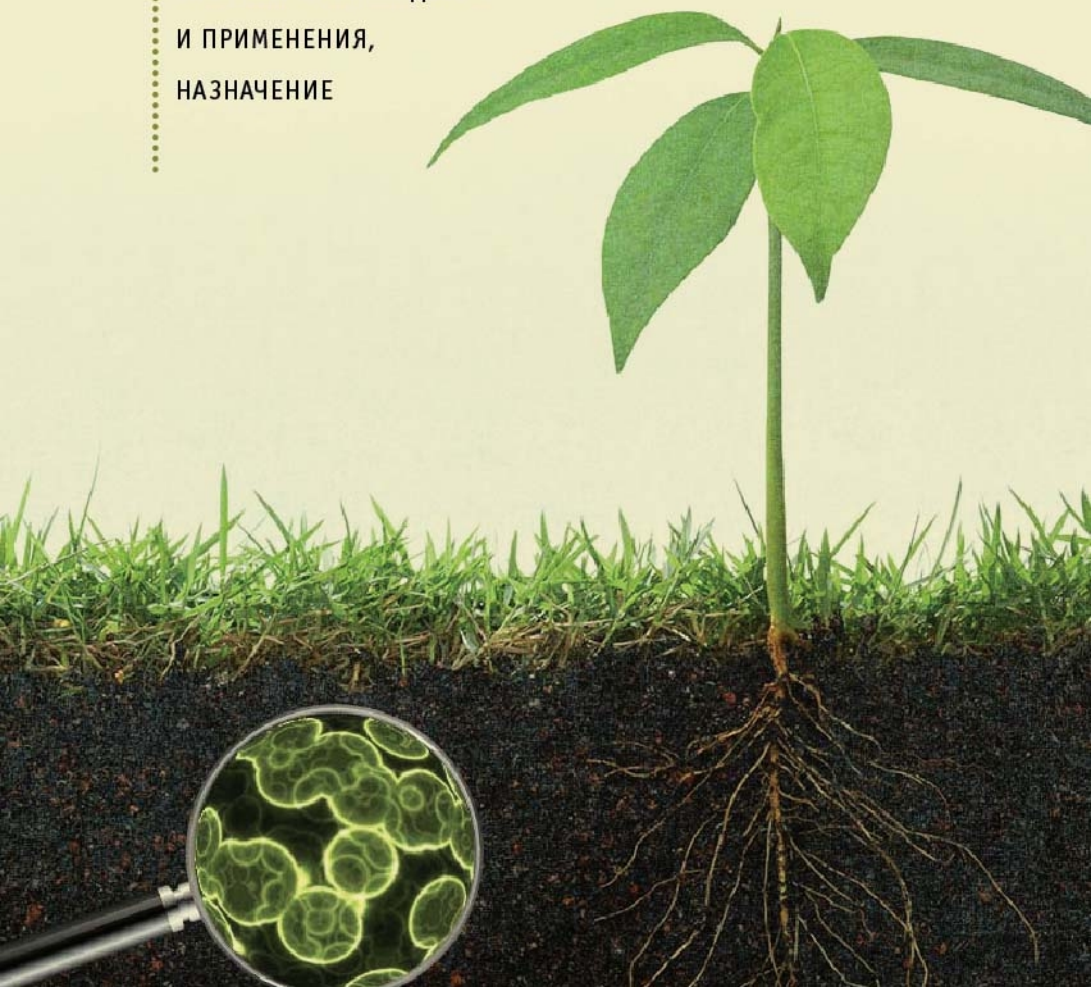


Чеботарь В.К., Наумкина Т.С., Борисов А.Ю.

КОМПЛЕКСНОЕ МИКРОБНОЕ УДОБРЕНИЕ «БИСОЛБИМИКС»

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ,
СПОСОБЫ ПРОИЗВОДСТВА
И ПРИМЕНЕНИЯ,
НАЗНАЧЕНИЕ



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии»

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
зернобобовых и крупяных культур»



РЕНОМЕ

В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов

КОМПЛЕКСНОЕ МИКРОБНОЕ УДОБРЕНИЕ «БИСОЛБИМИКС»

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ,
СПОСОБЫ ПРОИЗВОДСТВА И ПРИМЕНЕНИЯ,
НАЗНАЧЕНИЕ

Под редакцией А. Ю. Борисова

Санкт-Петербург
2015

Рецензенты:

профессор, доктор биологических наук *М. А. Вишнякова*,
кандидат биологических наук *А. П. Кожемяков*,
профессор, доктор сельскохозяйственных наук *П. И. Костылев*,
профессор, доктор биологических наук *А. В. Пиневиц*,
профессор, доктор биологических наук *М. М. Умаров*

Коллектив авторов:

Е. Е. Андронов (гл. 3), *Г. А. Ахтемова* (гл. 2, 3), *Р. В. Беляева* (гл. 4),
С. В. Бобков (гл. 4), *А. Ю. Борисов* (гл. 1–7), *А. Г. Васильчиков* (гл. 4, 5),
Г. П. Гурьев (гл. 4, 5), *Т. Н. Данилова* (гл. 4, 5), *М. В. Донская* (гл. 4, 5),
А. И. Жернаков (гл. 3), *В. А. Жуков* (гл. 2), *А. А. Завалин* (гл. 4),
А. Н. Заплаткин (гл. 4), *В. И. Зотиков* (гл. 4, 5), *А. Е. Казаков* (гл. 3–5),
Е. И. Кипрушкина (гл. 3), *В. В. Наумкин* (гл. 4, 5), *Т. С. Наумкина* (гл. 1–7),
В. Б. Петров (гл. 3, 4), *А. Г. Пинаев* (гл. 3), *Г. Н. Суворова* (гл. 4),
А. Л. Тарасов (гл. 4), *И. А. Тихонович* (гл. 2), *З. Р. Цуканова* (гл. 4),
В. К. Чеботарь (гл. 1–7), *О. Ю. Штарк* (гл. 2–5), *А. В. Щербаков* (гл. 4)

Чеботарь, В. К.

Ч-34 Комплексное микробное удобрение «БисолбиМикс»: фундаментальные основы, способы производства и применения, назначение / В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов ; под. ред. А. Ю. Борисова ; ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии»; ФГБНУ «ВНИИ зернобобовых и крупяных культур». — СПб. : «Реноме», 2015. — 240 с.

ISBN 978-5-91918-527-7

В работе экспериментально обоснована эффективность применения комплексного микробиологического удобрения (КМУ) «БисолбиМикс», повышающего продуктивность растений, содержание и биоразнообразие полезной почвенной микрофлоры. Приводится описание состава, свойств и технологии производства КМУ. Представлены данные испытаний КМУ на зернобобовых и зерновых культурах в разных регионах РФ.

Книга предназначена для научных работников, специалистов сельского хозяйства, студентов и преподавателей вузов.

Ил. 22, табл. 47, библиогр. 209.

УДК 575:577.2:579.262:579.64:582.736:631.147:631.52:631.86

Издание монографии осуществлено при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 14-16-00146 (главы 1, 3–6), проект № 14-24-00135 (глава 2).

© Коллектив авторов, 2015

© ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии», 2015

© ФГБНУ «ВНИИ зернобобовых и крупяных культур», 2015

ISBN 978-5-91918-527-7

© Оригинал-макет. ООО «Реноме», 2015

*Памяти А. Е. Казакова и В. Б. Петрова
посвящается*

В написании отдельных разделов данного издания принимали участие: Чеботарь В. К., Наумкина Т. С., Борисов А. Ю., Андронов Е. Е., Ахтемова Г. А., Беляева Р. В., Бобков С. В., Васильчиков А. Г., Гурьев Г. П., Данилова Т. Н., Донская М. В., Жернаков А. И., Жуков В. А., Завалин А. А., Заплаткин А. Н., Зотиков В. И., Кипрушкина Е. И., Наумкин В. В., Пинаев А. Г., Суворова Г. Н., Тарасов А. Л., Тихонович И. А., Цуканова З. Р., Штарк О. Ю., Щербаков А. В., Казаков А. Е., Петров В. Б.

Рецензентами данного издания любезно согласились выступить:

Кожемяков Андрей Петрович, кандидат биологических наук, профессор, руководитель лаборатории экологии ассоциативных симбиотических микроорганизмов ФГБНУ «ВНИИСХМ», специалист по разработке, производству и применению микробных препаратов для адаптивного растениеводства;

Костылев Павел Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, руководитель лаборатории селекции, семеноводства и технологии возделывания риса ФГБНУ «ВНИИ зерновых культур имени И. Г. Калининко», специалист по селекции и семеноводству сельскохозяйственных растений;

Вишнякова Маргарита Афанасьевна, доктор биологических наук, профессор, руководитель отдела генетических ресурсов зернобобовых культур ФГБНУ «ВНИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова», специалист по изучению коллекций генетических ресурсов растений;

Пиневич Александр Васильевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии СПбГУ, специалист в различных областях микробиологии, связанных с проکاریотическими микроорганизмами;

Умаров Марат Мутагарович, доктор биологических наук, профессор кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ им. М. В. Ломоносова, заслуженный профессор, Лауреат

Ломоносовский премии, специалист в области почвенной микробиологии и биохимии, а также микробиологической трансформации химических элементов в почве, ризосфере и филлосфере растений и желудочно-кишечном тракте животных.

Специальные выражения благодарности коллектива авторов обращены к:

Ерофееву С. В. за интеллектуальное и инженерно-техническое сопровождение всего процесса обсуждения и разработки технологий производства и применения КМУ;

Борисовой О. В. за морально-интеллектуальную поддержку и терпимость к процессу разработки, испытаний КМУ и написания книги в отношении некоторых авторов;

Наумкину В. П. за разностороннюю поддержку любых инициатив и начинаний отдельных членов авторского коллектива;

Востряковой В. И. и Дворяниновой Л. Е. за техническое сопровождение всего процесса, восхитившее определенную группу авторов своей ненавязчивостью и высокой эффективностью;

Степиной Л. А. за помощь в работе со списком цитируемой литературы.

РЕЦЕНЗИЯ НА МОНОГРАФИЮ

**«Комплексное микробное удобрение “БисолбиМикс”:
фундаментальные основы, способы производства
и применения, назначение»**

**(авторы: Чеботарь В. К., Наумкина Т. С., Борисов А. Ю.
под редакцией А. Ю. Борисова)**

Из всех факторов, определяющих продуктивность сложной системы почва—растение—микроорганизмы, именно последние играют определяющую роль. Образно говоря, растения доверили ряд своих функций микроорганизмам.

Микробные препараты в сельском хозяйстве могут значительно снизить дозы применения минеральных удобрений и других химических средств и обеспечить оптимальное их использование. Речь идет прежде всего о микробных земледобрильных препаратах, целая гамма которых была разработана учеными нашей страны. Следующим шагом в совершенствовании таких препаратов является создание комплексных биопрепаратов (на основе консорциумов полезных для культурных растений микроорганизмов).

Именно этому направлению посвящена данная монография — комплексному микробному удобрению «БисолбиМикс».

В монографии (глава 2) рассмотрены основы сосуществования различных генетических и физиологических групп микроорганизмов и проанализированы научно-практические основы создания биопрепаратов на основе нескольких таксонов микроорганизмов, кардинально различающихся по молекулярно-генетическим характеристикам и биологическим свойствам, уровнем взаимодействия с растениями и обеспечением полезных для растений функций.

С использованием различных видов культурных растений проведена огромная работа по оценке эффективности применения КМУ и изучению генетического полиморфизма взаимодействия растения-хозяина с консорциумами полезных микроорганизмов, входящих в КМУ. Это позволило разработать научно-обоснованные подходы для селекции растений по оптимизации растительно-микробных взаимоотношений в данной системе.

В целом КМУ «БисолбиМикс» является весьма перспективной разработкой. Кроме повышения продуктивности растений следует учитывать существенные положительные экологические последствия производства и применения КМУ «БисолбиМикс» — улучшение биологического, агрономического и агрофизического состояния почвы, утилизация отвалов фильтрационных осадков и др.

Монография изложена хорошим научным языком и при этом понятна и интересна для широкого круга специалистов сельского хозяйства и практиков. Она найдет хороший прием у читателей, интересующихся проблемами создания, производства и применения перспективных биопрепаратов для земледелия и растениеводства.

А. П. Кожемяков

РЕЦЕНЗИЯ

на книгу Чеботаря В. К., Наумкиной Т. С., Борисова А. Ю.

«Комплексное микробное удобрение “БисолбиМикс”:

фундаментальные основы, способы производства

и применения, назначение»

В данной книге представлены литературные данные и результаты собственных экспериментов авторов, посвященные комплексному микробному удобрению (КМУ), улучшающему состав полезной микрофлоры в зоне корневой системы растений. Обосновывается необходимость разработки и применения новых форм КМУ в текущей практике сельского хозяйства.

Авторы сделали большую работу в решении важной проблемы — повышения эффективности и экологической безопасности растениеводства. В результате исследований во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии авторами данного издания сформулирована концепция микробиологического сопровождения интенсивных агротехнологий, которая затем была научно обоснована и проверена в лабораторных, вегетационных и производственных полевых опытах. Ценным является то, что эксперименты проводились в разнообразных агроклиматических и почвенных условиях России.

Такая концепция применения комплексных микробных удобрений, повышающих содержание и разнообразие различных групп благоприятных для растений микроорганизмов в агрофитоценозах, позволяет наметить пути замещения химикатов микробными препаратами.

Считаю, что коллектив авторов: Чеботарь В. К., Наумкина Т. С., Борисов А. Ю. внесли достойный вклад в дело пропаганды микробиологической грамотности широкого круга специалистов, написав эту книгу.

Книга актуальна, обладает научной и практической новизной. Считаю, что представленная книга нужна для специалистов сельского хозяйства, для использования в научно-исследовательской работе научным работникам, а также для учебных целей, аспирантам и студентам. Ее целесообразно опубликовать в открытой печати массовым тиражом.

П. И. Костылев

РЕЦЕНЗИЯ НА РУКОПИСЬ КНИГИ

Чеботаря В. К., Наумкиной Т. С., Борисова А. Ю.
«Комплексное микробное удобрение “БисолбиМикс”:
фундаментальные основы, способы производства
и применения, назначение»
под редакцией А. Ю. Борисова

В этой книге сошлись две реалии современной действительности. Одна относится к фундаментальной науке, другая — к практике сельского хозяйства. Фундаментальная наука сегодня предлагает переосмыслить восприятие растения как автономного организма и обосновывает необходимость его рассмотрения в тесной функциональной интеграции с разнообразными микросимбионтами. Практика же сельского хозяйства уже давно пришла к необходимости снижения техногенной нагрузки на окружающую среду, поворота растениеводства на рельсы максимального использования биологического потенциала самого растения и микробиоты почвы. Роль ученых в этом процессе — оптимизировать взаимодействия растения с микросимбионтами. Одним из механизмов такой оптимизации являются микробные препараты, в частности, комплексное микробное удобрение (КМУ) «БисолбиМикс», которому посвящена данная книга.

Создание препаратов на основе таких плохо контролируемых и управляемых существ, как микроорганизмы, исключительно наукоемкий процесс. Поэтому в монографии подробно изложены теоретические основы создания КМУ, технологические аспекты его производства и применения, результаты испытаний КМУ на различных сельскохозяйственных культурах в разных регионах РФ, а также данные по использованию КМУ при селекции растений, обладающих повышенной эффективностью мутуалистического взаимодействия с микросимбионтами. Интересным и актуальным в этом контексте представляется предложение авторов книги считать «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» признаком, необходимым при оценке селекционного материала.

Книга своевременна, необходима как ученым-растениеводам, так и производителям растениеводческой продукции. К сожалению, в контексте новых веяний эпохи — органического земледелия и органической селекции — симбиотические отношения растений с микробиотой почвы еще не нашли должного признания и использования. Уверена, что данное издание будет способствовать этому в полной мере.

М. А. Вишнякова

РЕЦЕНЗИЯ НА РУКОПИСЬ КНИГИ

Чеботаря В. К., Наумкиной Т. С., Борисова А. Ю.

«Комплексное микробное удобрение “БисолбиМикс”:

фундаментальные основы, способы производства

и применения, назначение»

под редакцией А. Ю. Борисова

Проблема интродукции микробных культур в агротехнику с целью повышения эффективности безопасного растениеводства давно обсуждается в специальной литературе, и результаты соответствующих теоретических исследований находят практическое применение отнюдь не впервые. Однако рецензируемая книга открывает новую страницу в этой эпопее. Главная идея авторов заключается в том, что симбиотические взаимоотношения между высшими растениями и микроорганизмами могут и должны эксплуатироваться на уровне многокомпонентных динамических сообществ, причем структуру и функции последних следует всесторонне изучить в лабораторных условиях, а их устойчивость подтвердить статистически.

К решению данной проблемы коллектив авторов-сотрудников ВНИИСХМ привлек обширный теоретический аппарат, изложенный в первой части рецензируемого труда. В дальнейшем на основе обширнейшего экспериментального материала ими получены выводы, неопровержимо свидетельствующие об эффективности комплексного микробного удобрения из смеси культур бактерий и микоризных грибов в тщательно подобранном наполнителе. Описание свойств этого новаторского удобрения наряду с практическими рекомендациями по его использованию составляют ядро данной книги.

Книга высоко востребована и исключительно своевременна. Она не только нужна сельским хозяйствам в современных рыночных условиях, но и может служить практически руководством в научно-исследовательской работе специалистов в области сельскохозяйственной микробиологии, а также ценным учебным пособием для студентов и аспирантов.

Считаю необходимым скорейшую публикацию книги В. К. Чеботаря с соавторами, причем по возможности таким тиражом, чтобы она избежала участи раритетного издания. При внимательном ознакомлении с рукописью у меня появился ряд мелких замечаний, которые доведены до сведения авторов и, несомненно, будут устранены в ходе предстоящего технического редактирования.

А. В. Пиневич

РЕЦЕНЗИЯ

на рукопись книги

«Комплексное микробное удобрение “БисолбиМикс”:

фундаментальные основы, способы производства

и применения, назначение»

(авторы: Чеботарь В. К., Наумкина Т. С., Борисов А. Ю.)

Идея создания некоего микробного препарата (или препаратов), способного (способных) революционно изменить существующие системы растениеводства, возникла примерно 60 лет назад, когда пришло понимание ведущей роли микроорганизмов в питании растений. С течением времени эта идея переросла в убеждение, подкрепленное многочисленными экспериментальными данными, полученными, главным образом, при развитии теории и практики «биологического» земледелия, а также при изучении феноменов «дикой» природы. Именно развитие этих взглядов и стало методологической основой у авторов «комплексного микробного удобрения (КМУ)», описанию свойств которого посвящена монография. Авторский коллектив, представленный в основном сотрудниками Всероссийского института сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ), хорошо известен в научном мире своими достижениями в области создания новых биопрепаратов, в том числе и почвоудобрительных. Поэтому полагаю необходимым поддержать издание книги, которая, несомненно, станет востребованной не только у специалистов-микробиологов, но и у широкого круга практиков-растениеводов.

М. М. Умаров

Комплексное микробное удобрение «БисолбиМикс» защищено патентом Российской Федерации № 2318784 от 10 марта 2008 г. «Способ получения комплексного микробиологического удобрения» и патентом Украины № 95036 от 25 июня 2011 г. В настоящее время проводится патентование изобретения в странах ЕС. Зарегистрирован Товарный знак «БисолбиМикс».

Разработанная технология производства комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» была награждена:

- Дипломом биотехнологической выставки-ярмарки «РосБиоТех-2007», 21–24 ноября 2007 г., Москва;
- Дипломом лауреата конкурса «Перспективные технологии для реального сектора экономики» II Международной выставки и конгресса «Перспективные технологии 21 века», 30 сентября–3 октября 2008 г., Москва;
- Золотой медалью 10-й юбилейной Российской агропромышленной выставки «Золотая Осень», 10–14 октября 2008 г., Москва;
- Золотой медалью Международной выставки-ярмарки «Агрорусь», 21–25 августа 2009 г, Санкт-Петербург.

Исследования, результаты которых легли в основу данного руководства, были выполнены при финансовой поддержке:

- Российской академии сельскохозяйственных наук;
- Российского фонда фундаментальных исследований (01-04-48580, 01-04-49643, 02-04-08025 инно, 03-04-06914, 04-04-48457-а, 04-04-48462-а, 05-04-49105, 06-04-49785-а, 06-04-89000-НВОЦ_а, 07-04-01171-а, 07-04-01558-а, 07-04-08617-з, 07-04-08618-з, 07-04-08619-з, 07-04-13566-офи_ц, 08-04-05057-б, 09-04-00386-а, 09-04-05001-б, 09-04-13782-офи_ц, 09-04-13895-офи_ц, 09-04-90902-моб_снг_ст, 09-04-91007-АНФ_а, 09-04-91054-НЦНИ_а, 09-04-91293-ИНИС_а, 10-04-00961-а, 10-04-01146-а, 10-04-08306-з, 10-04-08307-з, 12-04-01371-а, 12-04-01687-а, 12-04-32126-мол-а, 13-04-01702-а, 13-04-01703-а, 14-04-01442 А, 14-04-32000 мол_а, 14-04-32289 мол_а);
- Международных программ (INCO-COPERNICUS (PL971112), COBASE Fellowship (ISF), CRDF (ST-012-0), EC grant FOOD-CT-2004-506223, JSTC.RCLG.979133, NWO grant 047.018.001, ИНТАС (01-2170), ИНТАС (01-2322), ИНТАС (01-83-3143), ИНТАС (04-83-3196));
- совместного проекта с Иенгнамской сельскохозяйственной опытной станцией, Южная Корея (2002–2005);
- государственных контрактов на научные исследования Минобрнауки (02.512.11.2149, 02.512.11.2154, 02.512.11.2182, 02.512.11.2254, 02.512.11.2280, 02.434.11.7122, 02.445.11.7492, 02.512.11.2143, 02.740.11.0276, 16.512.11.2155, 16.М04.11.0013, П1304, П760, соглашения № 8109, № 8056, 14.512.11.0031);
- госконтракта с АПК Ленинградской области (2005–2008);
- Министерства науки, промышленности и технологий (МД-350.2003.04, МК-583.2004.4, МК-583.2004.4, НШ-1103.2003.04, НШ-9744.2006.04);

- Совета по грантам Президента РФ (НШ-5399.2008.04, НШ-3440.2010.4, НШ-0337.2012.4);
- Российского Научного Фонда (14-14-00929, 14-16-00146, 14-24-00135).

Договоры о НИОКР между ФГБНУ «ВНИИСХМ» и ООО «Бисолби-Интер»: № 02 от 20 января 2010 г., № 05 от 12 июля 2010 г., № 02 от 14 марта 2011 г., от 30 августа 2011 г., № 02 от 23 марта 2012 г., от 20 марта 2012 г., от 11 мая 2012 г., от 25 марта 2013 г., от 06 мая 2013 г.

РЕФЕРАТ

В настоящем издании представляется комплексное микробиологическое удобрение (КМУ), повышающее содержание и биоразнообразие благотворной для растений микрофлоры в зоне развития корневой системы растений. Это удобрение принципиально нового типа, экологически безопасное средство повышения плодородия почвы, разработано под влиянием требований времени — в период изменения основной концепции земледелия и растениеводства от «интенсивной» с применением высоких доз агрохимикатов к «адаптивной» с максимальным сохранением и даже повышением естественного плодородия почв и высоким уровнем экологической безопасности производства. В работе представлены данные научной литературы и собственные экспериментальные данные авторов, обосновывающие необходимость разработки и применения КМУ в текущей практике земледелия и растениеводства. Обсуждается субстрат-носитель и состав КМУ, этапы производства и сроки хранения, а также контроль качества. Приводятся данные испытаний КМУ на различных сельскохозяйственных культурах в разных регионах РФ, а также данные по использованию КМУ при селекции растений нового типа, обладающих повышенной эффективностью взаимодействия с благотворной для растений микрофлорой. Обосновывается введение «эффективности взаимодействия с благотворной для растений микрофлорой» в качестве нового признака селекции растений, обсуждаются способы и методы его учета и оценки. В заключении формулируются основные выводы по завершении более чем десятилетней работы авторского коллектива и определяются перспективы на будущее. Также даются рекомендации по применению КМУ сельскохозяйственными предприятиями различных форм собственности и другими потенциальными потребителями данной инновационной концепции/технологии.

**COMPLEX MICROBIAL FERTILIZER «BISOLBIMIX»:
THEORETICAL BASES, METHODS OF PRODUCTION
AND APPLICATION, PURPOSE**

Chebotar V. K., Naumkina T. S., Borisov A. Y.

Edited by A. Y. Borisov

All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology

RAAS, St. Petersburg

E-mail: ayborisov@yandex.ru

Complex microbial fertilizer (CMF) being presented in this book, increases the content and biodiversity of microflora beneficial for the plant in the area of development of sowing material. This fertilizer of new type has been developed upon demand of the time when basic concept of agriculture is changing from «intensive» with high doses of agrochemicals to «sustainable» with maximal preservation of and even increase in natural soil fertility and with high level of ecological friendliness of plant production. In this manual, the data of scientific literature and authors' experimental results are analyzed to justify the necessity of development and application of CMF in the practice of current agriculture. The substrate-carrier for CMF and its content, stages of production and shelf-life as well as quality control are discussed. The data on CMF field trials in various crops and regions of Russia as well as the data on CMF application in the breeding of the crop plants of new type, with increased effectiveness of interactions with beneficial microflora, are presented. Also the expediency of introduction of a new trait («increased effectiveness of interactions with beneficial microflora») into breeding and methods of its evaluation are discussed. Basic conclusions after more than ten years of authors' team work and perspectives for future are formulated in the final part of the book, also recommendations how to apply CMF in the farms of various types and by other potential consumers of this innovative concept/technology, are given.

Key words: Mutually Beneficial (Mutualistic) Plant-Microbe Systems, Glomeromycota, Arbuscular Mycorrhiza, Nodule Bacteria, Legume-rhizobial Symbiosis, PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria), Bacterial and Fungal Endophytes, Evolution, Effectiveness of Interactions of Plants and Microbes, Genetics and Breeding of Plants, Sustainable Crop Production, Ecological Safety/Friendliness.

Содержание

Список сокращений	27
-------------------------	----

Глава 1. Введение в проблему

<i>В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов</i>	29
--	----

Глава 2. Идеология и цель создания комплексных микробных удобрений/препаратов для повышения эффективности растениеводства

<i>В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов, Г. А. Ахтемова при участии В. А. Жукова, И. А. Тихоновича, О. Ю. Штарк</i>	33
--	----

2.1. Сосуществование растений и микроорганизмов	33
2.2. Эволюция растительно-микробных систем	34
2.3. Основные группы микроорганизмов, ассоциированных с растениями	35
2.3.1. Микоризные грибы	35
2.3.2. Азотфиксирующие клубеньковые бактерии	36
2.3.3. Грибные эндофиты первого типа (или грибные эндофиты семейства <i>Clavicipitaceae</i>)	37
2.3.4. Грибные эндофиты второго типа	37
2.3.5. Бактериальные эндофиты	39
2.4. Мутуалистические (взаимовыгодные) растительно-микробные системы (симбиозы) бобовых растений с почвенными микроорганизмами	40
2.4.1. Основные растительно-микробные системы бобовых и возможность их использования в адаптивном растениеводстве	40
2.4.2. Развитие и функционирование мутуалистических симбиозов бобовых	43
2.4.2.1. Взаимное «узнавание» партнеров	43
2.4.2.2. Процесс колонизации и формирования симбиотических компартментов	47
2.4.2.3. Регуляция растением развития и функционирования мутуалистических симбиозов	49

2.4.3. Генетическая система бобовых, контролирующая развитие и функционирование взаимовыгодных (мутуалистических) растительно-микробных систем	51
2.4.3.1. Регуляторные гены бобовых, контролирующие развитие и функционирование бобово-ризобияльного симбиоза и арбускулярной микоризы	51
2.4.3.2. Нодулины, микоризины и симбиозины («молекулярная машина» симбиоза)	53
2.4.3.3. Генетический контроль взаимодействия бобовых растений с бактериями, стимулирующими их развитие	56
2.4.4. Эволюционная история различных растительно-микробных систем бобовых	57
2.5. Перспективы использования взаимодействий растений с благотворными микроорганизмами в сельскохозяйственной практике	61
2.5.1. Потенциал использования комплексных микробных удобрений на основе благотворных микроорганизмов	61
2.5.2. Селекция сельскохозяйственных видов растений на повышение потенциала взаимодействий с благотворными микроорганизмами	62
2.6. Научное обоснование использования комплексных микробных удобрений в практике адаптивного растениеводства	64

Глава 3. Состав, свойства и технология изготовления комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс»

<i>В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов, Г. А. Ахтемова при участии Е. Е. Андропова, А. И. Жернакова, Е. И. Кипрушкиной, А. Г. Пинаева, О. Ю. Штарк, [А. Е. Казакова], [В. Б. Петрова]</i>	69
3.1. Выбор субстрата-носителя для комплексного микробного удобрения ..	69
3.1.1. Агрохимический анализ фильтрационно-моечного осадка	70
3.1.2. Характеристика прокариотического (бактерии и археи) сообщества фильтрационно-моечного осадка	72
3.1.3. Рост-стимулирующая активность штаммов прокариот, доминирующих в фильтрационно-моечном осадке	77
3.1.4. Существование в фильтрационно-моечном осадке других благотворных для растений микроорганизмов	79
3.1.5. Способность фильтрационно-моечного осадка обеспечить жизнеспособность благотворной для растений микрофлоры при длительном хранении	80

3.2. Разработка технологических этапов производства	80
3.2.1. Производство стартового инокуляционного материала	80
3.2.2. Производство основного инокуляционного материала (комплексное микробное удобрение-сырец)	81
3.2.3. Добавление микроорганизмов, произведенных в биореакторах (ферментерах)	82
3.2.4. Подготовка продажной формы	82
3.2.4.1. Оболочка семян	82
3.2.4.2. Гранулы	83
3.2.4.3. Порошок	83
3.2.5. Контроль качества	83

Глава 4. Оценка эффективности применения комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» в полевых экспериментах на различных культурах в различных регионах России

<i>В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов при участии А. Г. Васильчикова, Г. П. Гурьева, Т. Н. Даниловой, М. В. Донской, А. А. Завалина, А. Н. Заплаткина, В. И. Зотикова, А. Л. Тарасова, О. Ю. Штарк, А. В. Щербакова, Р. В. Беляевой, С. В. Бобкова, В. В. Наумкина, Г. Н. Суворовой, З. Р. Цукановой, А. Е. Казакова, В. Б. Петрова</i>	87
4.1. ФГБНУ «ВНИИ зернобобовых и крупяных культур» (г. Орел, 2005–2011 гг.)	88
4.1.1. Изучение влияния комплексного микробного удобрения на посевные качества и урожайные свойства семян сои (<i>Glycine max</i> (L.) Мегг.) сорта Ланцетная (г. Орел, 2005–2006 гг.)	88
4.1.2. Изучение эффективности применения комплексного микробного удобрения на зернобобовых и зерновых злаковых культурах (г. Орел, 2007–2008 гг.)	90
4.1.2.1. Изучение эффективности применения комплексного микробного удобрения на зернобобовых культурах (г. Орел, 2007–2008 гг.)	91
4.1.2.2. Изучение эффективности применения комплексного микробного удобрения на яровом ячмене сорта Ассоль (г. Орел, 2008 г.)	91
4.1.2.3. Изучение эффективности применения комплексного микробного удобрения на зерновых злаковых культурах (г. Орел, 2008 г.)	95

4.1.3. Эффективность применения комплексного микробного удобрения (препарата «БисолбиМикс») на зернобобовых культурах (г. Орел, 2009–2010 гг.)	96
4.1.3.1. Эффективность применения комплексного микробного удобрения в полупроизводственных опытах с коммерческими сортами фасоли (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) сорта Оран и сои (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.) сорта Магева (г. Орел, 2010 г.)	98
4.1.3.2. Влияние применения комплексного микробного удобрения на хозяйственно-ценные признаки растений 20 сортов и селекционных линий фасоли (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (г. Орел, 2010 г.)	99
4.1.3.3. Эффективность применения комплексного микробного удобрения на сортах образцах чечевицы (<i>Lens culinaris</i> Medik.) (ВНИИЗБК, 2009 г.)	102
4.1.4. Эффективность применения комплексного микробного удобрения, произведенного на основе фильтрационно-моечного осадка с отвалов сахарного завода пос. Залегощь (Залегощенский район, Орловская обл.) на сортах и коллекционных генотипах фасоли (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (г. Орел, 2009–2011 гг.)	104
4.2. ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии» (г. Санкт-Петербург)	115
4.2.1. Эффективность применения комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» на вико-овсяной смеси (вика (<i>Vicia</i> L.) сорта Немчиновская 56, овес (<i>Avena sativa</i> L.) сорта Боррус) (г. Санкт-Петербург, 2010 г.)	115
4.2.2. Эффективность применения комплексного микробного удобрения (препарата «БисолбиМикс») на вико-овсяной смеси (вика (<i>Vicia</i> L.) сорта Немчиновская 56, овес (<i>Avena sativa</i> L.) сорта Боррус) (г. Санкт-Петербург, 2011 г.)	116
4.2.3. Эффективность применения комплексного микробного удобрения («БисолбиМикс») на картофеле (<i>Solanum tuberosum</i> L.) (г. Санкт-Петербург, 2012 г.)	119
4.3. ФГБОУ ВО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. акад. Д. К. Беляева» (г. Иваново, 2006–2009 гг.)	120
4.3.1. Эффективность комплексного микробного удобрения, определение вклада химической и микробиологической составляющих комплексного микробного удобрения на яровой пшенице сорта Приокская в Ивановской области	120

4.3.2. Эффект последействия комплексного микробного удобрения на клевере (<i>Trifolium</i> L.) сорта Дымковский первого и второго года пользования в Ивановской области (г. Иваново, 2007–2008 гг.)	128
4.3.3. Эффект последействия комплексного микробного удобрения на яровой пшенице (<i>Triticum aestivum</i> L.) сорта Приокская в Ивановской области после его применения в 2006 г. (г. Иваново, 2009 г.)	132
4.4. ФГБНУ «Псковский научно-исследовательский институт сельского хозяйства». Эффективность применения комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» на льне-долгунце (<i>Linum usitatissimum</i> L.) (г. Псков, 2009 г.)	133

Глава 5. Анализ генетического полиморфизма сельскохозяйственных бобовых культур по признаку «эффективность взаимодействия с благотворными микроорганизмами» с применением комплексного микробного удобрения и возможности вести селекцию на повышение этого признака

<i>Т. С. Наумкина, В. К. Чеботарь, А. Ю. Борисов при участии А. Г. Васильчикова, В. И. Зотикова, Г. П. Гурьева, В. В. Наумкина, Т. Н. Даниловой, М. В. Донской, О. Ю. Штарк, А. Е. Казакова</i>	139
5.1. Анализ генетического полиморфизма гороха (<i>Pisum sativum</i> L.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения ВНИИЗБК (г. Орел, 2002–2004 гг.)	140
5.1.1. Условия проведения экспериментов и методы анализа	140
5.1.2. Агроклиматические условия	142
5.1.3. Статистическая обработка результатов экспериментов	144
5.1.4. Результаты полевых экспериментов по анализу исходного материала для селекции на повышение признака «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с использованием 26 генотипов гороха (<i>Pisum sativum</i> L.) и комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» (2002–2004 гг.)	144
5.1.4.1. Влияние инокуляции комплексным микробным удобрением и применения $N_{60}P_{60}K_{60}$ на накопление биомассы растений	144

5.1.4.2. Полиморфизм гороха (<i>Pisum sativum</i> L.) по продуктивности	152
5.1.4.3. Сопоставление развития растений 26 генотипов гороха (<i>Pisum sativum</i> L.) при применении комплексного микробного удобрения и $N_{60}P_{60}K_{60}$	158
5.1.4.4. Изучение содержания белка в семенах (качество про- дукции зернобобовых) при инокуляции комплексным микробным удобрением в присутствии $N_{60}P_{60}K_{60}$	161
5.1.4.5. Выбор параметров оценки эффективности взаимодействия растений с комплексом полезной почвенной микрофлоры	165
5.1.4.5.1. Анализ параметров, характеризующих развитие арбускулярной микоризы	166
5.1.4.5.2. Анализ параметров, характеризующих развитие азотфиксирующего симбиоза	171
5.1.4.5.3. «Изменение уровня накопления надземной био- массы», «изменение семенной продуктивности», а также «изменение содержания белка в семенах» (как показатель качества урожая) — единственно адекватные параметры оценки эффективности взаимодействия с благотворными микроорганиз- мами (при применении комплексного микробного удобрения)	178
5.1.4.6. Изучение динамики развития растений при инокуляции комплексным микробным удобрением и внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$	179
5.1.4.7. Протокол селекции сортов бобовых культур нового типа, высокоэффективных при взаимодействии с комплексом полезной почвенной микрофлоры	180
5.2. Анализ генетического полиморфизма фасоли (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения ВНИИЗБК (г. Орел, 2009—2010 гг.)	185
5.3. Анализ генетического полиморфизма чечевицы (<i>Lens culinaris</i> Medik.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения ВНИИЗБК (г. Орел, 2009—2010 гг.)	188
5.4. Выявление гибридных комбинаций гороха (<i>Pisum sativum</i> L.), отличающихся высокими значениями признака «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением	

комплексного микробного удобрения ВНИИЗБК (г. Орел, 2012 г.)	191
5.5. Анализ генетического полиморфизма нута (<i>Cicer arietinum</i> L.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения. Сравнение эффекта применения комплексного микробного удобрения с микробными препаратами на основе клубеньковых бактерий и грибов арбускулярной микоризы ВНИИЗБК (г. Орел, 2010–2012 гг.)	195
5.5.1. Агроклиматические ресурсы в годы исследований	195
5.5.2. Материал и методика постановки экспериментов	195
5.5.3. Результаты проведенных исследований	197
5.6. Заключение к главе 5	204
 Г л а в а 6. Рекомендации по применению комплексного микробного удобрения в сельскохозяйственных предприятиях различного профиля и форм собственности, а также другими потенциальными потребителями комплексного микробного удобрения	
<i>В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов</i>	210
 Заключение	
<i>В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов</i>	214
 Цитируемая литература	220

Список сокращений

- АМ — арбускулярная микориза
АПП — аппарат, предшествующий проникновению
а. с. в. — абсолютно сухое вещество
БМ — благотворные для растений микроорганизмы
БРС — бобово-ризобийный симбиоз
БЭВ — безазотистые экстрактивные вещества
ГН — генетический норматив
г.п. — год пользования
ГТК — гидротермический коэффициент
ИН — инфекционная нить
КБ — клубеньковые бактерии
КМУ — комплексное микробное удобрение
КОЕ — колонии образующие единицы
МКС — многокомпонентный симбиоз
МР — масса растения
мкг N₂/раст. · ч — микрограмм азота на растение в час
мг-экв — миллиграмм-эквивалент
ПАМ — периабускулярная мембрана
ПБМ — перибактероидная мембрана
СП — семенная продуктивность
ПЦР — полимеразная цепная реакция
ФМО — фильтрационно-мочный осадок
ЭМ — эктомикориза
CSP — общий симбиотический путь
(от англ. *common symbiotic pathway*)
ENOD — ранние нодулины (от англ. *early nodulins*)
Мус-фактор — фактор микоризации (от англ. *mycorrhization factor*)

Nod-фактор — фактор клубенькообразования (от англ. *nodulation factor*)

PGPB — бактерии, стимулирующие рост растений (от англ. *plant growth-promoting bacteria*)

Sym-гены — симбиотические гены (от англ. *symbiotic genes*)

ВИР — ВНИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова

ВНИИЗБК — ВНИИ зернобобовых и крупяных культур

ВНИИСХМ — ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии

ПНИИСХ — Псковский НИИ сельского хозяйства

At, *Cg*, *Lj*, *Mt*, *Os*, *Ps* — латинские буквы перед генетическими символами и названиями соответствующих белковых продуктов указывают вид растения: *At* — *Arabidopsis thaliana*, *Cg* — *Casuarina glauca*, *Lj* — *Lotus japonicus*, *Mt* — *Medicago truncatula*, *Os* — *Oryza sativa*, *Ps* — *Pisum sativum*.

Введение в проблему

В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов

В связи с активным заселением суши растения развивали новые способы адаптации к разнообразным изменениям условий окружающей среды, как абиотическим, так и биотическим. Сформировавшаяся в ходе эволюции способность растений и примитивной корневой системы того периода, в частности, к существованию в рамках обоюдовыгодных (мутуалистических) симбиотических взаимоотношений с различными группами микроорганизмов и обусловила дальнейшую эволюцию и стратегию наземного образа жизни царства растений (Gianinazzi-Pearson, 1996).

Начиная с 2000 г. специалисты ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии» (ВНИИСХМ) в сотрудничестве с различными зарубежными и российскими институтами, разрабатывали новые формы микробных удобрений комплексного действия для повышения эффективности и экологической безопасности растениеводства. Работы проводились в рамках выполнения научно-технических программ Российской академии сельскохозяйственных наук.

В результате концепция микробиологического сопровождения интенсивных агротехнологий была сформулирована, научно обоснована и проверена в многочисленных лабораторных, вегета-

ционных и производственных полевых опытах в разнообразных агроклиматических и почвенных условиях России. Такая концепция применения комплексных микробных удобрений/препаратов (КМУ), повышающих содержание и биоразнообразие различных групп благотворных для растения микроорганизмов в агрофитоценозах предназначена для комплексного возмещения утраченных микробиологических звеньев и цепей агрофитоценозов при возрастающей агротехнологической и химической, в первую очередь пестицидной, нагрузке на почву в процессе производства продукции растениеводства. Концепция позволяет отказаться от частичного замещения агрохимикатов микробными препаратами, не имеющего обоснования с точки зрения биологии и экологии.

Цели применения КМУ:

- повышение эффективности и урожайности растениеводства и экологической безопасности его продукции;
- экономически и экологически оправданное снижение хомогенной нагрузки на агроландшафт;
- введение в состав микрофлоры пашни групп благотворных для растений микроорганизмов, способных на конкурентной и/или антагонистической основе снять почвоутомление за счет активного завоевания пищевых экониш в системе почва—растение;
- восстановление структуры почвенных сообществ, функционально важной для сельскохозяйственных растений доминантной и периферийной микробиоты обрабатываемых почв;
- противостояние резидентным, устойчивым к химической нагрузке формам фитопатогенных грибов, бактерий, вирусов с использованием природных механизмов;
- биологически обоснованная оптимизация потребления элементов минерального питания сельскохозяйственными растениями.

Концепция применения КМУ базируется на разностороннем анализе данных мировой научной литературы и результатах экспериментальной работы авторов. Данная концепция рассматривает взаимодействие сельскохозяйственных культур с благотворной для растений почвенной микрофлорой как со стороны растения-хозяина, так и со стороны микроорганизмов, функционирующих

в сложной генетически и метаболически структурированной (интегрированной) системе (ассоциации, комплексе), взаимодействуя друг с другом и с растением-хозяином.

Исторически сложилось так, что развитие и функционирование мутуалистических (взаимовыгодных) систем с благотворными для растений микроорганизмами интенсивно изучались на материале бобовых культур: как сельскохозяйственно значимых культур (клевер (*Trifolium spp.* L.), горох (*Pisum sativum* L.), соя (*Glycine max* (L.) Merr.), фасоль (*Phaseolus vulgaris* L.), нут (*Cicer arietinum* L.) и др.), так и «модельных» видах (люцерна слабоусеченная (*Medicago truncatula* Gaertn.) и лядвенец японский (*Lotus japonicus* (Regel) Larsen)). Таким образом, накапливались экспериментальные данные о растительно-микробных системах бобовых растений, выводы экстраполировались и на небобовые виды сельскохозяйственных растений, где это считалось целесообразным. Ниже, в разделе «Идеология и цель создания комплексных микробных удобрений/препаратов для повышения эффективности растениеводства» описание растительного генетического контроля симбиотических систем будет соответствовать исторически сложившемуся порядку: от бобовых к небобовым. В отношении микроорганизмов порядок будет несколько иной: после обзора основных групп благотворных микроорганизмов, ассоциированных с растением (см. раздел 2.1), будут рассмотрены механизмы взаимодействия наиболее хозяйственно значимых микроорганизмов (грибов арбускулярной микоризы и бактерий, стимулирующих развитие растений, включая клубеньковые бактерии) с растением.

Итак, в главе 1 описывается проблематика направления исследований в целом.

Глава 2 посвящена анализу данных научной литературы и собственных экспериментальных данных авторов для научного обоснования биологической целесообразности и природной «естественности» использования КМУ.

Глава 3 содержит принципы выбора субстрата-носителя и состав КМУ, а также принципы технологии его производства и контроля качества.

Глава 4 посвящена обзору результатов полевых испытаний КМУ на различных сельскохозяйственных культурах в разных

организациях и в различных регионах РФ. Приведены описания независимых исследований, проведенных определенными группами исследователей с применением методических подходов, характерных для использованной сельскохозяйственной культуры. Данный раздел задумывался как справочное пособие, что определило детальность изложения, и предназначен для селекционеров, агрономов и сельхозпроизводителей, специализирующихся на определенных культурах сельскохозяйственных растений.

Глава 5 посвящена обсуждению использования КМУ в селекции сельскохозяйственных растений на «эффективность взаимодействия с БМ» и предназначена для селекционеров сельскохозяйственных культур растений.

Глава 6 содержит рекомендации по применению КМУ на сельскохозяйственных предприятиях различного профиля и форм собственности, а также другими потенциальными потребителями КМУ.

В заключении формулируются общие выводы.

Идеология и цель создания комплексных микробных удобрений/препаратов для повышения эффективности растениеводства

*В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов, Г. А. Ахтемова
при участии В. А. Жукова, И. А. Тихоновича, О. Ю. Штарк*

2.1. Сосуществование растений и микроорганизмов

Наземные растения колонизованы микроорганизмами. Фенотип большинства наземных растений в природе — продукт согласованного и чрезвычайно скоординированного проявления генов растений и микроорганизмов. Фактически фенотип растения во многом является «расширенным фенотипом», зависящим от одного или нескольких микроорганизмов (Dawkins, 1999). Другими словами, растение и микроорганизмы, пребывающие в состоянии организменной, а следовательно, генетической и метаболической интеграции, представляют собой надорганизменную систему, обладающую адаптивными свойствами, которыми не обладают интегрированные в системе организмы по отдельности. Взаимовыгодные (мутуалистические) отношения микроорганизмов и растений первоначально рассматривали как интересные, но специфические случаи, которые характерны только для некоторых видов или семейств растений. Аналогично большинство микроорганизмов, колонизирующих (инфицирующих) растение, считали болезнетворными, оказывающими неблагоприятное воздействие на его развитие, особенно сельскохозяйственных растений и несколько меньше — дикорастущих видов, в природных фитоценозах. Однако присутствие микроорганизмов внутри и на поверхности растений

является правилом, а не исключением. Примерами этому являются микроорганизмы — патогены растений, мутуалистические грибные эндофиты, микоризные грибы, клубеньковые и другие азотфиксирующие бактерии, а также благотворные для растения микроорганизмы (БМ) ризосферы (зоны корней) и филлосферы (зоны листьев, надземной части растения). Многие из этих БМ развиваются внутри тканей растения (эндосферы) и поэтому являются эндофитами.

2.2. Эволюция растительно-микробных систем

Изучение окаменелых остатков первых наземных растений раннего девонского периода (> 400 млн лет назад) (Remy et al., 1994) и, более того, ордовикского периода (ок. 460 млн лет назад) (Redecker et al., 2000) показало наличие у них грибных структур, сходных, со структурами, формируемыми современными грибами арбускулярной микоризы. Таким образом, арбускулярная микориза (АМ), вероятно, играла критическую роль в эволюции наземных растений — обеспечила им возможность «выхода на сушу» (Brundrett, 2002; Bonfante, Genre, 2008). Это подтверждается тем фактом, что в палеозое окружающая среда, богатая оксидом углерода, усиливает положительное влияние АМ на развитие растений (Humphreys et al., 2010). Анатомия корневой системы современных наземных растений свидетельствует о том, что она эволюционировала в симбиозе с грибами АМ, которые колонизируют кору корня — специально созданную для них в эволюции экологическую нишу (Brundrett, 2002). Более 80% ныне существующих наземных растений формируют арбускулярную микоризу, а значит, «немикоризируемых» растений практически не существует ни в настоящее время, ни в истории эволюции наземных растений, а редкие исключения — это результат поздней утраты этой способности. Грибы АМ ассоциированы с большим количеством разнообразных бактерий и даже могут иметь эндосимбиотические бактерии в цитоплазме (Bianciotto et al., 2003; Artursson et al., 2006; Naumann et al., 2010), то есть гриб и бактерии взаимодействуют с растением в комплексе, дополняя друг друга по синергетическому

принципу, что явно сформировалось задолго до появления наземных растений.

Далее, листовые эндофиты были найдены у всех современных видов наземных растений (Arnold et al., 2000; Schulz, Boyle, 2005; Albrechtsen et al., 2010; Gilbert et al., 2010), что свидетельствует об эволюционной древности этой ассоциации. С другой стороны, исследования разнообразия микроорганизмов, ассоциированных с современными водорослями, предковые формы которых являются эволюционными предшественниками наземных растений, обнаружили десятки различных бактерий и грибов (Menezes et al., 2010).

Таким образом, логично предположить, что растения были ассоциированы с микроорганизмами в ходе всего процесса их эволюции, представляя собой растительно-микробный эволюционный континуум. Предположение касается мутуалистических симбиотических систем бобовых и эндофитных систем растений (Schulz, Boyle, 2005; Проворов и др., 2009; Shtark et al., 2012).

2.3. Основные группы микроорганизмов, ассоциированных с растениями

2.3.1. Микоризные грибы

Микоризные грибы формируют практически вездесущие ассоциации с корнями растения. Грибы получают доступ к ресурсам почвы и обменивают их на фотосинтаты растения (Smith, Read, 2008; Gehring, Bennett, 2009). Среди шести основных классов микоризных ассоциаций эктомикориза (ЭМ) и АМ изучены наилучшим образом. ЭМ формируется большинством древесных растений с разнообразными видами грибов, АМ — мхами, папоротниками, голосеменными и покрытосеменными растениями с грибами таксономического отдела *Glomeromycota* (Bonfante, Genre, 2008; Smith, Read, 2008; Gehring, Bennett, 2009; Ercolin, Reinhardt, 2011). Анатомически грибы АМ представляют собой полуэндофиты, потому что одна часть гриба входит в межклеточное пространство

и формирует симбиотический аппарат метаболической интеграции растения и гриба, а другая часть — плотную сеть мицелия в окружающей почве. Сеть наружного мицелия грибов АМ значительно увеличивает способность комплекса растение—гриб поглощать воду и минеральное питание из почвы, особенно фосфорное (Bonfante, 2010; Koltai, Kapulnik, 2010).

Уровень хозяйской специфичности грибов АМ низок, один мицелий может колонизировать многочисленные растения данного сообщества, которые принадлежат к разным видам (Ergolin, Reinhardt, 2011). Важно отметить, что некоторые грибы содержат в цитоплазме крайне специализированные эндосимбиотические бактериоподобные организмы, родственные бактериям класса *Mollicutes*, бактериям, не имеющим клеточной стенки (Naumann et al., 2010), в семействе грибов АМ *Gigasporaceae* был обнаружен другой бактериальный эндосимбионт, названный *Candidatus Glomeribacter gigasporarum* (Bianciotto et al., 2003). Данные факты свидетельствуют о сложности, многокомпонентности и эволюционной древности симбиоза АМ. Помимо положительного влияния на питание растения, микоризные грибы посредством различных механизмов положительно влияют на устойчивость подземной и надземной частей растений к стрессам (Gehring, Bennett, 2009; Hartley, Gange, 2009; Van Dam, Heil, 2011). Поскольку гифы грибов АМ соединяют различные отдельные растения в единую сеть, они формируют среду для передачи сигналов между растениями, как это было экспериментально показано на примере атаки фитофагов (Song et al., 2010; Babikova et al., 2013).

2.3.2. Азотфиксирующие клубеньковые бактерии

Второй классический пример весьма хорошо изученного мутуалистического растительно-микробного симбиоза формируют растения семейства *Fabaceae* (бобовые) и крайне генетически разнообразные клубеньковые бактерии (КБ), сгруппированные в порядке *Rhizobiales*, это специализированные органы растений — азотфиксирующие клубеньки (Kiers, Denison, 2008; Oldroyd,

Downie, 2008; Markmann, Parniske, 2009). В клубеньках бактерии дифференцируются в органеллоподобную симбиотическую форму — бактериоды, которые снабжают растение азотом, фиксированным из атмосферы, в обмен на фотосинтаты растения (Oldroyd, Downie, 2008; Brewin, 2010).

2.3.3. Грибные эндофиты первого типа (или грибные эндофиты семейства *Clavicipitaceae*)

Первые грибные эндофиты были обнаружены у определенных генотипов (сортов) овсяницы тростниковой (*Lolium arundinaceum* Schreb.) и родственных пастбищных трав (главным образом родов *Festuca* и *Lolium*) и вызывали отравления домашнего скота. В этих травах асексуальный производящий алкалоид гриб рода *Neotyphodium* оказывал отрицательный эффект при попадании в организм травоядных животных и насекомых-фитофагов (Clay, 1990). Эти грибные эндофиты первого типа (Yuan et al., 2010) представляют собой хорошо таксономически определенную группу грибов семейства *Clavicipitaceae*, которые вертикально передаются через семена их хозяев и вызывают системную колонизацию определенных трав. За счет производства алкалоидов эти эндофиты способствуют тому, что травоядные животные избегают их растений-хозяев, но многочисленные исследования также показали положительное влияние на засухоустойчивость и устойчивость к затоплению, а также на накопление биомассы и, как следствие, на продуктивность и конкурентоспособность растений-хозяев (Lehtonen et al., 2005; Schulz, Boyle, 2005).

2.3.4. Грибные эндофиты второго типа

Грибные эндофиты второго типа (класс эндофитов 3 (Rodriguez et al., 2009)) являются несистемными, горизонтально передаваемыми грибами. Их обнаружили сравнительно недавно

(Yuan et al., 2010). Многочисленные исследования показали высокое таксономическое разнообразие и частую встречаемость этих грибов, однако список таксономически различных видов этих грибов далек от завершения (Arnold et al., 2000; Frohlich et al., 2000; Higgins et al., 2011), а, следовательно, истинная оценка их потенциального значения в естественных экосистемах пока еще не дана. Группа грибных эндофитов второго типа включает таксоны, принадлежащие к отделам *Ascomycota* и *Basidiomycota* (Fisher, 1992; Frohlich et al., 2000; Arnold, Herre, 2003; Albrechtsen et al., 2010). Они изолируются из всех органов растения у 80–100% исследованных образцов, несколько различных таксонов могут быть изолированы из одного вида растений и даже из одного поверхностно стерилизованного листа, не имеющего признаков присутствия эндофитов. Например, из проса (*Panicum virgatum* L.) выделяются виды грибов, принадлежащие к 18 таксонам (Ghimire et al., 2011); 33 таксона эндофитных грибов были обнаружены в тканях осины обыкновенной (*Populus tremula* L.) (Albrechtsen et al., 2010); 60 таксонов были обнаружены в листьях и ветках дуба каменного (*Quercus ilex* L.) (Fisher et al., 1994); 58 — в листьях каучуковых деревьев гевея бразильская (*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg.) в Перу (Gazis, Chaverri, 2010); более чем 100 морфотипов — в тканях тропических пальм (Frohlich et al., 2000), и 418 различных грибных эндофитов были изолированы из листьев 83 различных видов тропических деревьев (Arnold et al., 2000). Важно отметить, что, по некоторым данным, грибные эндофиты второго типа обнаруживаются в тех же видах растений, что и эндофиты первого типа (Ghimire et al., 2011), хотя другие авторы находят в тропических травах только многочисленные эндофиты второго типа (Higgins et al., 2011). Информация о сосуществовании эндофитных грибов в одном растении-хозяине только накапливается, например, в *Hevea spp.* около шести разных эндофитов обнаруживали в одном образце листового диска (Partida-Martínez, Heil, 2011). На дикорастущих каучуковых деревьях наиболее часто встречались роды/таксоны грибов *Trichoderma*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Pestalotiopsis* и *Basidiomycota*, тогда как *Trichoderma*, *Pestalotiopsis*, *Colletotrichum*, *Xylariales* и *Basidiomycota* — на культурных деревьях. Наиболее распространенными комбинациями были *Pestalotiopsis* + *Trichoderma*

(75% деревьев), *Colletotrichum* + *Phomopsis* (50%), *Pestalotiopsis* + *Penicillium* (45%), *Pestalotiopsis* + *Colletotrichum* (30%) и *Pestalotiopsis* + *Trichoderma* + *Penicillium* (20%). Только *Pestalotiopsis* или *Trichoderma* были найдены на 10–15% деревьев, тогда как *Fusarium* — всегда в комбинации с *Trichoderma* или *Penicillium* (Partida-Martínez, Neil, 2011).

Для понимания механизмов возникновения ассоциаций грибных эндофитов в эволюции и принципов их комбинирования в определенных видах растений необходимо проанализировать значительно больший объем экспериментального материала в ближайшем будущем.

2.3.5. Бактериальные эндофиты

Таксономически и функционально бактериальные эндофиты представляют собой группу, в которую входят бактерии, оказывающие разнообразное благотворное влияние на метаболизм растений, включая азотфиксацию без образования клубеньков (Weyens et al., 2009). Вместе с ризосферными бактериями эти бактерии формируют многочисленную функциональную группу бактерий, стимулирующих развитие растений (от англ. *plant growth-promoting bacteria*, RGPB). Их стимулирующий эффект обеспечивают разнообразные механизмы:

- прямое поглощение минеральных элементов питания (азотфиксация, перевод неорганических фосфатов в биологически доступную форму, производство сидерофоров, облегчающих поглощение ионов металлов, и т.д.);
- синтез биологически активных гормоноподобных веществ;
- активация генов «устойчивости» растения;
- прямой антибиоз против болезнетворных микроорганизмов (Weyens et al., 2009).

Данные бактерии обычно принадлежат к следующим группам: *Pseudomonas* (в частности, многообразные штаммы *Pseudomonas fluorescens*), *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Azospirillum* и *Bacillus* (часто *Bacillus thuringiensis*). Однако методики выделения эндофитных бактерий обычно ориентированы на определенные

функциональные группы или оптимизированы для специфических бактериальных таксонов. По-видимому, истинное биоразнообразие эндофитных бактерий, которые колонизируют растения в природе, также недостаточно изучено (недооценено), как и биоразнообразие грибных эндофитов второго типа.

2.4. Мутуалистические (взаимовыгодные) растительно-микробные системы (симбиозы) бобовых растений с почвенными микроорганизмами

2.4.1. Основные растительно-микробные системы бобовых и возможность их использования в адаптивном растениеводстве

В современной концепции земледелия бобовые культуры (*Leguminosae* или *Fabaceae*) являются ключевым компонентом технологий производства сельскохозяйственной продукции растениеводства (Graham, Vance, 2003; <http://www.grainlegumes.com/aep/>). Бобовые способны к образованию по крайней мере двух типов мутуалистических (взаимовыгодных) эндосимбиозов: АМ с грибами *Glomeromycota* (Schüßler et al., 2001) и бобово-ризобияльного симбиоза (БРС) с КБ различных филогенетически удаленных друг от друга таксонов (*Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* и многими другими) (Sprent, 2001; Balachandar et al., 2007), объединяемых под названием «ризобии». Оба симбиоза характеризуются формированием специализированных симбиотических структур — компартментов и высокой степенью генетической и метаболической интеграции партнеров, эффективность функционирования этих симбиозов в значительной степени контролируется растением (Provorov et al., 2010).

Симбиотические взаимодействия с грибами АМ, к которым способны наземные растения большинства видов (более 80%), улучшают поглощение воды и минерального питания из почвы, прежде всего фосфора, повышают устойчивость растений к фитопатогенам и абиотическим стрессам. Важными экологическими функциями грибов АМ являются объединение растений различных

видов в фитоценозах, включая агрофитоценозы, посредством единой гифальной (мицелиальной) сети благодаря низкой специфичности взаимодействия с растением и участию в формировании структуры почвы (Smith, Read, 2008; Koltai, Kapulnik, 2010).

Особенностью БРС является высокая специфичность взаимодействия: определенные виды/штаммы (или группы) клубеньковых бактерий образуют совместимые пары лишь с определенными родами/видами/разновидностями (или группами) бобовых. При этом на корнях растений развиваются специализированные структуры — клубеньки, предоставляющие бактериям экологическую нишу и условия для фиксации атмосферного азота (Sprent, 2001; Dilworth et al., 2008). Благодаря образованию БРС бобовые растения могут расти в субстратах, не содержащих связанного азота. Осуществление процесса фиксации определяет значительную роль БРС в круговороте азота в природе (Vance, 2001).

Бобовые, как и многие другие растения, могут образовывать ассоциации с различными полезными для растений бактериями, стимулирующими развитие растений, как ризосферными, филлосферными, так и эндофитными, объединяемыми термином PGPR родов *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* и многих других. Для подобных ассоциаций не характерно формирование специализированных симбиотических структур, и взаимодействие с растением не является видо- или штаммоспецифичным, однако в генно-метаболической интеграции между партнерами не возникает сомнений. Описаны различные механизмы положительного влияния PGPR на рост растений, как прямого так и опосредованного. Важно отметить, что растение играет активную роль в подобном взаимодействии (Glick, 1995; Молекулярные основы, 2005; Compant et al., 2005; Bakker et al., 2007; Schulz et al., 2006).

Таким образом, мутуалистические симбиозы бобовых с благотворными для растений микроорганизмами, такими как грибы АМ, КБ, PGPR, предоставляют растениям дополнительные возможности для выживания в различных условиях, а микросимбионтам — экологическую нишу и продукты фотосинтеза (Bakker et al., 2007; White et al., 2007; Dilworth et al., 2008; Smith, Read, 2008; Koltai, Kapulnik, 2010). Такие растительно-микробные

системы способствуют поддержанию естественного плодородия почв и биологического разнообразия экосистем. Применение микробных препаратов (микробных удобрений) на основе БМ (Brockwell et al., 1995; Vance, 2001; Sessitsch et al., 2002; Кожемяков, Чеботарь, 2005; Чеботарь и др., 2007; Sandhu et al., 2010) позволяет снизить затраты на агрохимикаты и уменьшить хемотропную нагрузку на окружающую среду, что соответствует принципам адаптивного земледелия.

Результативность применения мономикробных биопрепаратов нередко оказывается низкой, что может быть связано с высокой конкуренцией или горизонтальным переносом генов между представителями аборигенной микрофлоры и интродуцентами (Brockwell et al., 1995; Glick, 1995). Кроме того, многие современные культурные сорта растений неэффективно взаимодействуют с БМ из-за того, что их селекция проводилась на фоне высоких доз минеральных удобрений и химических средств защиты растений, без учета признака эффективности взаимодействия с БМ, в результате произошли случайные (без давления отбора или селективного давления) потери ценных для взаимодействия с БМ аллелей растительных генов (Provogov, Tikhonovich, 2003; Shtark et al., 2012). В то же время именно растение, имеющее продолжительный жизненный цикл и более стабильную, чем микроорганизмы, структуру генома, является организующим и управляющим элементом взаимовыгодных растительно-микробных систем (Provogov, Vorobyov, 2009; Shtark et al., 2012). К сожалению, в современной селекционной работе повышению эффективности взаимодействия растений с БМ уделяется недостаточное внимание.

В последнее десятилетие благодаря использованию современных достижений в области молекулярной и клеточной биологии достигнут значительный прогресс в понимании механизмов взаимодействий во взаимовыгодных растительно-микробных системах. Установлено, что в генно-метаболической интеграции растений с разнообразными БМ задействованы сходные механизмы, которые, по-видимому, имеют общее эволюционное происхождение. В данном разделе основное внимание уделено общей роли растения в генетическом контроле формирования и функционирования различных взаимовыгодных растительно-микробных систем

(мутуалистических симбиозов бобовых и небобовых растений), рассмотрены современные представления об их эволюции. Обсуждается возможность и необходимость практического использования комплекса БМ для инокуляции сельскохозяйственно значимых видов растений, в частности при их селекции для повышения потенциала взаимодействий с БМ. Предложена концепция практического применения мутуалистических растительно-микробных взаимодействий в системах адаптивного земледелия и растениеводства.

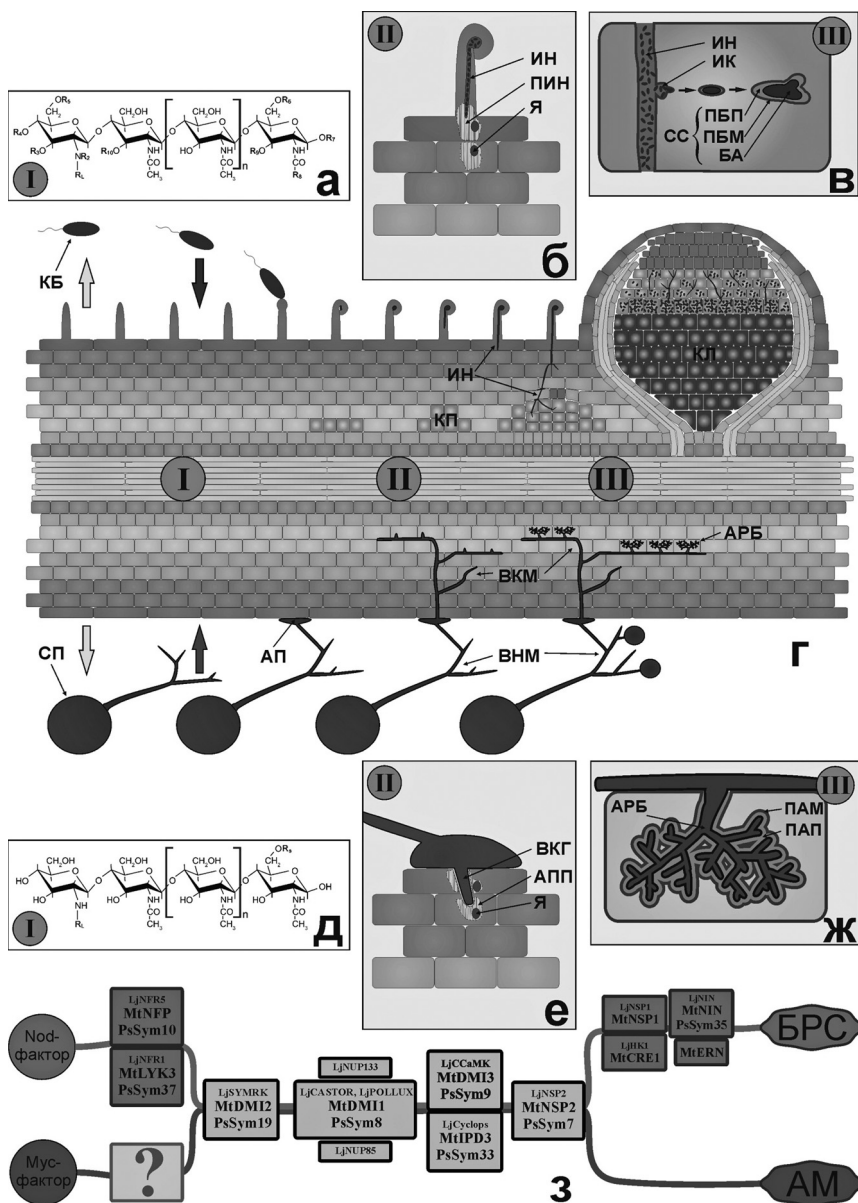
2.4.2. Развитие и функционирование мутуалистических симбиозов бобовых

2.4.2.1. Взаимное «узнавание» партнеров

Первым этапом формирования симбиозов между растениями и микроорганизмами является процесс обмена диффундирующими сигнальными молекулами, предшествующий физическому контакту и обеспечивающий взаимное обнаружение и узнавание партнеров (рис. 1, г).

В БРС роль специфических сигнальных молекул, выделяемых растением, принадлежит (изо)флавоноидам (Hirsch et al., 2001). В клетках КБ они индуцируют синтез Nod-факторов (от англ. *nodulation factor*) — липохитоолигосахаридных молекул, структура которых уникальна для каждой видовой комбинации «бактерия/растение» (D'Haese, Holsters, 2002; рис. 1, а). Растение, в свою очередь, распознает структуру Nod-факторов благодаря наличию специфических рецепторных белков и затем активирует программы развития БРС (Madsen et al., 2003; Radutoiu et al., 2003, рис. 1, з).

Известно, что при развитии АМ неспецифическими индукторами роста и ветвления грибных гифов могут служить фенольные соединения, включая флавоноиды, и сесквитерпены, известные также как индукторы прорастания спор растений-паразитов (Akiyama et al., 2005; Koltai, Kapulnik, 2010). Как и ризобии, грибы АМ, продуцируют сигнальные молекулы, которые растение способно узнавать. Они называются Мус-факторами (*mycorrhization factor*) (Kosuta et al., 2003) и представляют собой смесь несколь-



ких липохитоолигосахаридов, близких по структуре Nod-факторам ризобий (Maillet et al., 2011; [рис. 1, д](#)). Молекулы сесквитерпенов и Мус-факторов выделяются конститутивно и в отсутствие физического контакта партнеров симбиоза (Navazio et al., 2007).

Хемотаксис (направленное движение микроорганизмов по градиенту концентрации веществ-эффекторов) также можно рассматривать как важную составляющую процесса «узнавания» растением микроорганизмов. Так, было показано, что мутантные по подвижности и генам хемотаксиса штаммы ризосферных бактерий *Pseudomonas fluorescens* хуже колонизируют корни растения по сравнению с диким типом и не способны колонизировать корни при совместной инокуляции мутантного и дикого штаммов, то есть имеют пониженную конкурентоспособность (De Weger et al., 1987; Lugtenberg et al., 2001).

Рис. 1. Схема формирования БРС и АМ, включая взаимодействие на молекулярном и клеточном уровнях ([рисунок](#) выполнен Т. А. Неманкиным):

Основные этапы развития симбиоза: I — взаимное «узнавание» партнеров до установления физического контакта; II — проникновение микросимбионта в корень и его колонизация; III — формирование специализированных симбиотических структур, обеспечивающих метаболическую интеграцию партнеров симбиоза; *а, б, в* — БРС; *д, е, ж* — АМ; *з* — общая схема развития БРС и АМ. Химическая структура молекулярных сигналов микросимбионтов в общем виде (*а, д*): *а* — Nod-фактор: $n = 0-3$, $R_L = C16:0, C16:1, C18:0-C18:4, C18:1\Delta11Z$ или др., $R_2 = H$ или метил, R_3, R_4 и $R_5 = H$, карбомил или ацетил, $R_6 = H, SO_3H$, ацетил, фукозил, метил-фукозил, ацетил-метил-фукозил, сульфометил-фукозил или арабинозил, $R_7 = H$, глицерин или маннозил, $R_8 = H$ или метил, $R_9 = H$, фукозил или арабинозил, $R_{10} = H$, ацетил или фукозил; *д* — Мус-фактор: $n = 1$ или 2 , $R_L = C16:0, C16:1, C16:2, C18:0$ или $C18:1\Delta9Z$, $R_5 = H$ или SO_3H ; *б, е* — проникновение микросимбионтов в клетки корня; *в, ж* — формирование симбиотических структур; *з* — схема последовательного функционирования белковых продуктов регуляторных симбиотических генов (*Сут-генов*) в процессе развития БРС и АМ (описание — тексте); КБ — клубеньковая бактерия; Я — ядро растительной клетки; ПИН — преинфекционная нить; ИН — инфекционная нить; ИК — инфекционная капля; СС — симбиосома; БА — бактериоид; ПБМ — перибактероидная мембрана; ПБП — перибактероидное пространство; КП — клубеньковый примордий; КЛ — клубенек; СП — спора гриба АМ; АП — апрессорий; ВНМ — внешний мицелий; АПП — аппарат, предшествующий проникновению; ВКГ — внутрикорневая гифа; ВКМ — внутрикорневой мицелий; АРБ — арбускула; ПАМ — периарбускулярная мембрана; ПАП — периарбускулярное пространство

Взаимное узнавание партнеров происходит и на следующем этапе развития симбиоза — при установлении непосредственного контакта между микросимбионтом и корнем растения. Механизмы прикрепления бактерий к клеткам хозяина, по-видимому, являются универсальными. Как RGPB, так и ризобии (которые могут выступать в качестве RGPB при взаимодействии с небобовыми растениями) формируют биопленки на поверхности корней и синтезируют экзополисахариды, взаимодействующие с лектинами растительных клеток, что может определять специфичность симбиоза (Игнатов, 2005; Jones et al., 2007; Jones et al., 2008; Downie, 2010). Кроме того, некоторые экзополисахариды ризобий необходимы не только для прикрепления бактерий к корневому волоску, но и для успешного процесса колонизации, однако играют ли они при этом роль сигналов для растения, остается пока спорным (Jones et al., 2007; Fournier et al., 2008; Downie, 2010).

Процесс взаимного узнавания гриба АМ и растения при установлении физического контакта в симбиозе изучен слабо. Известно, что апрессории, или гифоподии (структуры прикрепления гриба АМ к корню) (Smith, Read, 2008; Koltai, Kapulnik, 2010), развиваются только в присутствии фрагментов клеточной стенки микотрофного растения (Nagahashi, Douds, 1997).

Важная роль в процессе узнавания на стадии прикрепления ризосферных бактерий к растению также отводится различным компонентам поверхности клеток (De Troch, Vanderleyden, 1996), например, молекулам белковой и гликопротеиновой природы — агглютиниnam (лектинам). Долгое время считали, что решающее значение во взаимоотношениях макро- и микросимбионтов играют растительные лектины, а бактериальная клетка рассматривалась только в качестве носителя углеводных антигенов (Линевич, 1979). Первые исследования по обнаружению бактериальных лектинов были посвящены изучению лектинов фимбрий (пилей) бактерий родов *Rhizobium*, *Klebsiella* и *Pseudomonas* (Vesper, Bauer, 1986). Однако недавно было обнаружено, что штаммы ризосферных азотфиксирующих бактерий *Bacillus polymyxa* несут агглютинирующие белки, равномерно распределенные по поверхности клетки, но перераспределяющиеся при контакте с растением (Карпунина, 2005).

Таким образом, взаимное узнавание партнеров, в котором важную роль играют как диффундирующие сигналы, так и непосредственное взаимодействие поверхностных молекул партнеров, является общим свойством мутуалистических симбиозов, образуемых бобовыми растениями и растениями вообще.

2.4.2.2. Процесс колонизации и формирования симбиотических компартментов

Растения играют активную роль в проникновении микросимбионтов в корень, причем при развитии различных симбиозов задействованы сходные механизмы (Genre, Bonfante, 2005; Fournier et al., 2008; Parniske, 2008). КБ проникают в корень большинства видов бобовых растений через клетку корневого волоска (ризодермы) (рис. 1, з). Колонизация корня (включая корневой волосок и кору) происходит через специальную тубулярную структуру (инфекционную нить), которая строится растением вглубь корня, от клетки к клетке. Образованию инфекционной нити предшествует формирование цитоскелетного цилиндра (преинфекционная нить) в клетках корня, определяющего направление развития инфекционной нити (van Brussel et al., 1992; рис. 1, б).

Проникновение гриба АМ в растение через клетки ризодермы и коры корня также происходит при участии цитоскелета хозяина. Формирующаяся при этом структура получила название «аппарат, предшествующий проникновению» (Genre, Bonfante, 2005; Koltai, Kapulnik, 2010; рис. 1, е). Наряду с перестройкой цитоскелета, проникновению ризобий и грибов АМ предшествуют миграция ядра и инвагинация цитоплазматической мембраны растительной клетки (Takemoto, Hardham, 2004; Timmers et al., 2007; Fournier et al., 2008; Koltai, Kapulnik, 2010), то есть глобальные перестройки структуры взаимодействующих с микроорганизмами клеток растения.

В месте проникновения ризосферных бактерий *Burkholderia sp.* в корни саженцев винограда (*Vitis L.*) также происходит модификация и истончение клеточной стенки, связанные с гидролизом ее компонентов при участии специализированных ферментов

бактерий — эндоглюканаз и эндополигалактуроназ (Compant et al., 2004). В модификации клеточных стенок растительных тканей принимают участие гидролитические ферменты растений протеиназы, β -глюкозидазы (Карпунина, 2005). Бактерии проникают в корень через ризодермальные и кортикальные клетки и, преодолев эндодерму, попадают в сосудистую систему корня (Compant et al., 2004).

В ходе эволюции БРС появился эндоцитозоподобный захват КБ цитоплазмой растительной клетки (Limpens et al., 2005; Проворов, 2009). При этом бактерии отделяются от инфекционной нити и окружаются перибактероидной мембраной (ПБМ) растительного происхождения, образуя симбиосомы (Brewin, 2004) (рис. 1, в). Внутри симбиосом КБ претерпевают дифференцировку в органеллоподобные структуры — бактериоиды, осуществляющие фиксацию атмосферного азота. При развитии «архаичных» БРС фиксация азота происходит без эндоцитоза в фиксационных нитях (Sprent, 2001; 2007; Brewin, 2004).

Одной из особенностей АМ является неразрывность мицелия гриба на всех стадиях развития симбиоза. Внутрикорневые и внешние участки мицелия остаются связанными с симбиотическими компартментами, обеспечивающими метаболическую интеграцию партнеров — арбускулами (Genre, Bonfante, 2005; рис. 1, г). Арбускулы, образующиеся в результате многократного дихотомического ветвления грибной гифы в клетках внутренней коры корня, окружены периабускулярной мембраной (ПАМ) (Smith, Read, 2008; рис. 1, ж) растительного происхождения, которая гомологична ПБМ симбиосомы (Parniske, 2000; 2008).

Симбиотические мембраны (ПБМ и ПАМ) обеспечивают метаболическую интеграцию партнеров при эндосимбиозах (БРС и АМ соответственно). Между симбиотической мембраной и клеткой микросимбионта формируется активное пространство (перибактероидное для БРС или периабускулярное для АМ), содержащее полисахариды и ферменты, синтезируемые обоими партнерами и обеспечивающие метаболическую интеграцию симбионтов (Parniske, 2000; Brewin, 2004; Genre, Bonfante, 2005; Fournier et al., 2008; Koltai, Kapulnik, 2010), что также отражает эволюционное родство БРС и АМ.

Проникая в растение, эндофитные бактерии *Bacillus sp.* не образуют специфических симбиотических компартментов, как это характерно, например, для БРС, и способны либо локализовываться в межклеточном пространстве в месте проникновения, либо распространяться по всему растению по сосудам (Sturz, Nowak, 1997; Shishido et al., 1999). Источником эндофитных бактерий в растении, по-видимому, является ризосферная микрофлора: многие почвенные бактерии могут проникать внутрь корня и колонизировать его эндосферу. Дополнительными точками проникновения могут служить корневые волоски, места формирования боковых корней и повреждения поверхностных тканей растения (Di Fiore, Del Gallo, 1995).

2.4.2.3. Регуляция растением развития и функционирования мутуалистических симбиозов

В клубеньках, микоризованных корнях и при взаимодействиях растений с RGPB наблюдается активация процессов, сходных с защитными реакциями растения на патогены (Gianinazzi-Pearson, 1996; Preston, 2004; Vallad, Goodman, 2004; Tikhonovich, Provorov, 2007; Jones et al., 2007; Koltai, Kapulnik, 2010). Следует отметить, что при мутуалистических взаимодействиях эти реакции растения менее выражены, чем при патогенезе, и, вероятно, находятся под контролем регуляторных симбиотических генов. Химическими веществами, вызывающими защитные реакции растения (элиситорами) при взаимодействиях с БМ, по-видимому, могут служить Nod-фактор и специфические поверхностные полисахариды ризобий (Jones et al., 2007), Мус-фактор и/или компоненты клеточной стенки грибов АМ (Garcia-Garrido, Ocampo, 2002) и целый ряд молекул, находящихся на поверхности или секретируемых RGPB (Preston, 2004). Считается, что активация защитных механизмов растения в результате инокуляции БМ может быть одной из причин повышения системной устойчивости растения к патогенам (Preston, 2004; Vallad, Goodman, 2004; Koltai, Kapulnik, 2010).

Кроме локальной регуляции развития мутуалистических эндосимбиозов, бобовые обладают также системной авторегуляцией,

которая позволяет обеспечивать баланс симбиотрофного питания с энергетически более выгодным — автотрофным (Caetano-Anolles, Gresshoff, 1991) и проявляется, в частности, в ингибировании развития БРС нитратами, а в случае АМ — биологически доступными фосфатами. Нарушение системной авторегуляции приводит к образованию избыточного количества симбиотических структур как при БРС (Caetano-Anolles, Gresshoff, 1991; Krusell et al., 2002; Gresshoff et al., 2009), так и при развитии АМ (Morandi et al., 2000).

Значительную роль в регуляции симбиотических взаимодействий с микроорганизмами играет и гормональная система растений. Например, цитокинин играет роль одного из главных позитивных регуляторов БРС (Murray et al., 2007; Tirichine et al., 2007) и АМ (Barker, Tagu, 2000). Этилен, являющийся универсальной сигнальной молекулой, запускающей защитные реакции растения в ответ на стрессовые условия, снижает патогенную инфекцию (Bleecker, Kende, 2000), а также играет роль негативного регулятора в формировании БРС (Gresshoff et al., 2009), АМ (Geil et al., 2001) и при взаимодействии с PGPB (Vallad, Goodman, 2004).

Таким образом, несмотря на значительные различия в таксономии, специфичности, структурной организации и механизмах положительного влияния мутуалистических микросимбионтов на рост растений, существуют общие биологические основы формирования и функционирования взаимовыгодных растительно-микробных систем, что свидетельствует об эволюционной древности данных взаимодействий. Наиболее выраженное сходство выявляется при сравнении развития БРС и АМ на этапах узнавания (Nod- и Мус-факторы), колонизации (преинфекционная нить и аппарат, предшествующий проникновению), формирования симбиотических компартментов (инфекционная нить и внутри-корневой мицелий, ПБМ и ПАМ), индукции локальных защитных реакций, их интенсивности и принципов системной регуляции. Некоторые общие механизмы (прикрепление клубеньковых бактерий к корню или активация защитных реакций растения) реализуются и при взаимодействии с PGPB. Следовательно, должны существовать сходные системы генетического контроля различных мутуалистических симбиозов (в том числе со стороны растения).

2.4.3. Генетическая система бобовых, контролирующая развитие и функционирование взаимовыгодных (мутуалистических) растительно-микробных систем

2.4.3.1. Регуляторные гены бобовых, контролирующие развитие и функционирование бобово-ризобияльного симбиоза и арбускулярной микоризы

Изучение в течение последних 20 лет симбиозов, формируемых люцерной японским (*Lotus japonicus* (Regel.) Larsen) и люцерной слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) — модельными объектами молекулярной симбиотической генетики растений (Жуков и др., 2009), позволило выявить основные закономерности развития и функционирования мутуалистических симбиозов бобовых. Благодаря высокому уровню макро- и микросинтезии геномов бобовых, полученная информация может быть использована для анализа сельскохозяйственно-значимых культур бобовых, таких как клевер (*Trifolium* sp.), соя (*Glycine max* Merr.), фасоль (*Phaseolus vulgaris* L.) и горох (*Pisum sativum* L.) (Жуков и др., 2009; Young, Udvardi, 2009).

Для идентификации генов бобовых, вовлеченных в развитие и функционирование симбиозов, традиционно используют два подхода: экспериментальный мутагенез, позволяющий выявлять однокопийные регуляторные гены (*Sym*-гены) (Lie, Saikkonen, 1971), и анализ дифференциальной экспрессии генов — для поиска генов, кодирующих «молекулярную машину» симбиоза (ферменты и структурные компоненты).

Первые симбиотические гены были идентифицированы у спонтанных мутантов бобовых растений из природных популяций (Nutman, 1946) и позже — у экспериментально полученных мутантов с нарушениями образования клубеньков и/или азотфиксации (Jacobsen, 1984). Большинство *Sym*-генов экспрессируется только в корнях, что было показано методом прививок (Duc, Messenger, 1989), и, по-видимому, участвует в локальной регуляции симбиоза. Удивительно, что мутации, затрагивающие способность растения к формированию БРС, в некоторых случаях нарушали также

развитие АМ (Gianinazzi-Pearson, 1996). Было сделано предположение о наличии общих генов, необходимых для развития обоих мутуалистических симбиозов бобовых, которое было подтверждено после клонирования и секвенирования серии *Sym*-генов бобовых растений. Данный факт явно указывал на эволюционное родство АМ и БРС (Gianinazzi-Pearson, 1996).

Благодаря изучению молекулярно-биохимических функций продуктов *Sym*-генов было выяснено, что они контролируют рецепцию сигнальных молекул микросимбионта и последующую передачу этого сигнала, а также регулируют экспрессию генов «молекулярной машины» симбиоза (ферментов и структурных компонентов). Показана также роль некоторых *Sym*-генов в системной регуляции образования БРС и АМ (Parniske, 2008; Жуков и др., 2009; Provorov et al., 2010; Shtark et al., 2010; Madsen et al., 2010). Секвенирование (определение последовательности гена) общих *Sym*-генов, необходимых как для развития БРС, так и АМ (LjSYMRK/MtDMI2/PsSym19; LjCASTOR, LjPOLLUX/MtDMI1/PsSym8; LjCCaMK/MtDMI3/PsSym9), показало, что они кодируют ключевые компоненты общего для обоих симбиозов сигнального каскада, обозначенного как общий симбиотический путь (CSP, от англ. *common symbiotic pathway*) (Parniske, 2008; Жуков и др., 2009; Provorov et al., 2010; Shtark et al., 2010; [рис. 1, з](#); [табл. 1](#)). К CSP может быть также отнесен ген LjCYCLOPS/MtIPD3/PsSym33, взаимодействующий с LjCCaMK/MtDMI3/PsSym9 ([табл. 1](#)), функция которого, однако, различается при развитии БРС и АМ. Кроме того, известны гены, не относящиеся к CSP, например LjHAR1/MtSUNN/PsSym29, задействованный в системной регуляции БРС и АМ, а также ген LjNSP2/MtNSP2/Pssym7 ([табл. 1](#)), кодирующий регулятор транскрипции. Таким образом, при формировании БРС и АМ как трансдукция сигнала микросимбионтов, так и регуляция интенсивности развития симбиоза частично реализуются за счет общих для БРС и АМ генов.

Мутации в *Sym*-генах, ортологичных (имеющих общее происхождение от предкового бобового) у люцерны, лядвенца и гороха, характеризуются сходным фенотипическим проявлением, что свидетельствует об отсутствии у них принципиальных отличий в регуляции развития и функционирования мутуалистических

симбиозов (Жуков и др., 2009; Provorov et al., 2010) и в очередной раз подтверждает закон о рядах гомологической изменчивости Н. И. Вавилова (Vavilov, 1922). Гены, ортологичные генам CSP, обнаружены также у небобовых растений (Zhu et al., 2005), например у риса (*Oryza sativa* L.) (табл. 1). В частности, ген, гомологичный LjSYM/RK/MtDMI2/PsSym19, кодирующий рецепторную киназу, выявлен у представителей большинства таксонов высших растений, образующих актиноморфные клубеньки (симбиоз с актинобактериями *Frankia sp.*, близкий к БРС эволюционно и функционально) и/или АМ (Markmann, Parniske, 2009). Это позволяет предположить, что система регуляции развития АМ может быть одинакова для всех растений, способных к его образованию (Provorov et al., 2010). В то же время у семейства капустных (*Brassicaceae*) (ранее крестоцветных), в частности у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., способность к микоризации утрачена в ходе эволюции, и отсутствует большая часть генов, гомологичных генам CSP (Zhu et al., 2005; табл. 1).

2.4.3.2. Нодулины, микоризины

и симбиозины («молекулярная машина» симбиоза)

Анализ дифференциальной экспрессии генов делает возможным изучение генов и генных семейств, которые кодируют «молекулярную машину» симбиоза (ферменты и структурные компоненты) и необходимы для обеспечения метаболической интеграции симбионтов. Гены растений, кодирующие нодулины, молекулярные продукты, характерные для БРС, и микоризины, характерные для АМ, были идентифицированы методами «обратной генетики» путем выявления белков и мРНК, синтезируемых *de novo* в симбиотических клубеньках или корнях, колонизированных грибами АМ («симбиотизированных» тканях растения). Гены, экспрессия которых индуцируется при развитии как БРС, так и АМ, получили название симбиозинов (Küster et al., 2007). Предполагается, что индуцируемые гены кодируют ферменты усвоения фиксированного азота и фосфора, транспорта метаболитов через ПБМ и ПАМ, структурные компоненты симбиотических компартментов тканей и клеток растения, модуляторы

Таблица 1. Общие регуляторные симбиотические гены бобовых и их ближайшие

Предполагаемая роль в симбиозе	Предполагаемая функция генного продукта	Ген бобовых	
		<i>Lotus japonicus</i>	<i>Medicago truncatula</i>
Трансдукция сигнала микросимбионта (общий симбиотический путь, CSP)	Рецепторная киназа	LjSYMRK	MtDMI2
	Катионный канал	LjCASTOR, LjPOLLUX	MtDMI1
	Ca ²⁺ /кальмодулин-зависимая киназа (CCaMK)	LjCCaMK	MtDMI3
	Белок, взаимодействующий с CCaMK	LjCYCLOPS	MtIPD3
Регуляция экспрессии генов, участвующих в развитии инфекции и органогенезе клубенька	Регулятор транскрипции из GRAS-семейства	LjNSP2	MtNSP2
Системная регуляция	Рецепторная киназа	LjHAR1	MtSUNN

гормонального статуса растений и др. (Gianinazzi-Pearson, 1996; Kistner et al., 2005; Küster et al., 2007).

Следует отметить, что редкие нодулины, выявленные по повышению уровня их экспрессии в клубеньках, например LjENOD40a, LjENOD40b/MtENOD40/PsENOD40 (ENOD, от англ. *early*

гомологи у небобовых растений

растений		Ген небобовых растений		Литературный источник
	<i>Pisum sativum</i>	<i>Oryza sativa</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	
	PsSym19	OsSYM RK	Отсутствует	Endre et al., 2002; Stracke et al., 2002; Zhu et al., 2005; Markmann, Parniske, 2009
	PsSym8	OsDMI1	At5g49960	Ané et al., 2004; Imaizumi-Anraku et al., 2005
	PsSym9	OsDMI1	Отсутствует	Levy et al., 2004; Mitra et al., 2004; Zhu et al., 2005; Tirichine et al., 2006
	PsSym33	OsIPD3	Отсутствует	Messinese et al., 2007; Chen et al., 2008; Yano et al., 2008; Ovchinnikova et al., 2011
	PsSym7	OsNSP2	At4g08250	Kalo et al., 2005; Zhu et al., 2005; Murakami et al., 2007; Yokota et al., 2010; Dolgikh et al., 2011; Maillet et al., 2011
	PsSym29	OsFON1	AtCLAVATA1	Krusell et al., 2002; Nishimura et al., 2002; Suzaki et al., 2004; Schnabel et al., 2005

nodulin — ранний нодулин, появляющийся на ранних стадиях взаимодействия симбионтов) являются однокопийными генами, кодирующими транскрипционные регуляторы или компоненты мембран и поэтому также могут исполнять регуляторную функцию, как и Sym-гены (Kumagai et al., 2006; Wan et al., 2007).

В большинстве случаев нодулины, микоризины и симбиозины играют опосредованную Sym-генами роль при развитии симбиозов, определяя их стабильность и эффективность (Küster et al., 2007; Kumagai et al., 2006; Wan et al., 2007). По этому, вероятно, симбиозины могут быть детерминантами количественных признаков, характеризующих эффективность и продуктивность симбиозов. Наличие симбиозин у бобовых также свидетельствует об эволюционной связи и общем генетическом базисе программ развития БРС и АМ.

2.4.3.3. Генетический контроль взаимодействия бобовых растений с бактериями, стимулирующими их развитие

При взаимодействии растений с RGPB также наблюдается генетическая интеграция симбиотических партнеров, но менее выраженная, чем при БРС и АМ. Специфичность взаимодействия растений с RGPB невысока, однако показано, что его эффективность зависит как от генотипа бактерии, так и от генотипа растения-хозяина (Smith, Goodman, 1999; Belimov et al., 2000; Preston, 2004). Несмотря на отсутствие видимой структурной дифференциации партнеров при формировании ассоциаций растений с RGPB, в их развитие вовлечен ряд молекулярных механизмов, характерных для развития АМ и БРС (Preston, 2004; Игнатов, 2005; Sanchez et al., 2005). У *M. Truncatula*, например, при взаимодействии с *Pseudomonas fluorescens* индуцируется экспрессия ряда генов-микоризинов, в регуляции которых задействован ген CSP MtDMI3 (Sanchez et al., 2005). Мутация в данном гене приводит к снижению численности псевдомонад, колонизирующих внутренние ткани корня, но не влияет на количество бактерий, ассоциированных с его поверхностью (Sanchez et al., 2005). Следовательно, ген MtDMI3 является общим геном не только для БРС и АМ, но также для ассоциаций растений с RGPB и, по-видимому, контролирует проникновение симбиотических микроорганизмов в ткани корня растения.

Таким образом, существование общих механизмов генетического контроля рассмотренных выше растительно-микробных систем со стороны растения, высокая консервативность последовательностей симбиотических генов свидетельствуют об общих

эволюционных корнях мутуалистических симбиозов всех наземных растений. Вероятно, значительная часть генов, контролирующих эволюционно более «молодой» БРС, не возникла *de novo* в процессе эволюции, а была заимствована из других программ развития растения, в первую очередь — формирования АМ и ассоциаций с РГРВ. Следовательно, за образование и функционирование БРС, АМ и ассоциаций с РГРВ у бобовых ответственна единая система (разумеется, имеющая ряд элементов, специфичных для конкретных симбиозов), и этот факт необходимо учитывать в селекционных программах, направленных на повышение эффективности функционирования взаимовыгодных растительно-микробных систем в агроценозах как бобовых, так и небобовых растений.

2.4.4. Эволюционная история различных растительно-микробных систем бобовых

АМ существует уже более 400 млн лет и в настоящее время рассматривается в качестве предковой формы некоторых мутуалистических эндосимбиозов наземных растений с микроорганизмами (Brundrett, 2002; Parniske, 2008; Проворов, 2009; Provorov et al., 2010). Эта гипотеза подтверждается данными палеоботаники (Remy et al., 1994) и молекулярной филогении растений и грибов АМ (Schüßler et al., 2001; Redecker, 2002). Грибы *Glomeromycota* представляют собой уникальную монофилетическую группу, предок которой является более древним, чем первые наземные растения (Schüßler et al., 2001), и, по-видимому, произошел от грибов, ассоциированных с водными растениями. Как предполагается, появление способности растений к образованию мутуалистического симбиоза с грибами АМ позволило им перейти к наземному образу жизни. Анатомия корневой системы современных микотрофных растений свидетельствует о том, что она эволюционировала в симбиозе с грибами АМ (Brundrett, 2002).

БРС появился в эволюции значительно позже АМ, поскольку возраст бобовых (семейство *Fabaceae*) насчитывает около 60 млн лет (Sprent, 2007). В то время как КБ принадлежат к различным

филогенетически удаленным друг от друга таксонам (Sprent, 2001; Balachandar et al., 2007), все растения, способные формировать азотфиксирующие клубеньки, включая БРС и актинориз, принадлежат к единому таксону — кладе Розиды I (Эурозиды I) (Sprent, 2007). Вероятно, общий предок этой клады не формировал клубеньки, но уже имел определенные преадаптации, позволившие этим симбиозам появиться в ходе эволюции. Эти преадаптации могут быть разделены на две относительно независимые группы:

- различные механизмы, необходимые для формирования АМ, в том числе контроль микросимбионта в тканях растения;
- способность растения к индукции формирования новых специальных тканей/органов и внутриклеточных компартментов, характерных для различных азотфиксирующих симбиозов (Проворов, 2009; Shtark et al., 2012).

Методами генетики, клеточной и молекулярной биологии получен обширный материал для анализа преадаптаций первой группы. Выявлено множество сходных процессов в ходе развития БРС и АМ, а также общих генов бобовых (Sym-генов и генов симбиозиннов), участвующих в них (см. раздел 2.2). Некоторые из этих процессов, в частности регулируемых генами CSP, также задействованы в механизмах взаимодействия растений с PGPB (Sanchez et al., 2005) и актинобактериями (Markmann, Parniske, 2009). Таким образом, некоторые гены, вовлеченные во взаимодействие растений и грибов АМ, были «заимствованы» растениями для использования в программах развития БРС и других мутуалистических растительно-микробных симбиозов. С генетической системой, контролирующей развитие АМ, по-видимому, в значительной степени совпадает генетическая система растения, контролирующая развитие корней и минеральное питание, поскольку корневые системы современных наземных растений эволюционировали, очевидно, при постоянном взаимодействии с грибами АМ (Brundrett, 2002), т. е. эволюционировала симбиотическая система — АМ.

Важную роль в эволюции взаимодействий растений и микроорганизмов играют конвергенция и параллельная эволюция, а точнее совместная (сопряженная, согласованная) эволюция в рамках единой системы. Растения обладают универсальными генными системами (Cronk et al., 2002), способными контролировать

базовые функции эндосимбиоза (например, контроля симбионта во внутренних тканях), появившиеся, по-видимому, задолго до выхода на сушу. По-видимому, наземные растения-хозяева в ходе продолжающейся коэволюции с различными микроорганизмами развивали изначально сходные механизмы (Проворов, 2009). В свою очередь, различные группы БМ могли приобретать сходные механизмы адаптации к существованию в непосредственном контакте с различными тканями уже наземных растений, используя более эволюционно древние программы развития, например программу развития АМ (Проворов и др., 2008; Проворов, 2009; Shtark et al., 2012). Действительно, микросимбионты многих других мутуалистических растительно-микробных симбиозов, включая КБ (Sprent, 2001; Balachandar et al., 2007), представляют собой полифилетические группы, что свидетельствует о более позднем появлении этих симбиозов в эволюции, чем АМ.

Наиболее яркий пример такой адаптации микроорганизмов — приобретение различными неродственными видами КБ способности к синтезу Nod-фактора. Эта молекула, близкая по структуре к Мус-фактору грибов АМ (Maillet et al., 2011), является хитин-подобным соединением, нехарактерным для граммотрицательных бактерий, к которым принадлежат КБ. Предполагается, что «первые» ризобии использовали стратегию молекулярной мимикрии, впоследствии способность к синтезу Nod-фактора распространилась среди почвенных бактерий путем горизонтального переноса генов (Проворов, 2009) и данная система эволюционировала в сторону повышения специфичности взаимодействия.

Существует несколько гипотез происхождения КБ. Согласно наиболее распространенному мнению, ризобии могли произойти от патогенных бактерий или RGPB, например от агробактерий, что подтверждается экспериментами с использованием замены плазмид агробактерий на плазмиды ризобий и наоборот, или азоспирилл, на что может указывать их таксономическое сходство с некоторыми ризобиями (Sprent, 2001; Проворов, 2009). Эта гипотеза подтверждается также тем, что ризобии могут выступать в качестве RGPB (ризосферных и эндофитных) для некомплементарных видов бобовых и широкого спектра растений, не являющихся бобовыми (Sessitsch et al., 2002), таким образом, вероятно, отражая ранние этапы эволюции КБ.

Вероятными предшественниками «первых» ризобий являются бактерии — спутники грибов АМ, среди которых есть внутриклеточные или обитающие на поверхности мицелия (включая бактерии-азотфиксаторы) (Bianciotto et al., 2003; Barea et al., 2005; Artursson et al., 2006; Лабутова, 2009; Naumann et al., 2010; Shtark et al., 2012). Именно грибы АМ могли служить эффективным средством доставки бактерий в ткани растений, и, возможно, «первые» ризобии получили гены, необходимые для синтеза хитин-подобных сигналов, напрямую от грибов (Hirsch et al., 2001). Обнаружено таксономическое родство бактерий, формирующих БРС с относительно древним подсемейством бобовых — мимозовыми (*Mimosoideae*), с некоторыми бактериальными эндосимбионтами грибов АМ (Minerdi et al., 2002; Balachandar et al., 2007). Для понимания роли этих бактерий в эволюции БРС необходимы дальнейшие сравнительные молекулярно-генетические исследования разнообразных видов ризобий и бактериальных спутников грибов.

Важно отметить, что в норме колонизация корней растения грибами АМ не сопровождается патогенезом корня растений (Smith, Read, 2008), следовательно, существует высокая эволюционно выверенная избирательность грибов АМ в отношении бактериальных спутников. Эта избирательность является важным фактором поддержания многосторонней мутуалистической симбиотической системы и устраняет нежелательные (патогенные) для растения и, соответственно, для всей мутуалистической системы сопутствующие микроорганизмы.

Таким образом, предполагается, что в ходе всего процесса своей эволюции растения были ассоциированы с микроорганизмами, представляя собой растительно-микробный эволюционный континуум, как это было предположено для мутуалистических симбиотических систем бобовых (Schulz, Boyle, 2005; Проворов и др., 2009; Shtark et al., 2012). Это явно подтверждается исследованиями разнообразия микроорганизмов, ассоциированных с водорослями, обнаружившими десятки разнообразных бактерий и грибов, ассоциированных с ними (Menezes et al., 2010). Итак, эволюция БРС, возможно, происходила путем преобразования, а точнее расширения, ранее сложившихся в эволюции генетических систем взаимодействия с другими БМ, включая АМ, которое не сопровождалось вытеснением исходных симбионтов.

2.5. Перспективы использования взаимодействий растений с благотворными микроорганизмами в сельскохозяйственной практике

2.5.1. Потенциал использования комплексных микробных удобрений на основе благотворных микроорганизмов

Ризосфера является динамичной средой, где микроорганизмы подвержены влиянию корневых экссудатов и внутри- и межвидовым взаимодействиям друг с другом и с растением (Barea et al., 2005). Сложно организованная АМ модифицирует окружающую среду, формируя микоризосферу (Barea et al., 2005). Например, стимуляция корневых выделений в результате взаимодействия с грибами АМ приводит к качественным и количественным изменениям бактериального сообщества ризосферы (Barea et al., 2005; Artursson et al., 2006). Грибы АМ проявляют синергизм при взаимодействии с RGPB (как аборигенными, так и интродуцированными), осуществляющими биоконтроль, фиксацию азота и мобилизацию фосфатов при двойной и комплексной инокуляции (Barea et al., 2005). Формирование АМ усиливает образование клубеньков бобовыми растениями и фиксацию азота ризобиями, в частности за счет стимуляции минерального (преимущественно фосфорного) питания растения-хозяина (Barea et al., 2005).

Как уже отмечалось выше, жизнедеятельность грибов АМ тесно связана с симбиотическими бактериями (Barea et al., 2005; Artursson et al., 2006; Лабутова, 2009). Известно, что они могут стимулировать рост грибов АМ на пресимбиотической стадии развития, предшествующей установлению непосредственного контакта микросимбионта с корнем растения (Barea et al., 2005). Описан случай образования фертильных спор грибом АМ под воздействием бактерий *Paenibacillus validus* даже в отсутствие растения-хозяина (Hildebrandt et al., 2006).

Хорошо известен синергетический эффект совместной инокуляции растений ризобиями и RGPB (азоспириллами, бациллами, псевдомонадами), в частности, связанный с продукцией RGPB индолил-3-уксусной кислоты, стимулирующей образование

клубеньков (Barea et al., 2005; Bakker et al., 2007). Актинобактерии *Streptomyces* также оказывают положительное действие на формирование и функционирование клубеньков гороха (Tokala et al., 2002).

Таким образом, потенциал микробного синергизма на фоне общих эволюционных истоков различных мутуалистических растительно-микробных систем позволяет говорить о перспективности биотехнологий создания многокомпонентных симбиозов (МКС), повышающих урожайность и качество сельскохозяйственных бобовых и небобовых культур, то есть о перспективности разработки биотехнологий производства и применения КМУ на основе БМ.

В то же время результаты экспериментов с мультимикробными системами, включающими грибы АМ, ризобии и RGPB демонстрируют важную роль физиологической и генетической адаптации микроорганизмов к локальным условиям окружающей среды (Requena et al., 1997, 2001). Следовательно, при разработке таких биотехнологий рекомендуется использовать совокупность местных микробных изолятов, адаптированную к конкретным условиям окружающей среды.

2.5.2. Селекция сельскохозяйственных видов растений на повышение потенциала взаимодействий с благотворными микроорганизмами

Результаты вегетационных и полевых экспериментов с использованием гороха (*P. sativum*) (Якоби и др., 2000; Борисов и др., 2002, 2004; Штарк и др., 2006) и сои (*G. max*) (Лабутова и др., 2004; Лабутова, Левина, 2008) и комплексной инокуляции БМ продемонстрировали возможность использования потенциала взаимодействий растения с БМ в сельскохозяйственном производстве для уменьшения (оптимизации, минимизации) доз минеральных удобрений и химических средств защиты растений.

При изучении коллекции ФГБНУ «ВИР им. Н. И. Вавилова» был выявлен высокий уровень генетического полиморфизма у гороха (*P. sativum*) по признаку «симбиотическая эффективность» и отобраны генотипы, отличающиеся контрастной эффективностью

МКС (Якоби и др., 2000; Борисов и др., 2002). Генотипы гороха с наиболее высокой симбиотической эффективностью были вовлечены в селекционный процесс. Сходный полиморфизм по признаку «эффективность взаимодействия с БМ» следует ожидать у других видов бобовых и небобовых растений. Целесообразность оценки потенциала взаимодействия с БМ и создания селекционных программ на повышение данного признака не подвергается сомнению.

Позже среди современных сортов гороха, созданных без учета потенциала взаимодействия с БМ, были выявлены генотипы, обладающие как высокой симбиотической эффективностью, так и необходимой архитектоникой растения, которые могут быть непосредственно включены в селекционные программы (Борисов и др., 2004; Штарк и др., 2006). Было показано, что при использовании определенных генотипов гороха, эффективных во взаимодействии с БМ, комплексная инокуляция БМ оказывает действие, сравнимое с применением полной дозы минеральных удобрений (Борисов и др., 2004; Штарк и др., 2006). Экспериментально доказано, что в качестве критериев для оценки эффективности взаимодействия растений с БМ нужно использовать показатель увеличения их биомассы и семенной продуктивности за счет инокуляции комплексом БМ, а не параметры развития мутуалистических растительно-микробных систем (Борисов и др., 2004; Штарк и др., 2006). Таким образом, были обоснованы возможность и целесообразность, а следовательно, необходимость ведения селекции растений на повышение потенциала взаимодействий с БМ. Селекционные программы, направленные на повышение эффективности симбиозов бобовых растений, следует проводить с учетом знаний о процессах развития мутуалистических симбиозов. В частности, последовательности генов растения, определяющих стабильность и эффективность симбиозов, могут быть использованы в качестве ДНК-маркеров, облегчающих селекцию сортов бобовых растений с высокой эффективностью взаимодействия с БМ.

2.6. Научное обоснование использования комплексных микробных удобрений в практике адаптивного растениеводства

В царстве растений взаимодействия с микроорганизмами происходят повсеместно. Растениям угрожают болезнетворные (паразитические) микроорганизмы, но еще более распространенными являются условно нейтральные и взаимовыгодные (мутуалистические) взаимодействия с микроорганизмами, к ним относятся подземные микробные партнеры растений: микоризные грибы, КБ, и ризосферные бактерии, стимулирующие развитие растений; внутренние ткани органов растений (эндосфера) колонизированы эндوفитными микроорганизмами, а поверхностные — эпифитными (Partida-Martínez, Heil, 2011).

Предполагается, что растения были ассоциированы с микроорганизмами в ходе всего процесса их эволюции, представляя собой растительно-микробный эволюционный континуум, как и в случае мутуалистических симбиотических систем бобовых (Schulz, Boyle, 2005; Проворов и др., 2009; Shtark et al., 2012). Таким образом, в природных и агрофитоценозах растение, абсолютно свободное от микроорганизмов, является экзотическим исключением, а не эволюционно выверенной и биологически оправданной нормой.

Сложное взаимодействие микробных сообществ с растением-хозяином, определяемое генетической интеграцией партнеров, затрагивает целый спектр его жизненных функций: питание, регуляцию роста и развития, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам и заселение новых территорий. Механизмы взаимодействия растений и микроорганизмов могут быть «прямыми» (согласованное поглощение элементов питания, синтез микроорганизмами биологически активных и гормоноподобных веществ или прямой микробный антибиоз (подавление развития) по отношению к вредным для растения организмам) и опосредованными (регуляция активности «генов устойчивости» растения-хозяина или через взаимодействия на более высоких трофических уровнях) (Partida-Martínez, Heil, 2011).

Микроорганизмы, ассоциированные с растением, гетеротрофны и требуют затрат со стороны растения-хозяина, тогда как «выгода» растения от взаимодействия с метаболически интегрированными с ним микроорганизмами зависит от многих факторов, в том числе и от взаимодействий растительно-микробной системы с окружающей средой.

Подразумевая растение без микроорганизмов как «норму» или «контроль», ученые существенно обедняют возможности исследования таких важных явлений, как фенотипическая и эпигенетическая пластичность растений, фенотипическая «норма» растений в экосистемах и эволюция растений. В будущем предлагается внедрить в практику прямые молекулярно-генетические методы, использующие диагностические фрагменты транскрибируемых генов для оценки истинного разнообразия микроорганизмов, ассоциированных с дикорастущими растениями и не связанных с их культивированием на искусственных питательных средах. В первую очередь это относится к эндофитным микроорганизмам, так как они представлены высоко эволюционно специализированными к существованию в эндосфере растений формами, способными к росту на искусственных питательных средах и не способными к таковому (некультивируемыми). Обнаруженные спектры микроорганизмов должны быть скоррелированы с видовым разнообразием растений-хозяев и разнообразием условий окружающей среды для формулирования пригодных для экспериментальной проверки гипотез о роли эндофитных микроорганизмов растений в природе. Необходимо также сравнить различные комбинации «растение-хозяин—эндофит» в различных типовых условиях окружающей среды и изучить генетические, эпигенетические и физиологические механизмы перехода эволюционного растительно-микробного континуума по непрерывной шкале мутуализм—паразитизм.

В последнее время общепринятым становится мнение, что чем выше микробное разнообразие почв, тем выше их плодородие (Bhatia, 2008). Данное заключение является прямым указанием на целесообразность применения КМУ на основе БМ в текущей практике адаптивного растениеводства. Готовы ли современные сорта эксплуатировать эволюционно выверенную и биологически

оправданную стратегию наземных растений разделения функций и перераспределения ресурсов в рамках генетически и метаболически интегрированной растительно-микробной системы? Многие современные культурные сорта растений неэффективно взаимодействуют с БМ, поскольку их селекцию проводили на фоне высоких доз минеральных удобрений и химических средств защиты растений и без учета признаков взаимодействия с БМ, что привело к случайным (без «давления отбора» или «селективного давления» естественной эволюции растительно-микробных систем) потерям ценных для взаимодействия с БМ аллелей растительных генов (Provorov, Tikhonovich, 2003; Shtark et al., 2012).

Таким образом, в результате анализа научных данных, изложенных в разделах 2.1–2.5, сформулирована концепция, предполагающая новый взгляд на развитие и функционирование мутуалистических симбиозов растений.

Во-первых, для управления процессами в агро- и природных фитоценозах, необходимо рассматривать все компоненты растительно-микробного сообщества (растение, грибы АМ, клубеньковые бактерии и все микроорганизмы, стимулирующие развитие растений, как эпифитные, так и эндофитные) как единую генно-метаболическую сеть.

Во-вторых, скорость эволюции геномов микросимбионтов превышает темпы эволюции растений, и поэтому растение может рассматриваться как наиболее генетически стабильный во времени и главный (центральный, ключевой) компонент, регулирующий эффективность функционирования растительно-микробной системы. В соответствии с главенствующей концепцией интенсивного земледелия в течение нескольких десятилетий селекция новых сортов сельскохозяйственных растений в СССР/РФ и во всем мире велась на высоком агротехническом фоне с применением высоких доз минеральных удобрений и химических средств защиты растений. Учитывалось только негативное влияние патогенной (болезнетворной) для растений микрофлоры (обзор см.: Henry et al., 2013; Dean et al., 2012) и, соответственно, устойчивость растений к ней. Как редкий пример, в случае бобовых принимали в расчет симбиотическую азотфиксацию, то есть мутуалистические взаимодействия только с КБ (Herridge et al., 2000). Генетические системы

бобовых, контролирующие взаимодействие с грибами АМ, КБ и PGPB, имеют серию общих генов (Sanchez et al., 2005; Markmann, Parniske, 2009; Жуков и др., 2009) и должны рассматриваться как единая полигенная сеть и быть объектом селекции по интегральному признаку «эффективность взаимодействия с БМ», а не по отдельным признакам, характеризующим эффективность образования отдельных типов взаимовыгодных растительно-микробных симбиозов (обзор см.: Shtark et al., 2012).

В-третьих, на заре истории селекции растений, не имея эффективных технологий и знаний о структуре генетической системы растения, контролирующие взаимодействие с БМ, селекционеры стихийно (интуитивно, спонтанно) следовали закономерностям, диктуемым природой, — вели отбор на фоне ненарушенной структуры сообщества БМ по интегральному признаку продуктивности растения. Сегодня необходимо вернуться к исходной практике селекции, но с учетом эффективных технологий и нового знания о взаимодействиях растений с БМ и проводить селекцию растений на повышение симбиотического потенциала взаимодействия с БМ на фоне ее максимального генетического разнообразия. Селекцию растений необходимо вести по таким показателям, как дополнительная биомасса, накопленная за счет образования взаимовыгодной растительно-микробной системы, и качество получаемой продукции (Борисов и др., 2004; Штарк и др., 2006). В результате такой селекции будут получены коммерческие сорта сельскохозяйственных растений, максимально эффективно эксплуатирующие взаимодействия с БМ в агрофитоценозах.

Примерами успешного использования разработанной концепции являются:

- представляемое в данном издании КМУ «БисолбиМикс», технология производства которого была разработана коллективом авторов данной книги (Чеботарь и др., 2008; Чеботарь и др., 2011);

- создание стационарного селекционного питомника на базе ГНУ ВНИИ зернобобовых и крупяных культур (ВНИИЗБК), почва которого обогащена БМ Орловской области, для отбора растений с высокой симбиотической эффективностью;

- разработка протокола селекции бобовых растений на повышение эффективности взаимодействия с БМ;

— целенаправленное создание первого за всю историю селекции бобовых сорта гороха Триумф, отличающегося повышенным потенциалом взаимодействия с БМ по сравнению со стандартными сортами (по результатам конкурсных сортоиспытаний, г. Орел, 2004–2006 гг.). Данный сорт увеличивает продуктивность на 10–15% при инокуляции комплексным микробным удобрением вне зависимости от варьирования климатических условий (Штарк и др., 2006; Borisov et al., 2008). По результатам государственных сортоиспытаний (2007–2009 гг.) сорт Триумф, характеризующийся высокой продуктивностью и при традиционной технологии возделывания, показал высокую урожайность в Центральном регионе РФ.

Таким образом, инновационная технология, базирующаяся на КМУ, примененная к бобовым культурам, уже дает первые практические результаты.

Состав, свойства и технология изготовления комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс»

*В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов, Г. А. Ахтемова
при участии Е. Е. Андропова, А. И. Жернакова,
Е. И. Кипрушкиной, А. Г. Пинаева, О. Ю. Штарк,
А. Е. Казакова, В. Б. Петрова*

3.1. Выбор субстрата-носителя для комплексного микробного удобрения

До начала разработки было очевидно, что грибы АМ являются самыми сложными для размножения при производстве инокуляционного материала из всех микроорганизмов, которые планировались для включения в состав КМУ. Данные грибы размножаются только в корнях живых растений и ассоциированы с комплексом (до конца не изученным) бактерий и грибов, то есть существуют в состоянии сложной симбиотической системы микроорганизмов, также наиболее благотворной для растений может быть и комбинация различных грибов АМ (Smith, Read, 2008; Shtark et al., 2012).

Проблема выбора субстрата оказалась ключевой в ходе разработки, ее решение определило решение всех последующих задач. В течение нескольких лет, проводились консультации с учеными-сотрудниками французских компаний Biorhize и Biotize (Дижон, Франция), которые специализируются на производстве инокуляционного материала грибов АМ, используя стерильный субстрат (смесь песка, вермикулита или керамзита со специальным минеральным питанием). Оказалось, что такая технология не гарантирует отсутствие микрофлоры, ассоциированной с грибами АМ, и весьма повышает себестоимость инокулюма (препарата микробного удобрения).

Было принято решение искать нестерильный субстрат, подходящий для производства грибов АМ и ассоциированной с ними микрофлоры. Одной из причин требования нестерильности субстрата явилось рассмотрение возможного наличия в искомом нестерильном микробиологически благотворном для растений субстрате некультивируемой микрофлоры (неспособной к росту на искусственных питательных средах), крайне важной для структуры микробного сообщества субстрата в целом, управлять которой ученые еще не научились и которую элиминирует стерилизация. Естественный природный субстрат — почва, сразу был отвергнут, так как почву нельзя использовать в широкомасштабном производстве с перемещением в другие регионы и микрорегионы. Внимание разработчиков привлек фильтрационно-мочный осадок (ФМО), отход производства сахара из сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L. *subspecies vulgaris*). Этот почвосодержащий субстрат, прошел экстремальную для микроорганизмов обработку с использованием извести ($\text{pH} \leq 11,0$). После освобождения от избыточной воды на полях фильтрации и 3–5 лет хранения в отвалах субстрат (грунт) содержит ~40% мела и вполне подходит для выращивания растений. В ходе предварительных экспериментов было показано, что различные виды растений, выращенные в ФМО, не имели признаков заболеваний корневой системы, что свидетельствовало о благотворном для растений составе микрофлоры данного грунта.

ФМО как правило, складывается на свободных территориях вокруг предприятий, загрязняя их. Однако многие отходы, особенно пищевой промышленности, могут быть использованы в качестве ценного удобрения для поддержания плодородия почвы. Работа была инициирована на отвалах Сотнищинского сахарного завода (Сасовский район, Рязанская область), аналогичные результаты были затем получены с ФМО Залегощенского сахарного завода (Залегощенский район, Орловская область).

3.1.1. Агрохимический анализ фильтрационно-мочного осадка

Образцы ФМО первого года складирования характеризуются выраженной щелочной реакцией ($\text{pH} \sim 9,0$). Начиная со второго

года рН осадка снижается и среда характеризуется как слабощелочная (рН ~8,0). Отвалы 20 и 30-летнего возраста, в свою очередь, также характеризуются слабощелочной или нейтральной реакцией субстрата (табл. 2).

Таблица 2. Агрохимический анализ образцов ФМО и отвалов Сотницинского завода по переработке сахарной свеклы

Показатель	Поле фильтрации ФМО		Отвал		
	1-й год	2-й год	3–4 года	20 лет	30 лет
Возраст	1-й год	2-й год	3–4 года	20 лет	30 лет
рН _{KCl}	9,2	8,2	7,8	8,0	7,8
Органическое вещество, %	5,08	3,88	4,63	4,45	5,28
Общий N, %	0,27	0,28	0,24	0,26	0,28
P ₂ O ₅ , мг/100 г	1,3	1,8	1,4	1,4	1,3
K ₂ O, мг/100 г	36,0	42,0	43,5	63,2	46,7
Ca ²⁺ , мг-экв/100 г	13,6	9,0	15,9	8,4	10,5
Физическая глина (размер частиц менее 0,01 мм), %	46,0	46,0	35,0	36,0	55,0

В соответствии с требованиями гигиенического норматива (ГН № 2.1.7.2041-06) в ФМО было определено содержание остаточных количеств пестицидов и тяжелых металлов (табл. 3).

Содержание крайне токсичных металлов (мышьяк, кадмий, ртуть) было ниже предельно-допустимых концентраций (ПДК). Однако содержание цинка превышало допустимые нормы почти в 5 раз, что, по-видимому, объясняется природным составом извести, добываемой и используемой в технологии производства сахара, значительным превышением суммарной антропогенной нагрузки на поля сахарной свеклы окружающими промышленными предприятиями (Марусалова, 2008). Цинк является микроэлементом

Таблица 3. Содержание тяжелых металлов и остаточных количеств пестицидов в ФМО отвалов Сотнищинского завода по переработке сахарной свеклы

Содержание, мг/кг	Источник	Предельно допустимая концентрация	Результат
ДДТ и его метаболиты	Клисенко, 1992	0,1	0,002
Мышьяк	ГОСТ Р 51766-01	2,0	$1,6 \pm 0,3$
Кадмий	МУК 4.1.986-00	0,5	$0,20 \pm 0,07$
Ртуть	МУ 5178-90	2,1	$0,010 \pm 0,002$
Цинк	ГОСТ 30178-96	23,0	130 ± 10

питания растений, и при применении КМУ планируется многократное (на порядки) разведение субстрата-носителя, таким образом, данное обстоятельство не смутило разработчиков, хотя и должно быть принято во внимание при разработке агротехнических приемов возвращения ФМО на поля.

3.1.2. Характеристика прокариотического (бактерии и археи) сообщества фильтрационно-моечного осадка

В свежих ФМО, складываемых первые два года на полях фильтрации, общее количество гетеротрофных прокариот (бактерии и археи) достигало в среднем $4 \cdot 10^7$ КОЕ в 1 г субстрата. Такое количество культивируемых прокариот распределялось по 10–11 морфотипам. К третьему году складирования число морфотипов увеличивается до 15, а общее количество культивируемых прокариот снижается практически вдвое.

После 20 и 30 лет складирования заметно снижение общего количества прокариот, практически на порядок, которые распределяются уже по 14–16 морфотипам соответственно (рис. 2). Если в первые годы на полях фильтрации доминируют 2–3 морфотипа культивируемых прокариот, то с увеличением возраста отвалов это уже 3–4 морфотипа, причем происходит заметная смена состава доминирующих видов.

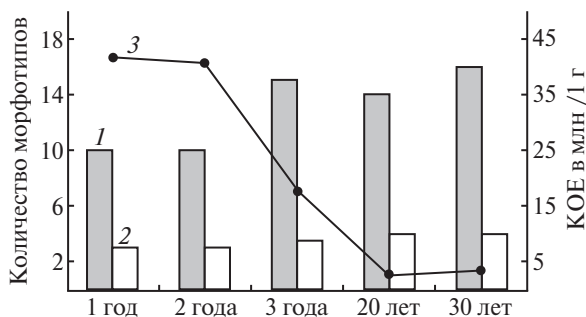


Рис. 2. Структура прокарриотического сообщества ФМО и отвалов Сотнищинского завода по переработке сахарной свеклы:

1 — количество морфотипов, выделенных из образцов (титр 10^4); 2 — количество доминирующих морфотипов; 3 — общее количество прокарриот (КОЕ), млн на 1 г субстрата

Из образцов, взятых на полях фильтрации и в отвалах разного возраста, было выделено 67 морфотипов культивируемых прокарриот, которые после микроскопирования и физиолого-биохимического тестирования распределились по 24 морфотипам, 5 из которых отнесли к доминирующим видам прокарриотических микроорганизмов.

В ФМО отмечается довольно низкое видовое разнообразие. Из 10–11 морфотипов в бактериальном сообществе большая доля принадлежит грамположительным неспорообразующим бактериям родов *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Rhodococcus* и спорообразующим бактериям из рода *Bacillus*. Грамотрицательные бактерии присутствуют, но их всего 1–2 вида — это представители рода *Flavobacterium*. Доминируют в этом сообществе только грамположительные бактерии (3 вида) (рис. 2). Два представителя неспорообразующей микрофлоры из рода *Microbacterium*, которые относятся к видам *Microbacterium sp.* и *Microbacterium kitamiense*, а также спорообразующая бактерия *Bacillus megaterium*. Доминирующие виды занимают почти 80% прокарриотического сообщества ФМО, 2–3% относится к минорным видам, а оставшаяся часть — виды, имеющие средние по количественные значения (рис. 3).

На рис. 4, а представлены ранжированные кривые доминирования-разнообразия, построенные для прокарриотических сообществ,

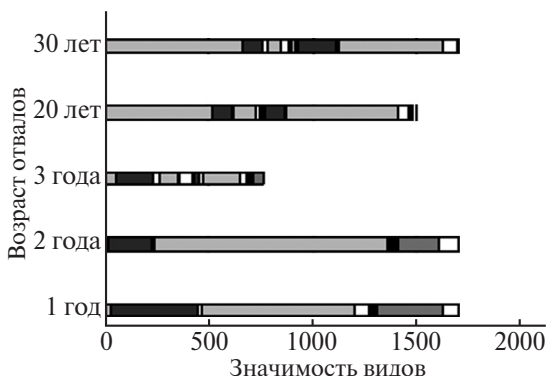


Рис. 3. Структура прокарисотического сообщества ФМО с Сотницинского завода по переработке сахарной свеклы:

ФМО первого года складирования: доминируют *Bacillus sp.* (02), *Microbacterium sp.* (04) и *Microbacterium kitamiense* (23); второго года хранения — доминируют те же виды; третьего года — доминируют *Bacillus megaterium* (02) и *Arthrobacter sulfonivorans* (13); 20 лет — доминируют *Arthrobacter pascens* (01), *Bacillus megaterium* (02), *Arthrobacter sulfonivorans* (13); 30 лет — доминируют те же бактерии. Также отмечены бактерии: *Rodococcus sp.* (08); *Pseudomonas sp.* (10); *Alcaligenes sp.* (15); *Flavobacterium sp.* (06)

выделенных из ФМО первых двух лет складирования. Хорошо заметно, что ранжированные кривые короткие и располагаются под углом 30° к оси у. Такое распределение особей по рангу характерно для сообществ с конкурентными связями, когда наблюдается концентрирование 1–2 доминирующих видов, которые активно размножаются, потребляя исходные питательные вещества ФМО, и вытесняют представителей других групп. В условиях полей фильтрации, залитых большим количеством отходов производства, в почве выживают только устойчивые микроорганизмы, способные функционировать во время стрессовых воздействий (высоких значениях рН и влажности субстрата), используя довольно широкий спектр источников питания (Пианка, 1980; Уиттекер 1980; Ахтемова, 1998).

На полях, где производственные отходы складываются три года, общая численность прокарисотических организмов заметно снижается, а видовое разнообразие расширяется до 15 (рис. 3). В этом

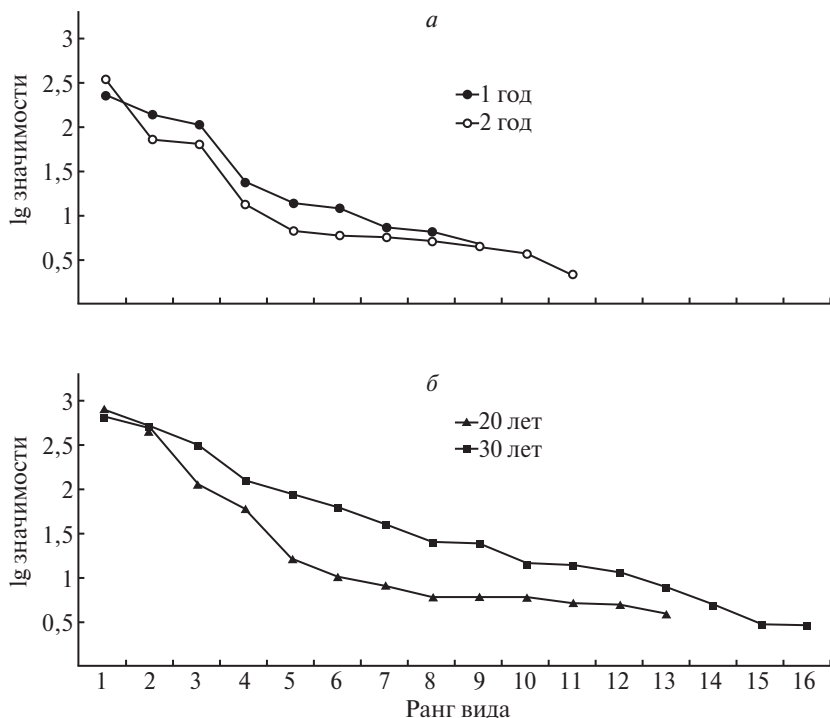


Рис. 4. Ранжированные кривые доминирования-разнообразия, построенные для прокариотических сообществ:

а — поля фильтрации первых лет хранения; б — отвалы 20 и 30-летнего хранения. Ранг вида — виды располагаются по количественной характеристике от наибольшего к наименьшему; lg значимости — lg количественной характеристики вида

ценозе бактерии из рода *Microbacterium* (штаммы 04 и 23) постепенно уступают свои позиции грамположительным бактериям из рода *Arthrobacter* (штаммы 01 и 13). Доминируют здесь *Arthrobacter pascens* и *Arthrobacter sulfonivorans*. Эти бактерии занимают почти 50% от всего прокариотического сообщества. Характерно также, что в этом сообществе появляются грамотрицательные бактерии из родов *Pseudomonas* и *Alcaligenes*.

В более поздних отвалах 20 и 30-летнего возраста 2,6–3,5 млн культивируемых прокариот в 1 г субстрата распределяются по

14–16 морфотипам (рис. 2). Сообщество характеризуется доминированием грамположительных неспорообразующих бактерий. Значимость рода *Microbacterium* снижается, его нишу занимают представители рода *Arthrobacter*: *A. pascens* и *A. sulfonivorans*. На доминирующие позиции вновь выходят спорообразующие бактерии *Bacillus megaterium*, которые являются типичными представителями выщелоченного и оподзоленного чернозема (Семионова и др., 2002). Происходит смена доминирующей микрофлоры (рис. 3). К тому же в бактериальном сообществе отвалов долговременного складирования заметно появление целого ряда грамотрицательных бактерий, причем представители родов *Pseudomonas* и *Alcaligenes* уже занимают субдоминирующие позиции, иными словами, они вторые по значимости и заменяют в структуре сообщества представителей грамположительной неспорообразующей микрофлоры.

Ранжированные кривые доминирования-разнообразия, построенные для бактериальных сообществ отвалов длительного складирования, более длинные и располагаются к оси у под углом 45° (рис. 4, б). Такое ранжирование характеризует равномерное распределение отдельных компонентов сообщества, в котором заметно снижение концентрации доминирования, то есть доминирующих видов больше. Вместе с тем количество доминирующих видов примерно равно количеству редких видов, а вот большинство членов сообщества имеют средние по значению количественные характеристики.

Экологические ниши здесь поделены не случайно, появляются виды, занимающие уровни субдоминирования, и виды, формирующие структуру сообщества «среднего класса» в отношении численности. Появляются и занимают определенные позиции и представители редких видов.

В сообществе доминируют в основном грамположительные бактерии. Через 3–4 года на полях фильтрации появляется редкая растительность, в почве начинает развиваться ризосферная микрофлора. В бактериальной структуре 20–30-летних отвалов повышается разнообразие, и, хотя в сообществе доминируют грамположительные бактерии, грамотрицательные бактерии занимают значительные позиции.

3.1.3. Рост-стимулирующая активность штаммов прокариот, доминирующих в фильтрационно-моечном осадке

Практически все семена кресс-салата (*Lepidum sativum* L.), обработанные штаммами доминирующих бактерий, давали улучшенный рост по сравнению с контролем, необработанным суспензией бактерий (рис. 5). Наибольший вес проростка, в пересчете на единицу массы, был у растений, инокулированных штаммами *Bacillus megaterium*, *Microbacterium* sp. и *Arthrobacter sulfonivorans*. На вес корней кресс-салата значительное влияние оказали практически все штаммы бактерий. На длину корней значительное влияние оказал штамм *Bacillus megaterium*, по-видимому, этот штамм продуцирует вещества, стимулирующие рост растений (рис. 6). Сравнительно слабым воздействием на массу растений характеризовался штамм *Microbacterium kitamiense*. Тест с водорослями *Chlorella vulgaris* показал, что исследуемые штаммы не обладают фитотоксическими свойствами. В качественном тесте на способность бактерий синтезировать витамины были получены положительные результаты для

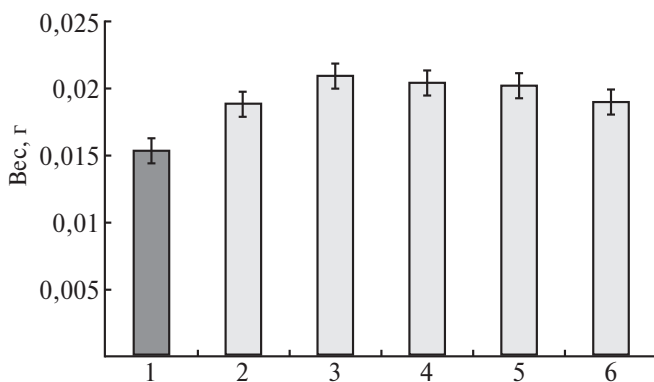


Рис. 5. Влияние доминирующих в ФМО штаммов бактерий на вес проростков и корней кресс-салата:

1 — контроль, необработанные семена; семена, обработанные штаммами: 2 — *Arthrobacter pascens*; 3 — *Bacillus megaterium*; 4 — *Microbacterium* sp.; 5 — *Arthrobacter sulfonivorans*; 6 — *Microbacterium kitamiense*. Все варианты с обработкой бактериями статистически достоверно отличаются от контроля ($P \geq 0,95$)

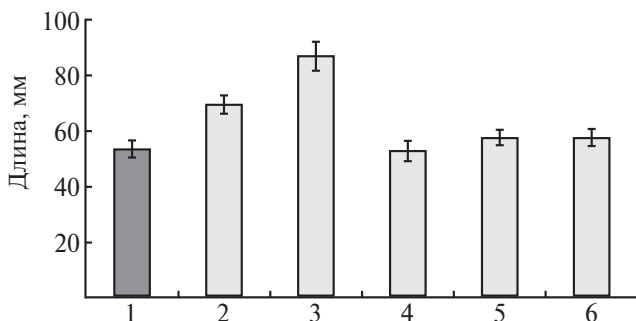


Рис. 6. Влияние штаммов бактерий на длину корней кресс-салата:

1 — контроль, необработанные семена; семена, обработанные штаммами; 2 — *Arthrobacter pascens*; 3 — *Bacillus megaterium*; 4 — *Microbacterium* sp.; 5 — *Arthrobacter sulfonivorans*; 6 — *Microbacterium kitamiense*. Варианты 2 и 3 с обработкой бактериями статистически достоверно отличаются от контроля ($P \geq 0,95$)

Таблица 4. Таксономическая идентификация доминирующих морфотипов бактерий ФМО по последовательности диагностического фрагмента гена 16S рРНК

№ штамма	Видовое название	Сходство, %	Номер наиболее вероятного гомолога в базе данных GeneBank
01Б	<i>Arthrobacter pascens</i>	99	AY576068.1
02Б	<i>Bacillus megaterium</i>	99	AY505511.1
04Б	<i>Microbacterium</i> sp.	96	EF204424.1
13Б	<i>Arthrobacter sulfonivorans</i>	98	DQ157990.1
23Б	<i>Microbacterium kitamiense</i>	97	AY717354.1

штаммов *Bacillus megaterium* и *Arthrobacter sulfonivorans*. Таким образом, из пяти доминирующих штаммов особо был отмечен штамм 02Б *Bacillus megaterium*, который обладал ярко выраженным стимулирующим действием на рост корней растений и показывал

положительные результаты в остальных тестах (рис. 5–6, табл. 4). Учитывая эти качества штамма, его можно рекомендовать для создания промышленных микробных препаратов для использования в сельскохозяйственной практике экологически ориентированного растениеводства.

3.1.4. Существование в фильтрационно-моечном осадке других благотворных для растений микроорганизмов

Экстремальное повышение рН в ходе производства, безусловно, является основным фактором абиотического воздействия, нарушающим структуру исходного микробного сообщества почвы, входящей в состав ФМО. В результате ФМО, сбрасываемые на поля фильтрации, характеризуется наличием большого количества легкодоступной органики, высоким значением рН и необычным для почвы микробиологическим составом, определяющим закономерности последующего формирования стабильного микробного консорциума данного субстрата (грунта). Три года складирования является критическим периодом в отношении формирования микробного консорциума, наблюдаемого после 20–30 лет хранения. После трех лет родовой состав гетеротрофной бактериальной микрофлоры ФМО способствует развитию различных видов растений, о чем свидетельствует бурная растительность, наблюдаемая в местах складирования. Также ФМО может явиться ценным субстратом для выделения полезных для сельского хозяйства бактерий, примером чему служит штамм 02Б *Bacillus megaterium*, выделенный в ходе исследования закономерностей изменения состава прокариотического сообщества ФМО.

Дальнейшие эксперименты показали наличие в ФМО естественного (резидентного, естественного) инокуляционного материала грибов АМ и клубеньковых бактерий для различных видов бобовых. Таким образом, ФМО является идеальным нестерильным субстратом для производства КМУ, а его количества, хранящиеся в отвалах сахарных заводов, способны обеспечить производство на десятилетия вперед.

3.1.5. Способность фильтрационно-моечного осадка обеспечить жизнеспособность благотворной для растений микрофлоры при длительном хранении

В качестве тестовых микроорганизмов были выбраны наиболее уязвимые для различных стрессовых условий: грибы АМ и КБ (грамотрицательные неспорообразующие аэробные бактерии). Проведенные эксперименты показали, что в течение 6 месяцев хранения в суховоздушном состоянии при температуре 20–23°С ФМО способен поддерживать внесенный штамм КБ на уровне 105 жизнеспособных клеток на 1 г субстрата при иницирующем внесении 109 клеток, их количество снижалось за первые 1,5 месяца до значения 105 и стабильно поддерживалось в течение всего экспериментального срока хранения. В отношении грибов АМ было показано, что ФМО способен поддерживать жизнеспособность инокуляционного материала в данных экспериментальных условиях хранения и в течение того же периода на уровне, обеспечивающем колонизацию корневой системы тестовых растений суданской травы (*Sorghum vulgare* L.) на 95%, что более чем достаточно для формирования эффективной АМ производственных растений.

3.2. Разработка технологических этапов производства

При описании технологических этапов производства некоторые детали, являющиеся ноу-хау в режиме коммерческой тайны будут опущены для защиты прав интеллектуальной собственности разработчиков.

3.2.1. Производство стартового инокуляционного материала

По причине нестерильности субстрата-носителя все работы проводятся в обычных условиях, кроме некоторых работ по размножению микроорганизмов в биореакторах (см. раздел 3.2.3).

Несмотря на изначальное присутствие ценной БМ в субстрате-носителе, в ходе производства необходимо внести в него

проверенные (селектированные) высокоэффективные изоляты микроорганизмов, чтобы надежно откорректировать состав микробного метагенома субстрата и гарантировать его благотворные свойства и качество. Данный процесс осуществляется в лабораторно-производственных контролируемых климатических условиях. Выращиваются растения суданской травы или сорго-суданского гибрида (*Sorghum vulgare* L.), в качестве субстрата используется ФМО, проводится инокуляция смесью высокоэффективных грибов АМ, смесью КБ для разных видов бобовых и смесью RGPB. Растения выращиваются около 70–90 дней, периодически контролируется уровень микоризации корней, и зеленая масса убирается до созревания семян. Субстрат используется для следующей стадии производства.

3.2.2. Производство основного инокуляционного материала (комплексное микробное удобрение-сырец)

Следующий этап производства осуществляется непосредственно на отвалах сахарных заводов соответствующего возраста, в открытом грунте, или на искусственных открытых производственных площадках, или в теплицах с использованием ФМО, доставленного с отвалов соответствующего возраста. Для посева используются семена суданской травы или сорго-суданского гибрида (*Sorghum vulgare* L.), заключенные в оболочку (дражированные, коатированные), состоящую из субстрата после выращивания растений на предыдущем этапе (см. раздел 3.2.1), смеси высокоэффективных грибов АМ, смеси КБ для разных видов бобовых и смеси RGPB и органического нетоксичного для растений и микроорганизмов прилипателя (клея).

Семена в обложке высеваются в ФМО и выращиваются 70–90 дней, зеленая масса скашивается до созревания семян, а слой грунта (субстрата, ФМО) (КМУ-сырец) 20 см глубиной сдвигается бульдозером и перемещается в крытое отапливаемое помещение (в теплице собирается в специальном месте) для последующей обработки (доработки).

3.2.3. Добавление микроорганизмов, произведенных в биореакторах (ферментерах)

КМУ-сырец измельчается (перемалывается до размера частиц 1–3 мм), высушивается до суховоздушного состояния потоками теплого воздуха при температуре до 30°С и помещается на линию транспортера, над которой стоит серия форсунок для мелкодисперсного распыления бактериальных суспензий. Через форсунки подаются суспензии смесей КБ для разных видов бобовых и RGPB (неоднократное, на различных этапах внесение бактерий необходимо для гарантированного включения вносимых отселектированных высокоэффективных штаммов в структуру микробного консорциума, существующего в ФМО). Далее порошок КМУ просушивается и готовится к следующему этапу.

3.2.4. Подготовка продажной формы

В идеале для удобного практического использования микробных удобрений/препаратов необходимо разрабатывать продажные формы с учетом имеющегося парка сельскохозяйственной техники, агрохимические приемы подготовки полей и принятый график обработок полей и посевов, а также квалификацию специалистов хозяйств. Для этого необходимо разрабатывать микробные удобрения/препараты, эффективные в широком диапазоне варьирования климатических условий, совместимые или конкурентоспособные с резидентными микроорганизмами, совместимые с агрохимикатами при совместном использовании.

Формы применения (использования) КМУ разрабатывались таким образом, чтобы соответствовать ныне существующим агротехнологиям, без применения дополнительной механизации.

КМУ рекомендуется к применению в трех основных формах: оболочка семян, гранулы, порошок.

3.2.4.1. Оболочка семян

Для создания оболочки КМУ порошок смешивается с органическими нетоксичными для растений и микроорганизмов прилипателем (клеем) и красителем. Далее создается оболочка на

специальном оборудовании по разработанной технологии. Для каждой сельскохозяйственной культуры разрабатывается своя технология нанесения КМУ на семена в оболочке. Обработанные семена высеваются в обычном режиме.

3.2.4.2. Гранулы

Для получения гранул исходный порошок КМУ смешивается с небольшим количеством нетоксичного для растений и микроорганизмов прилипателя (клея) и пищевого красителя и пропускается через гранулятор для получения гранул примерно цилиндрической формы. Размер гранулы регулируется решеткой гранулятора, количеством добавленного прилипателя и скоростью подачи смеси на решетку гранулятора. С той же целью допустимо использовать оборудование для дражирования семян. Размер гранул подбирается опытным путем за счет варьирования количества клеящего вещества и скорости вращения барабана дражиратора.

Полученные гранулы КМУ вносятся в почву с помощью машин для разбрасывания минеральных удобрений перед дискованием и посевом семян сельскохозяйственной культуры, либо при посеве зерновой культуры — через загрузочный бункер зерновой сеялки, предназначенный для внесения минеральных удобрений.

3.2.4.3. Порошок

Некоторым потребителям (особенно владельцам частных подсобных хозяйств), возможно, будет удобнее применять исходный порошок КМУ. В принципе, форма выпуска и рецептура — предмет обсуждения с конкретным потребителем. Можно корректировать как рецептуру, так и форму выпуска по конкретному заказу.

3.2.5. Контроль качества

Благотворные свойства и качество КМУ обусловлены естественными химическими свойствами ФМО (субстрата-носителя), которые достаточно стабильны, свойств резидентного микробного

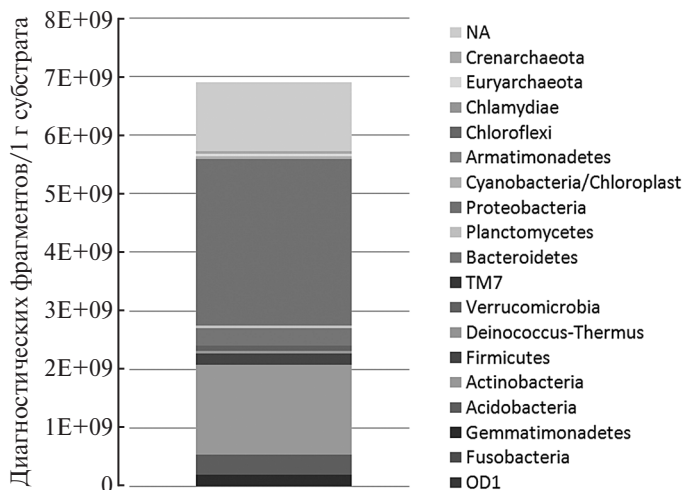


Рис. 7. Количественное распределение 18 групп (фил/типов) прокариотических микроорганизмов в субстрате-носителе для КМУ (ФМО) (по количеству диагностических фрагментов 16S-рибосомальных оперонов в 1 г ФМО)

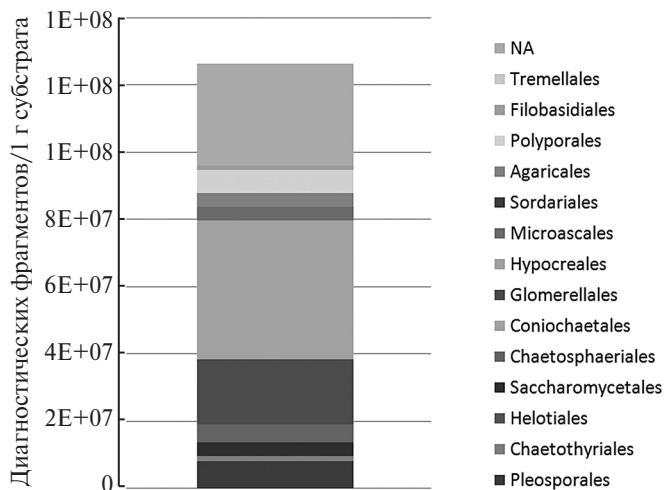
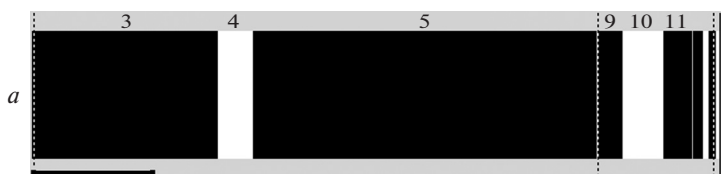


Рис. 8. Количественное распределение групп (порядков) грибов в субстрате-носителе для КМУ (ФМО) (по количеству диагностических фрагментов 18S-рибосомальных оперонов в 1 г ФМО)

сообщества и свойств целенаправленно внесенных БМ. Внесением отселектированных БМ корректируется состав микробного метабенома КМУ, производимого на основе заранее избранного и испытанного почвосодержащего субстрата с благотворными для развития растений свойствами (ФМО).



1 — OD1, 2 — Fusobacteria, 3 — Actinobacteria, 4 — Bacteroidetes, 5 — Proteobacteria, 6 — Cyanobacteria/Chloroplast, 7 — Armatimonadetes, 8 — Nitrospira, 9 — Gemmatimonadetes, 10 — Acidobacteria, 11 — Firmicutes, 12 — Deinococcus-Thermus, 13 — Verrucomicrobia, 14 — Planctomycetes, 15 — Chloroflexi, 16 — Chlamydiae, 17 — Euryarchaeota, 18 — Crenarchaeota



1 — Pleosporales, 2 — Chaetothyriales, 3 — Helotiales, 4 — Saccharomycetales, 5 — Chaetosphaeriales, 6 — Coniochaetales, 7 — Glomerellales, 8 — Hypocreales, 9 — Microascales, 10 — Sordariales, 11 — Agaricales, 12 — Polyporales, 13 — Filobasidiales, 14 — Tremellales

Рис. 9. Штрих-коды, демонстрирующие качество произведенного КМУ на примере количественного анализа состава бактериального и грибного микробных сообществ субстрата-носителя для КМУ (ФМО):

а — прокариотические микроорганизмы, входящие в состав КМУ, масштабная линейка соответствует 10^9 диагностических фрагментов на 1 г почвы; *б* — грибные микроорганизмы, входящие в состав КМУ, масштабная линейка соответствует 10^7 диагностических фрагментов на 1 г почвы.

Черные и белые полосы демонстрируют количество микроорганизмов определенных таксонов, пунктирные линии — отсутствие таксонов, тонкая черная сплошная вертикальная полоса в конце штрих-кода справа показывает конец штрих-кода. Описание групп (фил/типов) представленных прокариотических микроорганизмов см. на сайте <http://www.taxonomicoutline.org/>, описание порядков грибовных микроорганизмов — <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>

Поскольку химический состав ФМО достаточно стабилен, контролируется количество только микробиологической составляющей КМУ с применением современных молекулярно-генетических метагеномных подходов. Тотальная ДНК, выделенная из субстрата (КМУ), после всех необходимых производственных микробиологических процедур обогащения, будет использована для создания библиотек амплифицированных диагностических фрагментов генов 16S рРНК (для прокариотических организмов) или 18S рРНК (для грибов). Данные библиотеки будут секвенированы с использованием наиболее эффективной методологии (например, методами секвенирования следующего поколения (от англ. *next generation sequencing*)), по результатам секвенирования будет проведен биоинформационный компьютерный анализ удельного содержания в КМУ микроорганизмов — представителей определенных таксонов; охарактеризованы по признаку общего содержания целевых ампликонов (например, методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, что позволит провести количественную оценку содержания в КМУ целевых таксонов.

На рис. 7, 8 представлен пример такого анализа для 18 групп (фил/типов) прокариотических микроорганизмов и 15 групп (порядков) грибов ФМО соответственно.

По заранее определенному списку и нормам содержания в субстрате групп/таксонов благотворных и патогенных для растений микроорганизмов будет оценено качество произведенной партии. Содержание БМ не должно быть ниже определенного количества, а содержание патогенных микроорганизмов не должно превышать конкретное значение. По результатам анализа будет выпущена наклейка со штрих-кодом (рис. 9), отражающим общее содержание микроорганизмов и содержание представителей различных таксонов в произведенном КМУ (в пересчете на 1 г субстрата), которая будет наклеена на упаковку.

Оценка эффективности применения комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» в полевых экспериментах на различных культурах в различных регионах России

*В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов
при участии А. Г. Васильчикова, Г. П. Гурьева, Т. Н. Даниловой,
М. В. Донской, А. А. Завалина, А. Н. Заплаткина, В. И. Зотикова,
А. Л. Тарасова, О. Ю. Штарк, А. В. Щербакова, Р. В. Беляевой,
С. В. Бобкова, В. В. Наумкина, Г. Н. Суворовой, З. Р. Цукановой,
А. Е. Казакова, В. Б. Петрова*

Для получения стабильного и, главное, предсказуемого эффекта при применении КМУ, микробных препаратов нового поколения, контроль применения (получение обратной связи) ведется в интерактивном режиме с каждым потребителем (регулярный индивидуальный обмен информацией, выездные семинары, «дни поля», конференции, СМИ). Также продолжается работа по разработке уточненных региональных технологий применения КМУ с учетом суммы почвенных, агроклиматических факторов и организационно-экономических особенностей региона. Для корректировки и дополнения существующих агротехнологий возделывания сельскохозяйственных культур ВНИИСХМ на протяжении десятилетий проводит производственные и демонстрационные опыты в ведущих хозяйствах страны с привлечением организаций РАСХН, структур агропромышленного комплекса, администраций областного, краевого и районного уровня, под контролем подразделений Россельхознадзора.

4.1. ФГБНУ «ВНИИ зернобобовых и крупяных культур» (г. Орел, 2005–2011 гг.)

4.1.1. Изучение влияния комплексного микробного удобрения на посевные качества и урожайные свойства семян сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта Ланцетная (г. Орел, 2005–2006 гг.)

Цель исследований, проведенных на опытном поле лаборатории семеноведения и первичного семеноводства ВНИИЗБК, состояла в изучении особенностей применения КМУ в питомниках первичного семеноводства сои для повышения урожайности семян с улучшенными сортовыми и посевными качествами. Почвы опытных участков темно-серые лесные среднесуглинистые с содержанием гумуса 4,1–4,5%; легкогидролизуемого азота 15,4–16,1 мг; подвижного фосфора 15,4 мг; обменного калия 10,4 мг на 100 г почвы; pH солевой вытяжки 5,0. Агротехника возделывания — общепринятая для Орловской области. Предшественником сои в севообороте был черный пар. КМУ вручную вносили в почву в день посева в дозах 300 и 500 кг/га. Уборку проводили поделяночно, по повторностям. Собранный урожай приводили к стандартной влажности, 100% чистоте и пересчитывали в центнерах на гектар. Содержание белка в зерне определяли по ГОСТ 13586.1–86.

В табл. 5–8 представлены результаты влияния КМУ на урожайность, посевные качества семян и качество полученной продукции сои сорта Ланцетная. Наибольшая прибавка урожайности в среднем по сравнению с контролем (2 ц/га) была получена в варианте КМУ 500 кг/га (табл. 5).

КМУ, помимо прочих ожидаемых положительных эффектов, способствовало увеличению коэффициента размножения семян сои по сравнению с контролем в среднем за годы изучения на 7,4%, а массы 1000 семян — на 3,0% (табл. 6). При определении посевных качеств семян сои установлено, что всхожесть и энергия прорастания семян, полученных в опытных вариантах, возрастали: энергия прорастания — от 4 до 9%, всхожесть — от 6 до 7% (табл. 7). Предпосевное внесение в почву КМУ способствовало также и повышению содержания сырого протеина в семенах (табл. 8).

Таблица 5. Влияние КМУ на урожайность сои сорта Ланцетная (г. Орел, 2005–2006 гг.)

Вариант опыта	Урожайность, ц/га			Прибавка урожайности	
	2005 г.	2006 г.	средняя за 2 года	ц/га	%
Контроль	22,9	25,9	24,4	—	—
КМУ 300 кг/га	23,6	27,6	25,6	+1,2	4,9
КМУ 500 кг/га	24,7	28,1	26,4	+2,0	8,2
НСР ₀₅	1,1	0,9	—	—	—

Таблица 6. Влияние КМУ на урожайные свойства семян сои сорта Ланцетная (г. Орел, 2005–2006 гг.)

Вариант опыта	Коэффициент размножения					Масса 1000 семян				
	2005 г.	2006 г.	в среднем за 2 года	прибавка к контролю		2005 г.	2006 г.	в среднем за 2 года	прибавка к контролю	
				г	%				г	%
Контроль	12,7	18,3	15,5	—	—	120,8	160,0	140,4	—	—
КМУ 300 кг/га	13,1	19,7	16,4	+0,9	5,8	127,4	163,0	145,2	+3,0	1,0
КМУ 500 кг/га	13,7	20,1	16,9	+1,4	9,0	137,0	168,0	152,5	+8,0	5,0

Таблица 7. Посевные качества семян сои сорта Ланцетная (г. Орел, 2005–2006 гг.)

Вариант опыта	Лабораторная						Отклонения от контроля, %	
	Энергия прорастания, %			Всхожесть, %			энергия прорастания	всхожесть
	2005 г.	2006 г.	средняя	2005 г.	2006 г.	средняя		
Контроль	96	76	86	97	86	92	—	—
КМУ 300 кг/га	99	80	90	99	97	98	+4,0	+6,0
КМУ 500 кг/га	99	91	95	99	99	99	+9,0	+7,0

Таблица 8. Влияние применения КМУ на содержание сырого протеина в семенах сои сорта Ланцетная (г. Орел, 2005–2006 гг.)

Вариант опыта	Содержание сырого протеина, %		Среднее за 2 года, %	Отклонения от контроля	
	2005 г.	2006 г.		± %	%%
Контроль	30,6	39,0	34,8	—	—
КМУ 300 кг/га	31,9	36,6	34,2	–0,6	–1,7
КМУ 500 кг/га	33,4	39,3	36,4	+1,6	4,6

Таким образом, предпосевное внесение в почву КМУ способствует повышению урожайности семян сои (вариант 500 кг/га дает наибольшую прибавку, +2,0 ц/га, +8,2% к контролю), содержания сырого протеина (+1,6%), устойчивости к неблагоприятным факторам среды и улучшению качества зерна. Следовательно, внесение КМУ в дозе 500 кг/га в почву питомников первичного семеноводства сои при размножении новых сортов является экономически оправданным для получения семян с повышенной урожайностью, улучшенными сортовыми и посевными качествами.

4.1.2. Изучение эффективности применения комплексного микробного удобрения на зернобобовых и зерновых злаковых культурах (г. Орел, 2007–2008 гг.)

В исследованиях использовали коммерческие сорта и селекционные линии гороха (*Pisum sativum* L.), фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.), чечевицы (*Lens culinaris* Medik.), люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.), сои (*Glycine max* (L.) Merr.) (табл. 6), пшеницы (*Triticum* L.) озимой и яровой сорта Крестьянка, ярового ячменя (*Hordeum* L.) сорта Атаман.

Растения выращивали в стационарном селекционном питомнике ВНИИ зернобобовых культур, организованном по принципу

6-польного севооборота (почва темно-серая лесная среднесуглинистая). В течение предшествующих опыту 5 лет в почву не вносили минеральные удобрения и химические средства защиты. Агротехника выращивания культур соответствовала зональной технологии. Урожай учитывали поделочно при стандартной влажности зерна и 100% чистоте. КМУ (препарат «БисолбиМикс») с нормой расхода 300 и 500 кг/га вносился сеялками при посеве семян. Для сравнения эффективности препарата в некоторых случаях в качестве эталона был выбран вариант с внесением $N_{45}P_{30}K_{45}$ на 1 гектар. Химический анализ растений и почвы выполнен с использованием стандартных методов. Полевые опыты проводили по принятой методике (Доспехов, 1985).

4.1.2.1. Изучение эффективности применения комплексного микробного удобрения на зернобобовых культурах (г. Орел, 2007–2008 гг.)

В условиях селекционного питомника ВНИИЗБК проводили полевые эксперименты с целью изучить влияние инокуляции КМУ в дозе 500 кг/га коммерческих сортов и селекционных линий гороха, фасоли, чечевицы, люпина узколистного и сои (табл. 9). В полевых условиях 2008 г. инокуляция КМУ приводила к повышению семенной продуктивности (СП) всех испытанных генотипов, однако у большинства из них — статистически недостоверному, что, по-видимому, определялось случайными факторами, например климатическими. Достоверные прибавки СП наблюдались только у чечевицы сортов Светлая и Красноградская 250.

4.1.2.2. Изучение эффективности применения комплексного микробного удобрения на яровом ячмене сорта Ассоль (г. Орел, 2008 г.)

Эффективность КМУ «БисолбиМикс» изучали на яровом ячмене сорта Ассоль в полевом опыте на опытной базе ВНИИЗБК (табл. 10). Опыт закладывали по общепринятой методике на

Таблица 9. Изменение семенной продуктивности (СП) сортов и селекционных линий различных зернобобовых культур в результате применения КМУ «БисолбиМикс» (г. Орел, 2007–2008 гг.)

Сорт, линия	Семенная продуктивность 2007–2008 гг.		% к контролю	
	контроль	«Бисолби-микс», 500 кг/га	2008 г.	2007 г.
<i>Горох</i>				
Орловчанин (стандарт)	$4,6 \pm 0,29$	$4,8 \pm 0,26$	4,4	4,3
Смарагд	$4,8 \pm 0,19$	$5,0 \pm 0,17$	4,2	6,7
Памяти Варлахова	$4,2 \pm 0,36$	$4,5 \pm 0,12$	7,2	4,4
Юниор	$4,3 \pm 0,21$	$4,5 \pm 0,17$	4,7	4,3
Норд	$4,6 \pm 0,27$	$4,6 \pm 0,22$	0	6,5
Мадонна	$4,3 \pm 0,18$	$4,5 \pm 0,11$	4,7	2,3
Мультик	$4,2 \pm 0,15$	$4,4 \pm 0,18$	4,8	4,7
Батрак	$4,3 \pm 0,26$	$4,3 \pm 0,27$	0	–4,4
Татьяна	$4,8 \pm 0,24$	$5,1 \pm 0,35$	6,3	2,0
Орел	$4,2 \pm 0,12$	$4,3 \pm 0,19$	2,4	0
Средняя прибавка	–	–	3,9	3,1
<i>Фасоль</i>				
Нерусса (стандарт)	$13,8 \pm 2,16$	$14,3 \pm 1,16$	3,6	19,0
02-174	$14,0 \pm 1,63$	$15,0 \pm 2,19$	7,1	35,3*
00-106	$14,6 \pm 2,19$	$15,3 \pm 1,55$	4,8	37,4
02-177	$19,0 \pm 2,39$	$19,2 \pm 2,17$	1,1	36,7*
Шоколадница	$15,9 \pm 2,17$	$16,4 \pm 2,35$	3,2	32,1
Гелиада	$16,1 \pm 1,58$	$16,9 \pm 1,24$	5,0	58,7*
Рубин	$15,2 \pm 1,87$	$16,2 \pm 2,47$	6,7	52,0*

Таблица 9 (продолжение)

Сорт, линия	Семенная продуктивность 2007–2008 гг.		% к контролю	
	контроль	«Бисолби-микс», 500 кг/га	2008 г.	2007 г.
Оран	12,4 ± 1,13	13,1 ± 2,51	5,7	42,6
Хризантема	14,3 ± 1,58	14,8 ± 2,06	3,5	24,0
Зуша	13,7 ± 2,06	14,5 ± 1,98	5,8	11,0
Средняя прибавка	—	—	4,7	27,9
<i>Чечевица</i>				
Лана	5,7 ± 0,57	6,3 ± 0,34	10,5	40,4**
Светлая	5,5 ± 0,39	6,5 ± 0,28	18,2**	31,1**
Рауза (стандарт)	6,4 ± 0,41	6,9 ± 0,26	7,8	33,3**
Образцов Чифлик 7	5,3 ± 0,26	5,5 ± 0,37	3,8	33,3**
Любимая	5,8 ± 0,47	6,3 ± 0,35	8,6	38,5**
Пензенская 14	4,9 ± 0,68	5,5 ± 0,21	12,3	25,0**
Веховская	5,2 ± 0,34	5,7 ± 0,39	9,6	26,0
Петровская 4/105	5,0 ± 0,26	5,2 ± 0,18	4,0	41,3**
Петровская 6	5,1 ± 0,39	5,4 ± 0,32	5,9	29,8**
Красноградская 250	4,8 ± 0,27	5,4 ± 0,19	12,5**	24,0
Средняя прибавка	—	—	9,3	32,3
<i>Соя</i>				
Ланцетная (стандарт)	41,3 ± 2,89	42,7 ± 3,04	3,4	7,9
Магева	36,4 ± 4,17	38,2 ± 1,63	5,0	11,3
Свапа	42,3 ± 5,26	44,5 ± 4,31	3,0	5,2
БММ	43,2 ± 2,39	45,6 ± 2,99	5,6	5,5
Белор	39,4 ± 3,55	42,0 ± 2,57	6,6	1,5

Таблица 9 (окончание)

Сорт, линия	Семенная продуктивность 2007–2008 гг.		% к контролю	
	контроль	«Бисолби-микс», 500 кг/га	2008 г.	2007 г.
Л-02	43,5 ± 4,17	45,8 ± 3,59	5,3	3,4
Л-200	44,7 ± 3,85	46,1 ± 2,87	3,1	4,2
Средняя прибавка	—	—	4,6	5,6
<i>Люпин узколистный</i>				
Кристалл (стандарт)	22,3 ± 3,18	27,8 ± 3,56	24,7	17,4
Орловский сидерат	24,8 ± 3,21	28,1 ± 4,15	13,3	15,7
Тимир 1	20,1 ± 1,38	22,6 ± 1,49	12,4	8,7
Тимир 2	22,7 ± 2,59	24,2 ± 2,08	6,6	9,8
Детер 1	21,6 ± 4,68	23,4 ± 1,17	8,3	6,4
Снежень	22,8 ± 3,57	24,8 ± 3,26	8,8	7,2
Брянский 123	20,5 ± 2,55	22,7 ± 1,85	10,7	3,7
Белозерный 110	22,8 ± 3,54	24,2 ± 3,17	6,1	5,1
Гамма	21,3 ± 2,52	22,5 ± 2,09	5,6	6,1
Надежда	22,5 ± 2,79	24,0 ± 3,62	6,7	0,8
Средняя прибавка	—	—	10,3	8,1

* Прибавка достоверна при $P \geq 0,95$.

** Прибавка достоверна при $P = 0,95$.

делянках с учетной площадью 25 м² в четырехкратной повторности с рандомизированным размещением. Норма высева всхожих семян — 4,5 млн штук на гектар.

Таблица 10. Влияние КМУ (300 и 500 кг/га) на урожайность ярового ячменя сорта «Ассоль» (ВНИИЗБК, Орловская обл., 2008 г.)

Вариант опыта	Урожайность, т/га	Прибавка урожайности	
		т/га	%
Контроль без обработки	1,45	—	—
Эталон $N_{45}P_{30}K_{45}$	1,68	0,23	15,9
БисолбиМикс:			
300 кг/га	1,84	0,39	26,9
500 кг/га	1,93	0,48	33,1
НСР ₀₅	0,102	—	—

В полевом опыте на яровом ячмене сорта Ассоль была показана высокая эффективность применения КМУ «БисолбиМикс». При норме расхода удобрения 300 кг/га и 500 кг/га прибавка урожайности ячменя составила 26,9% (3,9 ц/га) и 33,1% (4,8 ц/га) соответственно по сравнению с контролем без обработки. В эталонном варианте с внесением $N_{45}P_{30}K_{45}$ отмечали достоверно более низкую урожайность, чем в двух вариантах с применением КМУ «БисолбиМикс».

4.1.2.3. Изучение эффективности применения комплексного микробного удобрения на зерновых злаковых культурах (г. Орел, 2008 г.)

На экспериментальных полях ВНИИЗБК в 2008 г. были проведены полупроизводственные испытания КМУ (500 кг/га) на зерновых злаковых культурах. У озимой пшеницы сорта Московская 39 урожайность повысилась с 55,7 ц/га (контроль без инокуляции) до 62,4 ц/га (препарат «БисолбиМикс»), у яровой пшеницы сорта Крестьянка — с 48,3 до 54,9 ц/га и у ярового ячменя сорта Атаман — с 36,8 до 45,2 ц/га соответственно.

4.1.3. Эффективность применения комплексного микробного удобрения (препарата «БисолбиМикс») на зернобобовых культурах (г. Орел, 2009–2010 гг.)

С целью изучения эффективности применения КМУ (препарата «БисолбиМикс») на зернобобовых культурах использовали следующий растительный материал:

- коммерческие сорта: соя (*Glycine max* (L.) Merr.) сорт Магева и фасоль (*Phaseolus vulgaris* L.) сорт Оран (табл. 11, 12);
- 20 генотипов фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) из коллекции ВНИИЗБК (г. Орел) и ВНИИ растениеводства имени Н. И. Вавилова (ВИР) (г. Санкт-Петербург) (табл. 13 раздела 4.1.3.2), сорт Рубин является стандартом продуктивности для Орловской области;
- 8 формообразцов крупносемянной чечевицы (*Lens culinaris* Medik.) (табл. 14 раздела 4.1.3.3) из коллекции ВИР имени Н. И. Вавилова, являющейся источником исходного материала для селекционной работы. Сорт Рауза является стандартом продуктивности для Орловской области (районирован в 2004 г.).

Растения выращивали в стационарном селекционном питомнике, организованном по принципу 6-польного севооборота. В течение 5 лет до экспериментов в почву не вносили минеральные удобрения и химические средства защиты. Исследования проводили на полях ВНИИЗБК (Орловская область).

Таблица 11. Влияние препарата «БисолбиМикс» и моноинокуляции КБ или грибами АМ на урожайность и качество семян фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) сорта «Оран» (г. Орел, 2010 г.)

Показатель	Вариант			
	контроль	КБ	грибы АМ	«БисолбиМикс»
Урожайность, ц/га	13,2	17,3	19,8	22,0
Содержание белка, %	24,1	24,1	24,2	24,2
Сбор белка, кг/га	318	417	479	532

Таблица 12. Влияние препарата «БисолбиМикс» и моноинокуляции КБ или грибами АМ на урожайность и качество семян сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта «Магева» (г. Орел, 2010 г.)

Показатель	Вариант			
	Контроль	КБ	Грибы АМ	«БисолбиМикс»
Урожайность, ц/га	16,6	17,6	18,3	21,4
Содержание белка, %	39,0	39,1	39,3	39,5
Содержание жира, %	17,2	17,2	17,2	17,0
Сбор белка, кг/га	647	688	719	845
Сбор жира, кг/га	286	303	315	364

Почва опытных участков — темно-серая лесная, среднесуглинистая, с мощностью гумусового слоя 30–35 см. Плотность пахотного слоя — 1,30–1,35 г/см³. Гигроскопическая влажность в пахотном слое — 7,5% от сухой массы почвы. Наименьшая влагоемкость — 32,2–34,8%. Влажность устойчивого завядания — 9,7% от объема почвы. Содержание гумуса составило 4,4–5,5%, легкогидролизующего азота по Кононовой — 7,8–9,5 мг/100 г почвы; подвижного фосфора (P₂O₅), по Кирсанову, — 9,2–11,3 мг/100 г почвы; калия (K₂O), по Масловой, — 7,5–8,3 мг/100 г почвы; гидролитическая кислотность — 4,2–4,6 мг-экв.; сумма поглощенных оснований — 21,6–26,5 мг-экв/100 г почвы; степень насыщенности основаниями — 78–94%; pH солевой вытяжки — 5,6–6,3.

Для моноинокуляции растений клубеньковыми бактериями (КБ) использовали ризоторфин на основе: для сои — *Bradyrhizobium japonicum*, для фасоли — *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* и для чечевицы — *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Для моноинокуляции грибами АМ использовали комплексный инокулюм (субстратно-корневую смесь), содержащий различные грибы АМ. В качестве накопительной культуры для производства инокуляционного материала АМ взят сорго-суданский гибрид (*Sorghum* sp. Moench). В качестве субстрата-носителя использовали ФМО

с сахарного завода пос. Сотницыно Рязанской области. Применяли высокоэффективные производственные штаммы КБ и изоляты грибов АМ из коллекции ВНИИСХМ. Перед посевом семена обрабатывали ризоторфином, инокуляционный материал грибов АМ в количестве 300 кг/га вносили в почву при посеве. Препарат «БисолбиМикс» готовили из инокуляционного материала грибов АМ и соответствующих КБ.

Полевые опыты проводили по общепринятой методике (Доспехов, 1985). Семена растений высевали в поле в оптимальные сроки вручную. Учетная площадь делянки — 1 м². Агротехника зернобобовых культур в опыте — общепринятая для зоны. Уборку — по мере созревания сортообразцов проводили ручным способом. Для структурного анализа с каждой делянки отбирали по 15 растений. Статистическую обработку данных опытов осуществляли на персональном компьютере с использованием пакетов статистической обработки данных SIGMA STAT 2.03 (SPSS Inc., США) и Excel (Microsoft, США).

4.1.3.1. Эффективность применения комплексного микробного удобрения в полупроизводственных опытах с коммерческими сортами фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) сорта Оран и сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта Магева (г. Орел, 2010 г.)

Для проверки эффективности препарата «БисолбиМикс» (2009) была произведена комплексная инокуляция препаратом высокоэффективных сортов фасоли (сорт Оран) и сои (сорт Магева) по сравнению с моноинокуляцией КБ или грибами АМ. Установлено, что мноинокуляция как КБ, так и грибами АМ приводит к увеличению урожайности и таких параметров качества семян, как сбор белка у фасоли и сои (табл. 8, 9), сбор жира у сои (табл. 9). Комплексная инокуляция препаратом «БисолбиМикс» приводила к более значительному увеличению параметров по сравнению с вариантами моноинокуляции. Таким образом, установлено, что партия препарата «БисолбиМикс», произведенная в предыдущем отчетном году, обладает высокой эффективностью, а результаты

оценки эффективности различных генотипов бобовых в питомнике являются адекватными.

4.1.3.2. Влияние применения комплексного микробного удобрения на хозяйственно-ценные признаки растений 20 сортов и селекционных линий фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) (г. Орел, 2010 г.)

Для изучения эффективности применения КМУ «БисолбиМикс» на зернобобовых культурах была произведена очередная партия препарата. Препарат впервые был приготовлен на основе ФМО на корнях проса (*Panicum miliaceum* L.) с сахарного завода Орловской области.

В условиях селекционного питомника (г. Орел) проведен анализ влияния инокуляции КМУ «БисолбиМикс» (второй год эксперимента) на хозяйственно-ценные параметры образцов фасоли и чечевицы, представляющих исходный материал для селекции сортов с высоким симбиотическим потенциалом. В анализ было вовлечено 20 генотипов и селекционных линий фасоли: Гелиада, Шоколадница, Рубин, 00-106, а также генотипы из коллекции ВНИИЗБК и ВИР (табл. 13).

В результате инокуляции КМУ у всех формообразцов фасоли, за исключением сорта Шоколадница и линий 09-306, в 2010 г. наблюдали прибавку массы семян с растения, или СП (в среднем на 24,5%). По многолетним наблюдениям этот показатель является наиболее адекватным для оценки эффективности взаимодействия с БМ (Борисов и др., 2004; Штарк и др., 2006) и особенно важен при ведении семеноводства культуры. Также практически у всех образцов наблюдали увеличение массы 1000 семян (в среднем на 9%). Этот признак отражает среднюю массу одного семени и является одним из основных составляющих СП сорта. Лишь у образца 09-300, выделяющегося наиболее крупными семенами (около 0,5 г), второй год подряд наблюдали снижение этого параметра при инокуляции БМ. Следует отметить, что при механизированной уборке сорта с крупными семенами сильно травмируются, поэтому для производства наибольший интерес представляют

Таблица 13. Влияние инокуляции препаратом «БисолбиМикс» на основные

Сортообразец	Длина стебля, см		Высота прикрепления нижнего боба, см		Число бобов	
	Контроль	«Бисолби-Микс»	Контроль	«Бисолби-Микс»	Контроль	
Гелиада	34,9 ± 0,91	33,4 ± 0,94	16,4 ± 0,61	15,9 ± 0,46	9,1 ± 0,81	
Рубин (st)	33,6 ± 0,83	32,6 ± 0,86	13,2 ± 0,52	15,2 ± 0,46	14,6 ± 0,71	
София	39,1 ± 0,84	37,4 ± 0,75	16,0 ± 0,58	14,5 ± 0,32	10,1 ± 0,57	
Станичная	54,4 ± 1,42	48,3 ± 0,81	19,1 ± 0,36	15,4 ± 0,47	10,7 ± 0,88	
Шоколадница	65,7 ± 1,16	71,6 ± 0,98	19,6 ± 0,55	17,7 ± 0,44	17,9 ± 1,21	
Шубинская	41,3 ± 1,69	40,3 ± 1,03	19,0 ± 0,99	17,0 ± 0,24	10,1 ± 0,19	
00-106	44,6 ± 0,68	42,1 ± 0,76	17,0 ± 0,34	15,2 ± 0,39	12,1 ± 0,47	
09-276	45,9 ± 1,04	41,3 ± 0,81	17,5 ± 0,71	16,2 ± 0,46	10,5 ± 0,39	
09-278	40,3 ± 0,81	39,8 ± 0,92	16,8 ± 0,64	16,0 ± 0,35	9,2 ± 0,47	
09-281	33,9 ± 0,97	30,7 ± 0,73	15,0 ± 0,37	14,1 ± 0,43	9,0 ± 0,54	
09-287	35,6 ± 0,58	33,6 ± 1,15	14,2 ± 0,41	13,6 ± 0,58	10,8 ± 0,86	
09-295	34,3 ± 0,92	31,2 ± 0,82	14,0 ± 0,28	13,5 ± 0,46	10,5 ± 0,97	
09-296	33,1 ± 1,03	31,8 ± 0,97	14,5 ± 0,39	14,0 ± 0,51	10,9 ± 1,02	
09-297	56,8 ± 0,84	52,6 ± 0,81	16,0 ± 0,54	15,1 ± 0,32	16,3 ± 1,18	
09-298	45,3 ± 1,19	41,8 ± 0,75	17,9 ± 0,72	17,2 ± 0,46	12,0 ± 0,86	
09-300	40,1 ± 1,16	38,3 ± 0,99	17,3 ± 0,36	16,9 ± 0,51	10,4 ± 0,61	
09-306	47,7 ± 1,22	45,8 ± 1,02	15,2 ± 0,61	14,5 ± 0,45	21,7 ± 0,93	
09-320	60,8 ± 0,95	57,2 ± 0,93	18,3 ± 0,65	17,5 ± 0,68	12,1 ± 0,84	
09-321	52,3 ± 1,03	49,8 ± 0,87	17,1 ± 0,48	16,5 ± 0,46	14,2 ± 0,71	
09-324	41,4 ± 1,13	40,0 ± 0,74	15,2 ± 0,35	14,7 ± 0,51	17,1 ± 0,96	

хозяйственно-ценные признаки сортообразцов фасоли (г. Орел, 2010 г.)

с растения, шт.		Масса семян с растения, г		Масса 1000 семян, г.	
	«Бисолби-Микс»	Контроль	«Бисолби-Микс»	Контроль	«Бисолби-Микс»
	15,6±0,63	6,9±0,66	11,2±0,72	365±20,4	267±9,3
	13,3±0,82	12,4±0,69	12,9±0,71	319±6,6	329±5,9
	12,1±0,74	6,2±0,39	11,3±0,81	220±6,28	223±6,8
	12,5±0,61	9,2±0,91	11,8±0,70	322±20,3	358±10,2
	13,6±0,64	11,5±1,34	8,3±0,43	180±9,8	184±4,9
	12,3±0,81	6,4±0,51	9,9±0,65	417±52,37	422±11,7
	13,2±0,73	10,2±0,42	12,1±0,58	264±7,52	300±9,8
	12,7±0,51	9,2±0,73	11,9±0,48	203±6,18	225±4,87
	11,2±0,83	8,5±0,64	11,6±0,54	348±9,24	383±11,60
	10,9±0,64	9,8±0,73	12,0±0,63	325±11,82	372±9,85
	12,1±0,56	10,0±0,81	12,1±0,84	341±12,40	393±11,34
	12,2±0,48	9,6±0,73	12,8±0,77	248±10,22	279±6,81
	12,6±0,71	10,1±0,68	12,9±0,68	236±9,87	253±5,14
	18,3±0,54	12,2±1,03	14,1±0,83	208±10,15	230±6,18
	15,1±0,77	12,0±0,93	14,0±0,75	372±11,84	392±11,76
	11,4±0,83	14,5±0,76	16,9±0,81	482±15,41	453±11,60
	18,2±0,92	23,1±1,83	20,2±0,93	264±11,9	303±9,15
	14,0±1,02	9,4±0,56	11,6±0,72	183±8,45	220±10,34
	15,2±0,96	11,3±0,82	12,9±0,50	202±10,27	247±9,87
	18,1±0,75	9,8±0,77	12,2±0,84	168±6,15	226±11,31

мелкосемянные и среднесемянные сорта фасоли. Кроме того, практически у всех генотипов также наблюдали увеличение количества бобов на одном растении (в среднем на 14%, исключение — сорт Шоколадница), что является закономерностью, выявленной ранее, и связано с эффектом формирования АМ (Якоби и др., 2000). Также незначительно (в среднем около 5% и не более чем на 19,4%) уменьшалась высота прикрепления нижнего боба образца 09-306, у которого и без инокуляции образуется большое количество бобов по сравнению с другими генотипами, и у сорта Рубин (стандарт продуктивности Орловской области), количество бобов у которого достоверно не увеличилось.

В результате инокуляции БМ у всех генотипов (за исключением сорта Шоколадница) наблюдали незначительное уменьшение длины стебля (около 5%), что меняет высоту прикрепления нижнего боба. Несмотря на то что оба признака являются важным требованием к архитектонике фасоли, определяющими технологичность культуры, описанный эффект не является критическим, так как компенсируется увеличением толщины стебля, а следовательно, сохраняется вертикальность стебля.

4.1.3.3. Эффективность применения комплексного микробного удобрения на сортаобразцах чечевицы (*Lens culinaris* Medik.) (ВНИИЗБК, 2009 г.)

С использованием 7 сортаобразцов чечевицы (*Lens culinaris* Medik.) из коллекции ВИР и сорта Рауза (стандарт продуктивности Орловской обл.) в 2008–2009 гг. был проведен анализ эффективности применения КМУ для данного вида сельскохозяйственных растений (табл. 14). Генотипы были отобраны по результатам анализа комплекса хозяйственно-ценных признаков, не включающих эффективность взаимодействия с БМ, и могут быть использованы как исходный материал для традиционной селекции.

Исследуемые образцы имели достаточно высокие показатели по всем хозяйственно ценным признакам. По числу бобов и семян с растения они все превышали стандарт Рауза.

Таблица 14. Данные структурного анализа коллекционных сортов/образцов чечевицы, отобранных по комплексу хозяйственно ценных признаков, усредненные данные за 2008–2009 гг. (контроль без инокуляции (К) и применение КМУ «БисолбиМикс» (Б)) (г. Орел)

Образец, происхождение	Вариант	Длина стебля, см	Высота прикрепленья нижнего боба, см	Надземная биомасса, г	Количество прод. бобов с растения	Число семян с растения	Масса семян с растения, г	Число ветвей первого порядка
Рауза (стандарт)	К	37,0	23,0	3,23	19,5	22,0	2,13	3,1
	Б	31,6	21,5	4,96	23,9	28,0	3,51	4,1
к-2834, Канада	К	37,9	23,2	5,05	40,1	44,3	3,40	6,8
	Б	34,0	21,1	6,24	43,7	48,1	4,17	8,0
к-2526, Перу	К	38,5	21,8	5,09	30,0	34,4	3,49	3,4
	Б	34,3	20,0	5,98	34,1	39,0	4,08	4,1
к-1030, о. Сардиния	К	36,4	22,0	3,68	29,4	32,8	2,40	3,9
	Б	33,4	20,6	4,47	32,8	36,6	3,36	4,0
к-688, Марокко	К	34,2	20,3	4,48	29,5	33,0	2,68	4,8
	Б	31,7	19,5	5,27	31,5	36,7	3,25	5,2
к-2697, Турция	К	36,6	23,9	3,47	26,4	29,1	2,48	4,0
	Б	32,8	22,2	4,23	30,0	33,1	3,27	4,5
к-2720, Колумбия	К	37,3	24,3	3,74	28,3	32,0	2,40	5,0
	Б	34,0	23,2	4,65	30,0	34,6	3,26	5,5
к-2845, Канада	К	39,0	24,0	3,75	23,7	26,1	2,23	3,7
	Б	36,3	22,3	4,54	27,7	30,2	3,29	4,1
Значение НСР ₀₅ (К/Б)	3,53		2,21	0,46	3,01	3,38	0,31	0,46

В ходе двухлетних экспериментов было показано, что применение КМУ «БисолбиМикс» способствовало значительному увеличению анализируемых параметров у всех образцов, кроме высоты растения, которая снижалась. Современные агротехнические приемы предъявляют особые требования к архитектонике растений чечевицы, предпочтение отдается длинно-стебельным образцам с высоким прикреплением нижнего боба. В исследованиях было показано, что снижение высоты растения легко компенсируется увеличением толщины стебля, что повышает стабильность вертикального положения растения.

В частности, повышение надземной массы растения (МР) составило от 17,5% (к-2526) до 53,6% (сорт Рауза), а массы семян с растения (СП) — от 16,9% (к-2526) до 64,8% (Рауза).

Худшими в отношении эффективности взаимодействия с БМ оказались образцы к-2526 (Перу) и к-688 (Марокко): за счет применения КМУ МР увеличилась на 17,5 и 17,6% соответственно, СП — на 16,9 и 21,3% (рис. 19 на с. 187 наст. изд.). Самые значительные прибавки в отношении СП наблюдались у генотипов Рауза (стандарт продуктивности) и к-2845 (Канада) — 64,8 и 47,5% соответственно (рис. 19).

Таким образом, в ходе проведенных исследований была показана высокая эффективность применения КМУ на чечевице (*Lens culinaris* Medik.). В среднем по генотипам прибавка МР составляла 26,3%, а СП — 35,1%.

4.1.4. Эффективность применения

комплексного микробного удобрения, произведенного на основе фильтрационно-моечного осадка с отвалов сахарного завода пос. Залегощь (Залегощенский район, Орловская обл.) на сортах и коллекционных генотипах фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) (г. Орел, 2009–2011 гг.)

Полевые опыты по изучению эффективности КМУ, созданного на основе резидентной почвенной микрофлоры, закладывались в севообороте ВНИИЗБК (Орловский район Орловской области).

Почвы опытных участков темно-серые лесные, среднесуглинистые, подстилаемые лессовидным суглинком, средней окультуренности. Микрорельеф участка выровненный. По основным физико-химическим показателям данные почвы пригодны под все районированные в области сельскохозяйственные культуры и являются типичными для данной природно-экономической зоны. Содержание гумуса, по Тюрину, — 3,93%; легкогидролизуемого азота, по Кононовой, — 125 мг/кг почвы; подвижного фосфора, по Кирсанову, — 125; обменного калия, по Кирсанову, — 59 мг/кг почвы; рН солевой вытяжки — 5,6–5,6; гидролитическая кислотность — 4,2–4,6 мг-экв/100 г почвы.

Опыты закладывались на делянках с площадью питания одного растения 10×45 см, повторение — 4 раза. Для сравнительного изучения отзывчивости сортообразцов фасоли на инокуляцию КБ, грибами АМ и КМУ использовали следующую схему опыта: 1 — контроль; 2 — предпосевная обработка семян ризоторфином; 3 — предпосевное внесение в почву инокуляма грибов АМ; 4 — предпосевное внесение в почву КМУ.

Для предпосевной обработки семян использовали ризоторфин на основе КБ *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*, штамм 653. Обработку проводили за 2 ч до посева по методике, указанной на упаковке. В качестве инокуляма грибов АМ использовали почвенно-корневую смесь (15 г на семя) из-под микоризованной суданской травы (*Sorghum sp.* Moench), инокулированной смесью изолятов *Glomus intaradices* CIAM8 и *Glomus fasciculatum* BEG144 (коллекция ВНИИСХМ).

КМУ было произведено ВНИИСХМ и ВНИИЗБК на основе ФМО с 20 летних отвалов сахарного завода пос. Залегощь Залегощенского района Орловской области по технологии «Бисолби-Микс», разработанной в сотрудничестве с ООО «Бисолби-Интер» (Чеботарь и др., 2008). Агрохимические показатели ФМО: $pH_{\text{сол}}$ — 7,8; содержание органического вещества — 4,3%; биологически доступного фосфора, по Кирсанову, — 1,5 мг/100 г; K_{20} , по Масловой, — 60,0 мг; Ca^{2+} — 8,1 мг-экв/100 г; общего азота — 0,31%. В качестве накопительной культуры грибов АМ использовали просо (*Panicum meliaceum* L.) (2009–2010 гг.) или *Sorghum sp.* Moench (2011 г.). Для приготовления «БисолбиМикс» на основе

ФМО использовали эффективные изоляты грибов АМ, штаммы КБ и ассоциативных ризосферных бактерий. КМУ вносили из расчета 500 кг/га.

Использовали генотипы фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.), полученные из коллекции ВНИИЗБК (Гелиада, Шоколадница, Рубин, Услава) и ВИР к-15444 (Glen Lyon, Австралия), к-15401 (Auga, Польша) и к-15459 (Kanamito, Польша). Сортообразцы Рубин, Шоколадница и Гелиада были использованы как идентифицированные ранее стандарты симбиотической эффективности.

Учеты, наблюдения и структурный анализ сортообразцов проводились по методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (Федин, 1985), методическим рекомендациям ВИР (Вишнякова и др., 2010). Сухую массу растения устанавливали весовым методом после высушивания при температуре 105°С. Нитрогеназную активность определяли методом ацетиленовой редукции в модификации (Орлова и др., 1983). При отборе проб для учета числа клубеньков на корнях растений использовали метод монолитов (Посыпанов, 1991). Оценку микоризной инфекции проводили по Трувело (Trouvelot, 1986). Использовали следующие параметры: интенсивность развития микоризной инфекции, пересчитанная на 1 см корня (M) и обилие арбускул в микоризованной части корня (a). Содержание белка в зерне определяли методом Кьельдаля в модификации Ермакова (1987) с использованием автоматической системы UDK-152 и дигестора ДК-6 производства фирмы Velp Scientifika (Италия). Аминокислотный анализ выполняли на автоматическом аминокислотном анализаторе Hitachi 835 (Россия).

Проведен трехлетний (2009–2011 гг.) сравнительный анализ эффективности применения КМУ «БисолбиМикс», произведенного на основе резидентной почвенной микрофлоры с отвалов сахарного завода пос. Залегощ Залегощенского района Орловской области, на зернобобовой культуре фасоли (*P. vulgaris*).

Совокупный анализ результатов трехлетних полевых экспериментов (2009–2011 гг.) по инокуляции фасоли проводили по следующим параметрам: масса сухого растения, масса семян с растения, число семян с растения, масса 1000 семян, содержание белка

в семенах, способность к клубенькообразованию и нитрогеназная активность клубеньков.

Масса сухого растения. Значение данного параметра в контрольном варианте без обработки в среднем изменялось в интервале от $15,0 \pm 3,09$ г (Гелиада) до $36,7 \pm 2,49$ г (Kanamito) (табл. 15). Наибольшей отзывчивостью на инокуляцию ризоторфином обладали сортообразцы Glen Lyon (17,5%), Услава (15,8%) и Гелиада (70,0%). Сортообразцы Услава и Гелиада также проявили высокую отзывчивость как на моноинокуляцию грибами АМ (прибавки к контролю — 22,7 и 75,3%, соответственно), так и на обработку КМУ (прибавка к контролю — 39,1 и 81,3%, соответственно) (табл. 15).

Масса семян с растения. В качестве основного показателя при оценке симбиотической эффективности фасоли использована семенная продуктивность растений (масса семян с одного растения) — один из главных элементов структуры урожая, обусловленный взаимодействием многих генов, влиянием почвенно-климатических и агротехнических условий.

Проведенные исследования показали, что значение данного признака у сортообразцов фасоли в контрольном варианте варьировало в среднем от $7,1 \pm 0,60$ г (Гелиада) до $20,2 \pm 1,10$ г (Aura). По данному параметру относительно высокие прибавки продемонстрировали сортообразцы: Гелиада (ризоторфин — 162,0%, грибы АМ — 74,6%, КМУ — 62,0%) и Рубин (ризоторфин — 29,8%, грибы АМ — 8,9%, КМУ — 40,3%). Сортообразец Шоколадница проявил относительно невысокую эффективность как при моноинокуляции, так при использовании КМУ (ризоторфин — 14,4%, грибы АМ — 22,9%, КМУ — -28,8%).

Число семян с растения. В среднем относительно высокие прибавки по данному параметру при трех испытанных способах инокуляции наблюдалась у сортообразцов Гелиада (ризоторфин — 180,7%, грибы АМ — 142,2%, КМУ — 126,6%) и Рубин (ризоторфин — 16,7%, грибы АМ — 11,2%, КМУ — 20,1%). У сортообразца Шоколадница число семян с растения увеличилось при инокуляции грибами АМ (15,2%).

Масса 1000 семян. В среднем в контрольном варианте без обработки масса 1000 семян у изучаемых сортообразцов фасоли

Таблица 15. Влияние инокуляции различными группами благотворных микроорганизмов и КМУ на основные хозяйственно полезные признаки сортообразцов фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) (2009–2011 гг.)

Сорто-образец	Вариант опыта	Масса сухого растения, г	Масса семян с растения, г	Число семян с растения, шт.	Масса 1000 семян, г
Aura	Контроль	29,5 ± 2,23	20,2 ± 1,10	61,0 ± 3,3	330 ± 11,0
	Ризоторфин	31,2 ± 1,78	21,4 ± 1,40	64,5 ± 4,4	332 ± 6,4
	АМ	27,0 ± 2,09	17,5 ± 1,10	49,6 ± 2,7	353 ± 11,4
	КМУ	29,4 ± 1,65	19,4 ± 1,93	53,8 ± 3,4	361 ± 18,7
Glen Lyon	Контроль	19,9 ± 1,03	9,5 ± 0,80	53,6 ± 2,8	161 ± 9,3
	Ризоторфин	23,4 ± 0,98	7,3 ± 0,60	59,4 ± 3,3	123 ± 6,2
	АМ	22,1 ± 1,25	11,1 ± 0,80	65,7 ± 3,8	169 ± 6,3
	КМУ	16,1 ± 2,36	8,2 ± 0,68	56,1 ± 3,7	147 ± 4,2
Kanamito	Контроль	36,7 ± 2,49	23,0 ± 1,00	142,0 ± 5,7	162 ± 6,0
	Ризоторфин	37,5 ± 3,05	24,6 ± 1,40	133,0 ± 5,1	185 ± 6,1
	АМ	38,3 ± 2,14	21,5 ± 1,10	100,3 ± 6,1	216 ± 7,2
	КМУ	38,4 ± 1,29	24,1 ± 1,07	147,0 ± 6,6	169 ± 5,3
Услава	Контроль	20,2 ± 2,18	9,6 ± 0,70	58,5 ± 3,9	169 ± 7,3
	Ризоторфин	23,4 ± 1,36	10,5 ± 0,60	59,4 ± 2,7	172 ± 6,0
	АМ	24,8 ± 2,45	10,8 ± 0,70	58,1 ± 4,3	182 ± 7,4
	КМУ	28,1 ± 1,73	9,7 ± 0,69	52,7 ± 2,9	183 ± 7,5
Рубин	Контроль	24,5 ± 2,15	12,4 ± 0,70	38,3 ± 1,5	326 ± 6,8
	Ризоторфин	25,8 ± 3,24	16,1 ± 0,60	44,7 ± 1,3	358 ± 6,5
	АМ	24,6 ± 3,98	13,5 ± 0,70	42,6 ± 2,6	316 ± 14,9
	КМУ	24,5 ± 2,55	17,4 ± 0,70	46,0 ± 2,1	378 ± 8,6

Таблица 15 (окончание)

Сорто-образец	Вариант опыта	Масса сухого растения, г	Масса семян с растения, г	Число семян с растения, шт.	Масса 1000 семян, г
Шоколадница	Контроль	26,7 ± 1,87	11,8 ± 1,20	61,0 ± 4,8	190 ± 8,2
	Ризоторфин	27,8 ± 1,21	13,5 ± 0,60	54,9 ± 2,1	245 ± 8,9
	АМ	22,1 ± 1,48	14,5 ± 0,90	70,3 ± 4,0	208 ± 4,2
	КМУ	18,3 ± 2,34	8,4 ± 0,44	45,5 ± 1,3	186 ± 5,5
Гелиада	Контроль	15,0 ± 3,09	7,1 ± 0,60	19,2 ± 2,1	369 ± 19,4
	Ризоторфин	25,5 ± 2,58	18,6 ± 0,60	53,9 ± 4,0	344 ± 9,1
	АМ	26,3 ± 1,27	12,4 ± 1,00	46,5 ± 2,9	264 ± 9,4
	КМУ	27,2 ± 1,46	11,5 ± 0,71	43,5 ± 2,9	267 ± 9,1

находилась в пределах от 161 ± 9,3 г (Glen Lyon) до 369 ± 19,4 г (Гелиада). Предпосевное внесение КМУ в почву положительно сказалось на увеличении массы 1000 семян у сортообразцов Aura (9,3%), Услада (8,3%) и Рубин (15,9%). У сортообразцов Шоколадница и Гелиада в варианте с КМУ масса 1000 семян снизилась по сравнению с контролем на 11,8 и 38,2%, соответственно, что, по-видимому, связано со значительным увеличением числа семян с растения.

Содержание белка в семенах. Содержание белка в семенах фасоли в контрольном варианте в среднем варьировало от 22,4% (Гелиада) до 30,9% (Aura) (табл. 16). Как моно-, так и комплексная инокуляция полезными почвенными микроорганизмами повышали содержание белка в семенах у всех проанализированных генотипов фасоли. Наибольший эффект оказывало использование КМУ, повышая содержание белка в среднем по генотипам на 3,3%. Максимальные прибавки наблюдались у сортообразцов Kanamito (3,7%), Услада (4,0%) и Гелиада (4,0%). Инокуляция ризоторфином повышала уровень накопления белка в семенах на 1,4% в среднем по генотипам, а грибами АМ — на 2,1%.

Таблица 16. Влияние инокуляции различными группами благотворных микроорганизмов и КМУ на содержание белка в семенах различных сортообразцов фасола (*Phaseolus vulgaris* L.), % (2009–2011 гг.)

Сорто-образец	Вариант опыта	2009 г.	2010 г.	2011 г.	В среднем за 3 года
Aura	Контроль	30,5	31,6	30,8	30,9
	Ризоторфин	31,0	31,8	31,0	31,3
	АМ	31,4	32,0	31,6	31,7
	КМУ	31,8	32,0	31,8	31,9
Glen lyon	Контроль	24,1	24,9	24,7	24,6
	Ризоторфин	24,6	25,0	25,0	24,9
	АМ	24,6	25,2	24,8	24,9
	КМУ	25,0	25,4	25,2	25,2
Kanamito	Контроль	26,2	27,8	27,4	27,1
	Ризоторфин	26,4	27,8	27,8	27,3
	АМ	27,5	28,2	27,8	27,8
	КМУ	27,8	28,5	28,0	28,1
Услава	Контроль	27,3	28,0	27,5	27,6
	Ризоторфин	28,1	28,2	27,9	28,1
	АМ	27,3	28,0	28,0	27,8
	КМУ	28,6	29,2	28,2	28,7
Рубин	Контроль	28,5	29,7	28,6	28,9
	Ризоторфин	28,9	29,8	29,1	29,3
	АМ	29,0	30,0	29,4	29,5
	КМУ	29,1	30,0	29,7	29,6
Шоколад-ница	Контроль	26,8	27,3	26,5	26,9
	Ризоторфин	27,5	28,0	27,0	27,5
	АМ	27,1	28,1	27,6	27,6
	КМУ	27,2	28,5	27,6	27,8
Гелиада	Контроль	22,0	22,3	22,1	22,4
	Ризоторфин	22,4	23,0	22,5	22,6
	АМ	22,8	23,4	23,1	23,1
	КМУ	22,9	23,8	23,3	23,3

Установлено влияние погодных условий на показатель белковости семян. Так, чем выше была температура воздуха в период вегетации (2010 г.), тем больше белка было в семенах. Высокобелковые образцы имели сравнительно низкую семенную продуктивность. Анализ корреляционных отношений содержания белка и продуктивности показал наличие отрицательной связи между этими признаками ($r = -0,37...-0,42$). Это подтверждают данные, полученные ранее (Polignano, 1982; Кондратьев, 1983; Лазарева, Мирошникова, 2004), где тоже была отрицательная корреляционная связь между этими признаками.

Способность к клубенькообразованию. Погодные условия вегетационного периода в среднем были благоприятными для нормального роста и развития фасоли. В аномально жарком 2010 г. начало образования клубеньков на корнях растений было отмечено в конце цветения — начале образования бобов. В среднем за годы изучения в контрольном варианте у растений всех сортообразцов клубеньки сформировались, хотя и в небольшом количестве (табл. 14), что свидетельствует о присутствии в почвенной микрофлоре Орловской области специфических для фасоли азотфиксирующих бактерий (табл. 17).

В среднем наиболее активное образование клубеньков наблюдалось у сортообразцов Aura, Glen Lyon, Рубин и Шоколадница при обработке ризоторфином и у сортообразцов Kanamito, Услада и Гелиада в варианте с КМУ.

Нитрогеназная активность. В 2011 г. биологическая фиксация азота зафиксирована во всех вариантах изучения у всех сортообразцов. Наибольшая фиксация растениями фасоли биологического азота отмечена в 2009 г. (табл. 18).

В варианте с предпосевной обработкой семян ризоторфином нитрогеназная активность была выше, чем в других вариантах опыта, у сортообразцов Aura, Glen Lyon, Рубин и Шоколадница. Внесение инокулюма АМ и КМУ повышало нитрогеназную активность клубеньков сортообразцов Kanamito, Услада и Гелиада. Эти данные соотносятся с повышением способности к клубенькообразованию у перечисленных образцов. В среднем за годы изучения наибольшее количество биологического азота ($71 \pm 4,50$ мкг N_2 /раст. · ч) отмечено для растений сортообразца Гелиада в варианте

Таблиця 17. Клубенькообразование формообразцов фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) в фазе начала образования бобов при обработке ризоторфином, грибами АМ и КМУ (2009–2010 гг.)

Сортообразец	Вариант опыта	Число клубеньков на растении, шт.			В среднем за 3 года
		2009 г.	2010 г.	2011 г.	
Aura	Контроль	51 ± 1,57	18 ± 0,61	42 ± 1,64	37 ± 1,23
	Ризоторфин	68 ± 2,18	22 ± 0,94	53 ± 1,52	48 ± 2,47
	АМ	53 ± 1,39	18 ± 0,56	44 ± 1,12	38 ± 3,24
	КМУ	62 ± 2,45	20 ± 1,23	48 ± 3,65	43 ± 2,36
Glen Lyon	Контроль	64 ± 0,71	24 ± 1,66	48 ± 4,09	45 ± 3,18
	Ризоторфин	71 ± 3,68	32 ± 0,94	63 ± 5,21	56 ± 4,23
	АМ	60 ± 2,54	27 ± 0,67	60 ± 4,19	49 ± 3,56
	КМУ	58 ± 2,37	26 ± 0,54	61 ± 3,56	48 ± 3,59
Kanamito	Контроль	65 ± 1,93	28 ± 1,42	55 ± 2,27	49 ± 2,64
	Ризоторфин	67 ± 4,29	33 ± 1,56	58 ± 3,69	53 ± 2,55
	АМ	52 ± 1,29	35 ± 1,06	53 ± 4,18	47 ± 3,27
	КМУ	74 ± 5,62	38 ± 2,17	75 ± 5,63	62 ± 3,43
Услава	Контроль	55 ± 2,49	23 ± 1,93	45 ± 2,57	41 ± 2,09
	Ризоторфин	57 ± 2,38	23 ± 0,75	48 ± 3,19	43 ± 1,87
	АМ	45 ± 1,62	36 ± 4,23	48 ± 2,25	43 ± 2,45
	КМУ	63 ± 4,21	28 ± 1,15	53 ± 2,65	48 ± 1,87
Рубин	Контроль	55 ± 1,28	29 ± 1,23	60 ± 3,18	48 ± 2,34
	Ризоторфин	62 ± 3,23	30 ± 1,72	75 ± 4,51	56 ± 5,19
	АМ	57 ± 1,12	34 ± 1,21	58 ± 4,56	50 ± 2,45
	КМУ	56 ± 2,73	33 ± 0,97	58 ± 3,27	49 ± 3,02
Шоколадница	Контроль	57 ± 2,05	28 ± 1,17	59 ± 2,45	48 ± 1,56
	Ризоторфин	68 ± 4,57	34 ± 0,73	70 ± 5,19	57 ± 4,67
	АМ	60 ± 2,19	36 ± 0,53	62 ± 4,33	53 ± 2,38
	КМУ	61 ± 2,23	37 ± 2,21	63 ± 3,17	54 ± 3,44
Гелиада	Контроль	61 ± 3,56	27 ± 1,10	58 ± 2,19	49 ± 2,71
	Ризоторфин	65 ± 2,39	36 ± 1,87	64 ± 3,48	55 ± 3,76
	АМ	74 ± 5,61	39 ± 1,55	69 ± 3,65	61 ± 3,49
	КМУ	77 ± 5,19	39 ± 2,34	74 ± 4,18	63 ± 4,56

Таблица 18. Нитрогеназная активность сортообразцов фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) при обработке ризоторфином, грибами АМ и КМУ, мкг N₂/раст. · ч (2009–2011 гг.)

Сортообразец	Вариант опыта	Нитрогеназная активность, мкг N ₂ /раст. ч			В среднем за 3 года
		2009 г.	2010 г.	2011 г.	
Ауга	Контроль	45 ± 1,10	4 ± 0,53	15 ± 1,74	21 ± 1,23
	Ризоторфин	78 ± 2,54	12 ± 0,98	51 ± 2,33	47 ± 2,18
	АМ	65 ± 2,76	39 ± 1,27	48 ± 2,45	51 ± 3,42
	КМУ	68 ± 1,92	45 ± 2,31	48 ± 3,56	54 ± 4,18
Glen lyon	Контроль	50 ± 2,18	3 ± 0,44	23 ± 1,47	25 ± 2,27
	Ризоторфин	76 ± 3,42	11 ± 0,25	58 ± 3,21	48 ± 4,55
	АМ	70 ± 2,55	28 ± 0,47	52 ± 2,32	50 ± 2,42
	КМУ	65 ± 1,93	37 ± 1,28	50 ± 0,47	36 ± 1,18
Kanamito	Контроль	50 ± 2,17	2 ± 0,15	24 ± 0,32	25 ± 1,25
	Ризоторфин	64 ± 4,21	8 ± 0,21	46 ± 3,45	39 ± 2,59
	АМ	72 ± 3,26	35 ± 1,34	59 ± 4,76	55 ± 2,47
	КМУ	78 ± 4,58	43 ± 2,45	68 ± 3,19	63 ± 3,57
Услава	Контроль	50 ± 2,47	2 ± 0,32	24 ± 2,45	25 ± 1,26
	Ризоторфин	53 ± 2,09	15 ± 1,27	37 ± 2,39	35 ± 1,43
	АМ	68 ± 1,54	37 ± 1,68	51 ± 4,57	52 ± 2,12
	КМУ	75 ± 2,38	44 ± 2,36	70 ± 4,56	63 ± 4,52
Рубин	Контроль	49 ± 1,53	4 ± 0,32	18 ± 1,62	24 ± 1,09
	Ризоторфин	73 ± 2,18	16 ± 0,98	43 ± 1,92	44 ± 2,18
	АМ	55 ± 1,66	9 ± 0,21	40 ± 1,08	35 ± 1,24
	КМУ	53 ± 1,34	8 ± 0,36	40 ± 1,23	33 ± 1,36
Шоколадница	Контроль	48 ± 1,79	3 ± 0,25	21 ± 1,74	34 ± 1,48
	Ризоторфин	68 ± 3,21	12 ± 0,16	43 ± 2,57	41 ± 2,54
	АМ	62 ± 4,15	10 ± 0,21	40 ± 3,12	37 ± 1,59
	КМУ	62 ± 2,47	7 ± 0,21	31 ± 2,18	33 ± 1,23
Гелиада	Контроль	58 ± 2,98	4 ± 0,17	20 ± 1,10	27 ± 1,45
	Ризоторфин	62 ± 2,03	6 ± 0,11	34 ± 1,72	32 ± 1,86
	АМ	74 ± 2,56	43 ± 3,28	71 ± 4,55	62 ± 2,39
	КМУ	79 ± 4,39	59 ± 4,51	76 ± 4,87	71 ± 4,50

с предпосевным внесением в почву КМУ (прибавка к контролю — +163,0%, к варианту с ризоторфином — +121,9%).

Таким образом, по данным трехлетних полевых экспериментов (2009–2011), установлено, что наиболее эффективным по всем проанализированным параметрам при взаимодействии с комплексом БМ (КМУ) является сортобразец Гелиада из коллекции ВНИИЗБК. Данный генотип характеризуется относительно невысокой биомассой ($15,0 \pm 3,06$ г) и СП ($7,1 \pm 0,60$ г с растения) в контроле; при этом прибавка за счет инокуляции микроорганизмами может составлять более 150% к контролю. Прибавки за счет применения КМУ у сортобразца Гелиада наблюдались практически по всем параметрам и составляли: масса сухого растения — 70,0%, масса семян с растения — 62,0%, число семян с растения — 126,6%, содержание белка в семенах — 4,0%, способность к клубенькообразованию — 28,6% и нитрогеназная активность клубеньков — 163,0%. Исключение составлял параметр «масса 1000 семян»: при инокуляции КМУ наблюдали его снижение на 38,2%. По-видимому, уменьшение размеров семян было связано со значительным увеличением их количества. Аналогичную зависимость наблюдали и у других генотипов фасоли. В то же время среднесемянный сортобразец Услава и крупносемянный Kanamito также реагировали на инокуляцию КМУ увеличением параметра «масса сухого растения». Это сопровождалось значительным повышением количества клубеньков и их нитрогеназной активности по сравнению с контролем и вариантом с моноинокуляцией ризоторфином.

Кроме того, применение КМУ приводило к значительному повышению содержания белка в семенах у всех проанализированных генотипов фасоли независимо от того, наблюдалось ли увеличение общей массы и СП растения. Так, например, у сортобразцов Kanamito и Услава содержание белка в семенах в результате применения КМУ повышалось на 3,7 и 4,0%, соответственно. Аналогичные закономерности наблюдали ранее при инокуляции КМУ гороха посевного (*Pisum sativum* L.) (Штарк и др., 2006).

В результате проведенных исследований получены экспериментальные данные об эффективности применения КМУ, созданного на основе резидентной почвенной микрофлоры, для стимуляции развития растений. Установлено, что применение КМУ

приводит к увеличению содержания белка в семенах фасоли. Выявлен генотип фасоли Гелиада, отличающийся максимальными прибавками хозяйственно ценных параметров при взаимодействии с комплексом полезной почвенной микрофлоры. Сортообразец Гелиада может быть рекомендован для использования в селекционных программах как донор признака «высокая эффективность взаимодействия с БМ» фасоли.

Также продемонстрирована высокая эффективность применения КМУ, созданного на основе резидентной почвенной микрофлоры, для повышения белка в семенах фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.), например в семенах коммерческих сортов фасоли Гелиада, Kanamito и Услада.

4.2. ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии» (г. Санкт-Петербург)

4.2.1. Эффективность применения комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» на вико-овсяной смеси (вика (*Vicia* L.) сорта Немчиновская 56, овес (*Avena sativa* L.) сорта Боррус) (г. Санкт-Петербург, 2010 г.)

В 2010 г. изучалось влияние КМУ «БисолбиМикс» на урожайность вико-овсяной смеси в мелкоделяночном полевом опыте на слабо окультуренных, легко суглинистых, дерново-подзолистых почвах (выраженный дефицит азотного и калийного питания) опытного поля ВНИИСХМ.

Схема опыта:

- | | |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Контроль NPK_0 | 4. «БисолбиМикс» + NPK_0 |
| 2. Контроль NPK_{50} | 5. «БисолбиМикс» + NPK_{50} |
| 3. Контроль NPK_{100} | 6. «БисолбиМикс» + NPK_{100} |

В опыте использовали делянки размером 2×4 м, расстояние между делянками — 30 см. Посев проведен 29 июля 2010 г., на 1 м^2 высевали 30 г вико-овсяной смеси. «БисолбиМикс» вносился из расчета 1000 кг/га. Полив минеральными удобрениями проведен

через день после посадки. Учет результатов проведен на 81 день после посадки. Математическая обработка данных проведена методом дисперсионного анализа с помощью программ DIANA (Санкт-Петербург, Россия) и MS Excel 2007 (Microsoft Corp., США).

Учет урожая вико-овсяной смеси показал, что в условиях экстремально-жаркого для региона Санкт-Петербурга лета 2010 г. применение КМУ увеличило урожай зеленой массы на 87% только при отсутствии минеральных удобрений. Внесение 50 и 100% NPK увеличило урожай вико-овсяной смеси на 55 и 74%, соответственно. Внесение КМУ «БисолбиМикс» на фоне минеральных удобрений не оказывало достоверного влияния на урожай растений. Такой эффект действия КМУ, очевидно, можно объяснить очень высокими почвенными температурами, которые негативно сказались на деятельности благотворных микроорганизмов на фоне минеральных удобрений.

Таким образом, урожай зеленой массы вико-овсяной смеси увеличился на 87% при внесении 1000 кг/га «БисолбиМикс» без минеральных удобрений, тогда как минеральные удобрения не оказали такого эффекта на увеличение урожая зеленой массы. По данным эксперимента 2010 г. для выращивания вико-овсяной смеси целесообразным является применение КМУ без минеральных удобрений.

4.2.2. Эффективность применения комплексного микробного удобрения (препарата «БисолбиМикс») на вико-овсяной смеси (вика (*Vicia* L.) сорта Немчиновская 56, овес (*Avena sativa* L.) сорта Боррус (г. Санкт-Петербург, 2011 г.)

Полевой опыт по изучению эффективности применения КМУ «БисолбиМикс» на вико-овсяной смеси в 2011 г. проводили в условиях опытного поля ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии (см. раздел 4.2.1).

Схема опыта:

- | | |
|-------------------------------------|--|
| 1. Контроль $N_0P_0K_0$ | 3. «БисолбиМикс» + $N_0P_0K_0$ |
| 2. Контроль $N_{100}P_{100}K_{100}$ | 4. «БисолбиМикс» + $N_{100}P_{100}K_{100}$ |

«БисолбиМикс» вносили из расчета $0,1 \text{ кг/м}^2$ (1000 кг/га). Полив делянок минеральными удобрениями в виде водного раствора азофоски (вариант $N_{100}P_{100}K_{100}$) проведен за 1 день до посева смеси. Учеты урожая проводили поделочно, методом сплошной уборки. В день уборки урожая на учетной площади по одной из ее диагоналей отбирали растительные образцы массой от 0,8 до 1,0 кг для химических анализов с каждого варианта двух несмежных повторений.

Все анализы проведены общепринятыми методами: зола — методом озоления, P_2O_5 — ванадиево-молибдатным методом, K_2O — методом пламенной фотометрии, азот — методом Кьельдаля, клетчатка — по Гелибергу—Штомману, жир — методом экстрагирования в аппарате Сокслета, каротин — фотометрическим методом Циреля.

Сырой белок рассчитывали путем умножения содержания азота на коэффициент 6,25.

Математическая обработка данных проведена методом дисперсионного анализа с помощью программ DIANA и MS Excel 2007.

В результате проведенных экспериментов было показано, что применение КМУ «БисолбиМикс» без удобрений достоверно увеличило урожай вико-овсяной смеси на 86% (табл. 19). Эффективность «БисолбиМикс» на фоне внесения минеральных удобрений была недостаточной — +1% по сравнению с контролем с применением $N_{100}P_{100}K_{100}$.

Таблица 19. Урожайность биомассы вико-овсяной смеси в полевом опыте (опытное поле ВНИИСХМ, 2011 г.)

Вариант	Урожайность в пересчете, ц/га	Изменение, %
Контроль 1 — $N_0P_0K_0$	79,2	—
Контроль 2 — $N_{100}P_{100}K_{100}$	217,0	+155,0
КМУ + $N_0P_0K_0$	147,8	+86,0
КМУ + $N_{100}P_{100}K_{100}$	220,0	+178,0
$HCP_{0,05}$	17,6	—

Существенными составляющими результатов опыта явилось увеличение растворимых сахаров в составе зеленой массы в варианте с КМУ «БисолбиМикс» (табл. 20). Расчетная экономическая эффективность применения данного агроприема при возделывании вико-овсяной смеси составляет 1300–1570 руб./га в ценах 2011 г.

Таблица 20. Показатели качества вико-овсяной смеси в пересчете на сухое вещество в полевом опыте (опытное поле ВНИИСХМ, 2011 г.)

Показатели качества	Вариант опыта			
	Контроль N ₀ P ₀ K ₀	Контроль N ₁₀₀ P ₁₀₀ K ₁₀₀	КМУ N ₀ P ₀ K ₀	КМУ N ₁₀₀ P ₁₀₀ K ₁₀₀
Сухое вещество, %	21,90	21,79	22,59	22,20
Сырой протеин, %	8,58	11,0	9,03	10,49
Сырая клетчатка, %	32,51	30,47	29,12	28,78
Растворимые сахара, %	14,70	13,17	15,98	14,77
Соотношение сахар/протеин	1,71	1,18	1,77	1,41
Обменная энергия, МДж/кг	9,13	9,50	9,73	9,81
Кормовые единицы, к. ед/кг	0,68	0,73	0,75	0,77

Таким образом, применение КМУ «БисолбиМикс» (1000 кг/га) увеличило урожай зеленой массы вико-овсяной смеси на 86% без минеральных удобрений, эффект применения которых был несколько выше. Однако только в варианте с КМУ существенно увеличилось количество растворимых сахаров в зеленой массе (на 1,2%). Подтверждены результаты испытаний 2010 г. (см. раздел 4.2.1): на вико-овсяной смеси экономически целесообразным является применение КМУ без минеральных удобрений.

4.2.3. Эффективность применения комплексного микробного удобрения («БисолбиМикс») на картофеле (*Solanum tuberosum* L.) (г. Санкт-Петербург, 2012 г.)

Эксперимент был начат на опытном поле ВНИИСХМ 13 июня 2012 г. В качестве тестовой культуры был взят картофель (*Solanum tuberosum* L.), сорт Невский, класс элита. Посадочный материал получен в НПО Белогорка Северо-Западный НИИ сельского хозяйства (СЗ НИИСХ).

В работе использовали производственные образцы микробных препаратов Экстрасол (в качестве позитивного контроля) и экспериментально наработанные партии КМУ «БисолбиМикс». Агрофон минеральных удобрений моделировали с помощью внесения нитроаммофоски. Химическую обработку всходов проводили гербицидом Раундап в соответствии с регламентами применения.

Предпосевную обработку Экстрасолом проводили методом опрыскивания, из ручного пульверизатора. Свежеприготовленное КМУ «БисолбиМикс» вносили непосредственно перед посадкой, по 6 г под клубень (в расчете 340 кг/га).

Минеральные удобрения (нитроаммофоска) разбрасывали по поверхности рядков и присыпались почвой в расчете: $\text{NPK}_{50} = \text{N}_{50}\text{P}_{50}\text{K}_{50} = 50$ кг каждого элемента на 1 га, $\text{NPK}_{100} = 100$ кг/га.

Общая площадь опыта с защитными полосами составила 250 м^2 . Повторность опытов — четырехкратная, на одной делянке 12 клубней по схеме посадки $0,3 \times 0,7$ м. Расчетное число клубней на защитные полосы: минимальное $12 \times 3 \times 25 + 300 = 1200$, максимальное $12 \times 4 \times 25 + 400 = 1600$.

Промежуточный учет физиологического состояния растений был проведен 6 августа 2012 г. Подсчитывали общее число взошедших растений в каждой повторности (число учтенных кустов), число здоровых, развитых, а также цветущих кустов; учитывали окраску надземной части растения. Учет урожая и определение его структуры проводили 10 сентября 2012 г. (период вегетации — 89 дней). Выкопанный картофель подсушивали, очищали от почвы и сортировали на фракции: очень мелкий (до 25 мм), мелкий (от 25–40 мм) и товарный (от 40–60 мм и от 60 мм). После сортировки каждую фракцию взвешивали.

Исследования показали, что применение КМУ «БисолбиМикс» на фоне NPK_{50} (рис. 10) увеличило урожай клубней картофеля сорта Невский на 4,1% с куста, выход товарной фракции — на 11,7%, число учтенных растений (сформировавшихся кустов) выросло на 27,1%, за счет чего общая урожайность варианта с «БисолбиМикс» увеличилась на 73,5%.

В варианте с КМУ «БисолбиМикс» на фоне NPK_{50} (рис. 10) основные показатели урожайности были приближены к варианту с позитивным контролем (Экстрасол). Однако из-за более высокого числа взошедших растений (учтенных «кустов») в позитивном контроле (после выбраковки), лучшего физиологического состояния общая урожайность с препаратом Экстрасол оказалась на 23,2% выше, хотя различия с вариантом КМУ статистически недостоверны.

На агрофоне NPK_{100} с КМУ «БисолбиМикс» средняя урожайность клубней с куста выросла на 125,5%, увеличение выхода товарной фракции на 37,8%, средний вес клубня (фракция > 40 мм) увеличился на 121,5%. Число кустов картофеля выросло на 31,2%, за счет чего общая урожайность варианта повысилась на 130,2% (рис. 11). Кроме того, в вариантах с «БисолбиМикс» отмечено изменение окраски листьев на более темно-зеленую, что свидетельствует о более высокой фотосинтетической активности и улучшенном физиологическом состоянии растений.

4.3. ФГБОУ ВО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия им. акад. Д. К. Беляева» (г. Иваново, 2006–2009 гг.)

4.3.1. Эффективность комплексного микробного удобрения, определение вклада химической и микробиологической составляющих комплексного микробного удобрения на яровой пшенице сорта Приокская в Ивановской области

Первый год эксперимента по определению последствий КМУ, г. Иваново, 2006 г. Четырехлетний (2006–2009 гг.) полевой опыт по изучению действия и последствий КМУ «Бисолбимикс» на

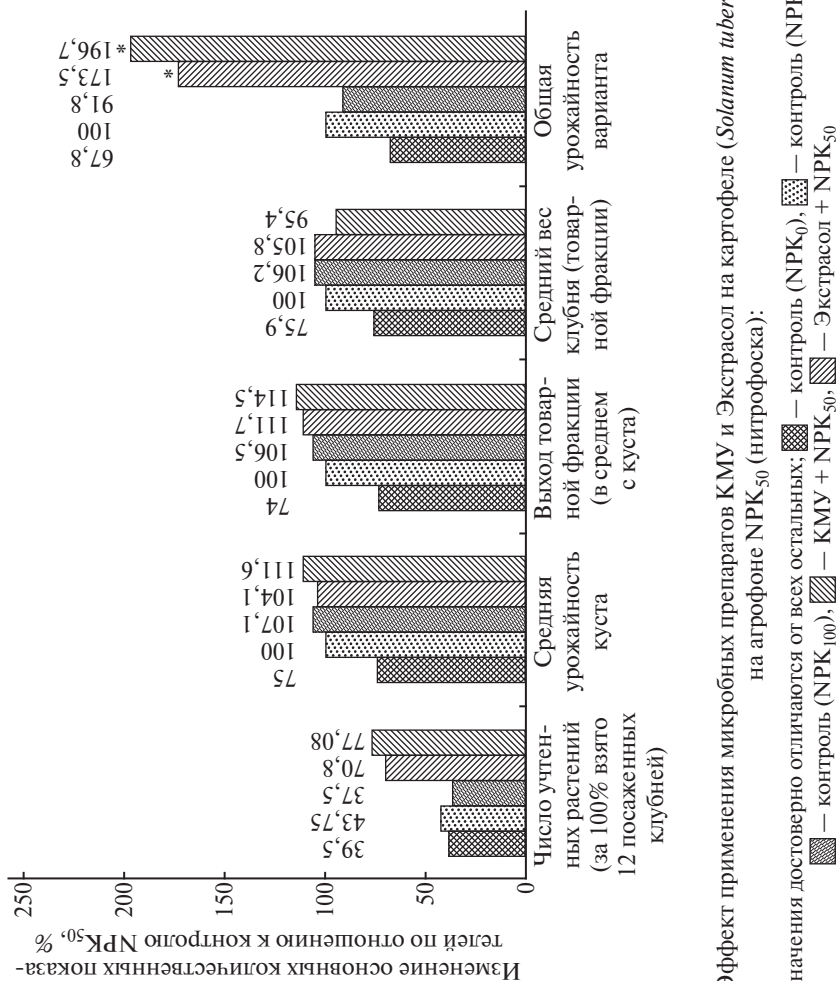


Рис. 10. Эффект применения микробных препаратов КМУ и Экстрасол на картофеле (*Solanum tuberosum* L.) на агрофоне NPK₅₀ (нитрофоска):

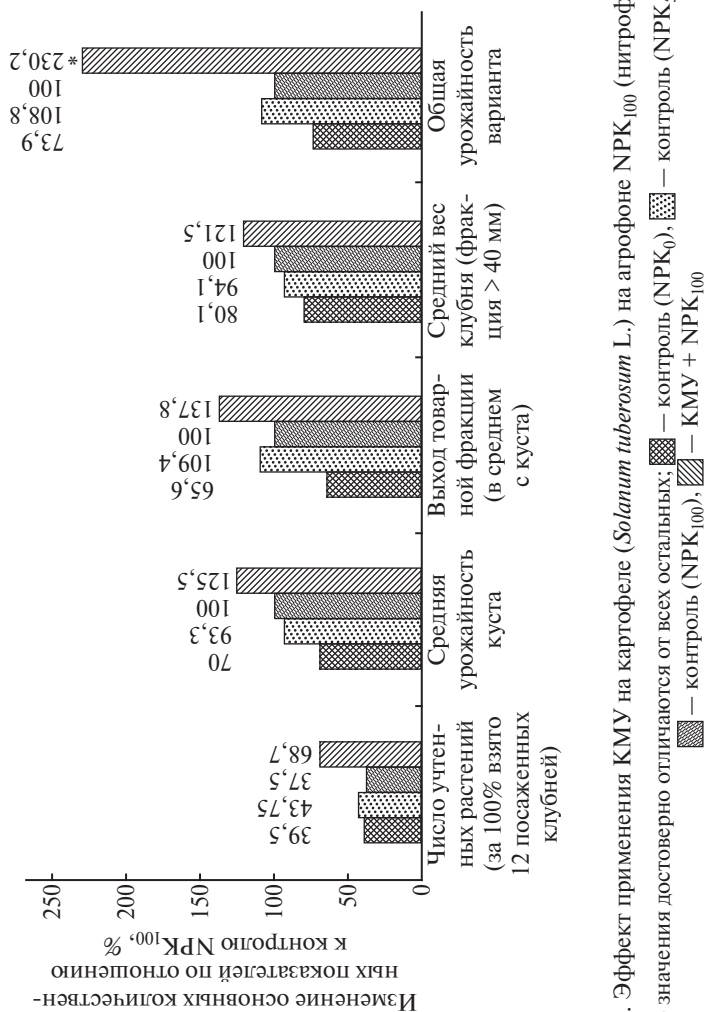


Рис. 11. Эффект применения КМУ на картофеле (*Solanum tuberosum* L.) на агрофоне NPK₁₀₀ (нитрофоска):

* — значения достоверно отличаются от всех остальных; ■ — контроль (NPK₀), ▨ — контроль (NPK₅₀), ▩ — КМУ (NPK₀), ▧ — КМУ + NPK₁₀₀

продуктивность культур севооборота закладывали совместно с учеными ВНИИ агрохимии имени Д. Н. Прянишникова и ВНИИСХМ на опытном поле ФГОУ ВПО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия». Для определения химической составляющей КМУ в качестве отдельной обработки использовали стерильный субстрат-носитель КМУ — автоклавированный (30 мин, 121°С) ФМО после производства сахара из сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*), так называемый дефека́т.

Схема опыта включала следующие варианты:

Контроль	Фон (N ₄₅ P ₃₀ K ₄₅)
Дефека́т 250 кг/га	Фон + дефека́т 250 кг/га
Дефека́т 500 кг/га	Фон + дефека́т 500 кг/га
Дефека́т 1000 кг/га	Фон + дефека́т 1000 кг/га
КМУ 250 кг/га	Фон + КМУ 250 кг/га
КМУ 500 кг/га	Фон + КМУ 500 кг/га
КМУ 1000 кг/га	Фон + КМУ 1000 кг/га

Действие различных доз КМУ «БисолбиМикс» изучали в звене севооборота со следующим чередованием культур:

— яровая пшеница (сорт Приокская) с последующим (после уборки пшеницы) посевом клевера первого года пользования сорт Дымковский (2006 г.);

— клевер, сорт Дымковский первого года пользования (2007 г.);

— клевер, сорт Дымковский второго года пользования (2008 г.);

— яровая пшеница, сорт Приокская (2009 г.).

Почва опытного участка дерново-подзолистая среднесуглинистая, В табл. 21 приведена агрохимическая характеристика почвы перед закладкой.

Полевой опыт закладывали согласно общепринятым методам проведения исследований в Географической сети опытов Всероссийского научно-исследовательского института агрохимии им. Д. Н. Прянишникова (ВНИИА). Минеральные удобрения (аммиачная селитра NH₄NO₃, двойной суперфосфат Ca(HPO₄)₂ и хлористый калий — KCl), стерильный дефека́т и КМУ вносили

Таблица 21. Агрохимическая характеристика почвы опытного участка (2006 г.)

Показатель	Значение
pH _{KCl}	4,3
Гидролитическая кислотность (по Каппену), мг-экв/100 г	3,2
Гумус (по Тюрину), %	1,8
K ₂ O (по Кирсанову), мг/100 г	8,0
P ₂ O ₅ (по Кирсанову), мг/100 г	5,1

вручную по делянкам согласно схеме опыта в предпосевную культивацию. Агротехника выращивания пшеницы соответствовала зональной технологии.

В полевом опыте определяли нарастание биомассы растений и ассимиляционного аппарата, содержание в биомассе зольных элементов. Отобранные растения фиксировали и высушивали, после чего определяли их массу. В сухих образцах растений, а также в зерне и соломе определяли содержание азота, фосфора и калия на инфракрасном анализаторе.

Уборку урожая осуществляли прямым комбайнированием, урожайность зерна приводили к 100% чистоте и влажности 14%.

Агрохимические исследования почвы и анализ растительных образцов проводили общепринятыми методами в аккредитованной агрохимической лаборатории.

Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли стандартными методами дисперсионного анализа.

Погодные условия вегетационного периода в 2006 г. были неблагоприятными для роста и развития яровых зерновых культур. Установившаяся засуха в период активного роста и закладки генеративных органов отрицательно сказалась на продуктивности яровой пшеницы. На контроле без внесения удобрений получено только 8,9 ц/га зерна (табл. 22).

Достоверного увеличения урожайности от внесения стерильного дефеката во всех дозах, а также КМУ в дозе 250 кг/га не отмечено. Достоверные прибавки урожая от КМУ были получены при

Таблица 22. Урожайность зерна яровой пшеницы сорта «Приокская» в 2006 г.

Вариант	Урожай- ность, ц/га	Прибавка, ц/га				
		к кон- тролю	от НРК	от стериль- ного дефеката	от КМУ общая от микробного комплекса	от химического состава субстрата
Контроль	8,9	—	—	—	—	—
Дефекат 250 кг/га	8,7	-0,2	—	—	—	—
Дефекат 500 кг/га	9,1	+0,2	—	—	—	—
Дефекат 1000 кг/га	9,4	+0,5	—	—	—	—
КМУ 250 кг/га	9,3	+0,4	—	—	+0,6	—
КМУ 500 кг/га	10,1	+1,2	—	—	+1,2	+0,2
КМУ 1000 кг/га	11,4	+2,5	—	—	+2,5	+0,5
N ₄₅ P ₃₀ K ₄₅ — фон	13,4	+4,5	+4,5	—	—	—
Фон + дефекат 250 кг/га	13,4	+4,5	+4,5	—	—	—
Фон + дефекат 500 кг/га	13,6	+4,7	+4,5	—	—	—
Фон + дефекат 1000 кг/га	14,5	+5,6	+4,5	—	—	—
Фон + КМУ 250 кг/га	14,0	+5,1	+4,5	—	+0,6	—
Фон + КМУ 500 кг/га	15,7	+6,8	+4,5	—	+2,3	+0,2
Фон + КМУ 1000 кг/га	16,1	+7,2	+4,5	—	+2,7	+1,1

* P — 2,98%; НСР₀₅ — 1,07 ц/га.

дозе внесения 500 и 1000 кг/га (соответственно 1,2 и 2,5 ц/га). Применение полной дозы минерального удобрения сопровождалось повышением продуктивности культуры, прибавка составила 4,5 ц/га. Положительное действие КМУ отмечено также на фоне минеральных удобрений. Так, от использования КМУ в дозе 500 кг/га увеличение урожайности (по сравнению с дефекалом в той же дозе) составило на 2,1 ц/га, а при дозе 1000 кг/га — на 1,6 ц/га (разница статистически недостоверна).

Изучаемые приемы не оказали существенного влияния на значение хозяйственного коэффициента (доля зерна в общехозяйственном урожае), который составлял 0,47–0,48, то есть зерновая продуктивность растений увеличивалась пропорционально вместе с массой надземной части.

В опыте установлено, что основное влияние на накопление биомассы и площади ассимиляционной поверхности оказали метеорологические условия и изучаемые факторы. Неблагоприятные погодные условия (засуха) в начальные сроки вегетации сказывались на биомассе и площади листовой поверхности, не отмечено каких-либо существенных различий в фазе кушения по вариантам опыта. К фазе трубкования неблагоприятное воздействие засухи в значительной степени сглаживалось. При этом проявилось положительное действие КМУ (биомелиоранта).

Визуальная и биометрическая оценки опытных растений в процессе их выращивания показала, что применение микробных культур, входящих в состав КМУ, способствует более интенсивному накоплению надземной части растений при выращивании на кислой почве.

Применение комплексного микробного удобрения во всех изучаемых дозах на всех фонах внесения удобрений способствовало формированию максимальной площади листовой поверхности и накоплению большего количества биомассы растений по сравнению с обычным известковым удобрением.

Содержание азота в зерне составляло от 1,82 до 1,97, в соломе — от 0,58 до 0,79%. От применения КМУ на неудобренном фоне содержание азота в зерне возрастало от дозы 250 кг/га на 0,1; от дозы 500 кг/га — на 0,4; от дозы 1000 кг/га — на 0,12; в соломе, соответственно, — на 0,4; 0,1; 0,4%. При совместном использовании

минерального удобрения и КМУ содержание азота в зерне возрастало: при дозе 250 кг/га на 0,8; 500 кг/га — на 0,12; 1000 кг/га — на 0,19; в соломе, соответственно, — на 0,3; 0,4; 0,12%.

Содержание фосфора в зерне возрастало от КМУ без внесения НРК при дозе: 250 кг/га на 0,6; 500 кг/га — на 0,4; 1000 кг/га — на 0,8; в соломе, соответственно, — на 0,4; 0,3; 0,5%. При совместном применении КМУ и минерального удобрения содержание P_2O_5 повысилось в зерне при дозе: 250 кг/га на 0,8; 500 кг/га — на 0,5; 1000 кг/га — на 0,8; в соломе, соответственно, — на 0; 0,4; 0,4. Изучаемые в опыте факторы не изменяли содержание калия в зерне и соломе яровой пшеницы.

Применение КМУ увеличивало хозяйственный вынос азота, фосфора и калия с единицы площади, повышая его в основном за счет роста урожайности культуры, а также концентрации азота и калия в зерне и соломе.

Порядок увеличения выноса элементов урожаем пшеницы не зависит от применения КМУ, минерального удобрения и дефеката и был следующим: $N > K_2O > P_2O_5$. Данные, полученные в полевом опыте с яровой пшеницей сорта Приокская, показывают, что коэффициенты использования элементов питания из удобрений значительно изменялись. Минимальными они были при использовании минеральных удобрений со стерильным дефекатом. При внесении минеральных удобрений совместно с КМУ в дозах 500 и 1000 кг/га увеличивается коэффициент использования азота, фосфора и калия из минеральных удобрений.

На основании проведенных исследований (2006 г.) были сделаны следующие предварительные выводы.

При дозе внесения 500 и 1000 кг/га были получены достоверные прибавки от КМУ, отмечено положительное действие КМУ также на фоне минеральных удобрений.

Применение КМУ способствует улучшению развития листового аппарата и накоплению абсолютно сухой биомассы яровой пшеницы.

От использования КМУ в растениях яровой пшеницы отмечена тенденция увеличения N и P в ключевые фазы вегетации.

В результате повышения урожайности основной и побочной продукции за счет КМУ возрастает вынос азота, фосфора и калия.

При внесении минеральных удобрений совместно с КМУ увеличивается использование азота, фосфора и калия из туков.

4.3.2. Эффект последействия комплексного микробного удобрения на клевере (*Trifolium* L.) сорта Дымковский первого и второго года пользования в Ивановской области (г. Иваново, 2007–2008 гг.)

В полевом опыте 2007–2008 гг. определяли эффект последействия различных доз КМУ и стерильного дефеката, внесенных в 2006 г., на продуктивность растений следующего звена севооборота. Схема опыта соответствовала исходной (2006 г.).

Объектом исследований являлся клевер луговой сорта Дымковский первого и второго года пользования. Использование травостоя — двухукосное. Агротехника использования бобового травостоя — общепринятая для Нечерноземной зоны России.

Учеты урожая проводили поделяночно, методом сплошной уборки. В день уборки урожая на учетной площади по одной из ее диагоналей отбирали растительные образцы массой от 0,8 до 1,0 кг для химических анализов с каждого варианта двух несмежных повторений.

Все анализы проведены общепринятыми методами: зола — методом озоления, P_2O_5 — ванадиево-молибдатным методом, K_2O — методом пламенной фотометрии, азот — методом Кьельдаля, клетчатка — по Гелибергу–Штомману, жир — методом экстрагирования в аппарате Сокслета, каротин — фотометрическим методом Циреля. Сырой белок рассчитывали путем умножения азота на коэффициент 6,25.

Метеорологические условия весны и лета в период исследований (2007–2008 гг.) несколько отличались от средних многолетних. Среднесуточная температура воздуха в мае была на $0,9^\circ C$ ниже среднемноголетней, количество осадков превышало норму на 36%. В июне количество выпавших осадков составило 87% от нормы при температуре ниже среднемноголетней на $1,1^\circ C$. Июль характеризовался температурой на $1,0^\circ C$ выше нормы при количестве

осадков 270%. В августе температура воздуха была в пределах среднелетней, количество осадков превышало норму на 73%.

Продуктивность травостоя клевера находилась в зависимости от сроков уборки, фона минерального питания и от доз КМУ и стерильного дефекаата (табл. 23).

Изучая последствие КМУ и дефекаата (стерильного субстрата — носителя КМУ), примененных в 2006 г., следует отметить разностороннее действие КМУ на продуктивность клевера первого (2007 г.) и второго (2008 г.) годов пользования.

Таблица 23. Влияние последствия КМУ на урожайность сена клевера, ц/га, в пересчете на абсолютно сухое вещество (а.с.в.)

Вариант	Клевер 1 г.п. (2007 г.)			Клевер 2 г.п. (2008 г.)		
	1-й укос	2-й укос	сумма за 2 укоса	1-й укос	2-й укос	сумма за 2 укоса
Контроль	45,1	20,9	66,0	49,2	25,8	75,0
Дефекаат 250 кг/га	46,4	21,0	67,4	48,6	25,7	74,3
Дефекаат 500 кг/га	48,5	22,0	70,5	49,9	26,8	76,5
Дефекаат 1000 кг/га	51,7	22,2	73,9	51,7	27,8	79,5
КМУ 250 кг/га	46,5	22,5	69,0	48,7	25,7	74,4
КМУ 500 кг/га	51,5	23,2	74,7	52,3	26,9	79,2
КМУ 1000 кг/га	52,6	24,1	76,7	52,2	28,1	80,3
Фон — P ₆₀ K ₉₀	55,1	26,4	81,5	54,4	30,7	85,1
Фон + дефекаат 250 кг/га	55,3	26,6	81,9	54,7	31,4	86,1
Фон + дефекаат 500 кг/га	55,0	26,2	81,2	55,0	31,6	86,6
Фон + дефекаат 1000 кг/га	56,9	27,8	83,9	55,2	32,0	87,2
Фон + КМУ 250 кг/га	57,8	26,9	84,7	56,1	32,1	88,2
Фон + КМУ 500 кг/га	57,7	27,6	85,3	56,2	33,8	90,0
Фон + КМУ 1000 кг/га	61,2	28,6	89,8	60,1	35,6	95,7
НСР ₀₅ , ц/га	2,5	1,3	2,7	4,7	1,6	4,9

Достоверные прибавки урожайности клевера первого года пользования в первый укос от последействия КМУ (в дозе 500 и 1000 кг/га) были получены без внесения минеральных удобрений и, соответственно, равнялись 6,4 и 7,5 ц/га. На фоне $P_{60}K_{90}$ достоверные прибавки получены от всех доз КМУ.

Во второй укос все дозы КМУ обеспечили достоверные прибавки на фоне всех минеральных удобрений. В сумме за два укоса клевера в 2007 г. внесение КМУ в 2006 г. под первую культуру севооборота в дозах 250, 500, 1000 кг/га позволило поднять продуктивность клевера первого года пользования по сравнению с контролем на 3,0; 8,7; 10,7 ц/га. При совместном действии фосфорно-калийного фона и последействия КМУ прибавка урожая составила: при дозе 250 кг/га — 18,7 ц/га; при дозе 500 кг/га — 19,3 ц/га; при дозе 1000 кг/га — 23,8 ц/га.

У клевера второго года пользования (2008 г.) в первый укос достоверные прибавки получены при всех дозах КМУ только на фосфорно-калийном фоне (6,9; 7,0; 10,9 ц/га). Во второй укос достоверные прибавки получены в вариантах без применения РК-удобрения только при дозе 1000 кг/га — 2,3 ц/га, на фоне минерального удобрения достоверные прибавки получены при всех дозах КМУ (6,3; 8,0; 9,8 ц/га). В сумме за 2 укоса при использовании КМУ в дозах 250 и 500 кг/га в контроле не получено роста урожая, а доза КМУ 1000 кг/га позволила поднять урожай сена на 5,3 ц/га. Адекватный рост урожая от последействия КМУ во всех дозах на фоне $P_{60}K_{90}$ по сумме двух укосов составил 13,2; 15,0; 20,7 ц/га соответственно.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что многолетние травы первого и второго года пользования показывают большую продуктивность от последействия КМУ как в первый, так и во второй укосы, как в первый, так и во второй год пользования по сравнению с традиционным химическим известковым материалом.

Также было показано, что изучаемые в опыте дозы КМУ, внесенные под яровую пшеницу (2006 г.), оказали определенное влияние на химический состав сена клевера.

Клетчатка, характеризует переваримость корма, ее оптимальное содержание 18–24%, превышение приводит к снижению

перевариваемости всего органического вещества корма. Исследования 2007–2008 гг. показали, что содержание сырой клетчатки в сене в зависимости от применения стерильного дефеката и КМУ не изменяется как у клевера первого года, так и у клевера второго года пользования.

Одним из важнейших веществ, характеризующих энергетическую ценность корма, является количество жира в нем. Полученные в полевых опытах данные показывают, что последствие КМУ не оказывает влияния на содержание сырого жира.

Безазотистые экстрактивные вещества (БЭВ) служат для животных источником витаминов, органических кислот, сахаров и других углеводов. В проведенных исследованиях не выявлено влияния изучаемых в опыте факторов на содержание БЭВ.

Что касается каротина, то отмечается тенденция увеличения его содержания при проявлении последствия КМУ на всех фонах питания у клевера первого и второго года пользования.

Другим из важнейших показателей качества сена является наличие в нем белка, содержание должно быть не ниже 10–16% в зависимости от вида сельскохозяйственных растений. В проведенных полевых опытах 2007–2008 гг. содержание белка в сене зависело от года пользования клевера и срока укоса (табл. 24).

Так, у клевера первого года пользования содержание белка в первом укосе изменялось от 11,9 до 16,9%, во втором укосе — от 11,2 до 15,6%. Содержание сырого белка в сене клевера второго года пользования в первом укосе — 8,7–13,1%, во втором укосе — 7,5–12,0. Анализируя полученные результаты, можно утверждать, что последствие КМУ во всех дозах на всех уровнях удобрения дает повышение содержания сырого белка в сене во всех укосах клевера первого и второго года пользования.

При изучении последствия различных доз КМУ была обнаружена тенденция к увеличению содержания P_2O_5 и не обнаружено изменения содержания K_2O в сене клевера первого и второго укосов первого и второго года пользования. Последствие КМУ способствовало повышению зольности сена по сравнению с традиционным химическим известковым материалом в среднем на 0,3%.

Таблица 24. Содержание белка в сене клевера (*Trifolium* L.) первого и второго года пользования, % от а.с.в., в полевых опытах 2007–2008 гг.

Вариант	Клевер 1 г.п.		Клевер 2 г.п.	
	1-й укос	2-й укос	1-й укос	2-й укос
Контроль	8,7	7,5	11,9	11,2
Дефекат 250 кг/га	8,7	7,5	12,5	11,9
Дефекат 500 кг/га	9,4	6,9	12,5	12,5
Дефекат 1000 кг/га	9,4	8,1	11,9	12,5
КМУ 250 кг/га	9,4	7,5	13,7	13,1
КМУ 500 кг/га	10,6	9,4	13,7	13,1
КМУ 1000 кг/га	10,6	9,4	15,0	13,7
Фон — P ₆₀ K ₉₀	10,0	9,4	13,1	12,5
Фон + дефекат 250 кг/га	9,4	9,4	12,5	11,9
Фон + дефекат 500 кг/га	10,0	8,4	13,1	11,9
Фон + дефекат 1000 кг/га	8,7	10,0	13,1	11,2
Фон + КМУ 250 кг/га	10,6	11,2	15,6	14,4
Фон + КМУ 500 кг/га	11,9	11,9	15,6	15,0
Фон + КМУ 1000 кг/га	12,0	12,0	16,2	15,0

4.3.3. Эффект последействия комплексного микробного удобрения на яровой пшенице (*Triticum aestivum* L.) сорта Приокская в Ивановской области после его применения в 2006 г. (г. Иваново, 2009 г.)

Действие различных доз КМУ (препарат «БисолбиМикс») изучали в четвертом звене севооборота (Ивановская обл., 2009 г.) на яровой пшенице (*Triticum aestivum* L.) сорта Приокская. Схема полевого опыта, внесение минеральных удобрений, стерильного дефеката и КМУ и методы анализа результатов соответствовали исходным, описанным в разделе 4.3.1.

При изучении последствий КМУ (препарат «БисолбиМикс») на продуктивность яровой пшеницы, выращиваемой в четвертом звене севооборота, было показано, что его эффект сохраняется и на четвертый год после его применения при выращивании яровой пшеницы. Так, на фоне без применения минеральных удобрений урожай яровой пшеницы сорта Приокская достоверно увеличился на 25 и 57%, соответственно, при применении 500 и 1000 кг/га КМУ (препарат «БисолбиМикс») за три года до возделывания (табл. 25). Еще более эффективным было применение КМУ на фоне внесения минеральных удобрений ($N_{45}P_{30}K_{45}$), урожай зерна яровой пшеницы из-за последствий КМУ увеличился на 28, 44 и 41% при внесении 250, 500 и 1000 кг/га препарата «БисолбиМикс» за три года до возделывания соответственно. При этом достоверное увеличение урожая зерна от последствий стерильного дефеката (субстрата-носителя — препарата «БисолбиМикс») наблюдали только в варианте при его внесении в дозе 1000 кг/га без минеральных удобрений, что, по-видимому, определяется химическим составом дефеката. Таким образом, эффект последствий от внесения «БисолбиМикс» можно объяснить в основном микробиологической составляющей препарата даже на четвертый год после его внесения.

4.4. ФГБНУ «Псковский научно-исследовательский институт сельского хозяйства». Эффективность применения комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» на льне-долгунце (*Linum usitatissimum* L.) (г. Псков, 2009 г.)

В 2006–2008 гг. в Псковском НИИ сельского хозяйства (ПНИИСХ) были проведены предварительные испытания в условиях мелкоделяночных опытов комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» на льне-долгунце (*Linum usitatissimum* L.). Предварительные результаты показали его достаточно высокую эффективность при внесении под лен-долгунец (прибавка урожая льносоломы составляла 9,5–23,1% в зависимости от агротехники и доз внесения), и на их основе была установлена оптимальная доза внесения КМУ под лен-долгунец — 500 кг/га.

Таблица 25. Эффект последствия КМУ «БисолбиМикс» (2006 г.) на урожай яровой пшеницы сорта «Приокская» в 2009 г.

Вариант	Урожайность зерна, ц/га
Контроль	5,1
Дефекат 250 кг/га	5,4
Дефекат 500 кг/га	5,6
Дефекат 1000 кг/га	7,4
«БисолбиМикс» 250 кг/га	5,6
«БисолбиМикс» 500 кг/га	6,4
«БисолбиМикс» 1000 кг/га	8,0
N ₄₅ P ₃₀ K ₄₅ — фон	12,3
Фон + дефекат 250 кг/га	12,3
Фон + дефекат 500 кг/га	13,0
Фон + дефекат 1000 кг/га	13,3
Фон + «БисолбиМикс» 250 кг/га	15,8
Фон + «БисолбиМикс» 500 кг/га	17,7
Фон + «БисолбиМикс» 1000 кг/га	17,4
НСР ₀₅	1,1

В 2009 г. были проведены испытания КМУ в условиях полевого опыта по следующей схеме:

1. Контроль;
2. КМУ — 500 кг/га;
3. N₃₀P₆₀K₆₀;
4. N₃₀P₆₀K₆₀ + КМУ — 500 кг/га.

Общая площадь делянки — 40 м², учетная — 33,25 м². Повторность — 4 раза. КМУ и минеральные удобрения вносили в гранулированном виде при посеве. Химические анализы были выполнены в аналитической лаборатории отдела агрохимии ПНИИСХ: гумус — по Тюрину, подвижный фосфор и обменный калий — по Кирсанову, гидролитическая кислотность — по Каппену, сумма обменных оснований — по Каппен–Гильковицу, влажность почвы — путем высушивания при температуре 105°С до постоянной массы. Математическая обработка данных проведена методом дисперсионного анализа по Доспехову (1985).

Посев льна-долгунца сорта Восход проведен 13 мая с нормой высева 80 кг/га из расчета 18 млн всхожих семян на гектар. Уход за растениями льна включал обработку баковой смесью препаратов Магnum, Корректор, Гербитокс и Хантер для защиты от сорной растительности, насекомых вредителей и болезней. Уборка урожая производилась вручную 18 августа, метод учета — сплошной поде-ляночный.

Вегетация льна-долгунца в 2009 г., составившая 96 дней, проходила в условиях благоприятного режима распределения температур, но при избыточном количестве осадков, однако к сильному полеганию стеблестоя оно не привело.

Вносимые удобрения положительно влияли на выживаемость растений. Так, у контроля она составила 90%, а на удобренных участках — 96–97%. Общая высота растений в контроле составила 68,5 см, техническая — 61,9 см (табл. 26). Использование минеральных удобрений и КМУ способствовало увеличению прироста льна в высоту на 0,8–2,0 см, а технической длины стебля на — 1,2–2,1 см. Наибольшее количество коробочек на одном растении (3 шт.) отмечено при применении КМУ на фоне удобрения.

В контрольном варианте масса 1000 семян льна составила 4,80 г, а при использовании КМУ в дозе 500 кг/га — 4,85 г. Внесение минеральных удобрений способствовало росту данного показателя до 4,07 г, совместно с КМУ — до 4,99 г.

В контроле, где удобрения не вносились, урожайность льно-соломы с 1 га составила 46,8 ц/га, семян — 7,2 ц/га. Вносимые удобрения, оказывая положительное влияние на рост и развитие

Таблица 26. Влияние удобрений на формирование элементов структуры урожая льна

Вариант	Длина, см		Количество коробочек на растении, шт.	Масса 1000 семян, г
	общая	техническая		
Контроль	68,5	61,9	2,4	4,80
КМУ — 500 кг/га	70,3	63,3	2,4	4,85
$N_{30}P_{60}K_{60}$	70,6	64,0	2,6	4,97
$N_{30}P_{60}K_{60}$ + КМУ — 500 кг/га	70,4	63,1	3,0	4,99

растений, способствовали и росту урожайности льносоломой и льносемян (табл. 27).

Под влиянием КМУ урожайность льносоломой возрастала на 8,3%, а льносемян — на 5,6%, причем эти прибавки урожая были достоверными. При внесении минеральных удобрений в дозе $N_{30}P_{60}K_{60}$ урожайность льносоломой составила 54,5 ц/га (116,4%) и семян — 8,5 ц/га (118,1%). Внесение КМУ при фоновом НРК приводило к дальнейшему росту урожайности льнопродукции, однако его эффективность в данном случае снижалась. Анализируя полученные результаты, можно отметить, что эффективность действия КМУ на урожайность льносоломой и льносемян была примерно в 2 раза ниже минеральных удобрений в дозе $N_{30}P_{60}K_{60}$. При совместном внесении урожайность возрастала, но полученный эффект был меньше суммы прибавок, когда данные удобрения вносились раздельно. Под действием минеральных удобрений и КМУ обменная кислотность почвы оставалась без изменений (табл. 28).

Использование КМУ позволило несколько улучшить обеспеченность растений обменным калием и подвижным фосфором. Так, количество подвижного фосфора в почве возросло на 0,3 мг/100 г, а калия — на 0,2 мг/100 г почвы. Внесение минеральных удобрений увеличивало их содержание в почве на 1,0

Таблица 27. Урожайность семян и соломы льна-долгунца сорта «Восход»

Вариант	Семена		Солома	
	ц/га	%	ц/га	%
Контроль	7,2	100	46,8	100
КМУ — 500 кг/га	7,6	105,6	50,7	108,3
N ₃₀ P ₆₀ K ₆₀	8,5	118,1	54,5	116,4
N ₃₀ P ₆₀ K ₆₀ + КМУ — 500 кг/га	8,7	120,8	57,1	122,0
НСП ₀₅	0,4		3,2	
P, %	5,6		5,8	

Таблица 28. Агрохимические показатели почвы опытного участка

Вариант	pH _{KCl}	P ₂ O ₅ , мг/100 г	K ₂ O, мг/100 г
Контроль	4,5	24,5	8,4
КМУ — 500 кг/га	4,4	24,8	8,6
N ₃₀ P ₆₀ K ₆₀	4,4	25,5	8,7
N ₃₀ P ₆₀ K ₆₀ + КМУ — 500 кг/га	4,4	26,2	8,8

и 0,3 мг/100 г почвы соответственно. При внесении КМУ при фоновом НРК содержание P₂O₅ в почве возросло на 0,7 мг/100 г почвы и K₂O на 0,1 мг/100 г почвы.

Таким образом, внесение КМУ положительно влияло на рост и развитие растений льна-долгунца. При этом возрастала всхожесть

семян и приживаемость растений, увеличивались прирост льна в высоту, количество коробочек на одном растении и масса 1000 семян. При внесении КМУ в дозе 500 кг/га урожайность льносоломой возрастала на 8,3 и составила 50,7 ц/га. Урожайность льносемян — 7,6 ц/га, или 105,6% к контролю. С 1 га прибавка льносоломой составила 3,9 ц, семян — 0,4 ц.

Эффективность КМУ по своему действию на урожайность льнопродукции была примерно в два раза ниже эффективности минеральных удобрений в дозе $N_{30}P_{60}K_{60}$. Однако весьма перспективным представляется разработка агротехнологии возделывания льна-долгунца со снижением доз минеральных удобрений на фоне применения КМУ.

Анализ генетического полиморфизма сельскохозяйственных бобовых культур по признаку «эффективность взаимодействия с благотворными микроорганизмами» с применением комплексного микробного удобрения и возможности вести селекцию на повышение этого признака

*Т. С. Наумкина, В. К. Чеботарь, А. Ю. Борисов
при участии А. Г. Васильчикова, В. И. Зотикова, Г. П. Гурьева,
В. В. Наумкина, Т. Н. Даниловой, М. В. Донской, О. Ю. Штарк,
А. Е. Казакова*

Данные лабораторных и вегетационных экспериментов (Якоби и др., 2000; Борисов и др., 2002) продемонстрировали высокий генетический полиморфизм гороха по признаку «эффективность взаимодействия с благотворными микроорганизмами», т. е. по величине вклада взаимодействия с БМ в рост и развитие растений-хозяев, формирование урожая и его биохимического состава. Далее испытания перенесли в полевые условия и на другие сельскохозяйственные бобовые культуры в сотрудничестве ФГБНУ «ВНИИСХМ» и ФГБНУ «ВНИИЗБК». Задачи этой серии полевых экспериментов:

- подтвердить обнаруженный в лабораторных условиях высокий генетический полиморфизм гороха (*Pisum sativum* L.) по признаку «эффективность взаимодействия с БМ»;
- определить принципы и выбрать параметры оценки «эффективности взаимодействия с БМ»;
- создать протокол селекции растений (в первую очередь бобовых культур) на повышение «эффективности взаимодействия с БМ»;
- оценить генетический полиморфизм по этому признаку у фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.), чечевицы (*Lens culinaris* Medik.) и нута (*Cicer arietinum* L.).

5.1. Анализ генетического полиморфизма гороха (*Pisum sativum* L.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения ВНИИЗБК (г. Орел, 2002–2004 гг.)

В полевых экспериментах 2002–2004 гг. использовали генотипы из коллекции ВИР к-925, к-1693, к-7128, к-8274, отобранные ранее как высокоэффективные при взаимодействии с БМ (благотворной для растений микрофлорой), а также низкоэффективные к-3064, к-3358 (Якоби и др. 2000; Борисов и др., 2002). Также были задействованы селекционные линии ВНИИЗБК Скиф (создан без учета эффективности взаимодействия с БМ) и Триумф (создан с учетом эффективности взаимодействия с БМ (Штарк и др., 2006)) и селекционный материал Центра исследований генетики зернобобовых Департамента сельского хозяйства США при Вашингтонском университете (Franklin, Lifter, Fallon, Shawnee, PS 610152, PS 610324, PS 710048, PS 810191, PS 810240, PS 810765, PS 7101044, PS 7101047, PS 7101149, PS 9910029, PS 9910134, PS 9910135, PS 9910140, PS 9910188). Селекцию генотипов из США вели без учета их симбиотического потенциала, поэтому было важно оценить уровень эффективности взаимодействия с БМ подобного материала, так как эти генотипы уже обладали необходимыми сельскохозяйственно значимыми признаками (урожайностью при традиционной технологии возделывания) и структурой надземной части, соответствующей способам производства.

5.1.1. Условия проведения экспериментов и методы анализа

Все эксперименты проводились на экспериментальных полях ВНИИЗБК (Орловская обл., поселок Стрелецкий). Растения выращивали на делянках площадью 3 м² (по 250 растений на делянке), площадь питания составляла 5 × 15 см² на растение. Метод размещения опытных делянок в каждом варианте — рендомизированный порядок. Опыты закладывались в двукратной повторности,

посев осуществлялся вручную. Технология возделывания гороха — общепринятая для данной зоны (Зотиков и др., 2010). Севооборот: чистый пар — озимая пшеница — горох — картофель — яровая пшеница — гречиха.

Для структурного анализа урожая выросшие растения отбирали вручную — по 25 случайно выбранных растений от каждой из двух повторностей на вариант обработки на стадии полного созревания семян. Сухую массу растения (без учета массы семян), массу семян устанавливали весовым методом после высушивания в естественных условиях. Изучение структуры урожая у растений, отобранных в фазе полной спелости, проводили согласно соответствующей методике (Вишнякова и др., 2010). Число клубеньков на корнях растений оценивали по методике Орлова и др. (1984), нитрогеназную активность (метод ацетиленовой редукции) — по методике (Hardy et al., 1968) в модификации Орлова и др. (1984), растения для анализа брали в фазе начала цветения. Содержание азота в семенах определялось по методу Кьельдаля с последующим пересчетом на белок в Федеральном государственном учреждении «Центр химизации и сельскохозяйственной радиологии “Орловский”». Оценку микоризной инфекции выполняли по известной методике (Trouvelot et al., 1986). Использовали следующие параметры: частоту встречаемости микоризной инфекции $F(\%)$, интенсивность развития микоризной инфекции в микоризованной части корня $M(\%)$ и обилие арбускул в микоризованной части корня $a(\%)$. Для анализа брали по пять случайно выбранных растений каждого генотипа на вариант через 5–6 недель после начала вегетации, с каждого растения анализировали по 30 см корней, выбранных случайным образом, за исключением главного корня. Препараты для микроскопирования приготавливались по методике (Vierheilig et al., 1998) и анализировались с использованием светового микроскопа Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия) в проходящем свете при стократном увеличении 100.

Для оценки изменения массы $(\%)$ сухого растения, семенной продуктивности, содержания белка в семенах, нитрогеназной активности, количества клубеньков и параметров, характеризующих развитие эндомикоризного симбиоза рассчитывали относительные прибавки по формуле $100(X_0 - X_K)/X_K$; где X_0 — значения

параметров в варианте с обработкой (КМУ или минеральными удобрениями); X_k — значения параметров в контрольном варианте (без обработки).

5.1.2. Агроклиматические условия

Исследования проводили на полях ВНИИЗБК. Почвы опытного участка темно-серые, лесные, среднесуглинистые, подстилаемые лессовидным суглинком, средней окультуренности, pH — 5,3–6,3; содержание гумуса в пахотном горизонте — 3,3–5,5%; биологически доступного фосфора по Кирсанову — 9,2–11,3 мг/100 г; K_2O по Масловой — 4,0–7,8 мг/100 г; легко гидролизуемого азота — 6,5–7,8 мг/100 г; сумма поглощенных оснований — 21,0–26,5 мг-экв/100 г; степень насыщенности основаниями — 7,6–9,4%.

Орловская область занимает северный и западный склоны Среднерусской возвышенности. Характерной особенностью для области является достаточная обеспеченность сельскохозяйственных культур теплом и влагой. Климат области зависит от западных и северных океанических и восточных континентальных масс воздуха.

Погодно-климатические условия Орловской области благоприятствуют возделыванию зернобобовых культур. Для большинства культур период активной вегетации определяет переход с температурой воздуха выше 10°C, который колеблется от 135 до 145 дней с изменением суммы активных температур за это время от 2150°C на северо-востоке до 2400°C на юго-западе (Агроклиматические ресурсы..., 1972), что несколько превышает потребность гороха в эффективных температурах.

По влагообеспеченности область относится к зоне достаточного увлажнения: количество осадков за период активной вегетации растений (май–сентябрь) составляет 290–310 мм при средне-многолетнем показателе 271 мм. Осадки распределяются неравномерно. Как правило, в первой половине вегетационного периода (май–первая половина июня) возможно избыточное увлажнение (43% годового количества осадков).

Влагообеспеченность растений описывали гидротермическим коэффициентом (ГТК), установленный Г. Т. Селяниновым,

который определяется отношением количества осадков за вегетационный период к сумме температур выше 10°С, уменьшенный в 10 раз (www.cnshb.ru/AKDiL/0024/base/RS/001712.shtm). В среднем ГТК по области составляет 1,3–1,4. Засушливые условия складываются 2–4 раза за 10 лет.

Метеорологические условия периодов вегетации зернобобовых (май–август) в годы исследований существенно различались: от засушливых (ГТК = 0,74), слабозасушливых (ГТК = 1,00) до избыточно увлажненных (ГТК = 2,50). Слабозасушливый год — 2003, засушливый — 2002, избыточно увлажненный — 2004.

2002 год характеризовался жаркой погодой и неравномерным распределением осадков. В период посева условия для развития бобовых культур были хорошими. В течение практически всего вегетационного периода температура воздуха превышала среднюю многолетнюю, в верхних слоях почвы влаги было недостаточно для нормального роста сельскохозяйственных растений (табл. 29, 30).

В 2003 г. посев бобовых культур проходил при благоприятных погодных условиях, но в третьей декаде мая недостаток влаги в верхнем слое почвы ухудшил условия укоренения и кущения

Таблица 29. Среднемесячная температура воздуха, °С, (г. Орел, 2002–2004 гг.)

Месяц	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Средняя многолетняя температура
Май	13,7	14,9	12,8	13,7
Июнь	17,7	14,4	15,9	16,4
Июль	22,7	20,0	17,7	19,1
Август	19,3	17,4	19,2	17,9

Таблица 30. Количество осадков в течение вегетационного периода, мм (г. Орел, 2002–2004 гг.)

Месяц	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее многолетнее количество
Май	69,6	29,7	45,6	51
Июнь	38,0	76,9	38,3	61
Июль	41,8	68,4	217,8	72
Август	2,8	134,7	16,1	64

растений. Период вегетации в основном сопровождался достаточно обильным выпадением осадков и температурой, соответствующей или чуть превышающей среднюю многолетнюю данного месяца.

Погодные условия 2004 г. сложились следующим образом: май и июнь характеризовались низкими температурами воздуха и небольшим количеством осадков по сравнению со средними многолетними показателями, что замедлило рост и развитие гороха. Июль месяц был холодным, а количество выпавших осадков в 2,5 раза превысило норму. Август отличался жаркой и сухой погодой.

5.1.3. Статистическая обработка результатов экспериментов

Обработку полученных данных проводили в программах Sigma Stat 2.03 (SPSS Inc., США), Excel (Microsoft, США), Statistica 7.0 (Statsoft, США). Оценку достоверности различий между вариантами опытов проводили попарно с использованием критерия Стьюдента. Для определения зависимости между оцениваемыми параметрами вычисляли классический коэффициент корреляции Пирсона, для оценки изменения параметров z -критерий знаков (Лакин, 1990). При расчете коэффициентов корреляции различных параметров использовали относительные прибавки. Результаты многофакторных экспериментов обрабатывали при помощи дисперсионного анализа (Доспехов, 1985) и факторного анализа (Кулаичев, 2006).

5.1.4. Результаты полевых экспериментов по анализу исходного материала для селекции на повышение признака «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с использованием 26 генотипов гороха (*Pisum sativum* L.) и комплексного микробного удобрения «БисолбиМикс» (2002–2004 гг.)

5.1.4.1. Влияние инокуляции комплексным микробным удобрением и применения $N_{60}P_{60}K_{60}$ на накопление биомассы растений

Анализ данных 2002–2004 гг. (26 генотипов) демонстрирует, что, в среднем, значения массы растений и массы семян с растения гороха (*Pisum sativum* L.) при применении КМУ равны значениям

варианта с $N_{60}P_{60}K_{60}$, и более значений контроля (рис. 12). Это явно свидетельствует о целесообразности применения КМУ благодаря более низкой стоимости по сравнению с минеральными удобрениями.

При рассмотрении данных по отдельным годам можно наблюдать значительную разницу в средних значениях массы растений и массы семян по всем генотипам и всем вариантам обработки (рис. 13).

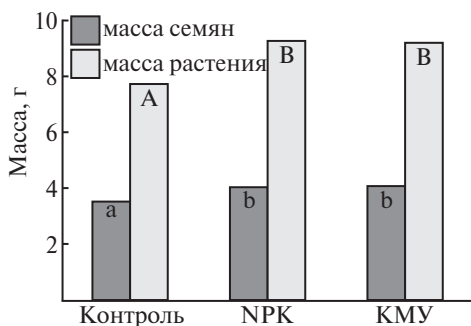


Рис. 12. Средние значения массы растений и массы семян с растения гороха со стандартными ошибками за 2002–2004 годы, 26 генотипов. Значения, маркированные одинаковыми буквами, статистически достоверно не различаются при $P \geq 0,95\%$; то же для рис. 13–15

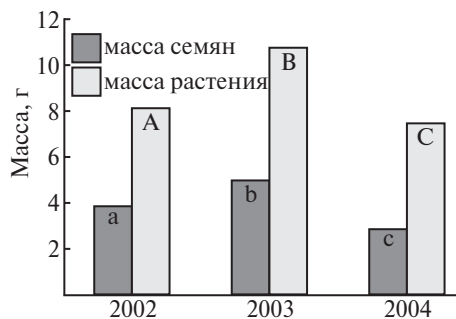


Рис. 13. Средние значения массы растений и массы семян с растения гороха со стандартными ошибками суммарно по трем вариантам обработки, 26 генотипов

В наиболее климатически благоприятном для возделывания гороха слабо засушливом 2003 г. значения массы растений и семян с растения были максимальными в контроле (в среднем по генотипам 9,2 г и 4,2 г, соответственно), отмечены достаточно высокие прибавки данных параметров в вариантах с обработкой (рис. 14, 15). Изменения массы сухого растения и массы семян при применении КМУ по отношению к контролю в среднем по всем генотипам в 2003 г. составили 17 и 22%, соответственно (рис. 14, 15, табл. 31), а при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ — значительно выше: 46 и 47% соответственно (рис. 14, 15, табл. 32).

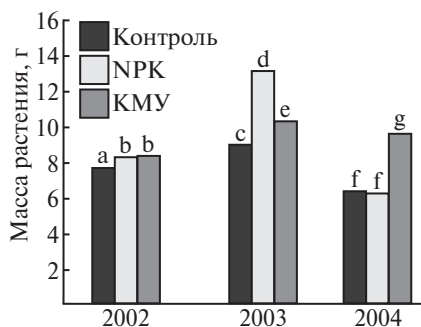


Рис. 14. Масса растений гороха со стандартными ошибками по годам, в среднем по 26 генотипам

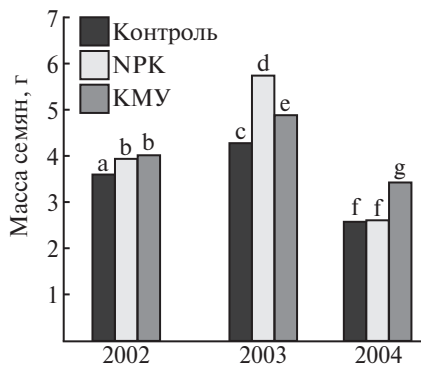


Рис. 15. Масса семян с растения гороха со стандартными ошибками по годам, в среднем по 26 генотипам

В климатически неблагоприятном для гороха 2004 г., который характеризовался низкими температурами и избыточным выпадением осадков в фазу созревания семян, значения массы сухого растения и массы семян в среднем по всем генотипам и всем вариантам обработки были минимальны (рис. 13). Так, масса сухого растения в среднем по генотипам составила в контроле 6,5 г, а масса семян — 2,6 г (рис. 14, 15). Относительные изменения данных параметров при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ по отношению к контролю в среднем по всем генотипам были незначительными и составили 1% и 4% соответственно (табл. 32), а относительные изменения этих признаков при применении КМУ — значительно выше: 47 и 32% соответственно (табл. 31). Применение КМУ значительно расширяет адаптивный потенциал гороха как сельскохозяйственной культуры. Об этом свидетельствует и тот факт, что в 2004 г. коэффициент вариации (C_v), характеризующий внутривидовую изменчивость как по массе растения, так и по массе семян, при инокуляции КМУ (15 и 21% соответственно) был достоверно ниже C_v при $N_{60}P_{60}K_{60}$ (26 и 32% соответственно). Это явно демонстрирует выравнивание генотипов по основным параметрам развития (оптимизацию развития всех генотипов гороха) при применении КМУ в неблагоприятный по погодным условиям год (в другие годы существенной разницы между C_v в различных вариантах опыта обнаружено не было).

В обычный для Орловской области по климатическим условиям засушливый 2002 г. наблюдался средний уровень массы растений и семян у гороха (рис. 13). Масса сухого растения в среднем по генотипам составила в контроле 7,6 г, масса семян — 3,6 г, эффекты от применения минеральных удобрений и КМУ были статистически достоверны и сопоставимы (рис. 14, 15). Изменения значений данных признаков при инокуляции КМУ по отношению к контролю составили 14 и 16% соответственно, при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ — 13 и 12% соответственно.

Таким образом, трехлетние эксперименты показали, что в отношении накопления биомассы растениями гороха в климатически благоприятный год эффективнее применять минеральные удобрения, в неблагоприятный — КМУ, в обычный — эффекты обеих обработок эквивалентны. Очевидным становится

Таблица 31. Изменение массы растения и массы семян с растения, %, при полевых условиях, 2002–2004 гг.

Генотип	Масса сухого растения			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее 2002–2004 гг.
к-8274	53,7*	82,1*	н/д	67,9
Franklin	70,4*	19,2*	41,2*	43,6
Lifter	–2,4	–3,8	36,0*	9,9
Fallon	–21,4*	12,0	73,8*	21,4
Shawnee	22,2*	21,3*	77,6*	40,4
PS9910140	11,5	24,0*	78,9*	38,1
PS9910188	–15,0*	–12,1	76,5*	16,4
PS9910029	32,5*	–3,2	н/д	14,6
PS9910134	–3,3	–7,3	13,5	0,9
PS9910135	4,1	–14,4	43,5*	11,0
PS7101044	0	–4,2	76,2*	24,0
PS710048	83,6*	19,2*	37,7*	46,8
PS7101047	–21,9*	24,3*	38,1*	13,5
PS7101149	17,2*	8,9	52,1*	26,1
PS810765	–3,3	29,3*	н/д	13,0
PS810191	–3,3	0,7	59,3*	18,9
PS810240	12,7*	20,0*	н/д	16,3
PS610324	–5,3	88,7*	77,8*	53,7
PS610152	4,2	19,2*	25,6*	16,3
Скиф	37,4*	7,5	9,0	18,0
Триумф	26,9*	9,8	53,7*	30,1
к-1693	39,1*	8,3	33,3*	26,9
к-3358	0	11,0	–3,2	2,6
к-3064	–30,3*	15,2	н/д	–7,5
к-7128	23,6*	12,1	75,6*	37,1
к-925	35,6*	54,0*	12,6	34,1
Среднее по генотипам	14,2 ± 5,5	17,0 ± 4,8	47,1 ± 5,7	24,4 ± 3,3

* Значение достоверно отличается от контроля при $P \geq 0,95$; н/д — нет данных.

инокуляции гороха (*Pisum sativum* L.) КМУ по отношению к контролю в

	Масса семян с растения			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее 2002–2004 гг.
	67,0*	162,1*	н/д	114,5
	67,4*	12,3	22,9	34,2
	–5,1	–11,3	13,1	–1,1
	–12,6*	13,8	136,5*	45,9
	23,2*	7,9	36,0*	22,4
	16,7*	21,4*	72,9*	37,0
	–20,3*	–0,6	34,3*	4,4
	59,9*	0,8	н/д	30,3
	–3,2	–5,8	–16,6	–8,5
	–0,6	–19,5*	39,5*	6,4
	3,0	–8,5	53,3*	15,9
	51,3*	12,4	26,6*	30,1
	–18,7*	26,2*	24,4*	10,6
	19,3*	18,0*	34,6*	24,0
	1,1	33,7*	н/д	17,4
	–9,7	6,4	46,4*	14,4
	35,3*	27,1*	н/д	31,2
	–0,3	118,2*	53,1*	57,0
	8,9	13,2	23,3*	15,1
	35,9*	1,8	15,1	17,6
	25,2*	11,4	35,7*	24,1
	37,3*	41,2*	1,9	26,8
	–5,6	0	–19,2	–8,2
	–19,3*	10,5	н/д	–4,4
	26,7*	8,6	43,1*	26,2
	21,2*	68,8*	0	30,0
	15,5 ± 5,1	21,9 ± 7,7	32,2 ± 7,2	23,6 ± 4,8

Таблица 32. Изменение массы растения и массы семян, %, с растения гороха условиях, 2002–2004 гг.

Генотип	Масса сухого растения			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее 2002–2004 гг.
к-8274	61,9*	99,3*	н/д	80,6
Franklin	18,5*	37,5*	–34,6*	7,1
Lifter	1,9	45,6*	–12,5	11,7
Fallon	–0,7	48,2*	–17,0*	10,1
Shawnee	11,7	72,9*	4,5	29,7
PS9910140	–1,9	61,7*	0,9	20,2
PS9910188	–6,7	31,8*	–10,5	4,8
PS9910029	8,5	24,3*	45,2*	26,0
PS9910134	–3,3	51,3*	–2,8	15,0
PS9910135	–0,3	15,0	–20,1*	–1,8
PS7101044	–7,9	62,8*	4,5	19,8
PS710048	56,4*	49,5*	–10,9	31,6
PS7101047	–3,4	100,5*	–10,2	28,9
PS7101149	32,6*	21,9*	–18,1*	12,1
PS810765	20,1*	19,2*	н/д	17,1
PS810191	11,2	28,1*	38,3*	25,9
PS810240	37,7*	31,6*	н/д	34,6
PS610324	12,8	107,7*	34,5*	51,7
PS610152	31,1*	42,0*	–11,0	20,7
Скиф	19,7*	73,1*	8,9	33,9
Триумф	–5,6	27,7*	–3,2	6,3
к-1693	32,6*	69,3*	–23,9*	26,0
к-3358	–20,9*	20,1	–14,2	–5,0
к-3064	–43,2*	27,5*	н/д	–7,8
к-7128	17,1*	–0,4	33,9*	16,8
к-925	51,4*	41,6*	–27,3*	21,9
Среднее по генотипам	12,7 ± 4,7	46,5 ± 5,4	–1,4 ± 4,5	20,7 ± 3,5

* Значение достоверно отличается от контроля при $P \geq 0,95$; н/д — нет данных.

(*Pisum sativum* L.) при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ по отношению к контролю в полевых

	Масса семян с растения			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее 2002–2004 гг.
	61,5*	280,4*	н/д	170,9
	20,2*	–16,6	–37,5*	–11,3
	0,8	18,0	–13,4	1,8
	–4,0	25,9*	42,3*	21,4
	10,8	48,3*	3,9	21,0
	–3,7	33,6*	27,9*	19,2
	–7,0	45,4*	–16,3*	7,3
	15,3	35,0*	100,0*	50,1
	–1,2	42,4*	–19,2	7,3
	–1,1	2,3	–28,7*	–9,1
	–4,4	60,7*	3,6	20,0
	14,3*	29,3*	0,6	14,7
	–9,9	113,2*	–5,4	32,6
	27,4*	15,0	–30,6*	3,9
	8,8	23,7*	19,3	17,3
	8,3	16,9	36,6*	20,6
	51,7*	31,2*	н/д	41,4
	21,9*	133,1*	34,7*	63,3
	32,7*	37,1*	–2,2	22,5
	27,2*	48,4*	19,9*	31,8
	10,1	31,9*	5,8	16,0
	31,3*	89,5*	–39,1*	27,2
	–18,4*	12,0	–24,9*	–10,4
	–25,1*	45,3*	н/д	10,1
	22,8*	–4,3	36,9*	18,5
	33,3*	35,4	–29,0*	13,2
	12,4 ± 4,0	47,4 ± 11,3	3,7 ± 6,8	23,9 ± 6,7

необходимость детального исследования экономической эффективности данных приемов в течение нескольких лет и разработки комбинированных (КМУ + НРК) агротехнологий при оптимизации доз минеральных удобрений.

5.1.4.2. Полиморфизм гороха (*Pisum sativum* L.) по продуктивности

В ходе изучения отзывчивости различных генотипов на применение КМУ было подтверждено, что горох посевной обладает высоким внутривидовым генетическим полиморфизмом по признаку «эффективность взаимодействия с БМ», т.е. по способности растений полноценно развиваться за счет мутуалистических симбиотических взаимодействий. Изменение надземной биомассы растений при инокуляции КМУ в исследуемом наборе из 26 генотипов гороха изменялось в среднем за три года (2002–2004 гг.) полевых испытаний от –7 до 67%, а массы семян — от –9 до 115% по отношению к контролю (табл. 31). Изменение данных параметров в варианте с $N_{60}P_{60}K_{60}$ по отношению к контролю изменялось от –8 до 81% и от –11 до 171%, соответственно (табл. 32). Изменение данных параметров при инокуляции КМУ по отношению к варианту с $N_{60}P_{60}K_{60}$ составляло от –19% до 49% и от –14% до 57% соответственно.

На основании полученных данных можно выделить четыре группы контрастных генотипов: 1 — генотипы, хорошо отзывчивые на внесение как КМУ, так и $N_{60}P_{60}K_{60}$ (например, к-8274, PS 610324, к-1693, PS 7101149, Shawnee); 2 — генотипы, слабо отзывчивые на внесение КМУ и $N_{60}P_{60}K_{60}$ (например, Lifter, PS 9910134, PS 9910135, к-3358); 3 — генотипы, в большей степени отзывчивые на внесение КМУ, чем $N_{60}P_{60}K_{60}$ (например, Franklin, PS 9910140, PS 710048, Триумф), 4 — генотипы, в большей степени отзывчивые на внесение $N_{60}P_{60}K_{60}$, чем КМУ (например, Скиф). Генотипы групп 1 и 3 могут быть рекомендованы для использования в дальнейшей селекции как доноры признака «эффективность взаимодействия с БМ».

Отобранные ранее как высокоэффективные при взаимодействии с комплексом ППМ генотипы к-8274, к-7128, к-1693, к-925

и низкоэффективные к-3064, к-3358 (Якоби и др., 2000; Борисов и др., 2002) в экспериментах 2002–2004 гг. подтвердили данное свойство, в основном сохранив тенденцию изменения изучаемых параметров развития за счет применения БМ несмотря на различающиеся погодные условия. Используемый как контроль симбиотической отзывчивости генотип к-8274 демонстрировал достоверное увеличение семенной продуктивности при применении КМУ по сравнению с контролем в 2002 (67%) и в 2003 (162%) годах (за 2004 г. нет данных), а также достоверное увеличение надземной биомассы в 2002 (54%), в 2003 (82%) годах (за 2004 г. нет данных). Также достоверное увеличение массы семян за счет КМУ в течение трех лет показывали PS 9910140 (17–73%) и PS 7101149 (18–35%), а достоверное увеличение массы растений — Franklin (19–70%), PS 710048 (19–83%), Shawnee (21–77%) (табл. 31). Данные результаты подтверждают, что уровень эффективности во взаимодействии с БМ (положительного влияния БМ на развитие растения) в решающей степени определяется генотипом растения-хозяина (Provorov et al., 1990; Rosas et al., 1998; Якоби и др., 2000).

Полученный в результате целенаправленного повышения эффективности взаимодействия с БМ сорт Триумф отнесен к группе 3. При возделывании сорта рекомендуется агротехнический прием — предпосевная инокуляция семян КМУ. В данных экспериментах Триумф показал достоверное увеличение семенной продуктивности при инокуляции КМУ по сравнению с контролем в 2002 г. на 25%, в 2003 г. — на 11% (недостоверно), в 2004 — на 35%. Увеличение массы растения составило, соответственно, 27, 10 (недостоверно) и 54% по сравнению с контролем. В среднем за три года увеличение массы растения и массы семян составило соответственно 30 и 24% (табл. 31). Таким образом, за 2002–2004 гг. полевых испытаний при взаимодействии с комплексом БМ эффективность сорта Триумф составила по массе семян — 24%, (среднегодовая эффективность), максимальная эффективность (потенциал взаимодействия с комплексом БМ) за все годы испытаний — 35%. В конкурсном сортоиспытании, проводимом во ВНИИЗБК в 2004–2006 гг. в среднем за годы изучения, сорт Триумф дал наиболее высокий урожай зерна как в контрольном варианте при традиционной технологии возделывания, так

и в варианте с инокуляцией КМУ (соответственно, 4,30 и 4,95 т/га, достоверно превысив по урожайности стандартные сорта Орловчанин и Норд. При инокуляции КМУ изменение семенной продуктивности по отношению к контролю (традиционная технология возделывания): у сорта Орловчанин составило $-0,7\%$, у сорта Норд — $+1,9\%$, у сорта Триумф — $+15,1\%$, что демонстрирует наибольшую симбиотическую эффективность последнего при взаимодействии с комплексом БМ. В 2006 г. сорт был передан на государственное сортоиспытание, в которых в среднем по округам, по данным трехлетних наблюдений, показал среднюю урожайность семян 23,2 ц/га, в то время как средний стандарт, 22,9 ц/га. Таким образом, в целом при традиционной технологии возделывания данный генотип в основном не уступает стандартам продуктивности, рекомендованным для каждого региона. Наилучшие условия для развития сорта Триумф были в Центральном регионе, где его урожайность превысила стандарт на 1,5 ц/га, наихудшие — в Западно-Сибирском (Тюменская область), где урожайность понизилась на 1,7 ц/га.

О высокой изменчивости признаков «масса растений» и «масса семян с растения» внутри генотипа свидетельствуют значения C_v , находящиеся в интервале 30–50% у большинства генотипов в контрольном варианте в зависимости от погодных условий конкретного года. В разные годы C_v , характеризующий изменчивость по 26 генотипам (внутривидовую у гороха) составлял 17–28% по массе растения и 26–28% по массе семян, что также указывает на значительную генотипическую вариабельность (Доспехов, 1985), а значит, подбор перспективных генотипов из коллекции может быть дополнен селекцией индивидуальных растений.

Следует отметить, что высокая изменчивость как внутри вида, так и внутри генотипа по признакам азотфиксирующего симбиоза выявлена практически у всех бобовых культур (Проворов, Тихонович, 2003), также выявлено существенное изменение признака «отзывчивость растения-хозяина» на инокуляцию грибами АМ у различных генотипов растений (Якоби и др., 2000; Galvan et al., 2007). Все это указывает на то, что наряду с другими факторами, например климатическими или факторами «взаимодействия», ключевые регуляторные гены растения ответственны за

эффективность взаимодействия с БМ, то есть благотворный эффект, оказываемый БМ на развитие растения.

Анализ средних значений коэффициента вариации C_v как по массе растений, так и по массе семян у 26 генотипов при помощи z -критерия знаков (Лакин, 1990) показал, что по результатам 3 лет исследований КМУ вызывает заметное снижение изменчивости растений внутри генотипа по сравнению с контролем, то есть уменьшает зависимость проявления признака «продуктивность» от климатических и других случайных факторов. В то же время применение $N_{60}P_{60}K_{60}$ увеличивает изменчивость по сравнению с контролем и применением КМУ (при $P \geq 0,95\%$). Анализ с использованием t -критерия Стьюдента показал достоверное увеличение значений C_v при применении $N_{60}P_{60}K_{60}$ по сравнению с инокуляцией КМУ (C_v по массе растений составил 40 и 19%, по массе семян — 41 и 23% соответственно) (табл. 33, 34). По этим данным можно сделать вывод, что, в отличие от $N_{60}P_{60}K_{60}$ применение КМУ раскрывает потенциал развития растения и стабилизирует (оптимизирует) это развитие при воздействии внешних случайных факторов (особенно стрессовых погодных условий).

Именно взаимодействие с различными группами БМ и синергизм микроорганизмов внутри растительно-микробной системы обеспечивает данную оптимизацию развития. Например, из данных научной литературы известно, что инокуляция грибами АМ способствует развитию АФС при недостатке влаги (Quilambo, 2003), кроме того, наблюдается синергический эффект при взаимодействии микроорганизмов в стрессовых условиях (Vagea et al., 2005), что очень важно, учитывая первостепенное значение агроэкологических факторов для урожая (Волкова и др., 1985; Сметанин и др., 1987; Фесенко и др., 1995; Кунакова, 1998). Таким образом, по результатам экспериментов 2002–2004 гг., применение минеральных удобрений эффективнее при благоприятных для развития гороха условиях в период вегетации (температурный и влажностный режим) и их действие на развитие растений менее предсказуемо.

В рамках проведенной работы изучен внутривидовой полиморфизм 26 генотипов гороха по эффективности взаимодействия с БМ. Было показано, что изменение за три года надземной

Таблица 33. Изменчивость массы растения у 26 генотипов гороха (*Pisum sativum* L.), 2002–2004 гг.

Генотип	Контроль		Инокуляция КМУ		N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	
	$\bar{X} \pm S_x^*$	C _v , %	$\bar{X} \pm S_x$	C _v , %	$\bar{X} \pm S_x$	C _v , %
к-8274	6,0 ± 0,3	8,2	10,1 ± 1,4	20,0	8,9 ± 2,2	43,2
Franklin	7,6 ± 0,8	18,2	10,7 ± 0,5	9,3	8,4 ± 2,3	49,0
Lifter	9,0 ± 1,0	19,5	9,7 ± 0,2	3,6	10,4 ± 2,6	43,8
Fallon	9,3 ± 1,6	30,7	10,4 ± 0,8	13,9	10,6 ± 3,0	50,2
Shawnee	7,6 ± 0,7	17,8	10,4 ± 0,7	11,8	10,1 ± 2,7	47,1
PS9910140	7,9 ± 0,9	20,5	10,6 ± 0,4	7,5	9,7 ± 2,5	44,9
PS9910188	9,5 ± 1,3	24,5	10,3 ± 0,9	15,0	10,2 ± 2,2	38,9
PS9910029	6,5 ± 2,3	62,1	9,8 ± 0,0	0,5	7,9 ± 2,7	60,1
PS9910134	8,5 ± 0,9	18,9	8,5 ± 0,6	13,4	9,8 ± 1,7	30,7
PS9910135	9,3 ± 1,4	25,9	9,9 ± 0,7	13,5	9,4 ± 2,1	38,8
PS7101044	8,9 ± 1,2	23,7	10,4 ± 0,7	12,1	10,7 ± 2,5	40,5
PS710048	6,1 ± 1,5	42,7	8,5 ± 1,2	24,7	8,2 ± 2,7	58,1
PS7101047	7,9 ± 0,6	14,9	8,8 ± 1,0	21,3	10,4 ± 3,3	55,7
PS7101149	7,2 ± 1,6	40,2	8,8 ± 1,4	28,5	8,2 ± 2,4	51,5
PS810765	8,1 ± 1,3	28,7	10,1 ± 3,7	51,3	9,5 ± 1,6	29,9
PS810191	8,4 ± 1,5	30,7	9,7 ± 1,4	26,1	10,6 ± 2,0	33,3
PS810240	7,6 ± 1,3	24,7	8,9 ± 1,0	20,6	9,8 ± 1,0	17,7
PS610324	6,6 ± 0,6	16,6	9,9 ± 1,3	23,9	9,7 ± 0,8	15,3
PS610152	7,0 ± 0,6	16,6	8,2 ± 1,2	25,3	8,3 ± 1,0	21,3
Скиф	7,8 ± 1,4	31,8	8,9 ± 1,0	21,0	10,8 ± 3,4	54,3
Триумф	7,3 ± 1,6	39,9	9,1 ± 1,2	23,8	8,1 ± 2,7	58,0
к-1693	6,9 ± 0,5	14,3	8,6 ± 0,6	13,4	8,6 ± 2,0	40,6
к-3358	8,7 ± 0,6	13,2	8,9 ± 1,0	20,7	8,4 ± 1,8	37,3
к-3064	8,1 ± 1,2	20,9	7,2 ± 0,7	14,3	7,1 ± 1,7	35,4
к-7128	7,3 ± 1,8	43,7	9,6 ± 1,6	29,8	8,2 ± 1,4	29,1
к-925	7,0 ± 1,1	27,8	9,3 ± 1,1	20,5	8,1 ± 0,8	18,7
В среднем	7,8 ± 0,1	26,0	9,4 ± 0,1	18,7	9,2 ± 0,2	40,1

* $\bar{X}$ — среднее значение, S_x — ошибка среднего.

Таблица 34. Изменчивость массы семян с растения у 26 генотипов гороха (*Pisum sativum* L.), 2002–2004 гг.

Генотип	Контроль		Инокуляция КМУ		N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	
	$\bar{X} \pm S_x^*$	C _v , %	$\bar{X} \pm S_x$	C _v , %	$\bar{X} \pm S_x$	C _v , %
к-8274	2,1 ± 0,4	27,8	4,3 ± 0,1	3,6	4,2 ± 1,2	50,6
Franklin	4,1 ± 0,8	35,5	5,4 ± 0,8	26,4	3,6 ± 0,8	41,9
Lifter	4,3 ± 0,4	28,7	4,6 ± 0,4	18,3	4,5 ± 1,0	40,9
Fallon	3,9 ± 1,1	52,2	4,6 ± 0,5	20,1	4,5 ± 1,2	45,9
Shawnee	3,8 ± 0,5	24,8	4,6 ± 0,3	13,0	4,8 ± 1,2	44,9
PS9910140	3,6 ± 0,7	37,3	4,7 ± 0,5	21,5	4,3 ± 1,0	41,1
PS9910188	4,2 ± 0,7	29,3	4,2 ± 0,1	5,3	4,6 ± 1,1	43,0
PS9910029	2,3 ± 0,9	71,5	4,3 ± 0,7	22,8	3,0 ± 1,1	65,5
PS9910134	4,0 ± 0,5	22,5	3,7 ± 0,6	29,1	4,3 ± 0,9	39,3
PS9910135	4,5 ± 0,8	33,6	4,5 ± 0,4	16,5	4,3 ± 1,1	46,8
PS7101044	4,1 ± 0,6	25,1	4,6 ± 0,2	10,5	5,0 ± 1,2	42,0
PS710048	2,8 ± 0,8	50,3	3,5 ± 0,8	42,5	3,3 ± 1,1	61,1
PS7101047	3,5 ± 0,4	23,9	3,8 ± 0,4	22,1	4,7 ± 1,6	61,4
PS7101149	3,5 ± 0,8	42,0	4,2 ± 0,9	37,8	3,7 ± 1,2	55,9
PS810765	3,9 ± 0,6	26,8	5,1 ± 1,7	47,9	4,6 ± 0,8	32,2
PS810191	3,9 ± 0,7	31,5	4,3 ± 0,6	27,0	4,6 ± 0,7	27,9
PS810240	3,3 ± 0,5	23,4	3,9 ± 0,5	25,0	4,3 ± 0,4	18,5
PS610324	2,8 ± 0,3	22,7	4,2 ± 0,4	16,8	4,3 ± 0,3	11,8
PS610152	2,9 ± 0,1	8,7	3,4 ± 0,2	13,3	3,6 ± 0,3	18,4
Скиф	3,3 ± 0,7	36,5	3,8 ± 0,5	22,9	4,5 ± 1,2	48,0
Триумф	3,0 ± 1,0	57,3	3,6 ± 1,0	47,9	3,7 ± 1,4	69,0
к-1693	2,8 ± 0,1	7,1	3,6 ± 0,2	10,9	3,5 ± 0,9	45,3
к-3358	3,7 ± 0,4	20,7	3,5 ± 0,6	30,5	3,4 ± 0,8	42,5
к-3064	2,9 ± 0,5	23,6	2,7 ± 0,0	1,5	3,0 ± 0,5	22,8
к-7128	3,4 ± 0,9	45,1	4,2 ± 0,7	31,5	3,9 ± 0,5	25,6
к-925	3,1 ± 0,2	13,7	4,0 ± 0,5	24,7	3,4 ± 0,4	23,6
В среднем	3,5 ± 0,1	31,6	4,1 ± 0,1	22,7	4,1 ± 0,1	41,0

* $\bar{X}$ — среднее значение, S_x — ошибка среднего.

биомассы и семенной продуктивности в результате применения КМУ (средства, повышающего содержание и разнообразие БМ в почве) по отношению к контролю изменялось в пределах 75 и 124% соответственно, что демонстрирует наличие генетической детерминации данного признака у конкретных генотипов, а не влияние случайных факторов. Были выбраны 4 группы генотипов, различающихся по эффективности взаимодействия с БМ, демонстрирующие повторяющиеся результаты в разных погодных условиях.

5.1.4.3. Сопоставление развития растений 26 генотипов гороха (*Pisum sativum* L.) при применении комплексного микробного удобрения и $N_{60}P_{60}K_{60}$

Корреляция между изменением семенной продуктивности и массы растения при применении как КМУ, так и $N_{60}P_{60}K_{60}$ по отношению к контролю была высокая (табл. 35). При изучении связи между накоплением массы семян растения в контроле и при применении КМУ обнаружена достоверная отрицательная корреляция. Такая же степень корреляции обнаружена при изучении

Таблица 35. Развитие растений 26 генотипов гороха при инокуляции КМУ и при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$

Сопоставляемые признаки*	Коэффициент корреляции r при $P \geq 0,95$		
	2002 г.	2003 г.	2004 г.
Δ Масса растения (КМУ)/ Δ Масса семян (КМУ)	0,92	0,93	0,75
Δ Масса растения (NPK)/ Δ Масса семян (NPK)	0,88	0,76	0,82
Масса семян (контр)/ Δ Масса семян (КМУ)	–0,63	–0,71	–0,57
Масса семян (контр)/ Δ Масса семян (NPK)	–0,68	–0,74	–0,65

* Δ — изменение изучаемого параметра относительно контроля.

отзывчивости массы семян на внесение $N_{60}P_{60}K_{60}$. Это свидетельствует о том, что на присутствие КМУ и $N_{60}P_{60}K_{60}$ в большей степени реагируют генотипы с меньшей массой семян в контроле. Данный факт указывает на генетически детерминированную оптимизацию развития растений при обоих видах обработки: наибольший выигрыш от обработок получают зависимые от них генотипы, плохо адаптированные к развитию без БМ, что при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ компенсируется. Это подтверждается данными из литературы. Так, например, при анализе мировой коллекции люцерны была обнаружена сильная отрицательная корреляция ($r = -0,60 \dots -0,80$) между значениями урожайности вегетативной массы у инокулированных растений и инокулированных ризобиями (Проворов и др., 1987; Саимназаров, 1991; Танривердиев и др., 1995). Подобным образом ведут себя растения и в присутствии минеральных удобрений (Климашевский, 1990). По сравнению с $N_{60}P_{60}K_{60}$ эффект КМУ более стабилен из года в год, что говорит о важной роли использования комплекса БМ в системах адаптивного растениеводства.

Для сравнения развития растений при разных видах обработки был произведен корреляционный анализ взаимосвязи изменений различных признаков гороха в варианте с инокуляцией КМУ и изменений в варианте с $N_{60}P_{60}K_{60}$ по отношению к контролю. Показано, что достоверная положительная корреляция имеется между относительными изменениями массы семян с растения (табл. 36). Данный признак изменялся у растений сходным образом в течение трех лет при воздействии как КМУ так и $N_{60}P_{60}K_{60}$. Генотипы реагируют на оба вида обработки прежде всего увеличением массы семян вне зависимости от погодных условий, хотя количественные значения (степень отзывчивости) различаются. Параметр «семенная продуктивность» является наиболее отзывчивым на воздействие как КМУ, так и $N_{60}P_{60}K_{60}$. Была показана достоверная положительная корреляция между изменением массы растений в присутствии КМУ и $N_{60}P_{60}K_{60}$ в 2002 и 2003 гг. и отсутствие корреляции в 2004 г. Проявление данного признака больше зависит от погодных условий, в результате изменения которых растения по-разному реагируют на тип обработки. При изучении взаимосвязи как между изменениями массы растений, так и массы

Таблица 36. Коэффициенты корреляции между изменением различных признаков 26 генотипов гороха (*Pisum sativum* L.) при инокуляции КМУ и их изменением при полной дозе минеральных удобрений по отношению к контролю, 2002–2004 гг.

Сопоставляемые признаки*	Коэффициент корреляции r при $P \geq 0,95$		
	2002 г.	2003 г.	2004 г.
Δ Масса семян с растения (КМУ)/ Δ Масса семян с растения (NPK)	0,71	0,83	0,75
Δ Масса растения (КМУ)/ Δ Масса растения (NPK)	0,72	0,58	0,44
Δ Длина стебля (КМУ)/ Δ Длина стебля (NPK)	0,82	0,44	0,62
Δ Число непродуктивных узлов (КМУ)/ Δ Число непродуктивных узлов (NPK)	0,64	0,11	0,74
Δ Число продуктивных узлов (КМУ)/ Δ Число продуктивных узлов (NPK)	0,62	0,36	0,48
Δ Число бобов (КМУ)/ Δ Число бобов (NPK)	0,53	0,50	0,49
Δ Число семян (КМУ)/ Δ Число семян (NPK)	0,38	0,75	0,60
Δ Число клубеньков (КМУ)/ Δ Число клубеньков (NPK)	0,56	0,51	0,60
Δ Нитрогеназная активность (КМУ)/ Δ Нитрогеназная активность (NPK)	0,14	0,74	0,19
Δ Содержание белка в семенах (КМУ)/ Δ Содержание белка в семенах (NPK)	0,14	0,30	0,45

* Δ — изменение изучаемого параметра относительно контроля; выделенные жирным шрифтом коэффициенты корреляции r достоверны при $P \geq 0,95$; $N = 25$ (2002 г.), $N = 25$ (2003 г.), $N = 16$ (2004 г.).

семян при внесении КМУ и $N_{60}P_{60}K_{60}$ положительная корреляция указывает на то, что механизмы вовлечения минеральных элементов в формирование биомассы сходны при симбиотрофном и автотрофном питании. Длина стебля изменялась с достоверной корреляцией при инокуляции КМУ и при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ во все годы исследований. Достоверная корреляция обнаружена также между изменением числа клубеньков при разных видах обработки. Чем интенсивнее клубенькообразование у генотипа при воздействии комплекса БМ, тем слабее выражено уменьшение количества клубеньков в присутствии $N_{60}P_{60}K_{60}$ по сравнению с контролем (растение продолжает взаимодействовать с клубеньковыми бактериями), что указывает на влияние генотипа растения на интенсивность клубенькообразования (Cregan, 1989; Josephson, 1991; Rosas et al., 1998).

При разных вариантах обработки изменение числа непродуктивных узлов, числа продуктивных узлов, числа бобов, числа семян, нитрогеназной активности клубеньков и содержания белка в семенах имело разную степень корреляции по годам, что говорит о разной степени отзывчивости данных признаков на вид обработки в зависимости от погодных условий конкретного года (табл. 36).

5.1.4.4. Изучение содержания белка в семенах (качество продукции зернобобовых) при инокуляции комплексным микробным удобрением в присутствии $N_{60}P_{60}K_{60}$

Анализ содержания белка в семенах показал, что, как правило, инокуляция КМУ увеличивает содержание белка как у высокоэффективных (например, PS 9910140, к-8274, Shawnee), так и у низкоэффективных генотипов гороха (Lifter, PS 9910134, PS 9910135) в среднем за три года максимально до 1,8% (Franklin) по сравнению с контролем (табл. 31). Исключение составили генотипы к-3064 и к-925, у которых наблюдалось снижение содержания белка на $-1,5$ и $-0,2\%$ соответственно. В среднем по всем генотипам в результате инокуляции КМУ содержание белка в семенах изменилось по сравнению с контролем в 2002 г. на $+0,4 \pm 0,2\%$, в 2003 — на $+1,5 \pm 0,2\%$, в 2004 — на $+1,3 \pm 0,2\%$ (табл. 37), сбор белка

Таблица 37. Изменение, %, содержания белка в семенах растений гороха (*Pisum sativum* L.) 26 генотипов относительно контроля без обработки (Орловская обл., 2002–2004 гг.)

Генотип	При инокуляции КМУ				При внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.
к-8274	0,22	1,95	1,61	1,26	–1,30	1,99	1,51	0,73
Franklin	1,12	2,42	1,95	1,83	–0,89	0,86	1,49	0,49
Lifter	2,11	1,59	1,55	1,75	–2,30	0,4	2,15	0,08
Fallon	1,22	2,38	0,68	1,43	–1,96	0,4	0,20	–0,45
Shawnee	0,68	1,29	1,87	1,28	–0,91	–2,01	2,16	–0,25
PS9910140	0,23	2,18	1,73	1,38	–1,80	2,05	1,61	0,62
PS9910188	0,47	2,27	1,91	1,55	–0,94	1,32	1,68	0,69
PS9910029	1,11	2,21	1,00	1,44	0,44	2,26	1,73	1,48
PS9910134	1,41	1,23	2,24	1,63	–0,47	1,94	1,33	0,93
PS9910135	1,90	1,30	2,14	1,78	0	2,16	1,63	1,26
PS7101044	–0,46	0,88	1,76	0,73	0,93	0,35	1,29	0,86
PS710048	–1,82	0,09	2,10	0,12	–1,33	1,73	1,93	0,78
PS7101047	2,33	1,80	0,53	1,55	–0,52	1,80	1,96	1,08

Таблица 37 (окончание)

Генотип	При инокуляции КМУ				При внесении N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.
PS7101149	0,23	2,15	2,37	1,58	–0,45	2,15	2,05	1,25
PS810765	–0,48	2,07	1,07	0,89	–1,44	0,25	–2,35	–1,18
PS810191	–0,70	2,11	1,59	1,00	–0,47	0,55	1,85	0,64
PS810240	0,68	1,66	1,87	1,40	н/д*	0,17	0,81	0,49
PS610324	0,90	2,18	1,25	1,44	0,45	1,62	1,80	1,29
PS610152	0,47	1,77	2,05	1,43	–0,93	1,77	2,00	0,95
Скиф	1,12	2,34	1,34	1,60	–1,79	–0,82	2,18	–0,14
Триумф	1,0	1,99	1,05	1,35	–1,83	0,16	–1,42	–1,03
к-1693	–1,38	1,93	0,33	0,29	–1,83	–2,06	–1,78	–1,89
к-3358	0	1,57	1,71	1,09	–0,45	–2,07	–1,67	–1,40
к-3064	–0,92	–2,11	–1,41	–1,48	–1,40	–1,27	–1,97	–1,55
к-7128	0,22	–1,41	1,73	0,18	–0,47	–1,13	–2,27	–1,29
к-925	–1,15	1,48	–1,03	–0,23	–0,92	1,48	–0,47	0,03
Среднее по генотипам, %	0,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,1	–0,9 ± 0,2	0,6 ± 0,3	0,8 ± 0,3	0,2 ± 0,2

* н/д — нет данных.

увеличился по сравнению с контролем на 93,9; 169,9 (достоверно) и 209,5 (достоверно) кг/га по годам. Представленные данные свидетельствуют, что внесение КМУ оптимизирует развитие растений и в конечном итоге увеличивает содержание запасных белков в семенах, а значит обеспечивает более высокую пищевую ценность урожая зернобобовых и/или преимущество развития следующего поколения растений.

Важно отметить, что в ходе селекции на повышение эффективности взаимодействия с БМ можно существенно улучшить биохимический состав продукции растениеводства, последнее само по себе является очень непростой селекционной задачей, в частности из-за недостаточной проработанности генетики признака «состав и содержание белка в семенах бобовых» (Burstin et al., 2011).

Например, у люцерны при активном симбиотрофном питании азотом накопление нитратов в зеленой массе снижается, а накопление белка, витаминов и каротина возрастает (Проворов и др., 1994; Танривердиев и др., 1994). Создание сортов бобовых с повышенным содержанием белка тесно связано с повышением интенсивности симбиотической азотфиксации за счет увеличения либо нитрогеназной активности, либо периода активной азотфиксации в онтогенезе растений (Проворов и др., 1998).

Внесение $N_{60}P_{60}K_{60}$ увеличивало данный параметр у большей части генотипов в среднем за три года до 1,5% (PS 9910029), но по сравнению с применением КМУ в целом эффект был ниже. Снижение содержания белка произошло у генотипов Fallon (–0,4% по отношению к контролю), Shawnee (–0,2%), PS 810765 (–1,2%), Скиф (–0,1%), Триумф (–1,0%), к-1693 (–1,9%), к-3358 (–1,4%), к-3064 (–1,5%) и к-7128 (–1,3%). Применение $N_{60}P_{60}K_{60}$ в среднем по генотипам привело к повышению содержания белка в семенах в 2003 г. на $0,6 \pm 0,3\%$, в 2004 — на $0,8 \pm 0,3\%$. В 2002 г. содержание белка в данном варианте уменьшилось на $-0,9 \pm 0,2\%$ (табл. 31). В 2002 г. сбор белка повысился по сравнению с контролем в среднем по генотипам на 28,2 кг/га, в 2003 — на 392,3 (достоверно) кг/га, в 2004 — на 4,7 кг/га.

Таким образом, применение КМУ является более эффективным приемом повышения качества продукции зернобобовых культур, чем внесение $N_{60}P_{60}K_{60}$. Важно отметить существование

и таких генотипов, как к-3064, снижение содержания белка у которого в среднем за годы испытаний произошло при как применении КМУ, так и $N_{60}P_{60}K_{60}$ и составило $-1,4$ и $-1,5\%$ соответственно.

Широкий интервал изменения содержания белка в семенах в среднем за три года как при инокуляции КМУ (от $-1,4\%$ у к-3064 до $1,8\%$ у Franklin), так и при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ (от $-1,9\%$ у к-1693 до $1,5\%$ у PS 9910029) по сравнению с контролем свидетельствуют о наличии генетического полиморфизма у изучаемых генотипов по признаку «содержание белка в семенах».

Анализ содержания белка в семенах различных генотипов гороха показал, что его изменение никак не зависит от отзывчивости растений на варианты обработки в отношении накопления биомассы. Достоверной корреляции между изменением семенной продуктивности и содержания белка в семенах при инокуляции КМУ по отношению к контролю обнаружено не было, так же как и между изменением данных параметров при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что инокуляция КМУ в большинстве случаев влияет положительно на содержание белка в семенах с использованием механизмов, отличных от повышения продуктивности растений. Данный факт демонстрирует целесообразность применения инокулянтов, содержащих комплекс БМ даже в случае возделывания симбиотически неэффективных сортов гороха.

5.1.4.5. Выбор параметров оценки эффективности взаимодействия растений с комплексом полезной почвенной микрофлоры

Для выбора наиболее адекватных для селекционеров и сельхозпроизводителей критериев, по которым можно было бы объективно оценивать эффективность изучаемых генотипов при взаимодействии с БМ, был проведен анализ корневых систем экспериментальных растений по всем доступным параметрам, описывающим развитие симбиотических систем гороха: встречаемость микоризы F (%), интенсивность микоризации корневой системы M (%), интенсивность развития арбускул в микоризованной части корня a (%), а также количество клубеньков и нитрогеназная активность

корневой системы. Далее проводился корреляционный анализ изменений вышеперечисленных параметров симбиотических систем за счет взаимодействия с БМ с изменением накопления биомассы и белка в семенах, основных сельскохозяйственно значимых признаков урожая зернобобовых культур, в тех же условиях. Этот анализ проводился для окончательного разрешения вопроса о выборе параметра оценки эффективности взаимодействия с БМ (наряду с данными литературы) для адекватного и в то же время простого и удобного для селекционеров и сельхозпроизводителей.

5.1.4.5.1. Анализ параметров, характеризующих развитие арбускулярной микоризы

В 2002 г. был проведен анализ корневой системы экспериментальных растений всех изучаемых генотипов в отношении развития микоризной инфекции. Исследовались частоту встречаемости микоризной инфекции F (%), интенсивность развития микоризной инфекции в микоризованной части корня M (%), обилие арбускул в микоризованной части корня a (%).

КМУ. Частота встречаемости микоризной инфекции. Применение КМУ вызывало достоверное уменьшение у генотипов Shawnee (изменение относительно контроля — -76%), Триумф (-28%), Скиф (-61%), PS 710048 (-28%), PS 7101044 (-54%), PS 810191 (-61%), PS 610324 (-42%), к-3358 (-48%), достоверное увеличение у PS 9910140 (190%), PS 9910135 (149%), PS 810765 (152%). В целом изменение при инокуляции КМУ относительно контроля наблюдали в пределах от -75% (Shawnee) до $+190\%$ (PS 9910140).

Интенсивность развития микоризной инфекции в микоризованной части корня. При инокуляции КМУ показано достоверное уменьшение относительно контроля у Shawnee (-92%), Скиф (-67%), PS 7101047 (-56%), PS 810191 (-89%), PS 610324 (-61%), к-3358 (-60%) и увеличение у PS 810765 (227%). В данном варианте показатель изменяется от -92 (Shawnee) до $+377\%$ (к-925) (рис. 16, 17).

Обилие арбускул в микоризованной части корня. При инокуляции КМУ у генотипов Franklin, PS 710048, PS 7101044, PS 7101047,

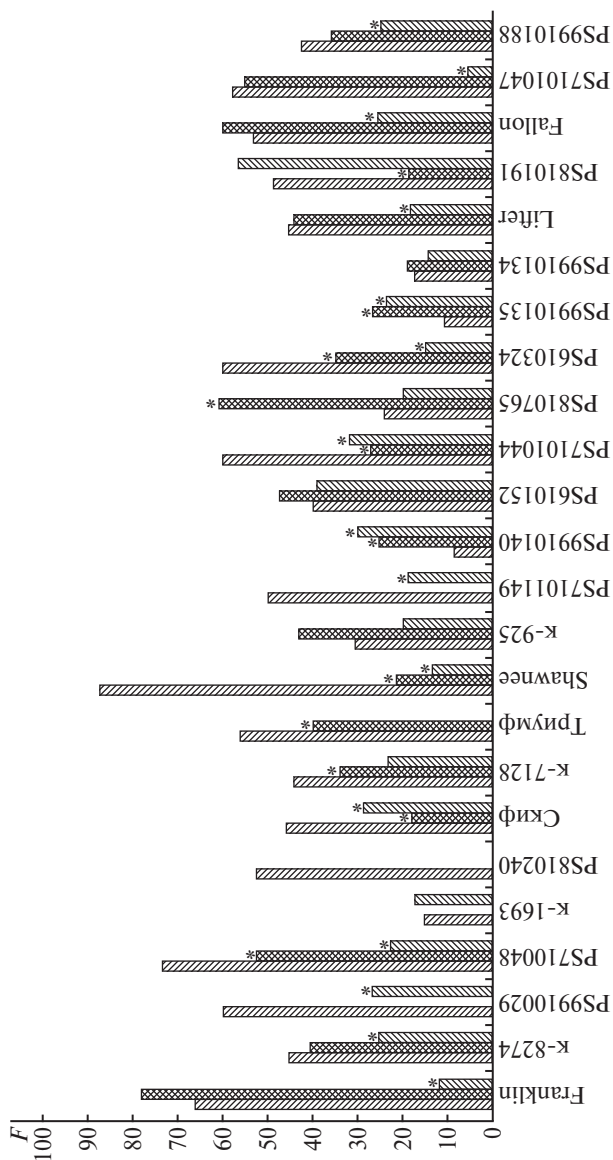


Рис. 16. Частота встречаемости микоризной инфекции F (%) в корневой системе 26 генотипов гороха (*Pisum sativum* L.) в полевых условиях при применении КМУ и внесении $N_{60}P_{60}K_{90}$ (Орловская обл., 2002 г.)

* — значения статистически достоверно отличаются от контроля при $P \geq 0,95$; н/д — нет данных; то же для рис. 17, 18
 □ — контроль; ▨ — КМУ; ▩ — $N_{60}P_{60}K_{90}$; то же для рис. 17, 18

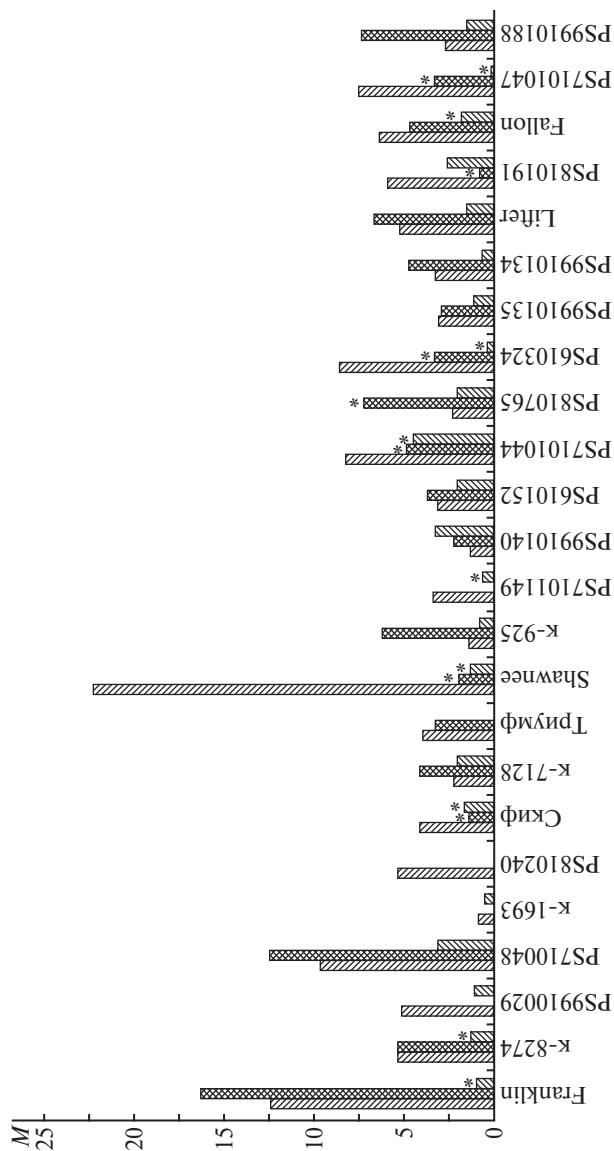


Рис. 17. Интенсивность развития микоризной инфекции M (%) в микоризованной части корневой системы 26 генотипов гороха (*Pisum sativum* L.) в полевых условиях при применении КМУ и внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ (Орловская обл., 2002 г.)

PS 610152 и PS 610324 показатель достоверно возростал по сравнению с контролем; у генотипов Shawnee, Триумф, Скиф, PS 810191, к-3064 количество арбускул было равно нулю. У сорта Скиф значения данного параметра были равны нулю как в контроле, так и при инокуляции КМУ (рис. 18). В целом изменения показателя величины по отношению к контролю находились в диапазоне от -100 до 9800% .

$N_{60}P_{60}K_{60}$. Достоверное уменьшение значений частоты встречаемости микоризной инфекции и интенсивности развития микоризной инфекции в микоризованной части корня по сравнению с контролем при $P \geq 0,95$ по z -критерию знаков (Лакин, 1990) при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ и практически полное отсутствие арбускул свидетельствуют о минимальной активности аборигенных грибов АМ экспериментальных полей Орловской области в симбиозе с растением при внесении минеральных удобрений и переходе растений гороха на автотрофный тип минерального (особенно фосфорного) питания (рис. 16–18).

Изменения частоты встречаемости микоризной инфекции по отношению к контролю были отрицательные практически у всех генотипов, максимум — до -90% у PS 7101044. Только у PS 9910140, PS 9910135, PS 810191, к-1693 изменения значений были положительные и составили 244, 117, 16 и 14% соответственно.

Изменения значений интенсивности развития микоризной инфекции в микоризованной части корня по отношению к контролю были отрицательные, максимум — до -98% (PS 7101047). Только у PS 9910140 и к-3064 изменения составили $+166$ и $+126\%$ соответственно.

Широкий диапазон изменения параметров частоты встречаемости микоризной инфекции, интенсивности развития микоризной инфекции в микоризованной части корня, обилие арбускул в микоризованной части корня как в варианте с инокуляцией КМУ ($-75\%+190\%$, $-92\%+377\%$, $-100\%+9800\%$ соответственно), так и в присутствии $N_{60}P_{60}K_{60}$ по отношению к контролю ($-90\%+244\%$, $-98\%+166\%$, $-90\%+144\%$) свидетельствует о наличии генетического полиморфизма у генотипов по признакам «изменение частоты встречаемости микоризной инфекции F (%)», «изменение интенсивности развития микоризной инфекции

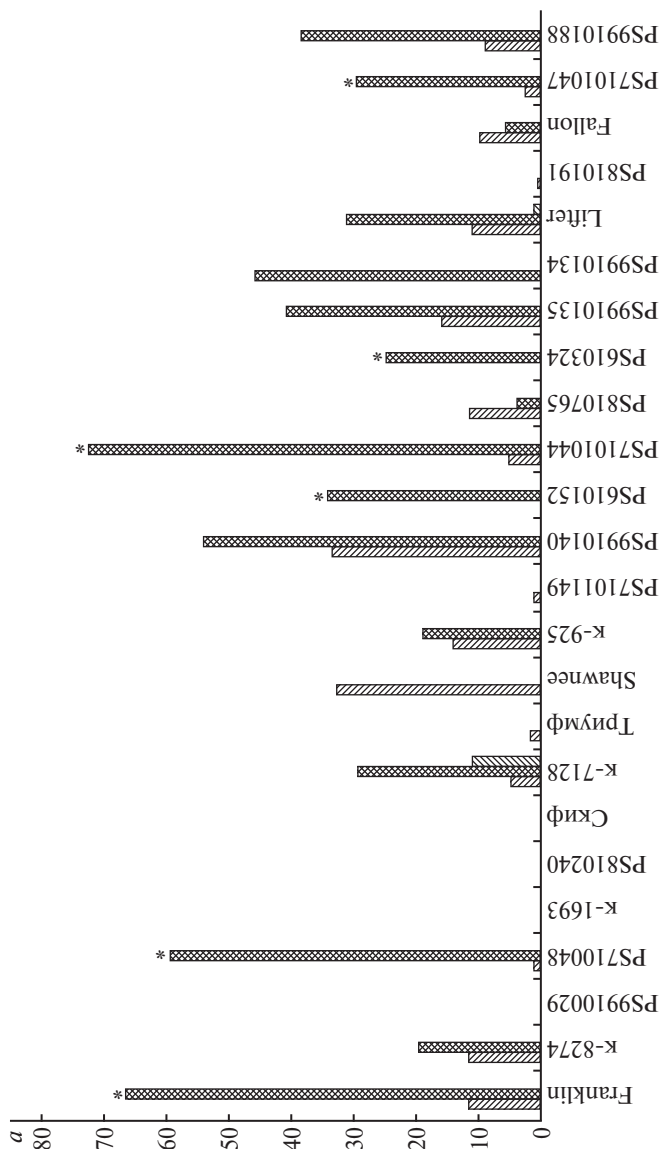


Рис. 18. Обилие арбускул a (%) в микоризованной части корня 26 генотипов гороха (*Pisum sativum* L.) в полевых условиях при применении КМУ и внесении $N_{60}P_{60}K_{90}$ (Орловская обл., 2002 г.)

в микоризованной части корня M (%)), «изменение количества арбускул в микоризованной части корня a (%)» как при взаимодействии с комплексом БМ, так и при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$.

Исследования корреляционных связей параметров развития АМ с параметрами развития растений показали отсутствие достоверной корреляции между изменением параметров частоты встречаемости микоризной инфекции, интенсивности развития микоризной инфекции в микоризованной части корня, обилие арбускул в микоризованной части корня и семенной продуктивности растений при инокуляции КМУ по отношению к контролю ($r = -0,05$; $-0,02$; $-0,30$ соответственно при $P \geq 0,95$; $N = 26$), а также отсутствие достоверной корреляции между изменением этих параметров и надземной биомассы растений в тех же условиях ($r = -0,02$; $0,03$; $-0,26$ соответственно при $P \geq 0,95$; $N = 26$). Изменение указанных параметров не коррелировало с изменением содержания белка в семенах при инокуляции КМУ по отношению к контролю ($r = -0,07$; $-0,23$; $0,01$ соответственно при $P \geq 0,95$; $N = 26$).

Таким образом, степень микоризации корня не коррелирует со степенью отзывчивости растений на применение КМУ (взаимодействие с БМ). Отсутствие взаимосвязи между степенью микоризации и параметрами роста (надземной биомассой, массой корней) было показано ранее другими авторами (Lambert et al., 1980; Valdenegro et al., 2001). К тому же известно, что в неблагоприятных для развития растений условиях, например при недостаточной освещенности, интенсивное развитие АМ может угнетать рост растений (Smith, Read, 2008; Koide, 1985; Son, Smith, 1988).

Таким образом, параметры микоризации никак не могут использоваться в качестве признаков оценки эффективности функционирования мутуалистической симбиотической системы, то есть эффективности взаимодействия растений с комплексом БМ.

5.1.4.5.2. Анализ параметров, характеризующих развитие азотфиксирующего симбиоза

В 2002–2004 гг. также проводился учет количества клубеньков на корнях растений для оценки развития азотфиксирующего симбиоза гороха.

КМУ. Анализ показал достоверное увеличение количества клубеньков по z -критерию знаков (при $P \geq 0,95\%$) при инокуляции растений КМУ по сравнению с контролем (Лакин, 1990), где клубеньки образовывались только за счет взаимодействия с аборигенными КБ. В среднем по 26 генотипам в 2002 г. клубенькообразование увеличилось на 20%, в 2003 — на 25% и в 2004 — на 46%. В среднем за три года увеличение данного параметра составило от 1% (Shawnee) до 82% (PS 710048), за исключением PS 810240, у которого изменение клубенькообразования составило -3% по отношению к контролю. Данное явление указывает на генотипически детерминированное со стороны растения установление симбиотических взаимоотношений с вносимыми КБ.

$N_{60}P_{60}K_{60}$. В варианте с $N_{60}P_{60}K_{60}$ количество клубеньков достоверно уменьшалось по отношению к контролю по z -критерию знаков при $P \geq 0,95\%$. В целом по генотипам изменение клубенькообразования составило в 2002 г. -37% , в 2003 — -53% и в 2004 г. — -31% . В среднем за три года клубенькообразование в данном варианте понизилось: от -4% (PS 610152) до -63% (к-1693) по сравнению с контролем, что явно указывает на переход к автотрофному типу азотного питания растений в условиях внесения минеральных азотных удобрений (Andrews et al., 2009; Профоров, Тихонович, 2003) (табл. 38).

Изучение нитрогеназной активности растений показало, что только в 2002 г. имело место ее достоверное увеличение при инокуляции КМУ по отношению к контролю (при $P \geq 0,95\%$) по z -критерию знаков. В 2003, 2004 гг. отсутствовали четкие тенденции в изменении данного параметра. В целом по генотипам значения нитрогеназной активности увеличивались в варианте с инокуляцией КМУ по отношению к контролю в 2002 г. на 20%, в 2003 — на 13%, в 2004 — на 21%. В среднем за три года значения увеличились: от 4% (PS 610324) до 74% (к-3358). Исключение составили Shawnee (-7%), PS 9910188 (-8%), PS 9910134 (-13%), PS 810765 (-2%), PS 610152 (-16%) и к-3064 (-10%) (табл. 39).

В варианте с $N_{60}P_{60}K_{60}$ значения нитрогеназной активности достоверно уменьшались по отношению к контролю по z -критерию знаков при $P \geq 0,95\%$. В целом по генотипам в 2002 г. нитрогеназная активность понизилась до -42% , в 2003 — на -45% ,

Таблица 38. Изменение количества формирующихся клубеньков по отношению к контролю, %, у 26 генотипов гороха при применении КМУ и $N_{60}P_{60}K_{60}$, в 2002–2004 гг.

Генотип	КМУ				$N_{60}P_{60}K_{60}$			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.
к-8274	28,2*	72,9*	н/д	50,5	-40,3*	-25,0	н/д	-32,6
Franklin	26,8*	12,7	20,7	20,1	-55,5*	-73,0*	-55,2	-61,2
Lifter	7,5	27,5	6,2	13,7	-37,3*	-58,8*	-53,0*	-49,7
Fallon	64,3*	1,8	61,5	42,5	4,1	-42,8*	-30,8	-23,2
Shawnee	-1,3	-6,0	9,1	0,6	-30,3*	-70,1*	-66,7*	-55,7
PS9910140	10,3	-33,3*	108,3*	28,4	-25,4*	-68,1*	-16,7	-36,7
PS9910188	16,7	3,7	6,4	8,9	-40,3*	-42,6*	-41,9	-41,6
PS9910029	17,8	69,4*	33,3	40,2	-25,7*	-61,1*	-22,2	-36,3
PS9910134	14,1	28,6	12,5	18,4	-41,5*	-19,0	-37,5	-32,7
PS9910135	15,5	53,8*	72,0*	47,1	-48,9*	-66,7*	-52,0*	-55,9
PS7101044	36,1	90,0*	64,3	63,5	-27,8	-30,0	-42,9	-33,6
PS710048	55,9*	0	190,1*	82,0	-28,6	-31,0	-9,1	-22,9
PS7101047	37,8*	30,5	6,7	25,0	-27,0	-47,2	-13,3	-29,2
PS7101149	10,4	13,0	21,0	14,8	-31,9*	-64,8*	-5,3	-34,0

Таблица 38 (окончание)

Генотип	КМУ				N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.
PS810765	10,2	-6,3	150,0*	51,3	-40,6*	-60,3*	-16,7	-39,2
PS810191	12,7	-8,8	55,0	19,6	-59,3*	-82,3*	-20,0	-53,9
PS810240	9,7	-23,2*	3,8	-3,2	н/д	-73,2*	-50,0	-61,6
PS610324	40,3	65,6*	53,3	53,1	-35,5	-12,5	0	-16,0
PS610152	9,0	59,0*	120,0	62,7	-58,0*	-53,8*	100,0	-3,9
Скиф	5,5	35,5*	4,5	15,2	-59,0*	-71,0*	-27,3	-52,4
Триумф	14,1	23,7	47,6*	28,5	-32,8*	-74,6*	-28,6	-45,3
к-1693	10,5	11,5	38,1*	20,0	-35,1*	-82,0*	-71,4*	-62,8
к-3358	26,0*	14,3	-1,4	13,0	-23,1	-61,9*	-79,7*	-54,9
к-3064	22,9*	20,7	-35,8*	2,6	-54,2*	н/д	н/д	-54,2
к-7128	2,0	55,8*	93,7*	50,5	-54,7*	-26,9	-37,5	-39,7
к-925	20,8*	29,6*	22,4	24,3	-30,0*	-33,3*	-73,5*	-45,6
Среднее по генотипам	20,1 ± 3,1	24,7 ± 6,1	46,5 ± 10,5	30,5 ± 4,3	-37,5 ± 2,9	-53,3 ± 4,1	-31,3 ± 7,3	-46,3 ± 5,5

* Значение статистически достоверно отличается от контроля при $P \geq 0,95$; н/д — нет данных.

Таблица 39. Изменения нитрогеназной активности корневой системы 26 генотипов гороха при применении КМУ и внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$ по отношению к контролю, %, в 2002–2004 гг.

Генотип	КМУ				$N_{60}P_{60}K_{60}$			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.
к-8274	58,7*	75,9*	н/д	67,3	–39,7*	–41,4*	н/д	–40,6
Franklin	8,9	31,9*	45,4*	29,0	–48,2*	–42,5*	–63,6*	–51,4
Lifter	37,0*	22,5*	31,8*	30,4	–26,0*	–22,5*	–68,2*	–38,9
Fallon	6,6	33,3*	44,4*	28,1	–52,0*	–35,9*	–83,3*	–57,1
Shawnee	20,7*	–7,7	–34,2*	–7,1	–37,9*	–65,4*	–73,7*	–59,0
PS9910140	28,9*	5,0	5,0	13,0	–53,3*	–60,0*	–55,0*	–56,1
PS9910188	10,7	–5,3	–30,3	–8,3	–57,1*	–52,6*	–63,6*	–57,8
PS9910029	12,2	14,8*	0	9,0	–43,2*	–42,6*	–73,0*	–52,9
PS9910134	7,4	–41,1*	–5,3	–13,0	–26,2*	–74,0*	–76,3*	–58,8
PS9910135	31,1*	38,1*	81,8*	50,3	–13,3*	–52,4*	–54,5*	–40,1
PS7101044	8,5	75,0*	–56,0*	9,2	–29,8*	0	–16,0	–15,3
PS710048	–2,4	25,0*	5,7	9,4	–57,1*	–10,4	–62,8*	–43,4
PS7101047	102,1*	15,7	–7,7	36,7	–45,8*	–47,0*	–15,4	–36,1
PS7101149	36,1*	0	–35,0*	0,4	–47,2*	–34,9*	–30,0	–37,4

Таблица 39 (окончание)

Генотип	КМУ				N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀			
	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	Среднее за 2002–2004 гг.
PS810765	5,0	–9,8	28,6	7,9	–60,0*	–62,7*	–64,3*	–62,3
PS810191	29,6*	8,9	–4,5	11,3	–33,3*	–55,5*	–81,8*	–46,9
PS810240	9,4	0	36,4	15,3	н/д	–55,3*	–72,7*	–64,0
PS610324	34,0*	–32,2*	8,3	3,6	–51,3*	–75,8*	–33,3	–53,5
PS610152	8,9	–46,0*	–10,0	–15,7	–50,0*	–71,4*	–10,0	–43,8
Скиф	4,9	16,5*	4,9	8,8	–37,5*	–55,7*	–51,2*	–48,1
Триумф	11,2	5,6	100,0*	38,9	–32,7*	–51,4*	–27,8	–37,3
к-1693	6,0	19,0*	100,0*	41,7	–36,0*	–35,7*	–28,6	–33,4
к-3358	7,1	63,2*	152,2*	74,2	–42,8*	–23,7*	–56,5*	–41,0
к-3064	15,5	–15,7*	–28,9*	–9,7	–59,5*	н/д	н/д	–59,5
к-7128	10,8	–17,5*	50,0*	14,4	–35,0*	–52,4*	–66,7*	–51,4
к-925	12,8	18,8	38,7*	23,4	–61,5*	–18,7*	–71,0*	–50,4
Среднее по генотипам	20,1 ± 4,3	13,3 ± 6,1	20,8 ± 9,8	18,0 ± 4,6	–41,9 ± 2,9	–45,6 ± 3,9	–54,1 ± 3,6	–47,5 ± 2,2

* Значение статистически достоверно отличается от контроля при $P \geq 0,95$; н/д — нет данных.

в 2004 — на –54%. В среднем за три года изменения наблюдались в пределах от –15% (PS 7101044) до –64% (PS 810240).

Широкий диапазон варьирования изменений количества клубеньков и нитрогеназной активности у изученных за годы испытаний генотипов гороха при применении КМУ и $N_{60}P_{60}K_{60}$ по сравнению с контролем свидетельствуют о наличии генетически детерминированного полиморфизма у изучаемых генотипов по специфичности и эффективности взаимодействия с КБ и устойчивости данного симбиоза к внесению минеральных удобрений, предпочтительности автотрофного питания как менее энергозатратного (Andrews et al., 2009; Проворов, Тихонович, 2003).

Достоверной корреляции между изменением СП и числа клубеньков при применении КМУ по сравнению с контролем обнаружено не было. Коэффициенты корреляции в данном случае составили $r_{2002} = -0,08$ ($P \geq 0,95$; $N = 26$); $r_{2003} = 0,23$ ($P \geq 0,95$; $N = 25$); $r_{2004} = 0,34$ ($P \geq 0,95$; $N = 18$), также не было обнаружено достоверной корреляции между изменением массы растения и числом клубеньков ($r_{2002} = 0,00$ ($P \geq 0,95$; $N = 26$); $r_{2003} = 0,16$ ($P \geq 0,95$; $N = 25$); $r_{2004} = 0,23$ ($P \geq 0,95$; $N = 18$)).

Важно отметить, что у многих бобовых (люцерна, клевер, соя, нут) число клубеньков при высокоэффективном симбиозе с КБ меньше, чем при низкоэффективном симбиозе (Nutman, 1968; Федоров, Симаров, 1987). Также было показано, что число клубеньков не коррелирует с симбиотической эффективностью азотфиксации (Nutman, 1967; Антипчук и др., 1986; Valdenegro et al., 2001). Изменение числа клубеньков также не коррелировало с изменением содержания белка в семенах при применении КМУ по отношению к контролю ($r_{2002} = -0,23$ при $P \geq 0,95$; $N = 26$; $r_{2003} = -0,18$ при $P \geq 0,95$; $N = 25$; $r_{2004} = 0,22$ при $P \geq 0,95$; $N = 18$).

Не было обнаружено и достоверной корреляции между изменением СП и нитрогеназной активностью при инокуляции КМУ по отношению к контролю ($r_{2002} = -0,19$ ($P \geq 0,95$; $N = 26$); $r_{2003} = 0,10$ ($P \geq 0,95$; $N = 25$); $r_{2004} = -0,21$ ($P \geq 0,95$; $N = 18$) и между изменением массы растений и нитрогеназной активностью в условиях проведенных экспериментов $r_{2002} = -0,24$ ($P \geq 0,95$; $N = 26$); $r_{2003} = 0,00$ ($P \geq 0,95$; $N = 25$); $r_{2004} = -0,37$ ($P \geq 0,95$; $N = 18$)).

Известно, что симбиотическая эффективность (благоприятное влияние на развитие растения) взаимодействия с КБ в решающей

степени определяется азотфиксирующей активностью клубеньков (Nutman, 1984; Phillips, Teuber, 1992; Проворов, Тихонович, 2003). Однако достоверная корреляция между этими параметрами может отсутствовать при сравнении генетически разнородного растительного материала (Квасова и др., 1994). В наших экспериментах был использован разнородный генетический материал, и присутствовали факторы (например, арбускулярная микориза), существенно изменяющие картину корреляционных связей.

Изучение взаимосвязи между изменением нитрогеназной активности и содержанием белка в семенах при инокуляции КМУ показало отсутствие достоверной корреляции между этими параметрами $r_{2002} = 0,39$ ($P \geq 0,95$; $N = 26$), $r_{2003} = 0,08$ ($P \geq 0,95$; $N = 25$), $r_{2004} = -0,27$ ($P \geq 0,95$; $N = 18$).

Таким образом, итоги трех лет полевых испытаний показали отсутствие четкой повторяющейся взаимосвязи между параметрами, характеризующих развитие азотфиксирующего симбиоза, и параметрами урожая растений. Следовательно, доступные для оценки в поле параметры, характеризующие развитие симбиоза бобовых растений с клубеньковыми бактериями, не могут быть использованы для оценки эффективности взаимодействия сельскохозяйственных бобовых растений с комплексом БМ.

5.1.4.5.3. «Изменение уровня накопления надземной биомассы», «изменение семенной продуктивности», а также «изменение содержания белка в семенах» (как показатель качества урожая) — единственно адекватные параметры оценки эффективности взаимодействия с благотворными микроорганизмами (при применении комплексного микробного удобрения)

При изучении реакции комплекса «растение + грибы АМ + клубеньковые бактерии» на воздействие КМУ и $N_{60}P_{60}K_{60}$ с помощью факторного анализа показано, что значение уровня интеграции между всеми партнерами симбиоза составляет 22%, что говорит о наличии взаимного влияния, эффективность которого ограничена значительным воздействием неконтролируемых факторов: внешних условий, разнородности выборки генотипов и др. Также для данной выборки генотипов показана обратная взаимосвязь между числом клубеньков и числом арбускул, что указывает на

способность системы к саморегуляции, в которой растения оптимизируют, регулируют соотношение развития эндосимбиозов.

Важно отметить, что отсутствие корреляции между увеличением продуктивности сельскохозяйственных бобовых культур и такими параметрами, как «уровень микоризации корневой системы», «количество клубеньков» и «нитрогеназная активность» было показано ранее и у других бобовых (Valdenegro et al., 2001; Антипчук и др., 1986; Квасова и др., 1994; Лабутова и др., 2004; Gianinazzi et al., 2002; Rai et al., 1979). Это явно свидетельствует о нецелесообразности использования параметров развития корневых эндосимбиозов бобовых растений в качестве критериев для оценки эффективности взаимодействия растений с ППМ.

В результате сравнительного анализа развития эндосимбиотических систем и параметров урожая был произведен выбор параметров для оценки эффективности взаимодействия растений с комплексом БМ. В качестве таких параметров целесообразно использовать «изменение уровня накопления надземной биомассы», «изменение семенной продуктивности», а также «изменение содержания белка в семенах» (как показатель качества урожая) при применении КМУ по сравнению с контролем и вариантом с $N_{60}P_{60}K_{60}$. Данные параметры имеют первостепенное значение для сельскохозяйственного производства и, как было показано ранее (Якоби и др., 2000; Борисов и др., 2002; 2007), наиболее точно характеризуют эффективность взаимодействия растений с БМ. Разработана методология анализа исходного материала для селекции гороха на повышение эффективности взаимодействия с БМ, выражающаяся в определении параметров «изменение уровня накопления надземной биомассы», «изменение семенной продуктивности» и «изменение содержания белка в семенах» при применении КМУ по сравнению с контролем и вариантом с внесением $N_{60}P_{60}K_{60}$.

5.1.4.6. Изучение динамики развития растений при инокуляции комплексным микробным удобрением и внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$

Следует отметить, что в ходе полевых экспериментов было установлено: проростки растений в варианте с применением КМУ

появлялись на 2–3 дня раньше, чем проростки растений в других вариантах выращивания, и отличались более зеленой окраской листьев, что свидетельствует о более высокой интенсивности фотосинтеза. Из литературы известно, что при взаимодействии с симбиотическими микроорганизмами наблюдается стимуляция фотосинтетической активности растений, которой обычно не наблюдается при внесении эквивалентных доз минеральных удобрений (Smith, Read, 1997; Кретович, 1994).

Также растения варианта с применением КМУ имели более продолжительный вегетационный период (дольше сохраняли зеленую окраску листьев), что свидетельствует о большей устойчивости растений в симбиотической ассоциации (мутуалистической растительно-микробной системе) с БМ к биотическим и абиотическим стрессам. Это способствует более продолжительному накоплению белка в семенах, а в случае отзывчивых на применение КМУ генотипов — и более продолжительному накоплению биомассы. Продолжительность вегетационного периода гороха в варианте с инокуляцией КМУ была в среднем на трое суток больше, чем в контрольном и в варианте с $N_{60}P_{60}K_{60}$ (табл. 40). Обнаружена достоверная положительная корреляция между изменением продолжительности вегетационного периода под воздействием КМУ и СП, коэффициент корреляции, по данным за 2002–2004 гг. составил $r = 0,49$ ($P \geq 0,95$; $N = 26$). Достоверной корреляции между изменением продолжительности вегетационного периода и массы растений обнаружено не было, коэффициент корреляции $r = 0,26$ ($P \geq 0,95$; $N = 26$).

5.1.4.7. Протокол селекции сортов бобовых культур нового типа, высокоэффективных при взаимодействии с комплексом полезной почвенной микрофлоры

1. В первую очередь на экспериментальном поле необходимо выбрать участок для создания специального селекционного питомника. Почва данного участка должна быть наиболее типичной для региона, области и соответствовать требованиям возделывания бобовых культур. Минеральные удобрения и химические средства

защиты растений не должны вноситься в почву данного участка в течение минимум пяти, а лучше десяти лет. Питомник делится на три равнозначные части (размер участка зависит от масштабности селекционной программы) для трех вариантов обработки растений: (а) контроль без обработки, (б) вариант с обработкой растений комплексом БМ (например, КМУ «БисолбиМикс»), (в) вариант с применением полной дозы минеральных удобрений, рекомендуемой агротехникой для данной почвы. Участки (а), (б), и (в) должны быть разделены полосами «черного пара» шириной не менее 2 м для предотвращения продвижения БМ с одного участка на другой по корням растений.

2. Затем необходимо выбрать/разработать технологию повышения содержания и биоразнообразия БМ на участке питомника (б). Одним из вариантов является ежегодное внесение КМУ (патент на технологию производства № 2318784, 10.03.2008).

3. Далее на протяжении трех лет проводится оценка исходного материала для селекции с целью выбора генотипов, обладающих высоким потенциалом взаимодействия с БМ для включения в селекционный процесс. Растения испытываемых генотипов выращиваются параллельно на всех трех участках мелкоделяночным способом в трехкратной повторности (делянки располагаются рендомизированно); проводится сравнительная оценка продуктивности каждого генотипа, выращенного по разным вариантам, путем расчета абсолютных и относительных прибавок показателя продуктивности и изменения качества продукции:

$$\begin{aligned} & ((\text{продуктивность}^b - \text{продуктивность}^a) / \text{продуктивность}^a) \cdot 100\%, \\ & ((\text{продуктивность}^b - \text{продуктивность}^a) / \text{продуктивность}^a) \cdot 100\%. \end{aligned}$$

Аналогично для параметров качества продукции. Испытуемые генотипы сравнивали между собой по абсолютным и относительным прибавкам продуктивности и изменениям параметров качества продукции.

4. Выбираются родительские пары и проводятся скрещивания. Отобранные по результатам трехлетних испытаний генотипы, отличающиеся максимальными прибавками продуктивности и позитивными изменениями качества продукции, а также комплексом других хозяйственно-ценных признаков (исключением

Таблица 40. Продолжительность вегетационного периода и составляющих его 2002–2004 гг.

Генотип	Посев, всходы			Всходы, цветение		
	контроль	инокуляция КМУ	N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	контроль	инокуляция КМУ	N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀
к-8274	8	5	9	40	42	40
Franklin	10	7	9	41	44	40
Lifter	10	7	10	42	43	42
Fallon	10	8	11	44	46	44
Shawnee	11	7	10	43	45	43
PS9910140	10	8	9	40	42	41
PS9910188	10	8	10	41	41	41
PS9910029	9	8	10	42	43	42
PS9910134	10	7	10	41	43	42
PS9910135	11	9	10	40	42	41
PS7101044	10	8	10	39	42	40
PS 710048	10	7	11	42	44	42
PS7101047	10	6	10	41	43	42
PS7101149	11	7	11	40	42	41
PS810765	10	7	10	42	43	42
PS810191	10	8	11	41	44	42
PS810240	9	6	10	42	43	42
PS610324	9	6	9	41	43	42
PS610152	10	8	9	40	42	41
Скиф	10	7	10	42	43	42
Триумф	9	5	9	41	42	40
к-1693	11	8	10	43	44	42
к-3358	12	9	10	43	45	43
к-3064	11	8	9	43	45	43
к-7128	11	9	10	43	43	42
к-925	10	8	9	42	43	42

фаз у генотипов гороха (*Pisum sativum* L.), сутки, Орловская обл., среднее за

	Цветение, созревание			Вегетационный период		
	контроль	инокуляция КМУ	N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	контроль	инокуляция КМУ	N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀
	30	36	28	78	83	77
	30	34	33	81	85	82
	30	34	28	82	84	81
	28	32	27	82	86	82
	30	34	30	84	86	83
	32	35	32	82	85	82
	32	35	30	82	84	81
	32	36	30	83	86	82
	31	36	31	82	86	83
	33	36	32	84	87	83
	34	35	32	83	85	82
	29	32	27	81	83	80
	31	35	30	82	84	82
	31	36	31	82	85	83
	31	33	31	83	86	83
	30	32	29	82	84	82
	32	36	30	83	85	82
	32	37	31	82	86	82
	31	35	31	81	85	81
	32	36	30	84	86	82
	32	37	32	82	84	81
	31	37	33	85	89	85
	28	34	31	85	88	84
	32	36	35	86	89	87
	31	36	33	85	88	86
	34	37	35	86	88	86

в отношении комплекса хозяйственно-ценных признаков могут быть дикорастущие генотипы и примитивные сорта, являющиеся ценными донорами признака «эффективность взаимодействия с БМ»), включаются в схемы гибридизации. Гибридизация проводится в полевых условиях или в условиях закрытого грунта по усмотрению исследователя.

5. Полученные в результате проведенных скрещиваний семена гибридных растений F_1 выращиваются в условиях, обеспечивающих максимальное получение семян поколения F_2 .

6. В F_2 – F_3 -гибридных поколениях, выращиваемых в условиях по выбору исследователя, проводится отбор растений по архитектонике. Отбирается максимально возможное количество растений с требуемой архитектоникой.

7. Гибриды F_4 – F_5 -поколения в обязательном порядке выращиваются на участке (б) селекционного питомника; отбор растений производится по максимальным значениям продуктивности и качества продукции.

8. Отобранные растения гибридных поколений F_4 – F_5 дают начало селекционным линиям, которые размножаются в любых условиях, обеспечивающих максимальную семенную продуктивность.

9. Далее проводится сравнительное изучение выделенных селекционных линий по схеме, описанной в пункте 3 данного протокола. Линии, отличающиеся максимальной продуктивностью и качеством продукции, могут быть подвержены дополнительному размножению для проведения предварительного и конкурсного сортоиспытаний.

10. Конкурсное сортоиспытание проводится в течение трех лет. Используются как традиционные технологии возделывания, так и возделывание с применением КМУ, тестирование устойчивости новых сортов при выращивании на различных инфекционных фонах и др.

11. Составляется паспорт сорта, в котором в числе перечисленных хозяйственно-ценных признаков представлены «потенциал взаимодействия с БМ» (%), максимально зафиксированная за годы испытаний прибавка продуктивности за счет БМ), «эффективность взаимодействия с БМ» (%), среднегодовая зафиксированная за годы испытаний прибавка продуктивности за счет БМ),

«потенциал повышения качества продукции за счет БМ» (%), максимально зафиксированное за годы испытаний позитивное изменение параметров качества продукции), «эффективность повышения качества продукции за счет БМ» (%), среднегодовое зафиксированное за годы испытаний позитивное изменение параметров качества продукции). Также в паспорте сорта должны присутствовать рекомендации по его возделыванию с применением КМУ.

12. Новый сорт передается в ФГУ «Госсорткомиссия РФ» для государственного сортоиспытания.

Таким образом, на основании экспериментальных данных были разработаны принципы селекции гороха с учетом нового сельскохозяйственно значимого признака — «эффективность взаимодействия с БМ». Тот факт, что среди растений гороха могут быть отобраны высокоэффективные генотипы, при взаимодействии с симбиотической микрофлорой повторяющие результат из года в год в разных погодных условиях, говорит о стабильности проявления признака «эффективность взаимодействия с БМ». Скрещивание генотипов-доноров (источников) этого признака с растениями, обладающими подходящей архитектоникой являлось первой попыткой введения данного признака в характеристику сорта (сорт Триумф). Результаты показали принципиальную возможность создания симбиотически эффективных сортов.

На данном этапе проводилась работа по изучению особенности отбора генотипов в ранних поколениях гибридов гороха при создании сортомикробных систем с повышенной эффективностью взаимодействия с комплексом БМ. Отбор продолжается на полях ВНИИЗБК, на территории селекционного питомника.

5.2. Анализ генетического полиморфизма фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения ВНИИЗБК (г. Орел, 2009–2010 гг.)

В результате двух лет полевых испытаний (2009–2010 гг.) 20 генотипов фасоли был выявлен довольно высокий уровень

полиморфизма фасоли в отношении признака «эффективность взаимодействия с БМ». Методику постановки полевых опытов см. в разделе 4.1.4.

Относительная прибавка СП у изученных сортообразцов изменялась от 82,9 (сорт София) до –10,4% (линия 09-306) в 2009 г. (рис. 19, а) и от 82,3 (сорт София) до –27,8% (линия 09-306) в 2010 г. (рис. 19, б). Наиболее стабильную реакцию на применение КМУ, выражающуюся в изменении СП, два года подряд демонстрировали генотипы: София (в среднем 82,6%), Шубинская (49%), 09-278 (35,1%), 09-276 (32,5%), 09-320 (31,4%), Рубин (30,7%), Станичная (25,9%), 00-106 (24,8%), 09-281 (22,1%), 09-300 (19,4%), 09-306 (–11,5%) (рис. 19, 20). При этом два года подряд сорт София проявлял максимальную эффективность, а образец 09-306 — минимальную. Данные генотипы могут быть рекомендованы как эталоны высокой и низкой симбиотической эффективности фасоли (эффективности взаимодействия с БМ). Между остальными генотипами наблюдалось равномерное распределение в ряду прибавок СП в среднем по годам от 49,0% (сорт Шубинская) до 13,1% (сорт Шоколадница) (рис. 20). Сорт София характеризуется мелкосемянностью и относительно небольшим количеством бобов (около 8,2 шт. на растение). У образца 09-306, напротив, формируется относительно большое количество бобов (около 27,2 шт. на растение). Однако при этом у данного генотипа (09-306) два года подряд наблюдалось достоверное увеличение массы 1000 семян, а снижение СП, по-видимому, происходило за счет уменьшения количества бобов на растение. Сорт Рубин, как и в годы предыдущих исследований (2007–2008), по усредненным показателям проявил относительно высокую отзывчивость на инокуляцию БМ (30,7% прибавки СП). Сорт Гелиада не проявил стабильности по эффективности взаимодействия с БМ за четыре года испытаний (2007–2010 гг., см. также раздел 4.1.4).

Таким образом, на основании анализа полученных результатов можно сделать вывод о довольно высоком полиморфизме фасоли как вида в отношении признака «эффективность взаимодействия с БМ». Это свидетельствует о возможности ведения селекции фасоли на повышение симбиотического потенциала. Сорта София, Шубинская, 09-278, 09-276, 09-320 и Рубин могут быть

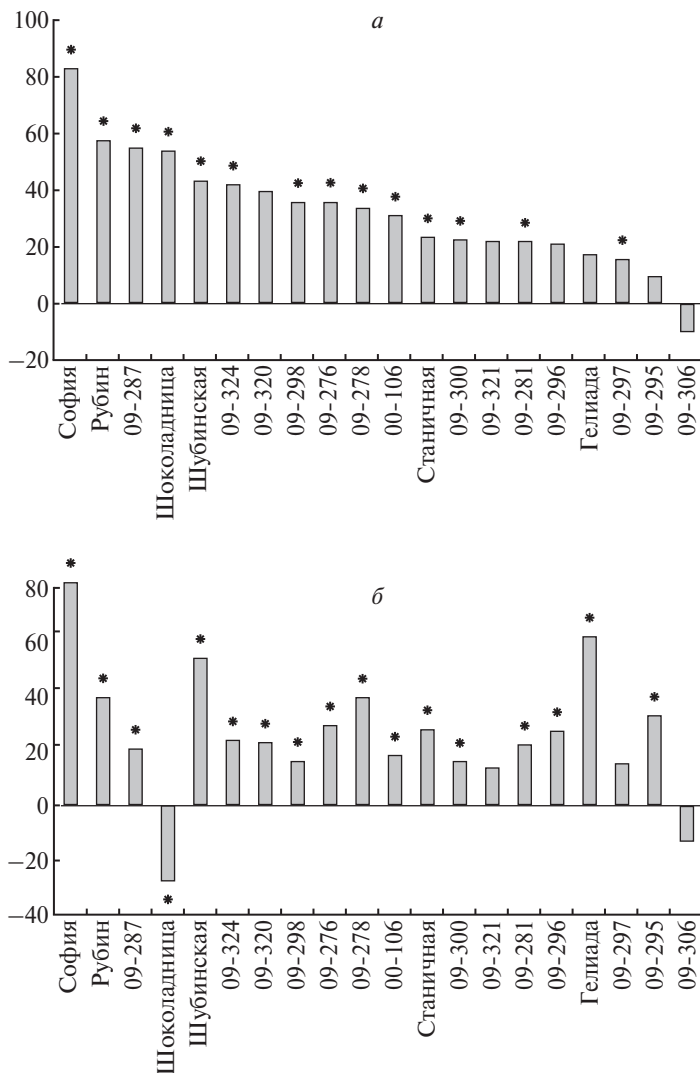


Рис. 19. Генетический полиморфизм фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) по эффективности (по увеличению СП, % к контролю) взаимодействия БМ (препарат «БисолбиМикс»):

а — 2009 г.; *б* — 2010 г.; значения, отмеченные звездочкой, статистически достоверно отличаются от контроля, $P \geq 0,05$

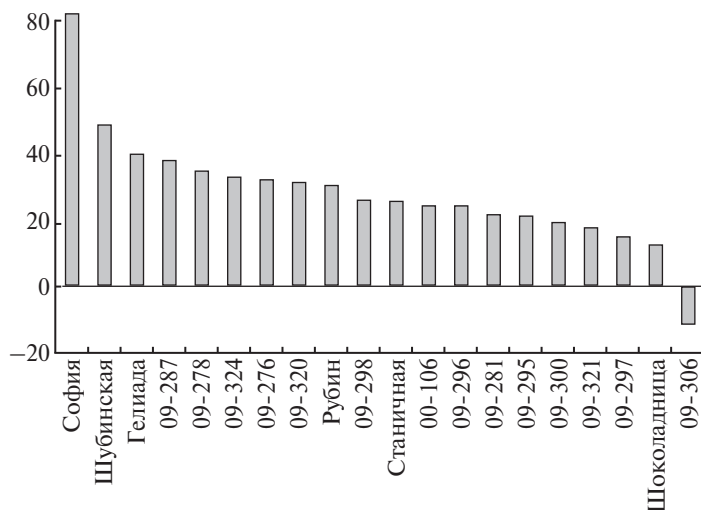


Рис. 20. Генетический полиморфизм фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) по признаку «эффективность взаимодействия с полезной почвенной микрофлорой (БМ)», % изменения СП по отношению к контролю; усредненные значения за 2009–2010 гг.

рекомендованы для использования в качестве исходного материала для селекции фасоли как доноры признака «высокая эффективность взаимодействия с БМ». Кроме того, образец 09-320 может служить в качестве донора длинностебельности.

5.3. Анализ генетического полиморфизма чечевицы (*Lens culinaris* Medik.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения ВНИИЗБК (г. Орел, 2009–2010 гг.)

По совокупным данным анализа 8 генотипов чечевицы (*Lens culinaris* Medik.) в течение 2009–2010 г. (методику постановки полевых экспериментов см. в разделе 4.1.3). Наиболее эффективными при взаимодействии с БМ проявили себя стандарт продуктивности Орловской области — сорт Рауза (МР (масса растения) — 53,8

и СП — 65,1%), а также образец к-2845 (по СП, 47,5%) (рис. 21). Поскольку исследуемые сорта из коллекции ВИР превышали стандарт по показателям хозяйственной ценности, практически все они, наряду с сортом Рауза, могут быть рекомендованы как исходный материал для селекции сортов чечевицы с высоким потенциалом взаимодействия с БМ.

Несмотря на то что результатом применения КМУ у всех генотипов явилось незначительное уменьшение длины стебля (около

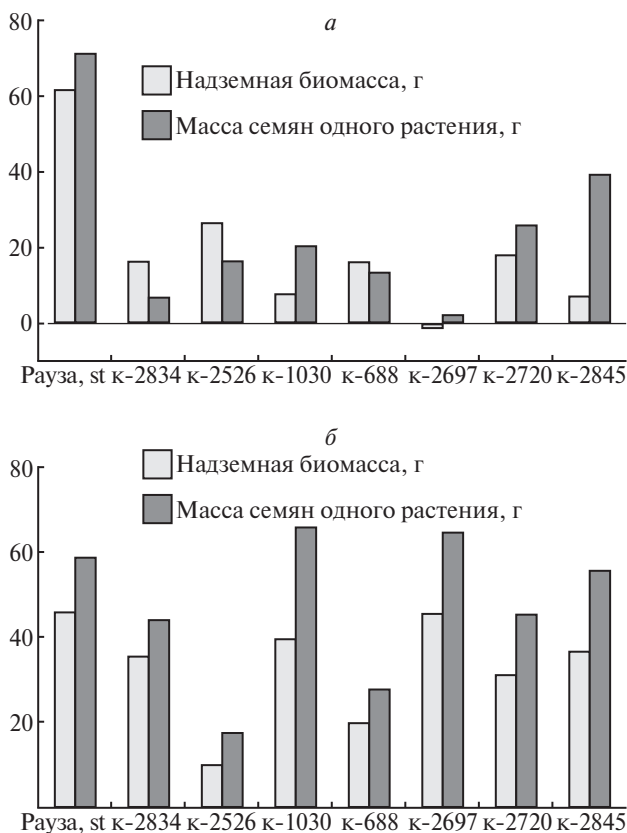


Рис. 21. Влияние инокуляции, % к контролю, препаратом «БисолбиМикс», содержащим комплекс БМ, на МР и СП чечевицы (*Lens culinaris* Medik.):

а — 2009 г., б — 2010 г.

10%) и высоты прикрепления нижнего боба (в среднем около 7% и не более чем на 9,1%), описанный эффект не является критическим.

Таким образом, по совокупным данным экспериментов 2009–2010 гг. (рис. 22) и результатам предыдущих исследований (2007–2008 гг.) можно предположить, что чечевица обладает низким уровнем полиморфизма по данному признаку при высокой эффективности взаимодействия с БМ по-видимому, потому, что технологии селекции растений периода интенсивного земледелия были применены к данной сельскохозяйственной культуре сравнительно недавно.



Рис. 22. Генетический полиморфизм чечевицы (*Lens culinaris* Medik.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной для растений микрофлорой (БМ)», % изменения наземной МР и СП по отношению к контролю; усредненные значения за 2009–2010 гг.

Таким образом, у фасоли выявлен высокий уровень полиморфизма в отношении эффективности взаимодействия с БМ препарата «БисолбиМикс», тогда как у чечевицы — сравнительно невысокий.

5.4. Выявление гибридных комбинаций гороха (*Pisum sativum* L.), отличающихся высокими значениями признака «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения ВНИИЗБК (г. Орел, 2012 г.)

Посев осуществляли 1 мая. Образцы высевали в поле на делянках с площадью питания одного растения $5 \times 15 \text{ см}^2$ в четырехкратной повторности.

Уход за посевами заключался в двукратных рыхлениях-прополках вручную, что обеспечивало достаточную чистоту посевов и нормальные условия для роста и развития растений. Химические средства защиты растений не использовали.

Учеты, наблюдения и структурный анализ растений проведены по методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (Федин, 1985), методическим рекомендациям ВИР (Вишнякова и др., 2010). Число клубеньков на корнях растений оценивали по методике Орлова и др. (1984), нитрогеназную активность (метод ацетиленовой редукции) оценивали по методике Харди с соавторами (Hardy et al., 1968) в модификации (Орлова и др., 1984), растения для анализа брали в фазе начала цветения.

В полевых условиях, в специально созданном стационарном селекционном питомнике, в почву которого ежегодно вносится КМУ в дозе 500 кг/га (на территории экспериментальных полей ВНИИЗБК, Орел), проведена оценка исходных родительских сортов и гибридов (F_2 – F_6) гороха, созданных с использованием селекционного материала американских ученых из Вашингтонского аграрного университета (USDA, Pullman, WA, США).

Результаты анализа продуктивности растений при применении КМУ и параметров симбиотической эффективности гибридов и родительских форм с клубеньковыми бактериями приведены в табл. 41. На основании предварительных данных выделены линии, наиболее эффективные при взаимодействии с микробным комплексом «БисолбиМикс»:

Таблица 41. Семенная продуктивность и симбиотические показатели исходных родительских сортов и гибридов гороха (г. Орел, 2012 г.)

Сорт, гибридная комбинация	Масса семян с растения, г	Число клубеньков на корнях растения, шт.	Нитрогеназная актив- ность, мкг N ₂ /раст. ч
Bluerbird*	5,2	48	10,8
MP-017-00	4,7	32	5,3
PS810240	5,5	45	7,2
X ₀₂ MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD	5,6	47	6,8
X ₀₃ MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD	5,5	42	5,5
X ₀₄ MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD	5,7	39	6,3
X ₀₅ MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD**	5,9	46	7,0
X ₀₆ MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD	5,8	46	6,8
PS7101044	5,6	45	8,1
MP-028-00	4,7	41	12,3
PS810765	5,4	50	6,8
X ₀₂ MP028-0-0/PS810765/PS7101044	5,2	49	8,1
X ₀₃ MP028-0-0/PS810765/PS7101044	5,3	51	7,9
X ₀₄ MP028-0-0/PS810765/PS7101044	5,2	43	6,2
X ₀₅ MP028-0-0/PS810765/PS7101044	5,6	45	8,0
X ₀₆ MP028-0-0/PS810765/PS7101044	5,4	38	9,3
Rex	5,8	56	11,8
MP-028-00	4,9	42	6,5
PS0010806	5,3	47	8,4

Таблица 41 (продолжение)

Сорт, гибридная комбинация	Масса семян с растения, г	Число клубеньков на корнях растения, шт.	Нитрогенная актив- ность, мкг N ₂ /раст. ч
X ₀₂ MP060-0-0/PS0010806/REX	6,2	57	9,2
X ₀₃ MP060-0-0/PS0010806/REX	5,8	43	7,5
X ₀₄ MP060-0-0/PS0010806/REX	6,0	54	8,6
X ₀₅ MP060-0-0/PS0010806/REX	5,9	58	9,0
X ₀₆ MP060-0-0/PS0010806/REX	5,8	52	5,3
TRIUMPH	6,0	46	12,7
MP-154-A-0	4,7	37	6,8
PS810765	5,2	51	7,2
X ₀₂ MPI154-A-0/PS810765/TRIUMPH	6,1	38	8,3
X ₀₃ MPI154-A-0/PS810765/TRIUMPH	6,0	45	9,0
X ₀₄ MPI154-A-0/PS810765/TRIUMPH	5,8	49	8,5
X ₀₅ MPI154-A-0/PS810765/TRIUMPH	6,0	41	7,2
X ₀₆ MPI154-A-0/PS810765/TRIUMPH	5,9	44	8,4
SCYTHIAN	6,4	57	11,7
MP-149-A-0	4,8	39	7,6
PS810240	5,6	45	8,1
X ₀₂ MPI149-A-0/PS810240/SCYTHIAN	6,2	58	7,9
X ₀₃ MPI149-A-0/PS810240/SCYTHIAN	6,0	53	8,2
X ₀₄ MPI149-A-0/PS810240/SCYTHIAN	6,1	47	5,7

Таблица 41 (окончание)

Сорт, гибридная комбинация	Масса семян с растения, г	Число клубеньков на корнях растения, шт.	Нитрогеназная актив- ность, мкг N ₂ /раст. ч
X ₀₃ MP149-A-0/PS810240/ SCYTHIAN	5,9	42	10,1
X ₀₆ MP149-A-0/PS810240/ SCYTHIAN	6,0	51	9,2
FRANKLIN	5,8	45	11,7
MP-157-A-0	4,5	39	5,9
к-1693	3,6	62	8,7
X ₀₂ MP157-A-0/VIR1693/FRANKLIN	5,7	53	9,2
X ₀₃ MP157-A-0/VIR1693/FRANKLIN	5,8	57	11,1
X ₀₂ MP157-A-0/VIR1693/FRANKLIN	5,6	58	4,2
X ₀₂ MP157-A-0/VIR1693/FRANKLIN	5,8	57	8,1
X ₀₂ MP157-A-0/VIR1693/FRANKLIN	5,8	59	10,6
FRANKLIN	5,8	50	10,4
MP-244-A-0	4,7	39	5,1
TRIUMPH	6,2	62	11,2
X ₀₂ MP244-A-0/TRIUMPH/FRANKLIN	6,0	57	10,3
X ₀₃ MP244-A-0/TRIUMPH/FRANKLIN	5,8	55	7,2
X ₀₄ MP244-A-0/TRIUMPH/FRANKLIN	5,8	57	8,0
X ₀₅ MP244-A-0/TRIUMPH/FRANKLIN	5,7	48	6,5
X ₀₆ MP244-A-0/TRIUMPH/FRANKLIN	5,8	53	8,8

* Исходные родительские сорта выделены жирным шрифтом.

** Серым цветом выделены гибриды наиболее перспективные в отношении взаимодействия с БМ.

X05MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD,
X06MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD,
X05MP028-0-0/PS810765/PS7101044,
X06MP028-0-0/PS810765/PS7101044,
X02MP060-0-0/PS0010806/REX,
X02MP154-A-0/PS810765/TRIUMPH,
X02MP149-A-0/PS810240/SCYTHIAN,
X02MP244-A-0/TRIUMPH/FRANKLIN,
X02MP157-A-0/VIR1693/FRANKLIN.

Таким образом, применение КМУ «БисолбиМикс» позволяет вести селекцию сортов зернобобовых культур нового типа — эффективно использующих взаимодействия с БМ.

5.5. Анализ генетического полиморфизма нута (*Cicer arietinum* L.) по признаку «эффективность взаимодействия с благотворной микрофлорой» с применением комплексного микробного удобрения. Сравнение эффекта применения комплексного микробного удобрения с микробными препаратами на основе клубеньковых бактерий и грибов арбускулярной микоризы ВНИИЗБК (г. Орел, 2010–2012 гг.)

5.5.1. Агроклиматические ресурсы в годы исследований

Агрометеорологические условия 2010–2012 гг. существенно различались в течение вегетационных периодов нута: 2010 г. характеризовался как сильно засушливый, 2011 г. — достаточно увлажненный, а 2012 г. — слабо засушливый (табл. 42).

5.5.2. Материал и методика постановки экспериментов

Для изучения отзывчивости нута на инокуляцию микробными препаратами на 13 сортообразцах (к-526 (Колумбия), к-1029

Таблица 42. Сумма активных температур и ГТК (см. раздел 5.1.2) в годы исследований

Год	Сумма активных температур за вегетационный период нута, °С	ГТК
2010	1940	0,5
2011	2555	1,5
2012	2610	1,0

(Эфиопия), к-1148 (Краснокутский 195, Россия), к-1189 (Скороспелка, Россия), к-1258 (Юбилейный, Россия), к-1488 (Костюжанский 27, Молдова), к-1507 (Индия), к-1525 (Зерноградский 36, Россия), к-1731 (Кишиневский штамбовый, Молдова), к-1736 (Устойчивый 3/65, Таджикистан), к-1917 (Краснокутский 123, Россия), к-2397 (Краснокутский 36, Россия) и к-2616 (Заволжский, Россия) закладывали опыт в следующих вариантах:

- 1) контроль (без применения микробных препаратов);
- 2) инокуляция семян коммерческим препаратом Ризоторфин, содержащим азотфиксирующие бактерии *Mesorhizobium ciceri*, штамм 527;
- 3) внесение в почву экспериментального инокулюма, содержащего грибы АМ перед посевом;
- 4) применение комплексного микробного удобрения, произведенного по методологии, описанной в главе 3, и содержащего комплекс БМ, в том числе азотфиксирующие бактерии *Mesorhizobium ciceri*, штамм 527 и грибы АМ.

Посев осуществляли сеялкой СКС-6-10, ширина междурядий — 45 см. Площадь делянок — 10 м², повторность — четырехкратная.

Исследования проводили на базе лаборатории генетики и биотехнологии ВНИИЗБК Россельхозакадемии с использованием методики полевого опыта (Доспехов, 1985), методических указаний по изучению коллекций мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР (Вишнякова и др., 2010), методики оценки активности симбиотической азотфиксации селекционного материала зернобобовых культур ацетиленовым методом (Орлов и др., 1984), методов изучения биологической фиксации азота воздуха

(Посыпанов, 1991), методов биохимического исследования растений (Ермаков, 1987) с использованием автоматической системы UDK-152 и дигестора DK-6 производства фирмы Velp Scientifika, а также методов статистического анализа данных (Рокицкий, 1973) с помощью компьютерных программ Statistica (StatSoft, Inc. v. 6.0) и Microsoft Office Excel 2010.

5.5.3. Результаты проведенных исследований

В результате трехлетних (2010–2012 гг.) испытаний было установлено (табл. 43, 44):

- инокуляция семян нута азотфиксирующими бактериями *Mesorhizobium ciceri*, штамм 527, внесение в почву перед посевом грибов АМ и применение КМУ оказали положительное стимулирующее влияние на формирование продукционного процесса растений в целом;

- биопрепараты проявили свое действие в фазу бутонизации, максимальное положительное действие на накопление биомассы в эту фазу отмечено у сортообразца к-1507 (Индия) с предпосевной обработкой семян ризоторфином (+151,34% к контролю).

- наибольший положительный эффект на накопление биомассы растений в фазе созревания отмечен в варианте с применением КМУ (+0,3...+33,5% к контролю);

- использование микробных препаратов привело к увеличению СП по сравнению с контролем во всех вариантах опыта у сортообразцов Краснокутский 195, к-1507 (Индия), Краснокутский 36 и Заволжский;

- применение микробных препаратов повышало урожайность нута в отдельные годы на 0,1–1,5 т/га по сравнению с контролем, в среднем за три года на — 0,1–0,7 т/га. Наибольшая прибавка урожайности по сравнению с контролем (+1,4 т/га и +1,2 т/га) отмечена у к-1507 (Индия) в 2010 г. в вариантах с моноинокуляцией азотфиксирующими бактериями *Mesorhizobium ciceri*, штамм 527 и грибами АМ;

- в засушливых условиях 2010 г. наиболее эффективным приемом оказалось применение КМУ. Существенную прибавку

Таблица 43. Показатели продуктивности различных сортообразцов нута в опыте делитель вариантов — вариант применения КМУ)

Сортообразец (вариант обработки)*	Масса сухого растения, г	Число бобов на главном побеге, шт.	Число бобов на ветвях, шт.	Общее число бобов, шт.	
к-526К ¹	34,9	4,5	37,7	42,3	
к-526Р ²	32,7	3,8	28,0	31,8	
к-526АМ ³	27,8	4,3	27,8	32,1	
к-526КМУ⁴	42,5	4,1	44,5	48,6	
к-1029К	16,1	6,7	35,9	42,6	
к-1029Р	16,7	6,2	37,4	43,6	
к-1029АМ	12,2	5,7	27,1	32,8	
к-1029КМУ	13,7	6,6	33,9	40,8	
к-1148К	25,3	2,6	25,2	27,7	
к-1148Р	30,6	2,9	35,2	37,5	
к-1148АМ	26,5	3,6	30,3	33,9	
к-1148КМУ	27,5	3,2	28,0	31,2	
к-1189К	25,6	4,0	29,3	33,2	
к-1189Р	20,7	4,2	25,5	29,7	
к-1189АМ	18,2	3,9	18,7	22,6	
к-1189КМУ	23,5	4,5	28,4	32,8	
к-1258К	26,3	3,5	19,8	23,3	
к-1258Р	28,7	3,7	23,5	27,2	
к-1258АМ	20,3	2,4	13,3	15,7	
к-1258КМУ	34,3	3,4	26,9	30,3	
к-1488К	26,8	3,0	34,5	37,5	
к-1488Р	25,2	3,4	27,0	30,4	
к-1488АМ	25,3	3,6	29,3	32,9	
к-1488КМУ	29,9	2,7	37,5	40,2	
к-1507К	25,7	4,1	26,1	30,1	
к-1507Р	25,7	3,3	25,2	28,6	

с микробными препаратами за 2010–2012 гг. (жирным шрифтом выделен раз-

Число семян, шт.	Масса семян, г	Масса 1000 семян, г	Число семян в бобе, шт.	$K_{\text{хоз}}, \%$
33,7	11,7	310,5	0,6	32,6
24,7	8,9	345,0	0,7	28,0
24,2	8,8	331,3	0,7	31,0
40,3	13,6	315,6	0,8	30,0
57,9	6,7	111,9	1,3	41,3
59,9	7,2	115,9	1,4	42,0
45,7	5,4	111,3	1,4	43,0
56,3	6,4	114,6	1,4	49,7
24,4	4,9	193,8	0,7	15,5
29,1	6,0	196,2	0,7	16,5
31,1	6,4	181,6	0,8	19,0
27,9	5,6	179,1	0,8	15,0
27,3	5,0	177,0	0,8	18,0
22,3	3,9	170,7	0,8	18,0
17,4	3,0	159,7	0,7	14,5
27,6	4,8	162,2	0,7	16,5
19,4	3,7	168,6	0,7	12,5
21,1	4,3	170,3	0,6	10,5
13,1	2,7	211,9	0,8	14,5
23,3	4,5	166,4	0,6	11,0
40,7	8,6	203,8	0,8	23,7
31,1	6,6	194,7	0,9	22,7
37,9	8,2	174,1	0,8	23,3
42,2	8,6	187,3	0,7	21,0
34,4	7,2	210,5	1,1	30,3
36,6	9,2	234,6	1,2	33,3

Сортообразец (вариант обработки)*	Масса сухого растения, г	Число бобов на главном побеге, шт.	Число бобов на ветвях, шт.	Общее число бобов, шт.	
к-1507АМ	28,1	3,3	28,0	31,3	
к-1507КМУ	25,2	3,1	26,0	29,2	
к-1525К	27,4	4,3	26,2	30,5	
к-1525Р	30,5	7,4	33,8	41,2	
к-1525АМ	22,7	3,8	19,2	22,9	
к-1525КМУ	30,1	5,1	28,9	33,9	
к-1731К	29,6	3,0	31,7	34,7	
к-1731Р	30,2	4,7	32,9	37,5	
к-1731АМ	31,5	4,7	36,2	41,0	
к-1731КМУ	27,7	3,2	26,0	29,2	
к-1736К	24,4	5,7	45,5	51,3	
к-1736Р	21,4	5,5	38,3	43,7	
к-1736АМ	23,1	5,0	44,2	49,1	
к-1736КМУ	22,3	5,5	43,1	48,3	
к-1917К	34,9	2,5	25,4	27,9	
к-1917Р	32,4	2,9	21,3	24,3	
к-1917АМ	34,2	2,4	23,0	25,3	
к-1917КМУ	35,0	3,1	31,5	34,6	
к-2397К	32,8	3,4	22,6	26,0	
к-2397Р	33,8	3,0	22,7	25,6	
к-2397АМ	38,9	5,2	31,2	36,5	
к-2397КМУ	36,6	3,5	27,3	30,7	
к-2616К	23,9	4,9	17,6	22,5	
к-2616Р	30,6	4,2	22,2	26,5	
к-2616АМ	28,9	3,5	20,3	23,7	
к-2616КМУ	31,9	3,6	23,1	26,7	

* ¹К — контроль; ²Р — ризоторфин на основе азотфиксирующих бактерий
⁴КМУ — комплексное микробное удобрение.

Таблица 43 (окончание)

Число семян, шт.	Масса семян, г	Масса 1000 семян, г	Число семян в бобе, шт.	$K_{\text{хоз}}, \%$
41,0	9,4	221,6	1,3	33,3
36,1	8,6	229,3	1,2	33,0
17,6	3,6	189,7	0,6	12,5
30,1	5,2	171,7	0,8	17,5
21,5	3,3	158,4	0,8	12,0
27,2	5,0	173,8	0,8	15,0
41,8	9,0	185,4	1,0	26,0
43,1	8,9	181,8	1,0	25,0
50,6	10,4	194,6	1,1	30,0
35,4	7,5	187,9	1,1	26,7
51,4	9,0	159,2	0,9	31,7
45,4	7,5	152,5	1,0	33,0
50,6	8,6	154,1	1,0	31,3
49,9	7,9	144,3	0,9	31,0
28,7	7,3	216,9	0,8	17,5
23,0	6,4	228,7	0,7	15,5
27,5	7,6	239,7	0,7	16,5
36,1	9,5	215,1	0,6	32,0
17,9	3,6	170,2	0,6	10,5
23,1	5,2	200,7	0,8	12,0
28,1	6,1	197,2	0,7	13,0
25,1	5,8	211,7	0,6	13,5
14,5	3,6	216,2	0,6	15,5
23,9	5,4	197,8	0,7	13,5
21,6	5,2	202,9	0,7	14,5
23,0	5,5	211,8	0,7	15,5

Mesorhizobium ciceri, штамм 527; ³АМ — грибы арбускулярной микоризы *Glomus*;

Таблица 44. Морфологические признаки сортообразцов нута в опыте с микробными препаратами, среднее за 2010–2012 гг.

Сортообразец (вариант обработки)*	Высота растения, см	Высота прикрепле- ния нижнего боба, см	Число ветвей, шт.	Число узлов, шт.	
				вегета- тивных	генера- тивных
к-526К ¹	64,4	26,6	8,6	17,9	14,6
к-526Р ²	59,0	24,4	7,8	17,1	11,9
к-526АМ ³	56,4	21,9	7,1	16,3	12,4
к-526КМУ ⁴	56,3	23,1	7,6	17,0	11,3
к-1029К	37,9	13,0	6,6	11,5	11,2
к-1029Р	38,4	12,5	6,6	11,1	10,9
к-1029АМ	35,6	11,3	5,3	11,6	10,2
к-1029КМУ	36,5	11,4	6,0	11,3	11,2
к-1148К	60,9	29,1	6,3	18,0	13,2
к-1148Р	60,6	27,3	6,7	18,0	15,1
к-1148АМ	60,8	27,5	6,4	16,6	13,9
к-1148КМУ	63,9	29,0	6,9	17,4	13,6
к-1189К	63,6	30,8	5,5	17,8	13,7
к-1189Р	62,6	27,2	5,9	17,4	14,4
к-1189АМ	62,5	28,0	5,5	18,2	14,7
к-1189КМУ	64,2	28,6	5,4	17,5	14,8
к-1258К	79,1	43,8	4,8	17,8	17,0
к-1258Р	81,6	46,1	4,8	18,3	16,2
к-1258АМ	71,0	34,6	5,7	17,5	15,0
к-1258КМУ	85,4	45,6	5,9	17,3	15,6
к-1488К	57,3	56,4	6,9	16,9	11,7
к-1488Р	59,5	29,2	6,5	17,8	12,6
к-1488АМ	60,6	29,0	6,8	17,1	12,8
к-1488КМУ	61,3	29,0	6,8	17,3	13,1
к-1507К	61,0	32,2	5,5	18,2	11,7
к-1507Р	60,8	33,0	5,9	18,4	11,7
к-1507АМ	64,1	35,5	6,2	18,5	11,3

Таблица 44 (окончание)

Сортообразец (вариант обработки)*	Высота растения, см	Высота прикрепле- ния нижнего боба, см	Число ветвей, шт.	Число узлов, шт.	
				вегета- тивных	генера- тивных
к-1507КМУ	59,6	31,8	5,9	19,1	10,4
к-1525К	79,4	41,7	5,1	17,4	15,9
к-1525Р	77,9	38,5	5,1	17,9	16,9
к-1525АМ	77,8	45,9	4,7	17,5	15,0
к-1525КМУ	80,2	40,7	5,6	17,3	15,9
к-1731К	69,7	32,9	6,0	18,1	14,4
к-1731Р	66,9	31,0	5,6	17,6	13,1
к-1731АМ	65,0	31,5	5,8	17,6	12,7
к-1731КМУ	65,2	30,2	5,2	17,7	11,8
к-1736К	52,3	21,8	6,7	15,8	12,3
к-1736Р	51,1	20,8	6,0	16,4	11,6
к-1736АМ	51,3	21,3	6,8	16,2	10,5
к-1736КМУ	50,9	21,6	6,5	16,4	12,5
к-1917К	79,5	43,8	6,0	20,1	16,1
к-1917Р	80,2	42,0	5,1	19,1	15,7
к-1917АМ	82,4	43,1	5,1	19,3	16,6
к-1917КМУ	85,1	39,7	6,0	19,8	15,2
к-2397К	82,2	37,7	4,7	18,6	14,5
к-2397Р	86,4	41,4	4,3	16,7	16,5
к-2397АМ	89,9	39,4	5,1	18,4	18,8
к-2397КМУ	86,7	42,2	5,2	17,7	17,5
к-2616К	84,8	36,0	4,7	16,9	16,1
к-2616Р	82,3	37,6	5,4	17,5	17,0
к-2616АМ	82,6	42,5	5,2	17,5	17,4
к-2616КМУ	82,0	40,1	4,9	17,3	18,2

* ¹К — контроль; ²Р — ризоторфин на основе азотфиксирующих бактерий *Mesorhizobium ciceri*, штамм 527; ³АМ — грибы арбускулярной микоризы *Glomus*; ⁴КМУ — комплексное микробное удобрение.

урожая по сравнению с контролем в этом варианте показали растения сортообразцов: к-1507 (Индия) — 0,6 т/га, Зерноградский 36 — 1,5 т/га, Устойчивый 3/65 — 0,7 т/га;

— использование микробных препаратов способствовало увеличению содержания белка в семенах нута на 0,1–2,3% по сравнению с контролем;

— в годы исследований у изученных сортообразцов на корнях растений в контрольном варианте клубеньков не было, что указывает на отсутствие специфических для нута азотфиксирующих КБ в почвенной микрофлоре Орловской области;

— обработка семян азотфиксирующими КБ *Mesorhizobium ciceri*, штамм 527 и применение КМУ оказали существенное влияние на образование количества клубеньков на корнях нута и нитрогеназную активность. В среднем за годы исследований в фазу бутонизации число клубеньков в варианте с ризоторфином составило 14–79 шт., а при использовании КМУ — 17–56 шт.; нитрогеназная активность — 7,49–169,27 мкг N₂/раст.·ч и 8,99–256,16 мкг N₂/раст.·ч соответственно. Масса клубеньков существенно увеличивалась в варианте с применением КМУ у большинства изученных сортообразцов.

Наиболее высокую отзывчивость на применение микробных препаратов показали сортообразцы к-526 (Колумбия), к-1507 (Индия), Зерноградский 36, Краснокутский 36, Краснокутский 123, Краснокутский 195 и Заволжский.

5.6. Заключение к главе 5

В практике растениеводства никогда серьезно не учитывался и не использовался потенциал взаимодействия сельскохозяйственных растений с благотворными микроорганизмами, например с грибами АМ и бактериями (ризосферными/эндофитными), стимулирующими развитие растений, включая клубеньковые бактерии. Однако проведенные многолетние исследования продемонстрировали возможность и целесообразность эксплуатации этих мутуалистических симбиотических взаимодействий в адаптивном сельском хозяйстве. Взаимодействие с микроорганизмами, входящими

в состав КМУ, в случае целенаправленно отобранных генотипов растений, эффективных при взаимодействии с БМ, поддерживается растением-хозяином на значительно более высоком уровне и способствует усилению функций каждой группы БМ, их взаимному синергическому дополнению, повышению конкурентоспособности и устойчивости в почве.

Показано, что положительный эффект применения КМУ на развитие сельскохозяйственных растений не уступает $N_{60}P_{60}K_{60}$ в годы обычных (или средних) для культуры климатических условий. Однако в климатически благоприятный год эффективнее применять минеральные удобрения, а в неблагоприятный — КМУ. Применение КМУ имеет ряд преимуществ по сравнению с минеральными удобрениями, а именно:

- более стабильный положительный эффект на накопление биомассы растений невзирая на генотип, то есть эффект выравнивания генотипов по основным параметрам развития;

- оптимизация развития растений всех генотипов в неблагоприятных условиях;

- повышение содержания белка в семенах зернобобовых культур с использованием механизмов, отличных от накопления биомассы, а следовательно, значительный рост общего сбора белка.

Впервые был изучен генетический полиморфизм гороха (*Pisum sativum* L.), фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.), чечевицы (*Lens culinaris* Medik.) и нута (*Cicer arietinum* L.) по эффективности взаимодействия с КМУ, содержащим основные группы БМ, и отобраны контрастные по этому признаку генотипы. Выявлены наиболее перспективные генотипы, отличающиеся высокой симбиотической отзывчивостью при взаимодействии с комплексом БМ КМУ, для использования в селекции по созданию новых сортов. В результате сравнительного анализа развития эндосимбиотических систем и параметров урожая показано, что в качестве параметров, характеризующих симбиотическую эффективность растений зернобобовых культур, целесообразно использовать изменение уровня накопления надземной биомассы, семенной продуктивности и содержания белка в семенах зернобобовых при инокуляции КМУ по сравнению с контролем и вариантом с $N_{60}P_{60}K_{60}$.

Таблица 45. Влияние микробных препаратов на урожайность* различных сортообразцов нута, т/га, 2010–2012 гг.

Сортообразец	Контроль			<i>Mesorhizobium ciceri</i> штамм 527			Грибы арбускулярной микоризы <i>Glomus</i>				КМУ	
	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012
к-526 (Колумбия)	3,2	0,03	1,2	2,2	0,2	1,9	2,7	0,2	0,7	2,7	0,2	1,6
к-1029 (Эфиопия)	1,7	0,8	0,6	1,4	0,9	0,8	1,6	0,6	0,2	1,2	0,9	0,7
Краснокутский 195	—	0,2	0,6	—	0,4	0,9	—	0,2	0,8	—	0,2	0,9
Скороспелка	—	0,4	0,6	—	0,3	0,7	—	0,3	0,4	—	0,2	1,1
Юбилейный	—	0,09	1,0	—	0,06	0,8	—	0,5	0,5	—	0,08	1,2
Костюжанский 27	2,1	0,06	0,5	1,9	0,2	0,8	2,4	0,08	0,7	1,2	0,03	0,9
к-1507 (Индия)	2,0	1,1	1,5	3,4	0,7	1,8	3,2	1,1	1,6	2,6	0,8	1,9
Зерноградский 36	0,9	0,3	0,6	1,0	0,6	0,6	0,9	0,2	0,5	2,4	0,3	1,2
Кишиневский штамбовый	3,2	0,2	1,1	2,6	0,2	1,4	2,3	0,3	1,2	2,2	0,1	0,9
Устойчивый 3/65	1,7	0,3	0,9	1,8	0,4	1,0	2,1	0,4	1,1	2,4	0,2	1,2
Краснокутский 123	2,9	0,2	2,5	2,6	0,04	1,0	2,3	0,1	1,6	2,2	0,02	2,6
Краснокутский 36	2,4	0,4	0,8	2,5	0,1	1,2	2,4	0,3	1,4	1,7	0,2	1,5
Завольжский	3,4	0,2	0,8	3,4	0,1	1,4	3,4	0,06	1,3	2,0	0,1	1,1

* НСР₀₅ (образцы): 2010 г. = 0,24; 2011 г. = 0,10; 2012 г. = 0,11. НСР₀₅(биопрепараты): 2010 г. = 0,22; 2011 г. = 0,10; 2012 г. = 0,11; «—» — нет данных.

Таблица 46. Влияние микробных препаратов на содержание белка в семенах различных сортов образцов нута, 2010–2012 гг.

Сортообразец	Конт- роль	<i>Mesorhizobium ciceri</i> штамм 527		Грибы арбускулярной микоризы <i>Glomus</i>		КМУ	
		%	% к контролю	%	% к контролю	%	% к контролю
к-526 (Колумбия)	21,6	21,5	−0,5	22,9	+6,0	22,6	+4,6
к-1029 (Эфиопия)	22,0	22,8	+3,6	22,0	0,0	21,3	−3,2
Краснокутский 195	18,4	19,2	+4,3	19,2	+4,3	20,7	+12,5
Скороспелка	21,1	20,7	−1,9	20,8	−1,4	19,2	−9,0
Юбилейный	23,0	21,9	−4,8	21,4	−7,0	21,2	−7,8
Костюжанский 27	20,6	21,1	+2,4	19,7	−4,4	20,3	−1,5
к-1507 (Индия)	19,1	20,0	+4,7	21,3	+11,5	20,1	+5,2
Зерноградский 36	20,6	20,4	−1,0	20,0	−2,9	20,1	−2,4
Кишиневский штамбовый	21,7	20,9	−3,7	20,1	−7,4	20,1	−7,4
Устойчивый 3/65	20,3	21,4	+5,4	21,2	+4,4	21,1	+3,9
Краснокутский 123	17,6	18,7	+6,3	18,1	+2,8	20,8	+18,2
Краснокутский 36	18,9	20,7	+9,5	20,4	+7,9	21,0	+11,1
Заволжский	19,4	18,6	−4,1	19,1	−1,5	19,5	+0,5

* НСР₀₅ (образцы): 0,21. НСР₀₅ (биопрепараты): 0,10.

Таблица 47. Влияние микробных препаратов на клубенькообразующую способность и нитрогеназную активность (НА) различных сортообразцов нута, 2010–2012 гг.

Сортообразец	<i>Mesorhizobium ciceri</i> штамм 527			КМУ		
	число клу- беньков, шт.	масса клубеньков, г	НА, мкг N ₂ /раст. ч	число клу- беньков, шт.	масса клубеньков, г	НА, мкг N ₂ /раст. ч
к-526 (Колумбия)	20	0,30	62,92	17	1,28	58,42
к-1029 (Эфиопия)	36	0,12	10,49	29	0,15	22,48
Краснокутский 195	27	1,79	26,96	32	1,66	41,94
Скороспелка	40	1,25	10,49	31	1,00	11,98
Юбилейный	30	1,08	11,98	24	2,74	8,99
Костюжанский 27	26	1,73	110,85	43	1,60	35,95
к-1507 (Индия)	33	1,57	35,95	43	1,67	16,48
Зерноградский 36	35	0,96	7,49	25	1,07	166,28
Кишиневский штамбовый	26	1,34	88,38	48	3,28	46,44
Устойчивый 3/65	19	1,07	169,27	40	1,22	146,80
Краснокутский 123	79	1,48	56,99	54	0,87	256,16
Краснокутский 36	14	0,79	44,94	32	1,20	31,46
Заволжский	41	1,12	59,92	56	2,30	29,96

* Число клубеньков: НСР₀₅(образцы) = 5,23, НСР₀₅(биопрепараты) = 7,86.
Нитрогеназная активность: НСР₀₅(образцы) = 2,75, НСР₀₅(биопрепараты) = 1,22.

На основании полученных данных разработана методология анализа исходного материала для селекции гороха на повышение эффективности взаимодействия с БМ и принципы селекции растений, в первую очередь бобовых, с учетом нового сельскохозяйственно значимого признака «эффективность взаимодействия с БМ». Данный признак настоятельно рекомендуется ввести в список хозяйственно-ценных признаков создаваемых и регистрируемых сортов сельскохозяйственных видов бобовых и небобовых растений. «Эффективность взаимодействия с БМ» — это среднегодовая эффективность сорта, определяемая в ходе сортоиспытаний, а «потенциал взаимодействия с БМ» — максимальная зарегистрированная в ходе сортоиспытаний эффективность.

Дальнейшая работа предполагает поиск нового материала для селекции (скрининг генотипов), создание сортов с высокой эффективностью взаимодействия с БМ, разработка оптимального соотношения КМУ и $N_{60}P_{60}K_{60}$ при совместном применении для получения максимального положительного эффекта на развитие растений.

Рекомендации по применению комплексного микробного удобрения в сельскохозяйственных предприятиях различного профиля и форм собственности, а также другими потенциальными потребителями комплексного микробного удобрения

В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю. Борисов

Исследованиями в ведущих научно-исследовательских учреждениях РАСХН доказана эффективность и продемонстрирована важность введения современных комплексных микробных удобрений и препаратов типа «БисолбиМикс» в интенсивные агротехнологии.

Разработанное во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии новое КМУ «БисолбиМикс» предназначено для увеличения продуктивности и улучшения минерального питания растений, защиты от стрессов и болезней, рекультивации засоленных, низкоплодородных и техногенно загрязненных почв. Это позволит существенно улучшить качество производимой сельскохозяйственной продукции, снизить ее себестоимость, значительно уменьшит хемотропную нагрузку на окружающую среду, позволит эффективно утилизировать отходы пищевой промышленности. Новое КМУ «БисолбиМикс» не имеет аналогов в мире, сходными продуктами являются микробиологически активные компосты и почво-грунты. Однако отличительной особенностью КМУ является целенаправленное обогащение субстрата-носителя целевыми микроорганизмами, которые являются ключевыми для улучшения развития растений.

Технология (концепция) будет востребована сельскохозяйственными товаропроизводителями не только в РФ, но и за рубе-

жом, что позволит повысить экспортный потенциал высокотехнологичной продукции.

Правильное применение современных КМУ для сельского хозяйства гарантирует повышение урожайности и качества получаемой продукции. В отличие от химических удобрений и средств защиты растений, современные КМУ имеют ряд особенностей при применении и механизмах действия на растения. Разработанные рекомендации по применению КМУ «БисолбиМикс» учитывают эти особенности.

Главное требование при применении КМУ «БисолбиМикс» заключается в том, чтобы содержащиеся в нем микроорганизмы должны быть доставлены в зону прорастания посадочного материала растения для активной колонизации корневой системы растения и дальнейшего проникновения в его внутренние ткани с формированием комплексной, генетически и метаболически интегрированной растительно-микробной системы.

Технология применения «БисолбиМикс» может включать в себя:

- внесение удобрения в почву разбрасывателями перед дискованием или культивацией почвы, либо через сеялки при посеве семян;
- предпосевную обработку посадочного материала сельскохозяйственных культур (саженцев, клубней и др.);
- нанесение КМУ на семена сельскохозяйственных культур в дражирующей (коатирующей, инкрустирующей) смеси до посева семян.

Сегодня существует необходимость быстрого и широкомасштабного введения КМУ в технологии сельскохозяйственного производства. Авторы КМУ, имеющие многолетний опыт внедрения микробных удобрений и препаратов в растениеводство, считают наиболее перспективными следующие схемы применения нового, перспективного КМУ «БисолбиМикс»:

- удобрение в порошковой или гранулированной форме вносят разбрасывателями перед дискованием или культивацией почвы, либо через сеялки при посеве семян; расход КМУ — 300–500 кг/га (крупные и средние сельхозтоваропроизводители при выращивании зерновых, зернобобовых и технических культур);

— обязательное внесение на все обрабатываемые поля (ежегодное — в идеале), учитывая, что в большинстве случаев семеноводческие хозяйства используют почвоутомленную пашню ограниченной площади. Удобрение в порошковой или гранулированной форме вносят разбрасывателями удобрений перед дискованием или вспашкой почвы, либо через сеялки при посеве семян. Расход КМУ — 500–700 кг/га. Возможно, нанесение КМУ на семена с/х культур в дражирующей смеси до посева семян. В этом случае, доза нанесения определяется опытным путем, либо согласно технологии нанесения дражирующей смеси, принятой на семенных предприятиях или заводах (семеноводческие хозяйства);

— при выращивании овощных культур на небольших участках (теплицы) внесение КМУ производится вручную на всю площадь гряды. Расход при этом составляет 70–100 г/м². При выращивании овощных культур в полевых условиях удобрение в порошковой или гранулированной форме вносят разбрасывателями удобрений перед дискованием или вспашкой почвы, либо сеялками при посеве семян (фермерские хозяйства интенсивного типа овощеводческого направления);

— обязательное использование для всех культур в теплицах, парниках, особенно тех, где на протяжении более 3 лет не производилась замена почвогрунта. Расход — 70–100 г/м². Внесение вручную методом рассева через сито (личные, подсобные хозяйства, дачные участки);

— элемент технических мероприятий по оздоровлению микробиоты (микрофлоры) пашни. Необходимое мероприятие для восстановления нормального функционирования почвенной микробиоты сельскохозяйственных угодий. КМУ вносится из расчета 500–700 кг/га совместно с минеральными удобрениями, либо в гранулированном виде в осенний период (сентябрь–октябрь) после уборки основного урожая (рекультивация земель).

Для наиболее эффективного использования КМУ «Бисолби-Микс» в сельском хозяйстве, товаропроизводителям продукции растениеводства на первых этапах его применения целесообразно заключить договоры о научном сопровождении применения микробных удобрений и биопрепаратов с ВНИИСХМ, регио-

нальными отделениями Россельхозцентра и региональными дилерами по реализации микробных биопрепаратов.

Правильное использование КМУ «БисолбиМикс» позволит товаропроизводителям сельскохозяйственной продукции снизить нормы внесения минеральных удобрений и фунгицидов как минимум вдвое без снижения биологической продуктивности сельскохозяйственных культур.

Заключение

В. К. Чеботарь, Т. С. Наумкина, А. Ю Борисов

В результате анализа данных, опубликованных в научной литературе, и их сопоставления с собственными экспериментальными данными авторов данного издания созданы теоретические основы применения КМУ, разработаны и апробированы технологии производства и применения КМУ «БисолбиМикс» на основе резидентной, благотворной для растений почвенной микрофлоры, обеспечивающего повышение продуктивности сельскохозяйственных растений.

Научно-теоретической основой разработки явились экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что сельскохозяйственные растения существуют в рамках эволюционного континуума растительно-микробных систем (симбиозов) с широким спектром БМ, включая арбускулярную микоризу с грибами *Glomeromycota*, азотфиксирующие клубеньки с клубеньковыми бактериями (у бобовых) и ассоциации с бактериями, стимулирующими развитие растений, как ризосферными, эпифитными, так и эндофитными. Благодаря этим симбиозам улучшается минеральное питание растений (преимущественно азотом и фосфором), повышается их устойчивость к патогенам и стрессам, повышается биоразнообразие обитателей и естественное плодородие почвы.

Тот факт, что бобовые растения обладают единой генетической системой, обеспечивающей взаимодействие с различными БМ, также эволюционировавшей в рамках эволюционного растительно-микробного континуума, предполагает сходную структуру такой генетической системы у небобовых видов сельскохозяй-

зайственных растений. Вместе с тем имеет место кооперация различных групп БМ, синергизм которых оказывает усиленный положительный эффект на развитие и функционирование растений.

Благодаря сотрудничеству ФГБНУ «ВНИИСХМ» и ФГБНУ «ВНИИЗБК» разработана инновационная концепция применения БМ в растениеводстве, согласно которой именно сельскохозяйственные растения должны рассматриваться как основной регулирующий компонент комплексной взаимовыгодной растительно-микробной системы. Таким образом, стало очевидно, что необходимо вести селекцию сельскохозяйственных видов растений на повышение эффективности взаимодействия с БМ.

Селекция и возделывание растений должны проводиться на фоне применения комплексных микробных удобрений, содержащих ключевые группы БМ (например, «БисолбиМикс»). Для производства такого типа удобрений необходимо использовать местные, адаптированные к конкретным агроклиматическим условиям формы БМ, почва является одним из естественных резервуаров БМ.

Сущность предлагаемой разработки КМУ «БисолбиМикс» сводится к обогащению нестерильного почвосодержащего субстрата, уже имеющего в своем составе ключевые группы БМ, отселектированными высокоэффективными производственными формами БМ и переводу его в комплексное биоорганическое удобрение, обладающее набором полезных для растений как химических, так и микробиологических свойств.

Для производства КМУ в качестве субстрата-носителя используется фильтрационно-мочный осадок (отход производства сахара из сахарной свеклы), который годами накапливается в отвалах поблизости от заводов и требует ежегодного расширения площадей для их складирования. В результате использования отхода в новом качестве предполагается сокращение его запасов и вовлечение в процессы восстановления естественного плодородия почв. Фильтрационно-мочный осадок сахарных заводов признан наиболее доступным субстратом-носителем по цене, логистике и заданным свойствам (приживаемость и жизнеспособность комплекса БМ при хранении). Преимуществом КМУ в сравнении с другими аналогами (микробиологически активными компостами

и грунтами) является целенаправленность (обогащение производственными целевыми изолятами БМ) и комплексность действия (содержание различных ключевых групп БМ), а также универсальность использования для различных сельскохозяйственных видов растений.

Итак, КМУ «БисолбиМикс» — это микробный препарат, содержащий инокуляционный материал различных грибов АМ, клубеньковые бактерии для различных видов бобовых растений и разнообразные бактерии, стимулирующие развитие растений, причем как целенаправленно внесенные высокоэффективные отселектированные производственные изоляты, так и резидентные.

Контроль качества КМУ осуществляется с помощью современных метагеномных подходов, основанных на количественном анализе диагностических фрагментов ДНК для различных царств и таксонов микроорганизмов. Такой анализ позволяет не допустить превышения содержания представителей таксонов потенциально патогенных микроорганизмов и снижения содержания целевых благотворных микроорганизмов.

Формы выпуска препарата могут варьировать от композиции для дражирования (коатирования, инкрустирования) семян сельскохозяйственных культур до порошкового комплексного биоорганического мелиоранта почвы с saniрующим эффектом (подавление патогенной микрофлоры), увеличивающим видовое разнообразие БМ, что, в свою очередь, приводит к повышению микробиологической активности и естественного плодородия почвы. КМУ исследовано и технологически апробировано в ряде НИИ сельскохозяйственного профиля под общим руководством ФГБНУ «ВНИИСХМ».

В ходе испытаний определена оптимальная эффективная и экономически оправданная доза применения КМУ — 500 кг/га. Обнаружен эффект последствия КМУ (и через три года после применения), который объясняется положительным влиянием на общую микробиологическую активность почв и повышением содержания и биоразнообразия БМ.

Средняя эффективность по увеличению урожайности, показанная для различных видов сельскохозяйственных растений

(например, зерновых и зернобобовых), составила около 30%. Однако положительный эффект применения КМУ зависел от вида и назначения сельскохозяйственной культуры. Внутри культур также наблюдался полиморфизм по отзывчивости на применение КМУ, что, с одной стороны, отражает естественный генетический полиморфизм конкретного вида растений, а с другой стороны (неотзывчивые сорта), является отражением селекции растений на высоком агрохимическом фоне для повышения эффективности использования минеральных удобрений, имевшей место в течение нескольких последних десятилетий и приведшей к снижению эффективности взаимодействия с БМ.

Показано, что в отношении накопления биомассы сельскохозяйственными растениями, в климатически благоприятный год эффективнее применять минеральные удобрения, в неблагоприятный — КМУ, а в обычный для сельскохозяйственной культуры год эффекты обеих обработок эквивалентны. В принципе, по сравнению с минеральными удобрениями эффект от применения КМУ более стабилен по годам.

Выявлена генетически детерминированная зависимость растений гороха (что может быть перенесено на другие виды сельскохозяйственных растений) от дополнительных средств питания за счет как взаимодействия с БМ, так и внесения минеральных удобрений. Это выражается в достоверной отрицательной корреляции между массой семян растения в контроле без обработки и изменением этого параметра как при применении КМУ, так и при внесении $N_{60}P_{60}K_{60}$.

Применение КМУ повышает содержание белка и сахаров в урожае сельскохозяйственных растений, используя механизмы, отличные от механизмов повышения накопления биомассы. Таким образом, наряду с повышением урожайности сбор белка и сахаров может быть значительно повышен, особенно при возделывании определенных, отзывчивых на применение КМУ сортов, то есть высокоэффективных во взаимодействии с БМ.

Применение КМУ ускоряет развитие проростков сельскохозяйственных растений и продлевает фазу активной вегетации несмотря на возможные стрессы в ходе развития растений. Таким

образом, при применении КМУ период накопления биомассы сельскохозяйственных культур может быть значительно увеличен.

Применение КМУ может незначительно менять архитектуру растений (например, зернобобовых, льна) таким образом, что при увеличении надземной массы и семенной продуктивности растений несколько уменьшается длина стебля (не более 5%) и высота прикрепления нижнего плода (не более 3%), что для некоторых культур является хозяйственно важными признаками. Однако такое изменение архитектуры растений считается не критичным для существующих способов обработки, тем более что это компенсируется увеличением толщины стебля, а следовательно, усилением вертикальности положения стебля.

Показано, что исследованные виды сельскохозяйственных культур обладают высоким генетическим полиморфизмом по признаку «эффективность взаимодействия с БМ», что доказывает возможность и целесообразность селекции сортов сельскохозяйственных растений с учетом потенциала эффективности взаимодействия с БМ. В ходе проведенных исследований были отобраны генотипы, контрастные по отзывчивости на применение КМУ и внесение $N_{60}P_{60}K_{60}$. Впервые было установлено, что в случае определенных генотипов применение КМУ более эффективно, чем внесение полной дозы минеральных удобрений.

Обнаружено отсутствие корреляции при комплексной сравнительной оценке параметров развития эндосимбиотических систем и накопления биомассы (и изменения белка в семенах). Следовательно главным критерием, по которому следует оценивать эффективность взаимодействия растений с БМ, является относительное накопление биомассы растений и качества продукции культуры при применении КМУ по отношению к контролю. Разработана методология анализа исходного материала для селекции растений (в первую очередь, бобовых) на повышение «эффективности взаимодействия с БМ». Разработаны принципы селекции (и протокол для гороха) на повышение «эффективности взаимодействия с БМ». Также был рекомендован для использования в селекции растений новый сельскохозяйственно значимый признак — «эффективность взаимодействия с БМ».

Дальнейшее повышение эффективности КМУ возможно в двух направлениях:

путем адаптации технологии применения КМУ к типу и назначению сельскохозяйственной культуры, в зависимости от целей использования урожая, подбора сорта для возделывания и ведения селекции с учетом признака «отзывчивость на применение КМУ» (в более широком смысле — «эффективность взаимодействия с БМ»). Возможность селекции по данному признаку доказана обнаруженным высоким генетическим полиморфизмом внутри испытанных видов сельскохозяйственных растений;

путем доработки (уточнения) технологии применения КМУ для конкретных агроклиматических и агротехнических условий и, в первую очередь, путем оптимизации совместимых с КМУ дозы и технологии применения минеральных удобрений и химических средств защиты растений.

В итоге дешевизна и экологическая безопасность микробных препаратов типа КМУ дают основание сделать вывод о том, что их применение должно стать обязательной частью агротехнологии адаптивного растениеводства и устойчивого земледелия в ближайшем будущем.

Цитируемая литература

1. Akiyama K., Matsuzaki K., Hayashi H. 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi // *Nature*. Vol. 435. P. 824–827.
2. Albrechtsen B. R., Bjorken L., Varad A., Hagner A., Wedin M., Karlsson J., Jansson S. 2010. Endophytic fungi in European aspen (*Populus tremula*) leaves-diversity, detection, and a suggested correlation with herbivory resistance // *Fungal Divers.* Vol. 41. P. 17–28.
3. Andrews M., Lea P. J., Raven J. A., Azevedo R. A. 2009. Nitrogen use efficiency. 3. Nitrogen fixation: genes and costs // *Ann. Appl. Biol.* Vol. 155. P. 1–13.
4. Arnold A. E., Maynard Z., Gilbert G. S., Coley P. D., Kursar T. A. 2000. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? // *Ecol. Lett.* Vol. 3. P. 267–274.
5. Arnold A. E., Mejia L. C., Kyllo D., Rojas E. I., Maynard Z., Robbins N., Herre E. A. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* Vol. 100. P. 15649–15654.
6. Artursson V., Finlay R. D., Jansson J. K. 2006. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth // *Environ. Microbiol.* Vol. 8. P. 1–10.
7. Babikova Z., Gilbert L., Bruce T. J. A., Birkett M., Caulfield J. C., Woodcock C., Pickett J. A., Johnson D. 2013. Underground signals carried through common mycelial networks warn neighbouring plants of aphid attack // *Ecology Letters*. Vol. 16. P. 835–843. DOI: 10.1111/ele.12115
8. Bakker P. A. H. M., Raaijmakers J. M., Bloemberg G., Hofte M., Lemanceau P., Cooke B. M. 2007. New perspectives and approaches in

- plant growth-promoting rhizobacteria research / Ed. B. M. Cooke. Dordrecht: Springer, 126 p. (Reprinted from European Journal of Plant Pathology. Vol. 119, N 2).
9. *Balachandar D., Raja P., Kumar K., Sundaram S. P.* 2007. Non-rhizobial nodulation in legumes // *Biotechnol. Molec. Biol. Rev.* Vol. 2. P. 49–57.
 10. *Barea J.-M., Pozo M.-J., Azcon R., Azcon-Aguilar C.* 2005. Microbial cooperation in the rhizosphere // *J. Exp. Botany*. Vol. 56, N 14. P. 1761–1788.
 11. *Barker S. J., Tagu D.* 2000. The role of auxins and cytokinins in mycorrhizal symbiosis // *J. Plant Growth Regul.* Vol. 19. P. 144–154.
 12. *Belimov A. A., Kunakova A. M., Safronova V. I., Kozhemyakov A. P., Yudkin L. Y., Stepanok V. V.* 2000. Interaction between associative bacteria and barley under environmental stresses: input of partner genotypes and growth conditions // *New approaches and techniques in breeding sustainable fodder crops and amenity grasses* / Eds N. A. Provorov et al. St. Petersburg: VIRA Press. P. 146–148.
 13. *Bianciotto V., Lumini E., Bonfante P., Vandamme P.* 2003. ‘*Candidatus Glomeribacter gigasporarum*’ gen. nov., sp nov., an endosymbiont of arbuscular mycorrhizal fungi // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Vol. 53. P. 121–124.
 14. *Bhatia C. R.* 2008. Role of Microbial Diversity for Soil, Health and Plant Nutrition. *Molecular Mechanisms of Plant and Microbe Coexistence* // *Soil Biology*. Vol. 15. P. 53–74.
 15. *Bleecker A. B., Kende H.* 2000. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* Vol. 16. P. 1–18.
 16. *Bonfante P.* 2010. Plant-fungal interactions in Mycorrhizas // *Encyclopedia of Life Sciences*. John Wiley & Sons, Ltd. DOI: 10.1002/9780470015902.a0022339
 17. *Bonfante P., Genre A.* 2008. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective // *Trends Plant Sci.* Vol. 13. P. 492–498.
 18. *Borisov A. Y., Danilova T. N., Shtark O. Y., Solovov I. I., Kazakov A. E., Naumkina T. S., Vasilchikov A. G., Chebotar V. K., Tikhonovich I. A.* 2008. Tripartite symbiotic system of pea (*Pisum sativum* L.): applications in sustainable agriculture // *Biological Nitrogen Fixation: Towards Poverty Alleviation through Sustainable Agriculture. Proceedings of*

- 15th International Congress on Nitrogen Fixation & 12th International Conference of the African Association for Biological Nitrogen Fixation / Eds F. D. Dakora et al. Dordrecht: Springer. P. 15–17.
19. *Brewin N. J.* 2004. Plant cell wall remodeling in the Rhizobium-legume symbiosis // *Crit. Rev. Plant. Sci.* Vol. 23. P. 1–24.
20. *Brewin N. J.* 2010. Root Nodules (Legume-Rhizobium Symbiosis) // *Encyclopedia of Life Sciences (ELS)*. Chichester. John Wiley and Sons, Ltd. DOI: 10.1002/9780470015902.a0003720.pub2
21. *Brockwell J., Bottomley P. J., Thies J. E.* 1995. Manipulation of rhizobia microflora for improving legume productivity and soil fertility: a critical assessment // *Plant Soil*. Vol. 174. P. 143–180.
22. *Brundrett M. C.* 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants // *New Phytol.* Vol. 154. P. 275–304.
23. *Burstin J., Gallardo K., Mir R. R., Varshney R. K., Duc G.* 2011. Improving protein content and nutrition quality // Pratar A., Kumar J. *Biology and Breeding of Food Legumes* / Ed. J. Kumar. CABI. 432 p.
24. *Caetano-Anolles G., Gresshoff P. M.* 1991. Plant genetic control of nodulation // *Annu. Rev. Microbiol.* Vol. 45. P. 345–382.
25. *Clay K.* 1990. Fungal endophytes of grasses // *Annu. Rev. Ecol. Syst.* Vol. 21. P. 275–297.
26. *Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C., Barka E. A.* 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 71. P. 4951–4959.
27. *Compant S., Reiter B., Sessitsch A., Nowak J., Clément C., Ait Barka E.* 2004. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by a PGPB Burkholderia sp. strain PsJn // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 71. P. 1685–1693.
28. *Cregan P. B., Keyser H. H., Sadovsky M. J.* 1989. Soybean genotype restricting nodulation of a previously unrestricted serocluster 123 bradyrhizobia // *Crop. Sci.* Vol. 29. P. 307–312.
29. *Cronk Q. C. B., Bateman R. M., Hawkins J. A.* 2002. Developmental genetics and plant evolution. Boca Raton: CRC Press. 543 p.
30. *Dawkins R.* 1999. The Extended Phenotype. Oxford: Oxford University Press.

31. Dean R., Van Kan J. A., Pretorius Z. A., Hammond-Kosack K. E., Di Pietro A., Spanu P. D., Rudd J. J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G. D. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology // *Mol. Plant Pathol.* Vol. 13, N 4. P. 414–30. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x
32. De Troch P., Vanderleyden J. 1996. Surface properties and mobility of *Rhizobium* and *Azospirillum* in relation to plant root attachment // *Microbiol. Ecol.* Vol. 32, N 1. P. 149–169.
33. De Weger L. A., van der Vlugt C. I. M., Wijffes A. H. M., Bakker P. A. H. M., Schippers B., Lugtenberg B. J. J. 1987. Flagella of a plant growth stimulating *Pseudomonas fluorescens* strain are required for colonization of potato roots // *J. Bacteriol.* Vol. 169. P. 2769–2773.
34. D'Haeze W., Holsters M. 2002. Nod factor structures, responses, and perception during initiation of nodule development // *Glycobiol.* Vol. 12. P. 79–105.
35. Di Fiore S., Del Gallo M. 1995. Endophytic bacteria: their possible role in the host plant // *Azospirillum* and related microorganisms / Ed. I. Fendrik. Berlin; Heidelberg: Springer. P. 169–187.
36. Dilworth M. J., James E. K., Sprent J. I., Newton W. E. 2008. Nitrogen-fixing leguminous symbioses / Ed. W. E. Newton. Dordrecht: Springer. 404 p.
37. Downie J. A. 2010. The roles of extracellular proteins, polysaccharides and signals in the interactions of rhizobia with legume roots // *FEMS Microbiol. Rev.* Vol. 34. P. 150–170.
38. Duc G., Messenger A. 1989. Mutagenesis of pea (*Pisum sativum* L.) and the isolation of mutants for nodulation and nitrogen fixation // *Plant Sci.* Vol. 60. P. 207–213.
39. Ercolin F., Reinhardt D. 2011. Successful joint ventures of plants: arbuscular mycorrhiza and beyond // *Trends Plant Sci.* Vol. 16. P. 356–362.
40. Fisher B. L. 1992. Facultative ant association benefits a neotropical orchid // *J. Trop. Ecol.* Vol. 8. P. 109–114.
41. Fisher P. J., Petrini O., Petrini L. E., Sutton B. C. 1994. Fungal endophytes from the leaves and twigs of *Quercus ilex* L. from England, Majorca and Switzerland // *New Phytol.* Vol. 127. P. 133–137.
42. Fournier J., Timmers A. C. J., Sieberer B. J., Jauneau A., Chabaud M., Barker D. G. 2008. Mechanism of infection thread elongation in root

- hairs of *Medicago truncatula* and dynamic interplay with associated rhizobial colonization // Plant Physiol. Vol. 148. P. 1985–1995.
43. Frohlich J., Hyde K. D., Petrini O. 2000. Endophytic fungi associated with palms // Mycol. Res. Vol. 104. P. 1202–1212.
 44. Galvan G. A., Burger-Meijer K., Kuiper Th. W., Kik. C., Scholten O. E. 2007. Breeding for improved responsiveness to arbuscular mycorrhizal fungi in onion // 3rd QLIF Congress, Hohenheim, Germany, March 20–23, 2007.
http://orgprints.org/view/projects/int_conf_qlif2007.html.
 45. Garcia-Garrido J. M., Ocampo J. A. 2002. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis // J. Exp. Bot. Vol. 53. P. 1377–1386.
 46. Gazis R., Chaverri P. 2010. Diversity of fungal endophytes in leaves and stems of wild rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Peru // Fungal Ecol. Vol. 3. P. 240–254.
 47. Gehring C., Bennett A. 2009. Mycorrhizal fungal-plant-insect interactions: the importance of a community approach // Environ. Entomol. Vol. 38. P. 93–102.
 48. Geil R. D., Peterson L., Guinel F. C. 2001. Morphological alterations of pea (*Pisum sativum* cv. Sparkle) arbuscular mycorrhizas as a result of exogenous ethylene treatment // Mycorrhiza. Vol. 11. P. 137–143.
 49. Genre A., Bonfante P. 2005. Building a mycorrhizal cell: how to reach compatibility between plants and arbuscular mycorrhizal fungi // J. Plant Interact. Vol. 1, N 1. P. 3–13.
 50. Genre A., Chabaud M., Timmers T., Bonfante P., Barker D. G. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection // Plant Cell. Vol. 17. P. 3489–3499.
 51. Ghimire S. R., Charlton N. D., Bell J. D., Krishnamurthy Y. L., Craven K. D. 2011. Biodiversity of fungal endophyte communities inhabiting switchgrass (*Panicum virgatum* L.) growing in the native tallgrass prairie of northern Oklahoma // Fungal Divers. Vol. 47. P. 19–27.
 52. Gianinazzi S., Schüepp H., Barea J. M., Haselwandter K. (Eds). 2002. Mycorrhizal technology in agriculture. Basel; Boston; Berlin: Birkhäuser Verlag. P. 49–58.

53. *Gianinazzi-Pearson V.* 1996. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis // *Plant Cell*. Vol. 8. P. 1871–1883.
54. *Gilbert S. F., Mcdonald E., Boyle N., Buttino N., Gyi L., Mai M., Prakash N., Robinson J.* 2010. Symbiosis as a source of selectable epigenetic variation: taking the heat for the big guy // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* Vol. 365. P. 671–678.
55. *Glick B. R.* 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria // *Can. J. Microbiol.* Vol. 41. P. 109–117.
56. *Graham P. H., Vance C. P.* 2003. Legumes: importance and constraints to greater use // *Plant Physiology*. Vol. 131. P. 872–877.
57. *Gresshoff P. M., Lohar D., Chan P.-K., Biswas B., Jiang Q., Reid D., Ferguson B., Stacey G.* 2009. Genetic analysis of ethylene regulation of legume nodulation // *Plant Signaling & Behavior*. Vol. 4. P. 818–823.
58. *Hardy R. W. F., Holstein R., Jackson E., Burns R. S.* 1968. $C_2H_2-C_2H_4$ assay for N_2 fixation: laboratory and field evaluation // *Plant Physiol.* Vol. 43. P. 9–13.
59. *Hartley S. E., Gange A. C.* 2009. Impacts of plant symbiotic fungi on insect herbivores: mutualism in a multitrophic context // *Ann. Rev. Entomol.* Vol. 54. P. 323–342.
60. *Henry E., Yadeta K. A., Coaker G.* 2013. Recognition of bacterial plant pathogens: local, systemic and transgenerational immunity // *New Phytologist*. Vol. 199, N 4. P. 908–915. DOI: 10.1111/nph.12214
61. *Herridge D., Rose I.* 2000. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes // *Field Crops Research*. Vol. 65, N 2–3. P. 229–248.
62. *Higgins K. L., Coley P. D., Kursar T. A., Arnold A. E.* 2011. Culturing and direct PCR suggest prevalent host generalism among diverse fungal endophytes of tropical forest grasses // *Mycologia*. Vol. 103. P. 247–260.
63. *Hildebrandt U., Ouziad F., Marner F. J., Bothe H.* 2006. The bacterium *Paenibacillus validus* stimulates growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* up to the formation of fertile spores // *FEMS Microbiol. Lett.* Vol. 254. P. 258–267.
64. *Hirsch A. M., Lum M. R., Downie J. A.* 2001. What makes the rhizobia-legume symbiosis so special? // *Plant Physiol.* Vol. 127. P. 1484–1492.

65. Humphreys C. P., Franks P. J., Rees M., Bidartondo M. I., Leake J. R., Beerling D. J. 2010. Mutualistic mycorrhiza-like symbiosis in the most ancient group of land plants // Nat. Commun. Vol. 1.
DOI: 10.1038/ncomms1105
66. Jacobsen E. 1984. Modification of symbiotic interaction of pea (*Pisum sativum* L.) and *Rhizobium leguminosarum* by induced mutations // Plant Soil. Vol. 82. P. 427–438.
67. Jones K. M., Kobayashi H., Davies B. W., Taga M. E., Walker G. C. 2007. How rhizobial symbionts invade plants: the Sinorhizobium-Medicago model // Nat. Rev. Microbiol. Vol. 5. P. 619–633.
68. Jones K. M., Sharopova N., Lohar D. P., Zhang J. Q., Vanden Bosch K. A., Walker G. C. 2008. Differential response of the plant *Medicago truncatula* to its symbiont *Sinorhizobium meliloti* or an exopolysaccharide-deficient mutant // PNAS. Vol. 105. P. 704–709.
69. Josephson K. L., Bourque D. P., Bliss F. A., Pepper I. L. 1991. Competitiveness of KIM 5 and VIKING 1 bean rhizobia: strain by cultivar interactions // Soil Biol. Biochem. Vol. 23. P. 249–253.
70. Kiers E. T., Denison R. F. 2008. Sanctions, cooperation, and the stability of plant-rhizosphere mutualisms // Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst. Vol. 39. P. 215–236.
71. Kistner C., Winzer T., Pitzschke A., Mulder L., Sato S., Kaneko T., Tabata S., Sandal N., Stougaard J., Webb K. J., Szczyglowski K., Parniske M. 2005. Seven *Lotus japonicus* genes required for transcriptional reprogramming of the root during fungal and bacterial symbiosis // Plant Cell. Vol. 17. P. 2217–2229.
72. Koide R. 1985. The nature of growth depressions in sunflower caused by vesicular-arbuscular mycorrhizal infection // New phytologist. Vol. 99. P. 449–462.
73. Koltai H., Kapulnik Y. (Eds). 2010. Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. 2nd ed. Dordrecht; Heidelberg; London; New York: Springer. 623 p.
74. Kosuta S., Chabaud M., Loughnon G., Gough C., Dénarié J., Barker D. G., Bécard G. 2003. A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula* // Plant Physiol. Vol. 131. P. 952–962.

75. Krusell L., Madsen L. H., Sato S., Aubert G., Genua A., Szczyglowski K., Duc G., Kaneko T., Tabata S., de Bruijn F., Pajuelo E., Sandal N., Stougaard J. 2002. Shoot control of root development and nodulation is mediated by a receptor-like kinase // *Nature*. Vol. 420. P. 422–426.
76. Kumagai H., Kinoshita E., Ridge R. W., Kouchi H. 2006. RNAi knock-down of ENOD40s leads to significant suppression of nodule formation in *Lotus japonicus* // *Plant Cell Physiol*. Vol. 47. P. 1102–1111.
77. Küster H., Vieweg M. F., Manthey K., Baier M. C., Hohnjec N., Perlick A. M. 2007. Identification and expression regulation of symbiotically activated legume gene // *Phytochem*. Vol. 68. P. 8–18.
78. Lambert D. H., Cole H., Baker D. E. 1980. Variation in the response of alfalfa clones and cultivars to mycorrhizae and phosphorus genetic variability // *Crop Sci*. Vol. 20. P. 615–618.
79. Lie T. A., Saikkonen K. 1971. Temperature-dependent root-nodule formation in pea cv. Iran // *Plant Soil*. Vol. 34. P. 751–752.
80. Limpens E., Mirabella R., Fedorova E., Franken C., Franssen H., Bisseling T., Geurts R. 2005. Formation of organelle-like N₂-fixing symbiosomes in legume root nodules is controlled by DMI2 // *PNAS*. Vol. 102. P. 10375–10380.
81. Lugtenberg B. J. J., Dekkers L. C., Bloemberg G. V. 2001. Molecular determinations of rhizosphere colonization by *Pseudomonas* // *Annu. Rev. Phytopathol*. Vol. 39. P. 461–490.
82. Madsen E. B., Madsen L. H., Radutoiu S., Olbryt M., Rakwalska M., Szczyglowski K., Sato S., Kaneko T., Tabata S., Sandal N., Stougaard J. 2003. A receptor kinase gene of the LysM type is involved in legume perception of rhizobial signals // *Nature*. Vol. 425. P. 637–640.
83. Madsen L. H., Tirichine L., Jurkiewicz A., Sullivan J. T., Heckmann A. B., Bek A. S., Ronson C. W., James E. K., Stougaard J. 2010. The molecular network governing nodule organogenesis and infection in the model legume *Lotus japonicus* // *Nature Communications*. Vol. 1. P. 10. DOI: 10.1038/ncomms1009
84. Maillet F., Poinot V., Andre O., Puech-Pages V., Haouy A., Gueunier M., Cromer L., Giraudet D., Formey D., Niebel A., Martinez E. A., Driguez H., Bécard G., Dénarié J. 2011. Fungal lipo-chitoooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza // *Nature*. Vol. 469. P. 58–63.

85. Markmann K., Parniske M. 2009. Evolution of root endosymbiosis with bacteria: how novel are nodules? // Trends Plant Sci. Vol. 14. P. 77–86.
86. Menezes C. B., Bonugli-Santos R. C., Miqueletto P. B., Passarini M. R., Silva C. H., Justo M. R., Leal R. R., Fantinatti-Garboggini F., Oliveira V. M., Berlinck R. G., Sette L. D. 2010. Microbial diversity associated with algae, ascidians and sponges from the north coast of São Paulo state, Brazil // Microbiol Res. Vol. 165, N 6. P. 466–82.
DOI: 10.1016/j.micres.2009.09.005.88
87. Minerdi D., Bianciotto V., Bonfante P. 2002. Endosymbiotic bacteria in mycorrhizal fungi: from their morphology to genomic sequences // Plant Soil. Vol. 244. P. 211–219
88. Morandi D., Sagan M., Prado-Vivant E., Duc G. 2000. Influence of genes determining supernodulation on root colonisation by the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* in *Pisum sativum* and *Medicago truncatula* mutants // Mycorrhiza. Vol. 10. P. 37–42.
89. Murray J. D., Karas B. J., Sato S., Tabata S., Amyot L., Szczyglowski K. 2007. A cytokinin perception mutant colonized by *Rhizobium* in the absence of nodule organogenesis // Sci. Vol. 315. P. 101–104.
90. Nagahashi G., Douds J. D.D. 1997. Appressorium formation by AM fungi on isolated cell walls of carrot roots // New Phytol. Vol. 136. P. 299–304.
91. Naumann M., Schuessler A., Bonfante P. 2010. The obligate endobacteria of arbuscular mycorrhizal fungi are ancient heritable components related to the mollicutes // ISME J. Vol. 4. P. 862–871.
92. Navazio L., Moscatiello R., Genre A., Novero M., Baldan B., Bonfante P., Mariani P. 2007. A diffusible signal from arbuscular mycorrhizal fungi elicits a transient cytosolic calcium elevation in host plant cells // Plant Physiol. Vol. 144. P. 673–681.
93. Nutman P. S. 1946. Genetic factors concerned in the symbiosis of clover and nodule bacteria // Nature. Vol. 151. P. 463–465.95.
94. Nutman P. S. 1967. Varietal differences in the nodulation of subterranean clover // Austral. J. Agr. Res. Vol. 18. P. 381–425.
95. Nutman P. S. 1968. Symbiotic effectiveness of nodulated red clover. 5. The n and d factors for ineffectiveness // Heredity. Vol. 23. P. 537–551.
96. Nutman P. S. 1984. Improving nitrogen fixation in legumes by plant breeding; the relevance of host selection experiments in red clover

- (*Trifolium pretense* L.) and subterranean clover (*T. subterraneum* L.) // Plant and soil. Vol. 82. P. 285–301.
97. Oldroyd G. E., Downie J. A. 2008. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes // Ann. Rev. Plant Biol. Vol. 59. P. 519–546.
98. Parniske M. 2000. Intracellular accommodation of microbes by plants: a common developmental program for symbiosis and disease? // Curr. Opin. Plant Biol. Vol. 3. P. 320–328.
99. Parniske M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses // Nature Rev. Microbiol. Vol. 6. P. 763–775.
100. Partida-Martínez L. P., Heil M. 2011. The microbe-free plant: fact or artifact? // Frontiers in Plant science. Vol. 2, N 100. P. 1–16.
DOI: 10.3389/fpls.2011.00100
101. Phillips D. A., Teuber L. R. 1992. Plant genetics of symbiotic nitrogen fixation // Biological Nitrogen Fixation / Eds G. Stacey, R. H. Burris, H. J. Evans. N. Y.; London. P. 625–647.
102. Polignano G. B. 1982. Breeding for protein percentage and seed weight in *Phaseolus vulgaris* L. // J. Agric. Sci. Vol. 99. P. 191–197.
103. Preston G. M. 2004. Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas* // Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. Vol. 359. P. 907–918.
104. Provorov N. A., Simarov B. V. 1990. Genetic variation in alfalfa, sweet clover and fenugreek for the activity of symbiosis with *Rhizobium meliloti* // Plant Breeding. Vol. 105. P. 300–310.
105. Provorov N. A., Shtark O. Y., Zhukov V. A., Borisov A. Y., Tikhonovich I. A. 2010. Developmental genetics of plant-microbe symbioses. N. Y.: Nova Science Publishers, 152 p.
106. Provorov N. A., Tikhonovich I. A. 2003. Genetic resources for improving nitrogen fixation in legume-rhizobia symbiosis // Genet. Resources and Crop Evolution. Vol. 50. P. 89–99.
107. Provorov N. A., Vorobyov N. I. 2009. Host plant as an organizer of microbial evolution in the beneficial symbioses // Phytochem. Rev. Vol. 8. P. 519–534.
108. Quilambo O. A. 2003. The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis // African J. Biotechnol. Vol. 2. P. 539–546.
109. Radutoiu S., Madsen L. H., Madsen E. B., Felle H. H., Umehara Y., Gronlund M., Sato S., Nakamura Y., Tabata S., Sandal N., Stougaard J. 2003.

- Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases // *Nature*. Vol. 425. P. 585–592.
110. Rai R., Singh S. N. 1979. Interaction between chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes and strains of *Rhizobium* spp. // *J. Agr. Sci.* Vol. 92. P. 437–444.
111. Redecker D. 2002. Molecular identification and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi // *Plant Soil*. Vol. 244. P. 67–73.
112. Redecker D., Kodner R., Graham L. E. 2000. Glomalean fungi from the Ordovician // *Science*. Vol. 289. P. 1920–1921.
113. Remy W., Taylor T. N., Hass H., Kerp H. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizas // *PNAS*. Vol. 91. P. 11841–11843.
114. Requena N., Jimenez J., Toro M., Barea J. M. 1997. Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for re-vegetation in Mediterranean semi-arid ecosystems // *New Phytol.* Vol. 136. P. 667–677.
115. Requena N., Perez-Solis E., Azcón-Aguilar C., Jeffries P., Barea J. M. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of decertified ecosystems // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 67. P. 495–498.
116. Rodriguez R. J., White J. F., Arnold A. E., Redman R. S. 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles // *New Phytol.* Vol. 182. P. 314–330.
117. Rosas J. C., Castro J. A., Robledo E. A., Handelsman J. 1998. A method for screening *Phaseolus vulgaris* L. germplasm for preferential nodulation with a selected *Rhizobium etli* strain // *Plant and soil*. Vol. 203, N 1. P. 71–78.
118. Sanchez L., Weidmann S., Arnould C., Bernard A. R., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. 2005. *Pseudomonas fluorescens* and *Glomus mosseae* trigger DMI3-dependent activation of genes related to a signal transduction pathway in roots of *Medicago truncatula* // *Plant Physiol.* Vol. 139. P. 1065–1077.
119. Sandhu H. S., Gupta V. V. S. R., Wratten S. D. 2010. Evaluating the economic and social impact of soil microbes // *Soil microbiology and*

- sustainable crop production / Eds G. R. Dixon, E. L. Tilston. Dordrecht: Springer. P. 399–417.
120. Schulz B., Boyle C. 2005. The endophytic continuum // Mycol. Res. Vol. 109. P. 661–686.
121. Schulz B., Boyle C., Sieber T. 2006. Microbial root endophytes / Ed. T. Sieber. Dordrecht: Springer. 367 p.
122. Schüßler A., Schwarzott D., Walker C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution // Mycol. Res. Vol. 105. P. 1413–1297.
123. Sessitsch A., Howieson J. G., Perret X., Antoun H., Martinez-Romero E. 2002. Advances in *Rhizobium* research // Crit. Rev. Plant Sci. Vol. 21. P. 323–378.
124. Shishido M., Breuil C., Chanway C. 1999. Endophytic colonisation of spruce by plant growth promoting rhizobacteria // FEMS Microbiol. Ecol. Vol. 29. P. 191–196.
125. Shtark O. Y., Borisov A. Y., Zhukov V. A., Provorov N. A., Tikhonovich I. A. 2010. Intimate associations of beneficial soil microbes with the host plants // Soil microbiology and sustainable crop production / Eds G. R. Dixon, E. L. Tilston. Dordrecht: Springer. P. 119–196.
126. Shtark O. Y., Borisov A. Y., Zhukov V. A., Tikhonovich I. A. 2012. Mutually beneficial legume symbioses with soil microbes and their potential for plant production // Symbiosis. V. 58. P. 51–62.
DOI: 10.1007/s13199-013-0226-2.128
127. Smith K. P., Goodman R. M. 1999. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes // Annu. Rev. Phytopathol. Vol. 37. P. 473–491.
128. Smith S. E., Read D. J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd ed. San Diego; London; N. Y.; Boston; Sydney; Tokio; Toronto: Acad. Press. 590 p.
129. Smith S. E., Read D. J. 2008. Mycorrhizal symbiosis. 3rd ed. Maryland Heights: Elsevier; Academic Press. 800 p.
130. Son C. L., Smith S. E. 1988. Mycorrhizal growth responses: interactions between photon irradiance and phosphorus nutrition // New phytologist. Vol. 108. P. 305–314.
131. Song Y. Y., Zeng R. S., Xu J. F. 2010. Interplant communication of tomato plants through underground common mycorrhizal networks // PLoS ONE. Vol. 5. P. e13324. DOI:10.1371/journal.pone.0013324

132. *Sprent J. I.* 2001. Nodulation in *Legumes* // Kew, Royal Botanical Gardens: Cromwell Press Ltd. 146 p.
133. *Sprent J. I.* 2007. Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation // *New Phytol.* Vol. 174. P. 11–25.
134. *Sturz A. V., Christie B. R., Matheson B. G., Nowak J.* 1997. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth // *Biol Fertil Soils.* Vol. 25. P. 13–19.
135. *Takemoto D., Hardham R.* 2004. The cytoskeleton as a regulator and target of biotic interactions in plants // *Plant Physiol.* Vol. 136. P. 3864–3876.
136. *Tikhonovich I. A., Provorov N. A.* 2007. Cooperation of plants and microorganisms: getting closer to the genetic construction of sustainable agro-systems // *Biotechnol. J.* Vol. 2. P. 833–848.
137. *Timmers A. C. J., Vallotton P., Heym C., Menzel D.* 2007. Microtubule dynamics in root hairs of *Medicago truncatula* // *Eur. J. Cell Biol.* Vol. 86. P. 69–83.
138. *Tirichine L., Sandal N., Madsen L. H., Radutoiu S., Albrechtsen A. S., Sato S., Asamizu E., Tabata S., Stougaard J.* 2007. A gain-of-function mutation in a cytokinin receptor triggers spontaneous root nodule organogenesis // *Science.* Vol. 315. P. 104–107.
139. *Tokala R. K., Strap J. L., Jung C. M., Crawford D. L., Salove M. H., Deobald L. A., Bailey J. F., Morra M. J.* 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*) // *Appl. Environ. Microbiol.* Vol. 68. P. 2161–2171.
140. *Trouvelot A., Kough J., Gianninazzi-Pearson V.* 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un systeme radiculaire, Recherche de methods d'un estimation ayant une signification fonctionnelle // *Mycorrhizae: physiology and genetics*, ist. ESM: 1^{er} SEM. Dijon (1–5 Juli 1985, Paris). Paris: CNRA. P. 217–221.
141. *Valdenegro M., Barea J. M., Azcon R.* 2001. Influence of arbuscular-mycorrhizal fungi, *Rhizobium meliloti* strains and PGPR inoculation on the growth of *Medicago arborea* used as model legume for re-vegetation and

- biological reactivation in a semi-arid Mediterranean area // Plant Growth Regulation. Vol. 34. P. 233–240.
142. Vallad E., Goodman R. M. 2004. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture // Crop Sci. Vol. 44. P. 1920–1934.
143. Van Brussel A. A. N., Bakhuizen R., van Spronsen P. C., Spaink H. P., Tak T. K., Lugtenberg B. J. J., Kijne J. W. 1992. Induction of pre-infection thread structures in the leguminous host plant by mitogenic lipo-oligosaccharides of *Rhizobium* // Science. Vol. 257. P. 70–72.
144. Vance C. P. 2001. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in the world of declining renewable resources // Plant Physiol. Vol. 127. P. 390–397.
145. Van Dam N. M., Heil M. 2011. Multitrophic interactions below and above ground: en route to the next level // J. Ecol. Vol. 99. P. 77–88.
146. Vavilov N. I. 1922. The law of homologous series in variation // J. Genet. Vol. 12, N 1. P. 47–89.
147. Vesper S. J., Bauer W. D. 1986. Role of pili in attachment of *Bradyrhizobium japonicum* to soybean roots // Appl. Environ. Microbiol. Vol. 52. P. 134–141.
148. Vierheilig H., Coughlan A. P., Wyss U., Pyche Y. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi // Applied and Environ. Microbiol. Vol. 64, N 12. P. 5004–5007.
149. Wan X., Hontelez J., Lillo A., van de Peut D., Fedorova E., Bisseling T., Franssen H. 2007. Medicago truncatula ENOD40-1 and ENOD40-2 are both involved in nodule initiation and bacteroid development // J. Exp. Bot. Vol. 58. P. 2033–2041.
150. Weyens N., Van Der Lelie D., Taghavi S., Newman L., Vangronsveld J. 2009. Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation // Trends Biotechnol. Vol. 27. P. 591–598.
151. White J., Prell J., James E. K., Poole P. 2007. Nutrient sharing between symbionts // Plant Physiol. Vol. 144. P. 604–614.
152. Young N. D., Udvardi M. 2009. Translating Medicago truncatula genomics to crop legumes // Curr. Opin. Plant Biol. Vol. 12. P. 193–201.
153. Yuan Z. L., Zhang C. L., Lin F. C. 2010. Role of diverse non-systemic fungal endophytes in plant performance and response to stress: progress and approaches // J. Plant Growth Regul. Vol. 29. P. 116–126.

154. Zhu H., Choi H. K., Cook D. R., Shoemaker R. C. 2005. Bridging model and crop legumes through comparative genomics // *Plant Physiol.* Vol. 137. P. 1189–1196.
155. Агроклиматические ресурсы Орловской и Липецкой областей. Л.: Гидрометеиздат, 1972. 119 с.
156. Антипчук А. Ф., Садовников Ю. С., Скочинская Н. Н. 1986. Испытание клубеньковых бактерий сои в вегетационном опыте и использование некоторых математических методов для оценки значимости полученных результатов // *Микробиол. журн.* Т. 48, № 1. С. 25.
157. Ахтемова Г. А. 1998. Изменение структуры микробного комплекса почвы при использовании продуктов переработки стоков свино-откормочных предприятий в качестве удобрения: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб.: ВНИИ с.-х. микробиологии. 21 с.
158. Борисов А. Ю., Васильчиков А. Г., Ворошилова В. А., Данилова Т. Н., Жернаков А. И., Жуков В. А., Королева Т. А., Кузнецова Е. В., Мадсен Л., Мофетт М., Наумкина Т. С., Неманкин Т. А., Павлова З. Б., Петрова Н. Э., Пинаев А. Г., Радутаюс С., Розов С. М., Соловов И. И., Стоугард Й., Топунов А. Ф., Уиден Н. Ф., Цыганов В. Е., Штарк О. Ю., Тихонович И. А. 2007. Регуляторные гены гороха посевного (*Pisum sativum* L.), контролирующие развитие азотфиксирующих клубеньков и арбускулярной микоризы: фундаментальные и прикладные аспекты // *Прикладная биохимия и микробиология.* Т. 43, № 3. С. 265.
159. Борисов А. Ю., Наумкина Т. С., Штарк О. Ю., Данилова Т. Н., Цыганов В. Е. 2004. Эффективность использования совместной инокуляции гороха посевного (*Pisum sativum* L.) грибами арбускулярной микоризы и клубеньковыми бактериями для повышения продуктивности растений в устойчивом экологически ориентированном земледелии // *Докл. РАСХН.* № 2. С. 12–14.
160. Борисов А. Ю., Цыганов В. Е., Штарк О. Ю., Якоби Л. М., Наумкина Т. С., Сердюк В. П., Вишнякова М. А. 2002. Каталог мировой коллекции ВИР. Вып. 728. Горох (Симбиотическая эффективность) / Под ред. И. А. Тихоновича, М. А. Вишняковой. СПб: ВИР. 29 с.

161. Вишнякова М. А., Буравцева Т. В., Булынец С. В., Бурляева М. О., Семенова Е. В., Сеферова И. В., Александрова Т. Г., Яньков И. И., Егорова Г. П., Герасимова Т. В., Другова Е. В. 2010. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: Пополнение, сохранение и изучение // Методические указания / Под ред. М. А. Вишняковой. СПб.: ВИР. 141 с.
162. Волкова Т. Н., Енкина О. В., Мякушко Ю. П., Баранов В. Ф., Чернова Н. И., Горелова О. П. 1985. Соотношение роли растительного и микробного компонентов в эффективности бобово-ризобияльного симбиоза // Микробиология. Т. 54. С. 857–859.
163. Доспехов Б. А. 1985. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат. 336 с.
164. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Иконникова М. М., Ярош Н. И., Луковникова Г. А. 1987. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат. 430 с.
165. Жуков В. А., Штарк О. Ю., Борисов А. Ю., Тихонович И. А. 2009. Молекулярно-генетические механизмы контроля растением ранних стадий развития взаимовыгодных (мутуалистических) симбиозов бобовых // Генетика. Т. 45. С. 1449–1460.
166. Зотиков В. И., Голопятов М. Т., Акулов А. С., Борзенкова Г. А., Васильчиков А. Г., Кондыков И. В., Новиков В. М., Наумкина Т. С., Пьяных В. П., Хлебников А. И., Цуканова З. Р., Ревякин Е. Л., Гоголев Г. А. 2009. Перспективная ресурсосберегающая технология производства гороха: Методические рекомендации. М.: ФГНУ «Росинформагротех». 60 с.
167. Игнатов В. В. (ред.) 2005. Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. М.: Наука. 262 с.
168. Карпунина Л. В. 2005. Роль агглютинирующих белков ризобий и азотфиксирующих бацилл при взаимодействии с растением / Под ред. В. В. Игнатова. М.: Наука. 260 с.
169. Квасова Э. В., Проворов Н. А., Симаров Б. В., Серина О. И., Сметанин Н. И., Шумный В. К. 1994. Варьирование симбиотических признаков люцерны при инбридинге // С.-х. биология. № 5. С. 64–68.

170. *Климашевский Э. Л.* 1990. Генетический аспект минерального питания растений М. 415 с.
171. *Клисенко М. А. (ред.)* 1992. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. Справочник: Т. 1. М.: Колос. 567 с.
172. *Кожемяков А. П., Чеботарь В. К.* 2005. Биопрепараты для земледелия // Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве) / Под ред. И. А. Тихоновича, Ю. В. Круглова. М. С. 18–54.
173. *Кондратьев М. Н.* 1983. Состав азотистых соединений зерна фасоли в условиях преобладания двухвалентных катионов в питательной среде // Известия ТСХА. Вып. 2. С. 110–116.
174. *Кретович В. Л.* 1994. Биохимия усвоения азота воздуха растениями. М. 168 с.
175. *Кулаицев А. П.* 2006. Методы и средства анализа данных // 4-е изд., перераб. и доп. М.: Форум: Инфра. 512 с.
176. *Кунакова А. М.* 1998. Взаимодействие ассоциативных бактерий с растениями при различных агроэкологических условиях: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. СПб. 21 с.
177. *Лабутова Н. М.* 2009. Взаимоотношения эндомикоризных грибов с микроорганизмами ризосферы // Микол. фитопатол. Т. 43, № 1. С. 3–19.
178. *Лабутова Н. М., Левина Р. Л.* 2008. Динамика подвижных форм макроэлементов в ризосфере бобовых растений при функционировании различных симбиотических систем // Материалы Межрегиональной научно-практической конференции «Почвенные ресурсы Северо-Запада России: их состояние, охрана и рациональное использование». СПб. С. 135–140.
179. *Лабутова Н. М., Поляков А. И., Лях В. А., Гордон В. Л., Малиновский Б. Н.* 2004. Влияние инокуляции растений клубеньковыми бактериями и эндомикоризным грибом *Glomus intraradices* на урожай различных сортов сои и содержание белка и масла в семенах // Доклады Россельхозакадемии. № 2. С. 10–12.

180. Лазарева Е. К., Мирошникова М. П. 2004. Содержание белка в зерне различных генотипов фасоли // Физиологические аспекты продуктивности растений. Орел. Ч. 2. С. 246–247.
181. Лакин Г. Ф. 1990. Биометрия. М.: Высшая школа. 352 с.
182. Линевич Л. И. 1979. Лектины и углеводсвязывающие белки на разных уровнях организации живого // Успехи биол. химии. Т. 20. С. 71–94.
183. Марусалова Т. В. 2008. Комплексная экологическая оценка территории и пути нормализации ее состояния: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Рязань: Рязанский агротехнологический университет имени профессора П. А. Костычева. 25 с.
184. Орлов В. П., Орлова И. Ф., Гребенюк П. В. 1983. Оценка селекционного материала гороха на азотфиксирующую способность // Актуальные вопросы селекции сортов зернобобовых культур интенсивного типа: Сб. науч. тр. / ВНИИЗБК. Орел. С. 75–87.
185. Орлов В. П., Орлова И. Ф., Шербина Е. А., Гурьев Г. П., Васильчиков А. Г. 1984. Методика оценки активности симбиотической азотфиксации селекционного материала зернобобовых культур ацетиленовым методом. Орел. 15 с.
186. Пианка Э. 1981. Эволюционная экология. М.: Мир. 398 с.
187. Посыпанов Г. С. Методы изучения биологической фиксации азота воздуха. М.: Агропромиздат. 154 с.
188. Проворов Н. А. 2009. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум // Ж. общ. биол. Т. 70, № 1. С. 10–34.
189. Проворов Н. А., Воробьев Н. И., Андронов Е. Е. 2008. Макро- и микроэволюция бактерий в системах симбиоза // Генетика. Т. 44. С. 12–28.
190. Проворов Н. А., Кириосов М. М., Грушин А. А., Симаров Б. В. 1994. Действие инокуляции *Rhizobium meliloti* на урожайность и биохимические показатели люцерны // Физиол. и биохим. культ. раст. № 26. С. 281–288.
191. Проворов Н. А., Куликова О. А. 1998. Генетические основы селекции бобовых на повышение симбиотической активности // Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / Под ред. И. А. Тихоновича, Н. А. Проворова. СПб.: Наука. 194 с.

192. Проворов Н. А., Симаров Б. В., Зарецкая А. Н., Федоров С. Н., Кирносов М. М., Иванов А. И. 1987. Изменчивость культурных видов люцерны по способности к симбиотической азотфиксации // С.-х. биология. № 6. С. 29–32.
193. Проворов Н. А., Тихонович И. А. 2003. Эколого-генетические принципы селекции растений на повышение эффективности взаимодействия с микроорганизмами // Сельскохозяйственная биология. № 3. С. 1–25.
194. Рокицкий П. Ф. 1973. Биологическая статистика. Минск: Выш. шк. 320 с.
195. Саимназаров Ю. Б. 1991. Взаимодействие штаммов *Rhizobium meliloti* с сортами люцерны среднеазиатского генцентра: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л. 20 с.
196. Селянинов Г. Т. 1937. Методика сельскохозяйственной характеристики климата // Мировой агроклиматический справочник. Л.; М.
197. Семионова Н. А., Лысак Л. В., Горленко М. В., Звягинцев Д. Г. 2002. Структурно-функциональное разнообразие бактериальных комплексов различных типов почв // Почвоведение. № 4. С. 452–464.
198. Сметанин Н. И., Родынюк И. С., Соколов В. А., Шумный В. К. 1987. Полиморфизм видов гороха по азотфиксирующей активности // С.-х. биол. № 9. С. 40–43.
199. Танривердиев Т. А., Проворов Н. А., Логинов Ю. П., Симаров Б. В. 1994. Биохимический состав люцерны при образовании эффективного симбиоза с *Rhizobium meliloti* // Физиол. и биохим. культ. раст. № 26. С. 170–174.
200. Танривердиев Т. А., Проворов Н. А., Логинов Ю. П., Симаров Б. В. 1995. Отзывчивость сортов люцерны на инокуляцию *Rhizobium meliloti* в условиях Северной лесостепи Тюменской области // Сиб. вестн. с.-х. науки. № 1–2. С. 29–33.
201. Уиттекер Р. 1980. Сообщества и экосистемы. М.: Прогресс. 327 с.
202. Федин М. А. (ред.) 1985. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М.: Колос. 285 с.
203. Федоров С. Н., Симаров Б. В. 1987. Получение мутантов с измененными симбиотическими свойствами у *Rhizobium meliloti* под действием УФ лучей // С.-х. биология. № 9. С. 44–49.

204. Фесенко А. Н., Орлова И. Ф., Проворов Н. А., Симаров Б. В. 1995. Изучение симбиотических свойств клубеньковых бактерий гороха в вегетационных опытах // Докл. РАСХН. № 3. С. 24–26.
205. Чеботарь В. К., Казаков А. Е., Ерофеев С. В., Данилова Т. Н., Наумкина Т. С., Штарк О. Ю., Тихонович И. А., Борисов А. Ю. 2008. Патент РФ № 2318784. «Способ получения комплексного микробиологического удобрения». Зарегистрирован 10.03.2008. № 95036.
206. Чеботарь В. К., Казаков А. Е., Ерофеев С. В., Данилова Т. Н., Наумкина Т. С., Штарк О. Ю., Тихонович И. А., Борисов А. Ю. 2011. Патент України No 95036. «Спосіб одержання комплексного мікробіологічного добрива». Зарегистрирован 25.06.2011.
207. Чеботарь В. К., Завалин А. А., Кипрушкина Е. Н. 2007. Эффективность применения биопрепарата «Экстрасол». М.: Изд-во ВНИИА. 230 с.
208. Штарк О. Ю., Данилова Т. Н., Наумкина Т. С., Васильчиков А. Г., Чеботарь В. К., Казаков А. Е., Жернаков А. И., Неманкин Т. А., Прилепская Н. А., Борисов А. Ю., Тихонович И. А. 2006. Анализ исходного материала гороха посевного (*Pisum sativum* L.) для селекции сортов с высоким симбиотическим потенциалом и выбор параметров для его оценки // Экол. Генет. Т. 4, № 2. С. 22–28.
209. Якоби Л. М., Кукалев А. С., Ушаков К. В., Цыганов В. Е., Проворов Н. А., Борисов А. Ю., Тихонович И. А. 2000. Полиморфизм форм гороха посевного по эффективности симбиоза с эндомикоризным грибом *Glomus* sp. в условиях инокуляции ризобиями // Сельскохозяйственная биология. № 3. С. 94–102.

Научное издание

**Владимир Кузьмич Чеботарь,
Татьяна Сергеевна Наумкина,
Алексей Юрьевич Борисов**

**КОМПЛЕКСНОЕ МИКРОБНОЕ УДОБРЕНИЕ «БИСОЛБИМИКС»:
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ, СПОСОБЫ ПРОИЗВОДСТВА
И ПРИМЕНЕНИЯ, НАЗНАЧЕНИЕ**

Под редакцией А. Ю. Борисова

Технический редактор *А. Б. Левкина*
Дизайн обложки *И. Н. Граве*
Корректор *О. С. Капполь*
Оригинал-макет *И. Н. Гайдуков*

Подписано в печать 06.11.2015. Формат 60 × 88 ¹/₁₆.
Усл. печ. л. 14,7. Тираж 1000 экз. Печать офсетная.
Заказ № 222Р.

Отпечатано в типографии
издательско-полиграфической фирмы «Реноме»,
192007, Санкт-Петербург, наб. Обводного канала, д. 40.
Тел./факс (812) 766-05-66
E-mail: renome@comlink.spb.ru
www.renomespb.ru