

УДК 632+632.9

Б.А. Сулайманова, К.А. Амантурова,

**ШТАММ ДРОЖЖЕЙ *EXOPHIALA NIGRUM*, ИСПОЛЬЗУЕМЫЙ ДЛЯ  
ОБРАБОТКИ СЕМЯН И ВЫРАЩИВАНИЯ РАСТЕНИЙ.**

*В данной статье авторы разрабатывают систему ускорения роста растений и защиты их от болезней. Повышение урожайности зерновых культур при помощи биологических препаратов и получения экологически чистой продукции.*

Цель использования - применение нового штамма, удобного в биотехнологическом отношении, обеспечивающего при инокуляции улучшения роста и развития растений, повышающего их урожайность, устойчивость к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам, улучшающим качество получаемой продукции растениеводства, обеспечивающим экологические преимущества в технологии растениеводства [1].

Поставленная задача решается за счет нового штамма *Exophiala nigrum* А-26, который повышает урожайность растений, удобен в биотехническом отношении, способен размножаться на искусственных питательных средах, сохраняя свои свойства при пересевах, позволяет с повышенной эффективностью стимулировать рост и развитие растений, повышает иммунитет и общую устойчивость растений к неблагоприятному действию биотических и абиотических факторов, существенно улучшает качество получаемой продукции.

**Штамм имеет следующую характеристику:**

**1. Номенклатурные данные А-26:**

Родовое название: *Exophiala*, видовое *nigrum*.

Происхождение: получен как мутант индуцированный действием УФ - облучивание от штамма Р-11. Исходный штамм Р-11. - - - - -  
был выделен из пробы байкальской воды, взятой на поверхности слоя в 5 м. от берега в сентябре 1977г.

**2. Биотехнологические характеристики штамма А-26:**

Штамм А-26 продуцирует комплекс ростовых веществ и ферментов, стимулирующих прорастание семян, процессы корнеобразования, урожайность, а также повышающих иммунитет растений и устойчивость. Предназначен для использования при размножении и выращивании растений, для обработки семян и посадочного материала [1].

В таблице 1 приведены некоторые сведения о биотехнологических свойствах исходного штамма Р-11, который используется для очистки сточных вод. Способность исходного штамма стимулировать рост и развитие растений, повышение их урожайности выяснилось позже. Сравнительные исследования показали, что штамм А-26 по активности превосходит родительский Р-11 [1].

Половой процесс не обнаружен. Рост на плотных средах. На агаризованных средах при температуре 22 °С колонии дрожжевого типа появляются на 2-3 сутки.

Штрих прямой, профиль выпуклый, край ровный, цвет серовато-бурый, темный с блеском. Консистенция пастообразная. Через месяц штрих уплотненный, слегка складчатый, неравномерно опущенный. Гигантская колония достигает диаметра 18-26 мм., выпуклая по краям, опущенная, серовато-бурого цвета, край ровный, центр приподнятый, консистенция пастообразная, уплотненная. На бедных средах (минимальной) край опущенный, на УЕР - по краю валик темного цвета. Рост в жидкой среде.

При росте в минимальной среде в условиях перемешивания помутнение наблюдается на 2 сутки, на 3-4 сутки супсензия темная, буроватого оттенка. В отсутствие перемешивания на дне - темный осадок дрожжевых клеток: пленки или кольца нет. Через месяц в отсутствие перемешивания на поверхности дерновинка мицелия, обильный осадок на дне: запаха, пенообразования не наблюдается.

При культивировании на твердых средах пигмент не выделяется. Продуцирует комплекс ростовых веществ и ферментов, определяющих свойство штамма стимулировать рост, устойчивость и урожайность растений. Эти свойства стабильны при хранении в течении трех месяцев и сохраняются при пересевах. Периодичность посевов мухейных образцов штамма А-26 три месяца [1].

При проверке патогенных, вирулентных, алергенных, токсикогенных и токсических свойств установлена полная безопасность штамма А-26. Штамм А-26 рекомендован для практического использования как безопасный для теплокровных организмов и растений [2].

#### **Примеры использования штамма А-26.**

Подготовку маточной культуры штамма А-26, необходимую для изготовления биопрепарата, осуществляли следующим образом. Музейный образец штамма А-26 пересевали на чашки Петри с твердой средой. На 4-5 сутки после посева просматривали газон выросших колоний, и в случае отсутствия посторонней микрофлоры, использовали для наращивания маточной культуры А-26 в жидкой среде. В 1-2 литровые колбы, заполненные на 2/3 объема стерильной жидкой средой, опускали 1 агаровую пластинку с газоном, выросших в ней клеток штамма А-26.

Колбы со средой, инокулировали при постоянном перемешивании 24ч. при температуре 20-22 °С. На вторые сутки, когда титр суспензии достигал  $1-5 \cdot 10^8$  кл/мл., полученную маточную культуру переносили в ферментеры большего размера, заполненные стерильной жидкой средой того же состава. Возможно использование упрощенных вариантов жидких сред, содержащих азот, фосфор и калий в соотношении 90:60:30.

Титр исходной суспензии после внесения маточной культуры  $1-10 \cdot 10^5$  кл/мл. Культивирование в ферментере при температуре 18-20°С при постоянном или периодическом перемешивании. Через 2-3 суток титр суспензии клеток достигал  $1-5 \cdot 10^8$  кл/мл.

Полученная суспензия используется в дальнейшем в качестве препарата, применяемого в растениеводстве [3].

В производственных условиях Биологической лаборатории ИГУ исследовали влияние

штамма А-26 на рост развития, скорость созревания и урожайность пшеницы, ячменя. В опытных вариантах использовали штамм А-26. Обработку проводили в день посева или за 1-3 дня до посева.

Расход клеточно-ферментной суспензии А-26 10-15 литров на одну тонну зерна. Для озимых и яровых культур установлено, что А-26 стимулирует всхожесть, снижает процент пораженных гнилью семян. Учет проводили через 1 месяц после посева. Размер учетных делянок 30 см. по рядку, по пять повторностей в каждом варианте.

Обработка семян злаков перед посевом клеточно-ферментной суспензией А-26 стимулирует формирование мощного узла кущения у растений. Мощная корневая система обеспечивает хороший контакт с почвой, что в свою очередь, является основой для лучшего снабжения растений влагой и минеральными солями. Под действием А-26 обеспечивается закладка и развитие большего числа стеблей.

В таблице 5 представлены данные об увеличении продуктивной кустистости у разных сортов пшениц под действием А-26 [3].

В таблицах 6,7,8 приведены данные, полученные при проведении производственных испытаний, о влиянии штамма А-26 на урожайность пшеницы.

По сравнению с контролем, где инокуляция не проводилась, урожайность пшениц в опыте повышается на 5,8-10,9 ц/га для яровых и на 10,3-11,2 ц/га для озимых сортов пшеницы [3].

*Таблица 1.*

**Сравнительная характеристика биотехнологических важных свойств штамма А-26**

<b>Сравниваемые показатели</b>	<b>Исходный штамм Р-11</b>	<b>Прототип Clomussp № 7</b>	<b>Предлагаемый штамм А-26</b>
Синтез ростовых веществ	Не идентифицированный комплекс, максимальная активность на 10-12 сутки (по биотестам)	Не растет на искусственных питательных средах, поэтому исследования биотехнологически важных свойств сильно ограничены.	Комплекс гормонов, включающий ИУК и цитокинин (по биотестам с максимальной активностью на 7-10 сутки).
Стимулирующее действие в биотестах: а) растяжение калеоптилей пшеницы, мм.	19,5±0,5	Не исследованы	22,5±1,5
б) процент прорастания семян салата.	66,7	Не исследованы	81,8
Выявляемые ферментативные активности	Урезанная тирозиназная (фенолоксидазная)	Неизвестны	Урезанная каталазная, тирозиназная-(фенолоксидазная), слабая.

Таблица 2.

**Основные характеристики условий роста штаммов А-26 и Р-11**

Штамм	Температура	Галлотолерантность	Осмолотолерантность	РН	Отношение к O <sub>2</sub>	Отношение к циклогексамиду
А-26	+4°C +37°C оптимальная 22°C -25°C	до 25% NaCl	40% глюкозы	от 2,0 до 10,0 оптимальная 5,0-7,0	аэроб.	Чувствит. к 100мкм/мл
Р-11	+4°C + 30°C оптимальная 20°C + 25°C	7% NaCl	до 50% глюкозы	3,5-7,0 оптимальная 5,5-7,0	аэроб.	

Таблица 3.

**Отношение штамма А-26 к источникам азота**

Название вещества	Активность использования
Пептон	+++
КИОЗ	+++
(NH <sub>4</sub> )SO <sub>4</sub>	+++
аспарагин	+++
мочевина	+++

Таблица 4.

**Влияние штамма А-26 на всхожесть семян пшеницы Безостая-1.**

Состояние посевов	Процент всходов в вариантах:	
	Опыт А-26	Контроль без обработки
Всходов	89,7	65,8
Не проросших семян	10,1	23,8
Пораженных гнилью семян	0,2	10,4

Таблица 5.

**Влияние штамма А-26 на продуктивную кустистость озимых и яровых сортов пшениц.**

Сорта пшениц	Продуктивная кустистость		
	Опыт А-26	Контроль (без обр.)	Превышение контроля %
<b>Яровые:</b>			
Безенчукская – 89	1,5	1,1	36,4
Саратовская – 29	1,2	0,9	33,3
Казахстанская	1,4	1,1	27,3
<b>Озимые:</b>			
Безостая – 1	1,5	1,2	25,0
Краснодарская-70	2,2	1,6	37,5

Таблица 6

**Оценка влияния штамма А-26 (Биолигнин) на урожайность ячменя и пшеницы при снижении нормы высева.**

Культура, сорт, вариант	Норма высева (штук зерен на 1га)	Урожайность		Влажность
		ц/га	%	
Ячмень с. Донецкий контроль (без инокуляции)	6000000	18,0	100,0	стандарт
Опыт (инокуляция А-26)	4800000	27,2	151,1	стандарт
Пшеница с. Саратовская-29 контроль (без инокуляции)	7000000	16,2	100,0	стандарт
Опыт (инокуляция А-26)	5600000	22,0	135,8	стандарт

Таблица 7.

**Влияние штамма А-26 на урожайность разных сортов пшеницы.**

Сорт	Факт.урожайность ц/га		Превышение над контролем	
	Опыт А-26	Контр.без обраб.	ц/га	%
<b>Яровые пшеницы:</b>				
Безенчурская-89	39,9	29,0	10,9	37,5
Саратовская-29	32,3	26,5	5,8	21,9
Казахстанская	44,6	37,5	7,1	18,9
Безенчурская-89	33,0	24,0	9,0	37,5
<b>Озимые пшеницы:</b>				
Безостая-1	36,0	24,8	11,2	45,1
Краснодарская	49,0	38,7	10,3	26,6

Таблица 8

**Влияние штамма А-26 на качество зерна**

Сорт. Вариант	Масса 1000 зерен	Стекловидность %	Содержание в зерне протеина, клейковины	
			%	%
Краснодарская-70 Контроль без обр.	30,2	93,0	13,85	30,0
Опыт А-26	36,8	98,0	15,95	36,0
Безостая-1 Контроль без обр.	32,1	99,0	14,50	32,0
Опыт А-26	32,5	99,0	15,60	36,0
Казахстанская Контроль без обр.	25,6	43,0	12,70	19,6
Опыт А-26	29,1	72,0	14,40	27,2
Безенчурская-89 Контроль без обр.	30,1	66,0	11,01	18,0
Опыт А-26	32,8	84,0	13,13	28,1

**Влияние штамма А-26 на повышение устойчивости пшеницы к поражению пыльной головней**

Сорт, культура	Процент растений пораженных пыльной головней	
	Опыт А-26	Контроль без обработки
Пшеница Казахстанская	0,8	3,07
Пшеница Саратовская-29	0,6	0,90

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Патентные материалы «Штамм дрожжей, используемый для обработки семян и выращивания растений». Роспатент. Патент № 2103872 от 10.02.98г.
2. Савченков М.Ф. Заключение экспертной комиссии по оценке безопасности применения «Черных дрожжей».
3. Кальчин К.И., Маяш Ю.А., Справка о рекомендации для внедрения в промышленность непатогенных грибов – продуцентов. Арганский НИИ гигиены труда и профзаболеваний. 01.1982г.
4. Михайлова Л.А. Справка о непатогенности биолигнина к злаковым культурам. ВАСХНИЛ.НИИ Защиты растений. № К-22 март 1983г.
5. Лепин В.В., Куликов Г.А. Согласование на производство маточных культур и препарата «Биолигнин». Иркутский обл.центр госсанэпиднадзора. №5.1.29/998 14.05.93г.