

# Роль фосфита в растении рост и развитие



## **White paper**

APRIL 2020

Dr Ranjan Swarup  
Dr Umar Mohammed  
Dr Jayne Davis  
Dr Steve Rossall

School of Biosciences  
University of Nottingham



University of  
**Nottingham**

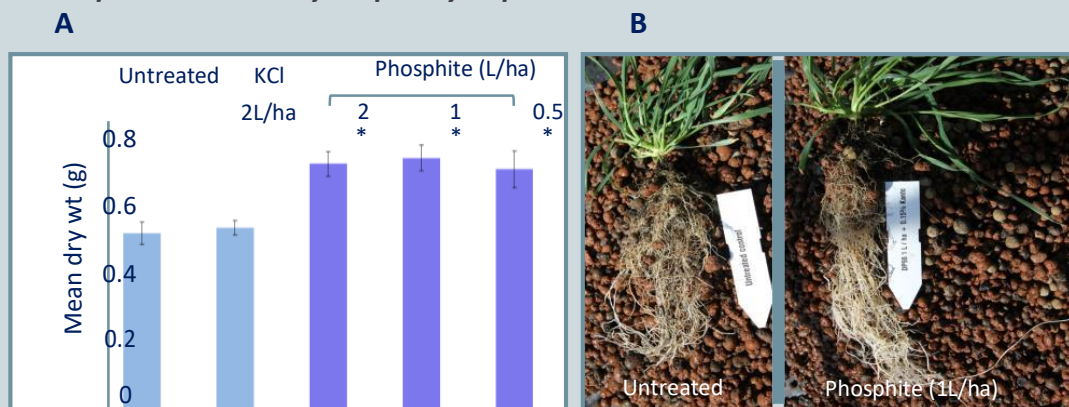
UK | CHINA | MALAYSIA



Глобальная продовольственная безопасность - одна из самых серьезных проблем, стоящих перед мировым сельским хозяйством. Срочно требуются значительные улучшения урожайности сельскохозяйственных культур, чтобы соответствовать прогнозируемому увеличению мирового населения на 50% к 2050-2. Было проведено несколько исследований и отчетов, которые предполагают, что улучшение корневой архитектуры может иметь глубокое влияние на повышение урожайности сельскохозяйственных культур и эффективности использования ресурсов.

Фосфит (или фосфонат) представляет собой восстановленную форму фосфата, которая относится к классу химикатов, способствующих росту сельскохозяйственных культур, которые называются биостимуляторами растений (для простоты они называются биостимуляторами в этом техническом документе). Внекорневая подкормка фосфита ускоряет рост и развитие корней у ряда видов растений, обычно увеличивая биомассу примерно на 30% (рис. 1) 3-7.

**Рисунок 1: Фосфит способствует росту корней**



Растения пшеницы обрабатывали составом на основе фосфита калия на стадии GS12, собирали урожай на стадии GS23 и измеряли сухой вес корней. Сухая масса корня увеличивалась только после обработки фосфитом (не K). \* означает  $P \leq 0,05$ . Рисунок изменен по материалам: 4Rossall S, Qing C, Paneris M, Bennett M и Swarup R. 2016 «Растущая» роль фосфитов в стимулировании роста и развития растений.

**Фосфит не может быть преобразован в фосфат, поэтому не способствует росту растений через механизм питания<sup>8</sup>. В рамках гранта BBSRC LINK мы исследовали влияние фосфита на рост растений. Используя систематический подход, включающий комбинацию клеточной биологии, физиологии растений, биохимии и методов рентгеновской визуализации, мы проверили влияние фосфита на пшеницу и масличный рапс. Кроме того, у нас есть шесть промышленных партнеров с отличным опытом в исследованиях, разработках и маркетинге ряда биостимуляторов, включая фосфит. Их исследования биостимулирующих свойств фосфитов в тепличных и полевых условиях дополняют физиологические исследования, проводимые в более контролируемых условиях в Ноттингеме. Они тестировали различные составы, дозы и их влияние на ряд культур и в различных агроклиматических условиях в нескольких разных странах, включая Великобританию, Испанию, Италию, Германию, Чешскую Республику, Финляндию, Канаду и Бразилию.**

*В этом техническом документе резюмируются основные выводы гранта BBSRC-LINK.*

- Внекорневая подкормка фосфитом (обычно 1 л препарата / га) увеличивает биомассу корней в среднем на 30% (Рисунок 1). Мы обнаружили, что как в масличном рапсе, так и в пшенице некоторые сорта более чувствительны к обработке фосфитом. Мы также обнаружили, что реакция пшеницы на фосфит более сильная, чем у масличного рапса.
- Как в пшенице, так и в масличном рапсе действие фосфита более выражено при умеренном стрессе (ограниченный водный режим или пониженная концентрация питательных веществ).
- Обработка пшеницы фосфитом улучшает архитектуру корневой системы, что подтверждается рентгеновской компьютерной томографией.
- Некорневая подкормка фосфитом обычно улучшает ассимиляцию углерода и эффективность использования воды листьями (количество углерода, получаемого на единицу потери воды).
- В малых дозах фосфиты не влияют на листовые болезни пшеницы; septoria пятнистость листьев и мучнистая роса, и поэтому не действуют как фунгициды.
- Фосфиты не вызывают защиты растений, когда бобы Phaseolus и Vicia были заражены повсеместно распространенным грибковым патогеном растений Botrytis cinerea.
- В сотрудничестве с Кильским университетом мы показали, что обработка фосфитом приводит к увеличению содержания нитратредуктазы - ключевого фермента в ассимиляции азота.

**Наши результаты показывают, что низкие дозы фосфита способствуют росту корней и повышают эффективность использования ресурсов и, таким образом, вероятно, окажут прямое влияние на доход фермерских хозяйств, что приведет к повышению пищевой, финансовой и социальной стабильности. Это облегчает вход в новую область точного земледелия, где можно намеренно изменять характеристики.**

**с применением безвредных химикатов**

# Full Report

Фосфиты представляют собой восстановленную форму фосфата, которая принадлежит к классу химикатов, способствующих росту сельскохозяйственных культур, называемых биостимуляторами. Внекорневая подкормка фосфитом ускоряет рост и развитие корней у ряда видов растений, обычно увеличивая биомассу примерно на 30%.

## Введение

Зеленая революция привела к резкому увеличению производства продуктов питания за счет создания высокоурожайных карликовых сортов риса и пшеницы и применения больших количеств неорганических удобрений, пестицидов и поливной воды. К сожалению, такое повышение продуктивности сельского хозяйства оказало пагубное воздействие на окружающую среду, увеличив засоление почв, загрязнение грунтовых вод и использование ~ 8% мировой добычи нефти. Кроме того, согласно оценкам, к 2030 году численность населения мира достигнет ~ 8,3 млрд человек, при этом большая часть этого прироста придется на развивающиеся страны<sup>1,2</sup>. Необходимость кормить это растущее население устойчиво и противостоять серьезным угрозам урожаю продовольственных культур, возникающим в результате изменения климата, как нельзя более остро. При отсутствии сельскохозяйственных угодий увеличение производства продуктов питания на 40-50% должно быть достигнуто за счет устойчивой интенсификации сельского хозяйства. Было проведено несколько исследований и отчетов, которые предполагают, что улучшение корневой архитектуры может иметь глубокое влияние на повышение урожайности сельскохозяйственных культур и эффективности использования ресурсов<sup>9-11</sup>.

Биостимуляторы появляются как класс химических веществ, способствующих росту сельскохозяйственных культур, и могут сыграть важную роль в обеспечении урожайности и повышении эффективности, что может стать ключевым компонентом интегрированного растениеводства<sup>12</sup>. Биостимуляторы не являются ни питательными веществами, ни удобрениями, ни пестицидами. Биостимуляторы влияют на рост и развитие растений по-разному на протяжении всего жизненного цикла культуры, от прорастания семян до созревания растений. К ним относятся: Повышение эффективности метаболизма растений для улучшения качества урожая, урожайности и устойчивости к абиотическим воздействиям. Биостимуляторы способствуют восстановлению растений после абиотического стресса, улучшают усвоение и распределение питательных веществ и воды, улучшают качество растительной продукции, включая содержание сахара, цвет и т. Д. Они также могут помочь улучшить физико-химические свойства почвы и способствовать взаимодействию растительных микробов.

В этом техническом документе кратко излагается работа, проделанная Ноттингемским университетом в рамках гранта BBSRC-LINK с шестью промышленными партнерами по биостимулирующим свойствам фосфитов.

Фосфиты представляют собой восстановленную форму фосфатов, и в нескольких исследованиях сообщалось о положительном влиянии фосфитов на рост и развитие растений<sup>3-7</sup>. Фосфит не может быть преобразован в фосфат, поэтому не способствует росту растений через механизм питания.

Некоторые соли фосфита прошли предварительную регистрацию в качестве пестицидов. В высоких дозах они могут подавлять некоторые оомицеты, патогенные микроорганизмы, такие как фитофтора. Вероятно, это опосредовано индукцией экспрессии защитного гена хозяина. Мы представим данные, чтобы показать, что фосфиты, применяемые в низких дозах без фунгицидной активности, также могут действовать как биостимуляторы, опосредуя усиленное развитие корней у сельскохозяйственных культур (3Swarup et al (2015) New Ag International Nov / Dec, 76-77; 4Rossall et al. (2016) Acta Hortic 1148, 61-67).

Эти выводы можно резюмировать следующим образом:

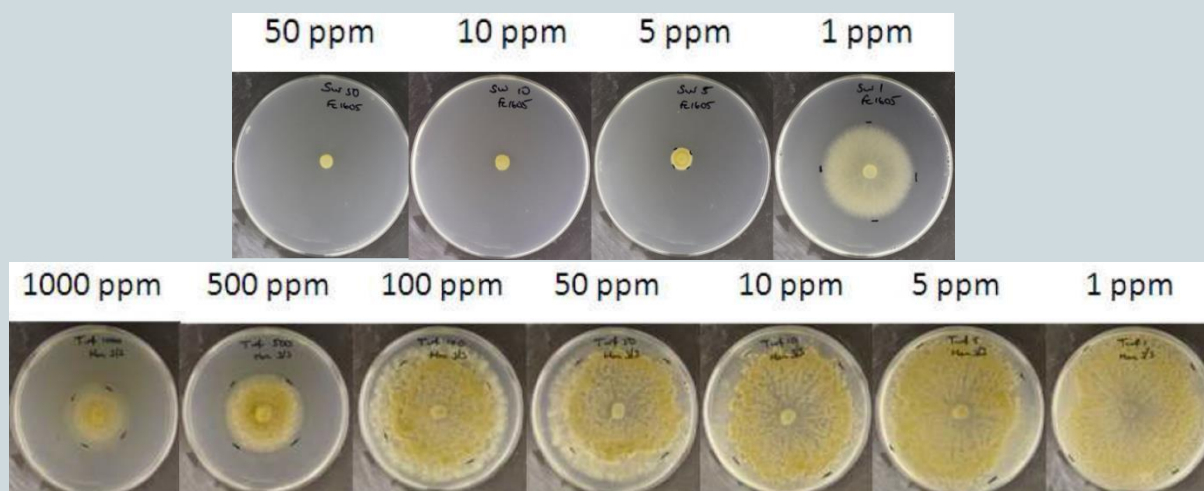
Некорневая подкормка фосфитом ускоряет рост и развитие корней у ряда видов растений, обычно увеличивая биомассу на 30% (рис. 1).

В используемых дозах фосфиты не влияют на листовые болезни пшеницы; пятнистость листьев септориоза и мучнистая роса.

Фосфиты не вызывают защиты растений, когда бобы *Phaseolus* и *Vicia* были заражены повсеместно распространенным грибковым патогеном растений *Botrytis cinerea*.

В благоустроенном газоне фосфиты уменьшают симптомы болезни *Microdochium* (снежная плесень, корневое заболевание). Независимый отчет<sup>13</sup> и работа, проведенная в FERA (Йорк, Великобритания), пришли к выводу, что использованный фосфит имел незначительную фунгицидную активность против этого истинного гриба или не имел ее (рис. 2).

Рисунок 2: Фосфиты проявляют незначительную фунгицидную активность или не проявляют ее вовсе.



Рост *Microdochium nivale* в присутствии (а) обычного фунгицида ипридиона (ЕС 50 1PPM) и (б) фосфит (ЭК50 500 ч / млн) Тем не менее, мы подтвердили, что внесение фосфита на листья значительно усиливает рост корней у райграса. Таким образом, подавление симптомов фенотипического заболевания, вероятно, приведет к ускользанию от болезни, так как у травы будет достаточно здоровых корней, чтобы выдержать инфекцию.

# Грант BBSRC-LINK

В рамках гранта Research Council UK (BBSRC) LINK с шестью промышленными партнерами мы изучаем механизм (ы), с помощью которого фосфиты способствуют росту корней и как это влияет на физиологию над землей, а также на эффективность использования питательных веществ и воды. Кроме того, наши партнеры участвуют в серии исследований биостимулирующих свойств фосфитов в тепличных и полевых условиях и, таким образом, дополняют физиологические исследования, проводимые в более контролируемых условиях в Ноттингеме. Они продолжают тестировать различные составы, дозы и их влияние на ряд культур и в различных агроклиматических условиях в нескольких странах, включая Великобританию, Испанию, Италию, Германию, Чешскую Республику, Финляндию, Канаду и Бразилию.

## Основные выводы

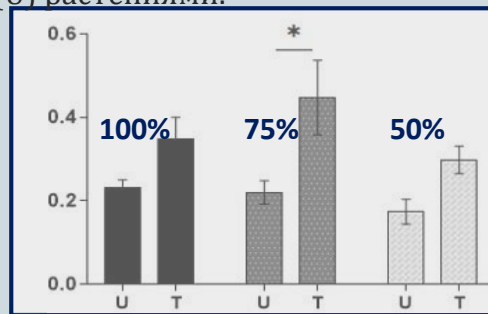
Мы показываем, что обработка фосфитом повышает эффективность использования ресурсов (Рисунок 3). Подробный анализ корневых признаков с помощью 2D-бумаги для проращивания (рис. 4) и неинвазивной трехмерной рентгеновской КТ (рис.

5) изображения показывают, что обработка фосфитом улучшает свойства корней.

Рисунок 3: Обработка фосфитом повышает эффективность использования ресурсов

## Эффективность использования питательных веществ

Растения, обработанные фосфитом (Т), демонстрируют увеличение корневой биомассы при различной концентрации питательных веществ коммерческого растворимого удобрения (NPK: 20-8-20) по сравнению с необработанными (U) растениями.

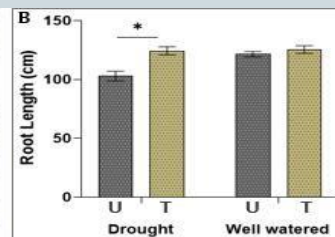


% standard nutrients

Root Biomass (g)

## Эффективность водопользования

Растения, обработанные фосфитом (Т), демонстрируют увеличение длины корня при засухе. (ограниченная поливка через 7 дней после посева)



Пшеница, выращенная в питательном растворе. Применение фосфита GS12-GS16; Оценка роста через 30-45 дней после лечения. \* указывает

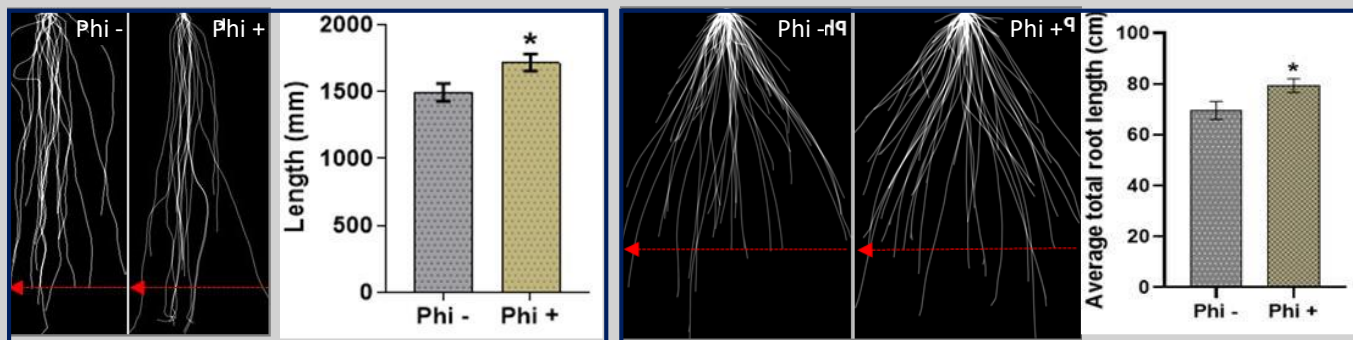
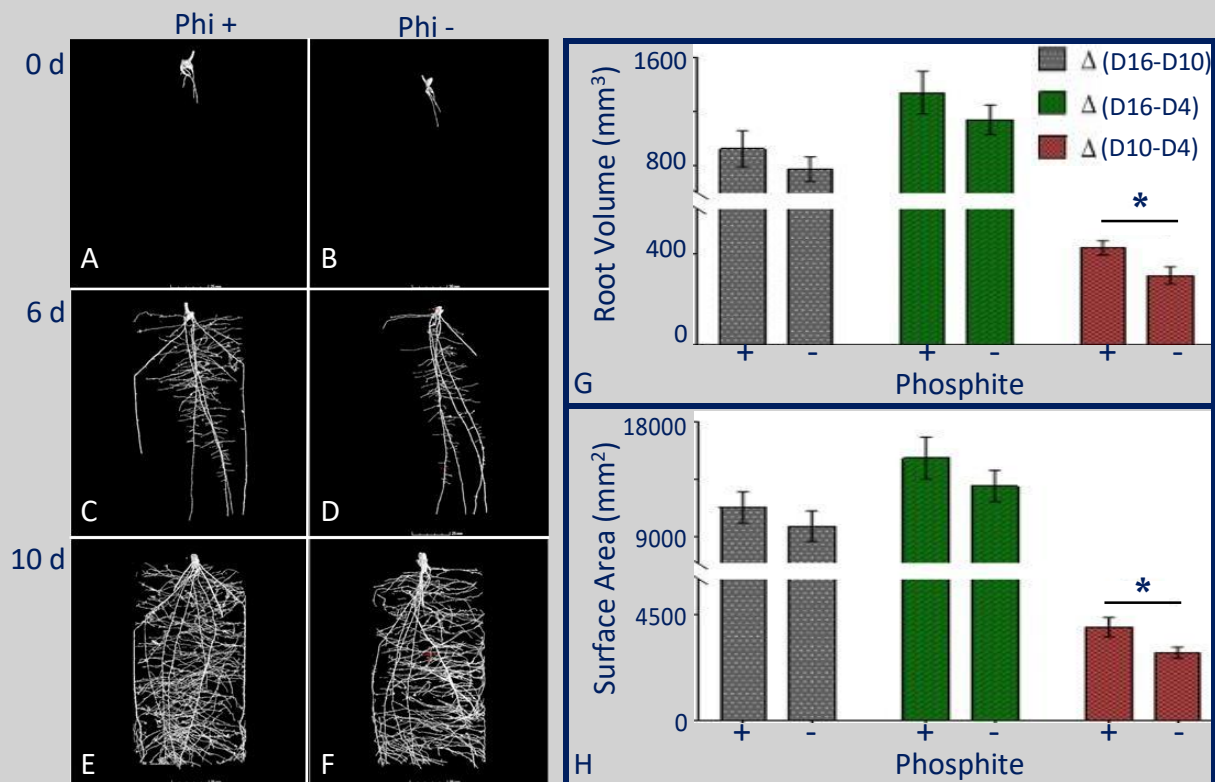


Рисунок 4: Обработка фосфитом улучшает корневые свойства

Наложенные двухмерные изображения корней молодых проростков, выращенных в гидропонике, показывают улучшение длины первичных корней через 7 дней после обработки фосфитом у масличного рапса (А) и пшеницы (В). Предварительно пропитанные семена выращивали на бумаге для проращивания, обрабатывали фосфитом, и оценку роста проводили через 7 дней после обработки. Изображения были проанализированы с помощью imageJ.

Рисунок 5: Рентгеновская компьютерная томография пшеницы с высоким разрешением показала, что фосфит улучшает свойства корней.

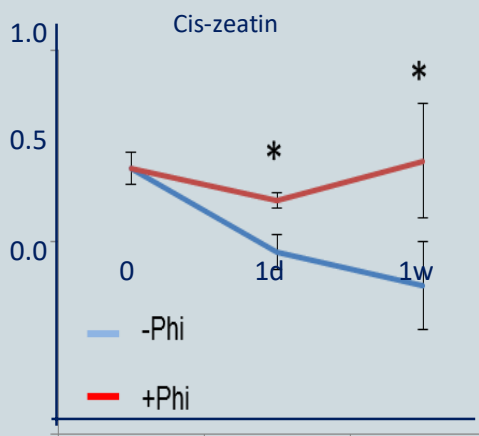


Рентгеновская компьютерная томография (А-В) показывает, что обработка фосфитом приводит к увеличению объема корня и площади поверхности корня (G, H). Семена пшеницы (разновидность siskin) высевали в супесчаную почву небольшими столбиками (7,5 x 17 см). Четырехдневные проростки обрабатывали составом на основе фосфита калия и проводили рентгеновскую КТ-визуализацию через 0, 6 и 12 дней после обработки. Все значения представляют собой средние значения ± стандартная ошибка (n = 10); \* означает P≤0,05.

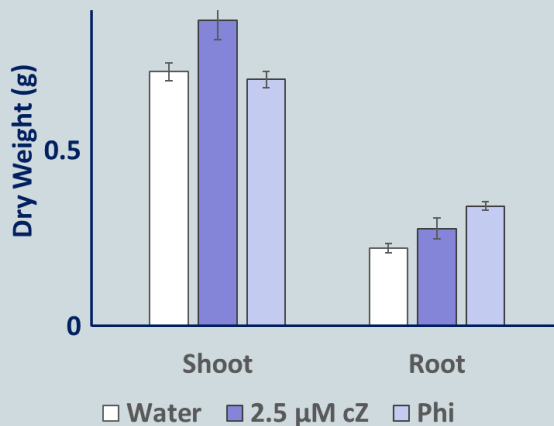
## Фосфит: механизм действия

Гормоны растений представляют собой ключевые факторы, регулирующие рост и развитие корней. Чтобы проверить, играют ли гормоны растений роль в регуляции корневой архитектуры, мы выполнили подробное профилирование ключевых классов гормонов растений (а также их предшественников и продуктов распада). Один класс цитокининов, называемый цис-зеатином (cZ), показал значительное увеличение тканей корня во все временные точки (рис. 6). Цитокинины играют жизненно важную роль во время органогенеза боковых корней (LR) в направлении потока ауксина в новые зачатки LR14. Это предполагает возможный механизм действия, посредством которого внесение фосфита на листовую способствует производству cZ в побегах, который затем транспортируется к примордиям LR, где способствует последующим процессам, таким как прорастание LR. Мы обнаружили, что прямое применение cZ улучшает биомассу корней и побегов пшеницы (рис. 7), что еще раз подтверждает нашу гипотезу. В настоящее время проводятся эксперименты, чтобы определить, опосредованы ли эффекты фосфитов через cZ.

Рисунок 6: фосфиты повышают уровень цис-зеатина



*Гормональный анализ показывает значительное увеличение в уровнях цис-зеатина в корнях после обработки фосфитом. \* означает  $P \leq 0,05$ .*



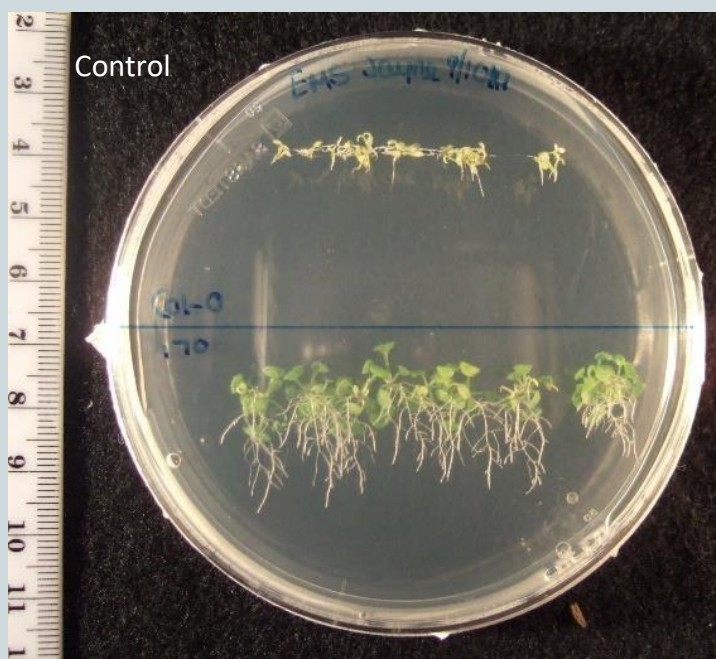
Растения, обработанные фосфитом (T), показывают увеличение в биомассе корней при обработке цис-зеатином.



# Путь передачи фосфитного сигнала

Чтобы идентифицировать новые компоненты пути ответа фосфита, мы выполнили беспрецедентный прямой генетический скрининг с использованием гомозиготной популяции EMS15 (INRA Versailles). Эта популяция насчитывает более 300 линий со 100-400 независимыми мутациями в каждой линии с высокой вероятностью мутации в каждом гене Arabidopsis. Эта популяция была выращена в присутствии ингибирующей концентрации фосфита, и было идентифицировано 14 линий, которые не реагируют на обработку фосфитом и, таким образом, могут иметь дефект в пути ответа фосфита (рис. 8). Характеристика этих генов с использованием подхода групповой сегрегации и секвенирования следующего поколения, вероятно, прольет свет на путь ответа на фосфит.

## РИСУНОК 8: ПРОГРЕССИВНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ ПУТИ ОТВЕТА НА ФОСФИТ

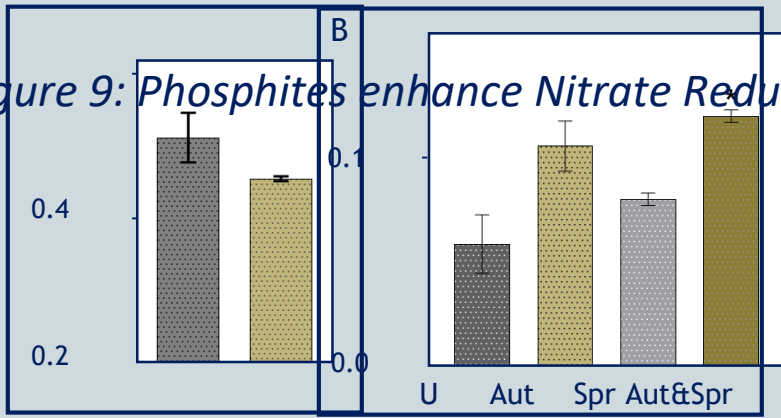


Семена арабидопсиса стерилизовали и высевали непосредственно на чашки, содержащие фосфит в ингибирующей концентрации.

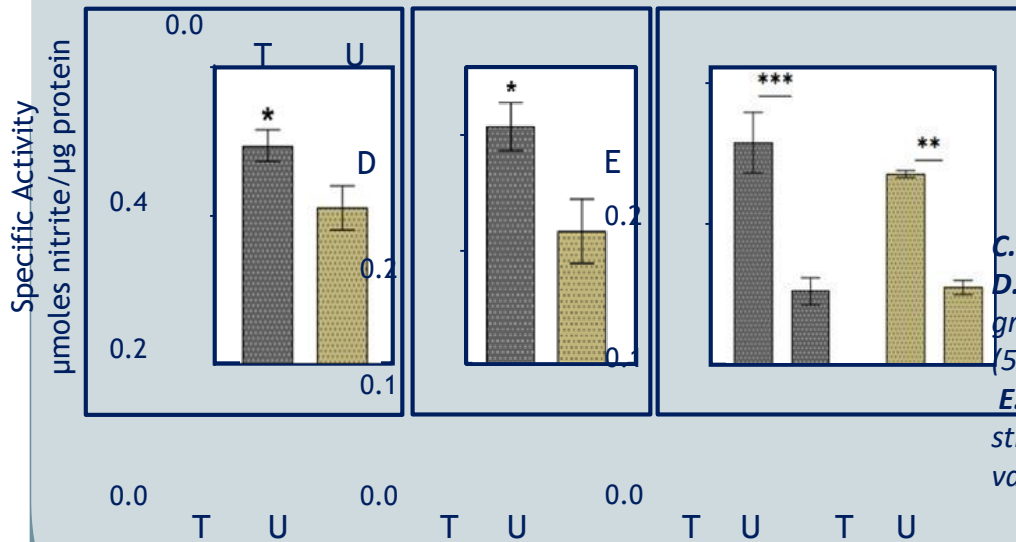
Оценка роста проводилась через 5-7 дней после обработки. Устойчивые к фосфиту проростки были переданы следующему поколению, и их устойчивость к фосфиту была дополнительно подтверждена в следующем поколении.

Обработка фосфитом приводит к повышению активности нитратредуктазы

Исследователи из Института фитопатологии Кильского университета ясно показали, что обработка фосфитом приводит к индукции нитратредуктазы (NR), ключевого фермента, участвующего в ассимиляции азота<sup>6-7</sup>. Эти результаты были подтверждены в Ноттингеме как для пшеницы, так и для масличного рапса (Рисунок 9).



**A.** Oilseed rape (variety Skye)  
**B.** Wheat (variety siskin) grown in field with different time of phosphite application



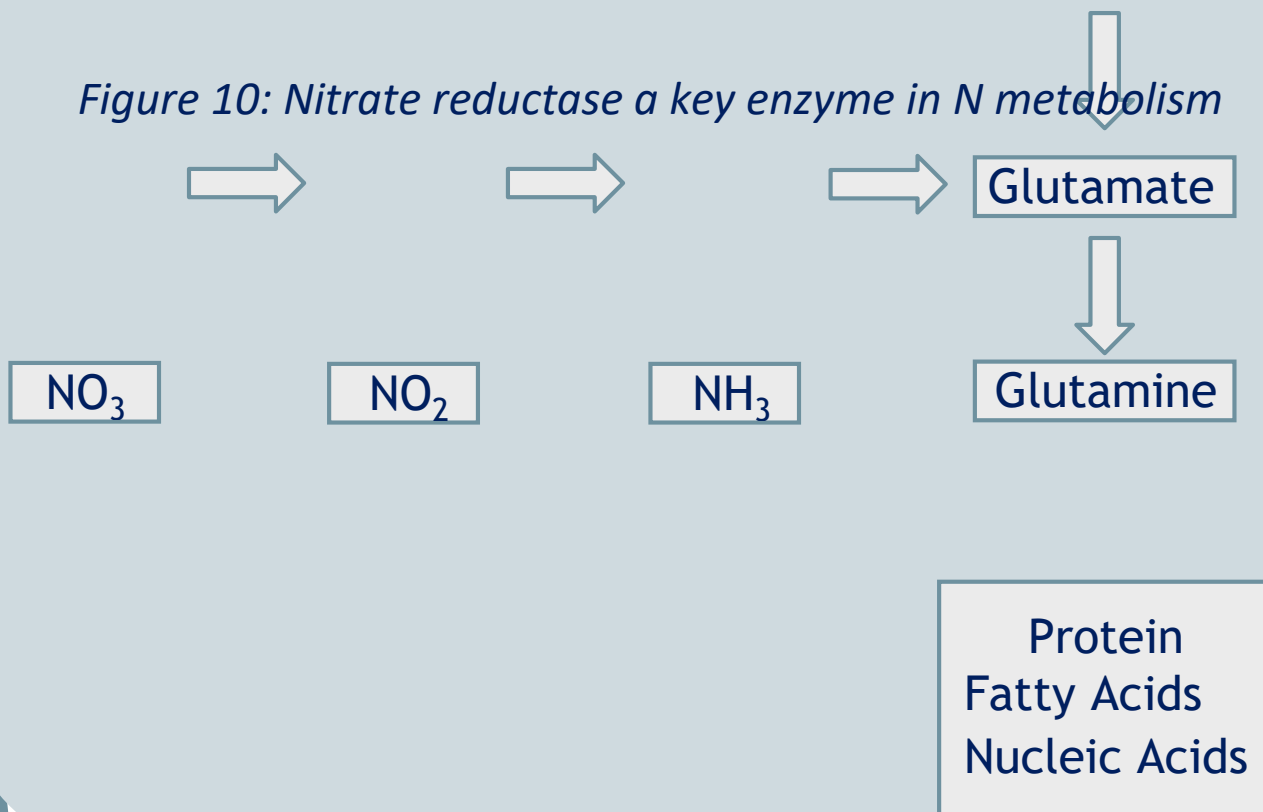
**C.** Oilseed rape (skye)  
**D.** Wheat (siskin) grown under reduced nutrient (50% strength).  
**E.** Soil grown and drought stressed OSR commercial varieties; Skye and Anastasia

Влияние фосфита на активность нитратредуктазы более выражено при легком стрессе.

# Актуальность нитратредуктазы

Нитратредуктаза (рис. 10) является ключевым ферментом в метаболизме азота и катализирует превращение нитрата в нитрит<sup>16</sup>. Образовавшийся нитрит восстанавливается ферментом нитритредуктазой до аммония, который затем реагирует с глутаматом с образованием глутамина. Последний служит донором аминогруппы для синтеза аминокислот. Общий поток азота от нитрата к аминокислотам ограничен активностью первого фермента нитратредуктазы. У растений фермент нитратредуктаза участвует в чрезвычайно важном азотном обмене и помогает обеспечивать восстановленный метаболизируемый азот для синтеза органических веществ. Таким образом, нитратредуктаза оказывает решающее влияние на повышение доступности соединений азота в растении. Соответственно, повышенная активность нитратредуктазы приводит к увеличению ассимиляции неорганического азота для создания органов растения (корень, стебель / стебель, лист, зерно / семя).

Figure 10: Nitrate reductase a key enzyme in N metabolism



Нитратредуктаза катализирует превращение нитрата в нитрит. Образовавшийся нитрит восстанавливается ферментом нитритредуктазой до аммония, который затем вступает в реакцию с глутаматом с образованием глутамина с помощью глутаминсинтетазы. Последний служит донором аминогруппы для синтеза аминокислот, белков и нуклеиновых кислот.

# Влияние

## Социальное влияние

Глобальная продовольственная безопасность - одна из самых серьезных проблем, стоящих перед мировым сельским хозяйством. Благодаря лучшему пониманию роли фосфита в улучшении корневой архитектуры, этот исследовательский проект, вероятно, окажет прямое влияние на повышение эффективности использования ресурсов и пригодности растений для ряда коммерчески важных садовых и зерновых культур. Поскольку урожай дает более высокую отдачу за счет повышения эффективности использования ресурсов, это исследование, вероятно, окажет прямое влияние на доход фермерских хозяйств, что приведет к повышению пищевой, финансовой и социальной стабильности.

### *Воздействие на окружающую среду*

Увеличение производства продуктов питания для питания растущего населения должно быть достигнуто за счет устойчивой интенсификации сельского хозяйства. Улучшение корневой архитектуры, вероятно, будет способствовать развитию сельского хозяйства с низкими затратами, что окажет прямое воздействие на окружающую среду.

## Фосфиты: пример воздействия

В Институте фитопатологии Кильского университета Джозеф-Александр Веррит и его коллеги обнаружили очень сильное экономическое влияние фосфитов в качестве биостимуляторов (Verreet et al, 2019, 3-й Конгресс по биостимуляторам, Барселона7). Их исследования, охватывающие более 14 лет и включающие 21 полевое испытание на масличном рапсе, показывают, что обработка фосфитом приводит к повышению эффективности использования азота, урожайности и доходов фермерских хозяйств. По их оценкам, средняя прибавка урожайности составит 0,245 т / га, что соответствует чистой прибыли 57,25 евро / га (Verreet et al, 20197).

Веррит и др .7 также сообщают об увеличении чистой урожайности и доходов фермерских хозяйств от пшеницы. Они сообщают, что семена, обработанные фосфитом, дают средний прирост урожая на 0,97 т / га. Повышение урожайности было даже более выраженным, когда обработка семян была дополнена обработкой листовым фосфитом, и это привело к увеличению урожайности в среднем на 2,3 т / га по сравнению с необработанным контролем. Примечательно, что увеличение урожайности на 2,3 т / га происходит при том же количестве удобрений, что указывает на улучшенную эффективность азота.

Основываясь на определении содержания N в зерне, Verreet et al, 2019 подсчитали, что образцы, обработанные фосфитом, накапливают в зерне на 38,3 кг больше азота на гектар, что снижает вымывание или другие потенциальные потери в окружающую среду.

Поскольку обработка фосфитом улучшает мобилизацию азота, они разработали эксперименты, чтобы проверить, можно ли уменьшить внесение азота без ущерба для выхода. Комбинация обработки семян и листовой обработки фосфитом привела к увеличению урожайности на 1,35 т / га даже при использовании на 40 кг N / га меньше азотных удобрений. Это говорит о том, что более высокая эффективность использования питательных веществ может быть получена при меньшем количестве удобрений, что приведет к чистому увеличению на 186 евро / га (при цене на пшеницу 160 евро / т).

# Вывод

Вывод из данных, представленных в этом техническом документе, заключается в том, что фосфиты действительно действуют как мощные и экономически эффективные биостимуляторы роста корней при применении в низких дозах. Мы добились значительного прогресса в понимании молекулярной основы этого наблюдения и предлагаем, чтобы регистрация фосфитов в качестве биостимуляторов растений была признана в соответствии с европейским законодательством в Приложении I части II в качестве категории функциональных характеристик продукта (PFC) 6 наряду с предыдущей регистрацией пестицидов.

## References

- <sup>1</sup>Royal Society (2009) *Reaping the benefit*.
- <sup>2</sup>Wheeler & Braun (2013) *Science* **341**, 508-513.
- <sup>3</sup>Swarup *et al* (2015) *New Ag International* Nov/Dec, 76-77.
- <sup>4</sup>Rossall *et al* (2016) *Acta Horti* **1148**, 61-67.
- <sup>5</sup>Mohammed *et al* (2019) *4<sup>th</sup> Biostimulant Congress, Barcelona*.
- <sup>6</sup>Verreet (2019) *top agrar* **8/2019**, 56-60.
- <sup>7</sup>Verreet *et al* (2019) *4<sup>th</sup> Biostimulant Congress, Barcelona*.
- <sup>8</sup>Thao and Yamakawa (2009) *Soil Sci Plant Nutr* **55**, 228–234.
- <sup>9</sup>Bishopp and Lynch (2015) *Nature Plants* **1**, 15117.
- <sup>10</sup>Rangrajan (2018) *Ann Bot* **122**, 485-499.
- <sup>11</sup>Bhosale *et al* (2018) *Nat Commun* **9**, 1409.
- <sup>12</sup>Yakhin *et al* (2017) *Front Plant Sci* **7**, 2049.
- <sup>13</sup>Lee *et al* (2017) *Int Turfgrass Soc Res J* **13**, 1-7
- <sup>14</sup>Marhavy *et al* (2014) *Current Biology* **24**, 1031-1037.
- <sup>15</sup>Capilla-Perez *et al* (2018) *Front Plant Sci* **9**, 1339.
- <sup>16</sup>Campbell (1999) *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **50**, 277-303.



White Paper  
School of Biosciences



University of  
Nottingham

UK | CHINA | MALAYSIA