

ЕФЕКТИВНІСТЬ СИМБІОТИЧНОЇ АЗОТФІКСАЦІЇ В АГРОЦЕНОЗАХ УКРАЇНИ

Дідович С.В.¹, Толкачов М.З.¹, Бутвіна О.Ю.²

¹Південна дослідна станція Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН,
вул. Карла Маркса, 107, смт. Гвардійське, АР Крим, 97513, Україна

²Республіканський вищий навчальний заклад “Кримський інженерно-педагогічний університет”,
вул. Севастопольська, 21, м. Сімферополь, АР Крим, 97000,
Україна
E-mail: icxm@mail.ru

Проведено порівняльну оцінку ефективності виробничих і перспективних штамів бульбочкових бактерій колекції Південної дослідної станції ІСГМ УААН у симбіозі з сучасними сортами бобових культур. Визначені високоефективні комбінації “сортів – штампів”. Показано доцільність передпосівної інокуляції насіння бобових культур на фоні ґрунтової популяції ризобій.

Ключові слова: симбіотична азотфіксація, штампів бульбочкових бактерій, селекція.

Інтенсифікація процесу симбіотичної азотфіксації є однією із актуальних проблем сучасного землеробства. Один із перспективних шляхів її вирішення – збільшення частки симбіотрофного азоту в агроценозах при забезпеченні високоефективного симбіозу бобових культур із відповідними видами бульбочкових бактерій.

Нашими багаторічними дослідженнями показано, що у ґрунтах півдня, центру і сходу України існують аборигенні популяції бульбочкових бактерій гороху, бобів, вики, чини, сочевиці (*Rhizobium leguminosarum* *bv. viceae*), конюшини (*Rhizobium trifolii*), люцерни, буркуну, тригонели (*Sinorhizobium meliloti*), лядвенцю (*Mesorhizobium loti*), здатні забезпечити нодуляцію відповідних бобових рослин. Чисельність цих бактерій у шарі ґрунту 0-10 см становить 10^3 - 10^6 бульбочкоутворювальних одиниць (БУОД) в 1 г ґрунту [1]. У ґрунтах досліджених регіонів доступними нам методами не виявлено аборигенних бульбочкових бактерій сої (*Bradyrhizobium japonicum*), квасолі (*Rhizobium phaseoli*), нуту (*Mesorhizobium ciceri*), люпину (*Rhizobium lupini*), козлятнику східного (*Rhizobium galegae*). Проте, у місцях, де раніше вирощува-

ли означені культури, у ґрунті трапляються локальні інтродуковані популяції ризобій, здатні формувати кореневі бульбочки при вирощуванні рослини-хазяїна.

Азотфіксувальний потенціал симбіозу бобових культур із присутніми у ґрунті ризобіями часто обмежений невисокою азотфіксувальною активністю бактерій або недостатньою їх кількістю у зоні проростаючого насіння [2]. У зв'язку з цим, обов'язковим агроприємом у технологіях вирощування бобових культур повинна бути передпосівна обробка насіння біопрепаратами на основі селекціонованих штамів специфічних ризобій, яка не тільки підвищує продуктивність рослин, а й сприяє інтродукції у ґрунтові мікробоценози високоефективних штамів бульбочкових бактерій.

Для підвищення продуктивності симбіотичної азотфіксації в агроценозах необхідно проводити селекцію сортів бобових культур і штамів бульбочкових бактерій, враховуючи конкретні ґрунтово-кліматичні і агротехнічні умови, а також створювати сприятливі умови для ефективного функціонування бобово-ризобіального симбіозу [3].

Метою даної роботи було виявити комплементарні комбінації сортів бобових рослин і відповідних для них штамів ризобій, оцінити доцільність передпосівної інокуляції насіння високоефективними штамми бульбочкових бактерій на фоні раніше інтродукованої популяції ризобій.

Матеріали і методи. У дослідях використано штами ризобій з колекцій Всеросійського інституту сільськогосподарської мікробіології Російської академії сільськогосподарських наук, Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Південної дослідної станції Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН та сучасні сорти бобових культур селекції Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннезнавства та сортовивчення УААН, Луганського інституту селекції і технологій, Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН, Інституту кормів УААН.

Чисельність бульбочкових бактерій у ґрунті визначали модифікованим методом Красильнікова-Кореняко на стерильних проростках бобових рослин в умовах вегетаційного досліді [4].

Ефективність досліджуваних штамів ризобій оцінювали у порівнянні з виробничими штамми у польових умовах згідно

методики проведення дослідів за Б.А. Доспеховим [5]. Ґрунти – чорноземи південні та звичайні, лучно-чорноземний ґрунт, орний шар яких (0-20 см) відзначався середньою або високою забезпеченістю обмінним калієм і рухливим фосфором та низькою або середньою – азотом, що легко гідролізується. Мінеральні азотні добрива, протруйники і гербіциди не застосовували, бур'яни знищували вручну.

За 1-2 години до посіву насіння контрольного варіанту зволожували водою (1-2 % від маси), інших варіантів – обробляли водною суспензією семидобової культури ризобій відповідного штаму або Ризобофітом із розрахунку $0,2-0,5 \times 10^6$ бактерій на насінину. Кількість і масу корневих бульбочок визначали у період їх максимального формування (фазу цвітіння рослин) у вибірках по 10 рослин з кожного повторення дослідів. Нітрогеназну активність визначали ацетиленовим методом на газовому хроматографі “Chrom-5” [6].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом дисперсійного аналізу [5].

Результати та їх обговорення. На сьогодні в Україні за площею посівів, урожайністю і валовим збором зерна лідером серед зернобобових культур є соя (*Glycine max* L.) [7], яку спочатку впроваджували у виробництво переважно як олійну культуру, а останніми роками їй все більше відводиться роль джерела високоякісного білка, особливо харчового. За умов зрощення соя характеризується високою ефективністю симбіотичної азотфіксації [8].

Багаторічними дослідженнями, проведеними на чорноземі південному на зрощені, показано, що підбором комплементарного штаму бульбочкових бактерій можна практично без додаткових витрат підвищити на 2,8-6,1 ц/га урожайність зерна сої районованого сорту Витязь 50, як за відсутності у ґрунті ризобій сої, так і на фоні раніше інтродукованої популяції *B. japonicum* (табл. 1).

В останні роки в умовах спекотного і посушливого клімату степової зони України на суходолі широко впроваджується в польові сівозміни цінна продовольча і кормова зернобобова культура нут (*Cicer arietinum* L.), яка характеризується стійкістю до високих температур, суховіїв, пилових бур, градобою.

Таблиця 1. Вплив передпосівної обробки насіння бульбочковими бактеріями на продуктивність сої сорту Витязь 50 за наявності у ґрунті інтродукованої раніше популяції *B. japonicum* (польові досліді на чорноземі південному на зрошенні, Кримський інститут АПВ УААН)

Рік дослідження	Кількість бульбочкоутворювальних одиниць в 1 г ґрунту перед посівом	Урожайність зерна сої, ц/га			
		конт-роль	штам 6346	штам М-8	НІР ₀₅
1994	62	22,4	23,5	26,3	1,4
1995	85	22,7	24,1	29,4	1,7
1996	67	23,7	25,9	28,7	2,2
1997	144	34,2	38,8	40,5	3,6
1998	118	28,6	29,8	34,0	2,4
1999	125	27,2	29,8	33,6	2,0
2000	150	28,0	28,9	35,0	2,1
Середнє	107	26,7	28,7	32,5	–

Таблиця 2. Ефективність симбіозу штамів *M. ciceri* з нутом сорту Тріумф (польові досліді на чорноземі південному, вільному від бульбочкових бактерій нуту, на суходолі, середнє за 2005-2007 рр.)

Варіанти досліді	Кількість бульбочок, од./рослину	Маса бульбочок, мг/рослину	Нітрогеназна активність, нМоль етилену на рослину за годину	Урожайність зерна, ц/га
	фаза цвітіння рослин			
Контроль (без інокуляції)	0,3	35	114	21,9
Виробничий штам 527	4,8	450	3390	27,0
Перспективні штами:				
Н-12	3,7	272	1583	29,9
ПН-12	9,3	730	3434	27,5
Н-14	5,6	453	2867	27,1
Н-18	8,0	597	3909	24,5
Н-22	6,8	652	2991	25,1
НС-6	9,5	575	2425	30,3
065	8,7	509	3128	26,6
068	6,8	432	1882	29,6
075	6,5	463	1841	27,9

У трирічних польових дослідах на чорноземі південному, вільному від ризобій нуту, на суходолі передпосівна інокуляція насіння штамми бульбочкових бактерій *M. ciceri* забезпечила утворення активних азотфіксувальних кореневих бульбочок на нуті сорту Тріумф у порівнянні з контролем, де поодинокі бульбочки сформувалися, як ми вважаємо, в результаті симбіозу рослин з ризобіями епіпіфітної мікрофлори насіння (табл. 2).

Високоєфективний симбіоз рослини формували зі штамми *M. ciceri* Н-12, НС-6 та 068, що дозволило отримати збільшення урожайності зерна в середньому на 2,6-3,3 ц/га (9,6-12,2 %) порівняно з варіантом із виробничим штамом *M. ciceri* 527.

Таблиця 3. Ефективність застосування Ризобіофіту (*M. ciceri* 065) при вирощуванні сучасних сортів нуту (польові досліди на лучно-чорноземному ґрунті на фоні ґрунтової популяції *M. ciceri* на суходолі, середнє 2006-2008 рр.)

Варіанти досліду	Кількість бульбочок, од/рослину	Маса бульбочок, мг/рослину	Нітрогеназна активність, нМоль етилену на рослину за годину	Урожайність зерна, ц/га
Сорт Пам'ять: без інокуляції	14,7	566	2377	22,9
Ризобіофіт	12,2	624	2256	24,8
Сорт Розанна: без інокуляції	11,0	514	1920	20,6
Ризобіофіт	15,9	535	1718	22,7
Сорт Буджак: без інокуляції	16,6	578	1528	23,1
Ризобіофіт	18,8	688	1283	25,0
Сорт Антей: без інокуляції	18,4	648	1204	22,4
Ризобіофіт	20,9	738	2038	27,7
Сорт Тріумф: без інокуляції	24,6	902	3393	29,5
Ризобіофіт	24,9	997	4591	31,1
Сорт Александрит: без інокуляції	21,9	594	1642	22,9
Ризобіофіт	20,3	667	1803	23,8

Таблиця 4. Комплементарні комбінації сортів бобових культур та специфічних штамів бульбочкових бактерій

Сорти бобових культур	Ефективні штами ризобій
Горох. Харківський еталонний, Харківський янтарний, Дамір 2, Труженік, Напарник, Вусатий 90, Норд, Мадонна, Харвус 1, Харвус 2, Харвус 3, Беркут, Ефективний, Уладовський харчовий	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i> 245a – виробничий штам, 261б, 31, 32, 65, В-5 – перспективні штами
Соя. Аркадія одеська, Витязь 50, Деймос, Юг 40, Юг 40, Аннушка, Пальміра, Золотиста, Устя, Романтика, Изумрудная, Альтаір, Донька, Аметист, Феміда, Медея, Альтаір, Хаджибей, Діона	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> 634б, М-8, 71 т – виробничі штами, Х-9, 36, Д 2 – перспективні штами
Нут. Смачний, Колорит, Луганець, Добробут, Карпово, Александрит, Пегас, Антей, Розанна, Пам'ять, Тріумф, Буджак	<i>Mesorhizobium ciceri</i> 522, 527 – виробничі штами, Н-12, 065, 068, НС-6 – перспективні штами
Квасоля. Первомайська, Харківська, Харківська 6, Харківська штамбова, Зорюшка	<i>Rhizobium phaseoli</i> 700 – виробничий штам, ФК-4, ФК-6, Ф-13, Ф-34 – перспективні штами
Боби. Українські слободські, Карадаг, Оріон, Білун	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i> 0418 – виробничий штам, Б-9, Б-16 – перспективні штами
Сочевиця. Красноградська 49, Луганчанка, Світанок	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i> 724 – виробничий штам, К-29, Ч-14 – перспективні штами
Люцерна. Ярославна, Надєжда, Роксолана, Бореале-47, Інтенсивний, Еврика, Ферракс, Кішварді	<i>Sinorhizobium meliloti</i> 425-а, 404-б – виробничі штами, М-12 – перспективний штам
Козлятник східний. Кавказький бранець	<i>Rhizobium galegae</i> 916 – виробничий штам, МС-1, К-18 – перспективні штами
Еспарцет. Южноукраїнський, Кримський	<i>Rhizobium symplex</i> 820 – виробничий штам, У-3, 3-13, 5-4 – перспективні штами

Ефективність передпосівної обробки насіння шести сучасних сортів нуту Ризобофітом на основі високоефективного штаму *M. ciceri* 065 досліджували протягом трьох років на лучно-чорноземному ґрунті з інтродукованою раніше популяцією ризобій нуту щільністю 10^3 БУОД в 1 г ґрунту (табл. 3). При застосуванні Ризобофіту виявлено тенденцію до збільшення врожайності зерна п'яти сортів, а на сорті Антей передпосівна обробка насіння забезпечила приріст урожайності зерна на 5,3 ц/га (23,7 %).

За результатами багаторічного скринінгу штамів бульбочкових бактерій з колекції дослідної станції у вегетаційних дослідах на безазотному субстраті і в польових дослідах на чорноземі південному, чорноземі звичайному та лучно-чорноземному ґрунті визначено штами бактерій, комплементарні до сучасних сортів бобових культур, що вирощують в Україні (табл. 4).

Застосування високоефективних у симбіозі з сучасними сортами бобових культур штамів бульбочкових бактерій підвищувало продуктивність рослин на 10-30 % і збільшувало вміст білка в зерні на 2-6 %, а в зеленій масі – на 1-3 % за наявності у ґрунті популяції аборигенних або раніше інтродукованих бульбочкових бактерій. На основі перспективних штамів розроблено технології виготовлення біопрепаратів для використання у сільськогосподарському виробництві.

Таким чином, у результаті проведених досліджень визначено штами бульбочкових бактерій, комплементарні до сучасних сортів бобових культур, які за ефективністю симбіотичної азотфіксації переважають виробничі штами на 15-35 %, і можуть бути застосовані у виробництві практично всіх бобових культур, що вирощуються в Україні. Показано доцільність передпосівної інокуляції насіння бобових культур на фоні ґрунтової популяції ризобій.

1. Дидович С.В. Интродукция клубеньковых бактерий в микробные ценозы почвы при выращивании новых видов бобовых растений на юге Украины /С.В. Дидович, И.А. Каменева, О.Ю. Бутвина, Н.З. Толкачев //Бюл. Держ. Нікітського бот. саду. – 2004. – № 89. – С. 38-41.

2. Бутвина О.Ю. Высококонкурентные штаммы клубеньковых бактерий – основа эффективности биопрепаратов /О.Ю. Бутвина, Н.З. Толкачев, А.В. Князев //Мікробіол. журн. – 1997. – Т. 59, № 4. – С. 123-131.

3. Толкачев Н.З. Биотехнологические аспекты координированной селекции клубеньковых бактерий и бобовых растений /Н.З. Толкачев //Междунар. конф. “Микробиология и биотехнология XXI столетия” (Минск, 22-24 мая 2002 г.). – Минск, 2002. – С. 152-153.

4. Толкачев Н.З. Модифицированный метод определения количества клубеньковых бактерий сои в почве /Н.З. Толкачев //Тр. ВНИИСХМ. – Л., 1990. – С. 37-43.

5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта /Б.А. Доспехов. – М: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

6. Алисова С.М. Методические указания по использованию ацетиленового метода при селекции бобовых культур на повышение симбиотической азотфиксации /С.М. Алисова, А.И. Чундерова. – Л., 1982. – 12 с.

7. Січкач В.І. Роль зернобобових культур у вирішенні білкової проблеми в Україні /В.І. Січкач //Корми і кормовиробництво: міжвід. темат. наук. зб. – Вінниця: Друк ТОВ ПЦ “Енозіс”, 2004. – Вип. 53. – С. 110-115.

8. Толкачев Н.З. Координированная селекция клубеньковых бактерий и бобовых растений – генетическая основа высокоэффективного бобово-ризобияльного симбиоза /Н.З. Толкачев //XI Междунар. симпозиума “Нетрадиционное растениеводство. Эниология. Экология и здоровье” (Алушта, 9-16 червня, 2002 р.). – Симферополь, 2002. – С. 478-480.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ АЗОТФИКСАЦИИ В АГРОЦЕНОЗАХ УКРАИНЫ

Дидович С.В.¹, Толкачев М.З.¹, Бутвина О.Ю.²

¹Южная опытная станция Института сельскохозяйственной микробиологии УААН, пгт. Гвардейское, АР Крым

²Республиканское высшее учебное заведение “Крымский инженерно-педагогический университет”, Симферополь

Проведена сравнительная оценка эффективности производственных и перспективных штаммов клубеньковых бактерий коллекции Южной опытной станции ИСХМ УААН в симбиозе с современными сортами бобовых культур. Определены высокоэффективные комбинации “сорта – штаммы”. Показана целесообразность предпосевной инокуляции семян бобовых культур на фоне почвенной популяции ризобий.

Ключевые слова: симбиотическая азотфиксация, штаммы клубеньковых бактерий, селекция.

THE EFFICIENCY OF SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION IN THE AGROCENOSIS OF UKRAINE

Didovich S.V.¹, Tolkachov N.Z.¹, Butvina O.Y.²

¹The Southern Experimental Station of Institute of Agricultural Microbiology
UAAS, v. Gvardeyskoye, ARK

²The Republican High Educational Institution “Crimean Engineering-peda-
gogical University”, Simferopol

The comparative estimation of rhisobia strains (from the collection of the Southern Experimental Station of Institute of Agricultural Microbiology UAAS) efficiency in symbiosis with modern legume cultivars was done. Highly effective complemented „cultivars – strains” combinations have been determined. It was shown the expediency of legume seeds pre-sowing treatment on background of soil rhisobia population.

Key words: symbiotic nitrogen fixation, rhisobia strains, selection.