

Адаптация к условиям нефтезагрязненной почвы растений, инокулированных штаммом 348a, происходила за счет усиленного синтеза белков в листьях на фоне низкого уровня деградации белка ~56 кД и ограниченного синтеза белков в корнях, а растений, инокулированных штаммами BN9 и A91 – путем существенной деградации белка ~56 кД в листьях и появления новых белков у корней.

Ключевые слова: белковый спектр, *Trifolii pratense L.*, нефтезагрязненная почва, инокуляция, *Rhizobium leguminosarum bv. trifolii*

O.I. Velychko

Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine

ROLE OF PROTEINS IN THE ADAPTATION OF RED CLOVER PLANTS INOCULATED WITH *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. TRIFOLII* TO THE CONDITION OF OIL POLLUTED SOIL

It was investigated the changes in general content and composition of proteins in the red clover plants on the point of first trifoliolate leaf under the influence of oil polluted soil. In these conditions the amount of typical for the norm proteins with Mr 50, 75 and 110 kDa was increasing and a high molecular protein (~120 kDa) had appeared, however the amount of protein with Mr 56 kDa was decreasing in the leaves; the content of proteins with Mr 90, 37, 50 and 39 kDa was increasing in the roots while the amount of proteins with Mr 40 and 32 kDa was decreasing.

It was detected the inverse proportion of the amounts of protein ~56 kDa in leaves and content of proteins in plants' roots inoculated with different stains *Rh. leguminosarum bv. trifolii* in the oil polluted soil.

The adaptation to the conditions of oil polluted soil of the plants inoculated with stain 348a was conducted by the intensified protein synthesis in the leaves on the background of low level of the protein with Mr 56 kDa degradation and the limited protein synthesis in the roots while the plants inoculated with stains BN9 and A 91 were adopted by protein degradation in leaves and reinforced synthesis of new proteins in the roots.

Keywords: protein spectrum, *Trifolii pratense L.*, oil polluted soil, inoculation, *Rhizobium leguminosarum bv. trifolii*

Рекомендує до друку

В.В. Грубінко

Надійшла 29.04.2014

УДК 579.262:579.64

С.В. ВОЗНЮК, Л.В. ТИТОВА, Г.А. ИУТИНСКАЯ

Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, ГСП, Д03680

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНЫХ СИСТЕМ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ФУНГИЦИДОВ И КОМПЛЕКСНОЙ ИНОКУЛЯЦИИ

В условиях полевых экспериментов показано, что обработка семян комплексным инокулянтom Эковитал на основе ризобий и *Bacillus megaterium* стимулировала формирование и функционирование соево-ризобияльных систем. Предварительное протравливание семян фунгицидом Витавакс 200 ФФ не приводило к угнетению симбиоза. При использовании Максим Стар 025 FS наблюдали тенденцию к снижению, а при применении Кинто дуо зафиксировано достоверное уменьшение фактической нитрогеназной активности в 1,8 раза. Установлено положительное влияние сочетанного применения исследованных фунгицидов с комплексной

инокуляцией на формирование фотосинтетического аппарата сои: содержание хлорофиллов в листьях возрастало в 1,2-2,1 раза.

Ключевые слова: соево-ризобильный симбиоз, комплексная инокуляция, фунгициды, нодуляционный аппарат, нитрогеназная активность, хлорофиллы, каротиноиды

Влияние пестицидов на сельскохозяйственные угодья, которое с годами все более возрастает, приводит к загрязнению почв и окружающей среды, снижению урожайности культурных растений и качества сельскохозяйственной продукции. На решение этих проблем направлено использование нетоксичных для человека и окружающей среды биопрепаратов, в том числе на основе микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности. Особый интерес вызывают симбиотические азотфиксирующие бактерии, которые, вступая в симбиоз с растением-хозяином, способствуют вовлечению связанного биологического азота в процесс формирования урожая, повышают продуктивность бобовых и плодородие почв [1, 4, 8].

Важная роль в онтогенезе растений принадлежит фосфатмобилизирующим бактериям. Они улучшают фосфорное питание растений благодаря синтезу фосфатаз и органических кислот, превращающих нерастворимые органические и неорганические соединения фосфора в доступные для растений формы. Кроме того, эти микроорганизмы часто проявляют фитостимулирующие свойства и антагонизм к фитопатогенам [3, 10, 11] что повышает эффективность симбиотических систем при коинокуляции [7].

В отделе общей и почвенной микробиологии Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины на основе ризобий сои и фосфатмобилизирующих бактерий *Bacillus megaterium* разработан комплексный микробный препарат Эковитал [6]. Входящие в состав препарата азотфиксирующие и фосфатмобилизирующие микроорганизмы не только улучшают азотное и фосфорное питание растений, но и синтезируют широкий спектр биологически активных метаболитов, в том числе фитогормонов (ауксины, цитокинины и гиббереллины), повышая стрессоустойчивость и продуктивность симбиоза [2, 5].

Целью работы было изучить влияние комплексного инокулянта Эковитал на формирование соево-ризобильных систем при применении современных средств защиты растений от грибных патогенов.

Материал и методы исследований

Исследования проводили в условиях микростационарных полевых опытов на ультраскороспелом сорте сои Аннушка (вегетационный период 75-85 дней). Растения выращивали на темно-серой оподзоленной почве. Семена сои вначале обрабатывали фунгицидами системного действия (согласно схеме эксперимента), а через 12 часов инокулировали комплексным микробным препаратом Эковитал. В состав Эковитала входили штаммы *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6018 и *B. japonicum* УКМ В-6035 (1:1), а также *B. megaterium* УКМ В-5724.

Опыты проводили по следующей схеме: 1. Без инокуляции (обработка семян водой); 2. Инокуляция Эковиталом (100 мл/га); 3. Максим Стар 025 FS (1 л/т семян) + Эковитал (100 мл/га); 4. Кинто дуо (1 л/т семян) + Эковитал (100 мл/га); 5. Витавакс 200 ФФ (3 л/т семян) + Эковитал (100 мл/га).

Азотфиксирующую активность нодуляционного аппарата сои определяли в фазу цветения ацетиленовым методом по Харди с соавт. [9], содержание хлорофиллов и каротиноидов – по Вельбурну [12].

Результаты исследований и их обсуждение

В полевых опытах показано, что инокуляция Эковиталом стимулировала развитие нодуляционного аппарата сои (табл. 1): количество клубеньков на растении увеличивалось в 3,0 раза (относительно контрольного варианта). Фактическая нитрогеназная активность при этом возрастала в 1,2 раза. В варианте с предварительной обработкой семян фунгицидом Витавакс 200 ФФ не происходило угнетения формирования и функционирования симбиотических систем. При использовании протравителя Максим Стар 025 FS наблюдали тенденцию к снижению фактической нитрогеназной активности клубеньков, а при применении Кинто дуо зафиксировано достоверное уменьшение этого показателя в 1,8 раза по сравнению с вариантом бактериализации Эковиталом. Одновременно во всех опытных вариантах активизировался нодуляционный процесс, что выражалось в увеличении количества клубеньков на корнях растений в 2,8-3,8 раза.

Формирование и функционирование нодуляционного аппарата сои сорта Аннушка при применении фунгицидов и комплексной инокуляции Эковиталом

Вариант обработки	Нитрогеназная активность		Клубеньки (на 1 растение)	
	Удельная, мкмоль C ₂ H ₄ /г клуб.· час	Фактическая, мкмоль C ₂ H ₄ /раст.· час	Количество, шт.	%
Контроль	2,5±0,6	1,3±0,5	6±1	100
Эковитал	3,4±0,7	1,6±0,3	18±3	300
Витавакс + Эковитал	3,8±0,5	1,6±0,2	17±4	283
Максим Стар + Эковитал	2,0±0,6	1,1±0,3	20±5	333
Кинто Дуо + Эковитал	3,0±0,8	0,9±0,05	23±3	383

Установлено положительное влияние сочетанного применения исследованных фунгицидов с последующей инокуляцией семян Эковиталом на формирование фотосинтетического аппарата сои (табл. 2). Наблюдали значительное увеличение количества хлорофиллов *a* и *b* в 1,1-1,4 и 1,4-2,1 раза соответственно относительно контрольного показателя во всех исследуемых вариантах. Содержание каротиноидов оставалось практически на уровне варианта без обработки.

Таблица 2

Содержание пигментов в листьях сои сорта Аннушка при применении фунгицидов и комплексной инокуляции Эковиталом

Вариант обработки	Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/г	Содержание хлорофилла <i>b</i> , мг/г	Содержание каротиноидов, мг/г
Контроль	0,68±0,02	0,08±0,01	0,33±0,02
Эковитал	0,74±0,01	0,11±0,01	0,35±0,01
Витавакс + Эковитал	0,79±0,02	0,17±0,01	0,35±0,01
Максим Стар + Эковитал	0,97±0,1	0,13±0,01	0,37±0,01
Кинто Дуо + Эковитал	0,87±0,02	0,12±0,01	0,37±0,02

Выводы

Предварительное протравливание семян сои препаратами Витавакс 200 ФФ, Максим Стар 025 FS и Кинто дуо перед комплексной инокуляцией Эковиталом не ингибировало вирулентность ризобий. Нитрогеназная активность симбиотического аппарата в варианте с Витаваксом 200 ФФ была на уровне показателей варианта с Эковиталом, что свидетельствует об устойчивости бактерий-биоагентов к этому фунгициду. При использовании Максим Стар 025 FS наблюдали тенденцию к снижению, а при применении Кинто дуо зафиксировано достоверное уменьшение фактической нитрогеназной активности в 1,8 раза. При этом установлено положительное влияние сочетанного применения исследованных фунгицидов с комплексной инокуляцией на формирование фотосинтетического аппарата сои.

1. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз (монография в 4-х т.) / Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. и др. — К.: Логос, 2011. — Т. 2. — 523 с.
2. Драговоз И.В. Синтез фитогормонов штаммами *Bradyrhizobium japonicum* различной симбиотической эффективности / Драговоз И.В., Леонова Н.О., Иутинская Г.О. // Микробиол. журнал. — 2011. — Т. 73, № 4. — С. 29—35.
3. Михайлова Н.А. Бактерии рода *Bacillus* – продуценты биологически активных веществ антимикробного действия / Михайлова Н.А., Гринько О.М. // Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2010. — № 3. — С. 85—89.
4. Титова Л.В. Азотфиксирующие микроорганизмы в микробно-растительных системах / Титова Л.В., Леонова Н.О., Антипчук А.Ф. // Биорегуляция микробно-растительных систем / Ред. Иутинская Г.А., Пономаренко С.П. Киев: Ничлава. — 2010. — С. 99—105.

5. *Титова Л.В.* Застосування комплексних мікробних препаратів – основа сталих високопродуктивних агрофітоценозів / Титова Л.В., Леонова Н.О., Бровко І.С. // Тези доповідей ІХ з'їзду Українського товариства ґрунтознавців та агрохіміків. — Миколаїв, 30 червня – 4 липня 2014 р. — С. 321—322.
6. Патент № 101388, (Україна), МПК (51) (2013.01) C05F 11/00, C12P 39/00. *Титова Л.В., Леонова Н.О., Бровко І.С., Іутинська Г.О.* Комплексний мікробний препарат Ековітал для інокуляції насіння бобових культур. — Опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6.
7. *Argaw A.* Evaluation of Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and Phosphate Solubilizing *Pseudomonas spp.* Effect on Soybean (*Glycine max* L. (Merr.)) in Assossa Area / A. Argaw // J. Agr. Sci. Tech. — 2012. — V. 14. — P. 213—224.
8. *Bashan Y.* Inoculants of plant growth promoting bacteria for use in agriculture / Y. Bashan // Biotechnol. Adv. — 1998. — V.16. — P. 729—770.
9. *Hardy R.W. F.* Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation / Hardy R.W. F., Burns R.C., Holsten R.D. // Soil. Biol. Biochem. — 1973. — V. 5, № 1. — P. 41—83.
10. *Kloepper J.W.* Systemic resistance and promotion of plant growth of *Bacillus sp.* / Kloepper J.W., Ryn C.M. and Zhang S.A. // Phytopathology. — 2004. — V.94. — P. 1259—1266.
11. *Kristek S.* Inoculation of Sugar Beet Seed with Bacteria *P. fluorescens*, *B. subtilis* and *B. megaterium* – Chemical Fungicides Alternative / Kristek S., Kristek A., Kocevski D. // Fungicides - Beneficial and Harmful Aspects / Edited by Dr. Nooruddin Thajuddin. inTech — 2011. — P. 99—116.
12. *Wellburn A.R.* The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids using solvents with spectrophotometers of different resolution / A.R. Wellburn // J. Plant Physiol. — 1994. — V. 144, № 3. — P. 307—313.

С.В. Вознюк, Л.В. Титова, Г.О. Іутинська

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ СОЄВО-РИЗОБІАЛЬНИХ СИСТЕМ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ФУНГІЦИДІВ ТА КОМПЛЕКСНОЇ ІНОКУЛЯЦІЇ

За умови польових експериментів показано, що обробка насіння комплексним інокулянтном Ековітал на основі ризобій і *Bacillus megaterium* стимулювала формування та функціонування соєво-ризобіальних систем. Попереднє протруювання насіння фунгіцидом Вітавакс 200 ФФ не призводило до пригнічення симбіозу. При застосуванні Максим Стар 025 FS спостерігали тенденцію до зниження, а при використанні Кінто дуо виявлено достовірне зменшення фактичної нітрогеназної активності в 1,8 рази. Встановлено позитивний вплив сумісного застосування досліджуваних фунгіцидів з комплексною інокуляцією на формування фотосинтетичного апарату сої: вміст хлорофілів у листках збільшувався в 1,2-2,1 рази.

Ключові слова: соєво-ризобіальний симбіоз, комплексна інокуляція, фунгіциди, нодуляційний апарат, нітрогеназна активність, хлорофіли, каротиноїди

S.V. Vozniuk, L.V. Tytova, G.O. Iutynska

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Science of Ukraine

FEATURES OF THE FORMATION OF RHIZOBIUM-SOYBEAN SYSTEMS IN THE USE OF FUNGICIDES AND COMPLEX INOCULATION

Complex seeds inoculation by Ekovital based on rhizobia and *Bacillus megaterium* stimulated the formation and functioning of soybean rhizobium systems under field experiments conditions. The preliminary seeds treatment by fungicide Vitavaks 200 FF did not lead to inhibition of symbiosis. After Maxim Star 025 FS using we observed the tendency to decrease of actual nitrogenase activity. The application of Kinto duo affected significant decrease of the actual nitrogenase activity by 1.8 times. The positive effect of tested fungicides with complex inoculation on the formation of soybean photosynthetic apparatus has been found. The content of chlorophyll in soybean's leaves increased to 1.2-2.1 times.

Keywords: rhizobium-soybean symbiosis, complex inoculation, fungicides, nodulation apparatus nitrogenase activity, chlorophylls, carotenoids

Рекомендує до друку

Надійшла 15.04.2014

С.Я. Коць