

N. M. Melnykova

Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine

FORMATION OF THE LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS UNDER INFLUENCE OF LUPINE SEED EXUDATES

The range of biologically active substances promoting the development of the legume-Rhizobium symbiosis is released into the environment during the germination of legume seeds. The nodulation in the lupine-*Bradyrhizobium sp.*(Lupinus) 359a symbiosis under influence of lupine seed exudates, nitrogen fixation and the formation of the aboveground part of plants were studied in field experiments. It was shown that the exudates from lupine seeds played important role in the development of the legume-Rhizobium symbiosis in lupine plants. The direction of exudate acting on symbiosis establishment depended on seed germination period that gave this excretion. The exudate collected after 6 h of lupine seed germination increased root nodule number when the lupine plants had 8-10 leaves. At the same time 20 h exudate weakly stimulated the nodulation and increased nitrogen fixation activity of the legume-Rhizobium symbiosis.

Keywords: seed exudates, lupine, legume-Rhizobium symbiosis, nitrogen fixation, nodulation

Рекомендує до друку

Надійшла 29.04.2014

С.В. Пида

УДК 631.461.5:633.11

Т.М. МЕЛЬНИЧУК, Л.О. ЧАЙКОВСЬКА, І.О. КАМЕНЄВА, А.І. ЯКУБОВСЬКА,
О.А. ЛОЛОЙКО

Інститут сільського господарства Криму НААН України
вул. Київська, 150, Сімферополь, 95453, АР Крим

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ВЗАЄМОДІЇ БІОАГЕНТІВ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА РОСЛИН

Виявлено ефективність застосування комплексу мікробних препаратів різної функціональної дії, яка виражена в підвищенні потенціальної азотфіксуючої активності ризосферного ґрунту більше, ніж в 2 рази і урожайності пшениці озимої на 38%. Встановлено, що при забрудненні ґрунту ВМ вміст сульфоліпідів у листках пшениці озимої знижувався на 16 - 31% проти контролю залежно від рівня ГДК ВМ, тоді як при бактеризації зростав до 10% порівняно з небактеризованими рослинами.

Ключові слова: азотфіксуюча активність, діазотрофи, сульфоліпіди, жирні кислоти, комплекс мікробних препаратів, пшениця озима

Відомо, що важливі для природи процеси фотосинтезу та азотфіксації забезпечують симбіози рослин та мікроорганізмів. Ризосферні бактерії забезпечують рослини азотом, використовуючи як трофічну основу кореневі виділення. На долю фіксованого азоту атмосфери вільноживучими і асоціативними діазотрофами приходиться приблизно 30% від загальної кількості біологічного азоту [3]. В природних умовах рослини зазнають впливу різноманітних несприятливих чинників: вірусної та бактеріальної інфекцій, важких металів (ВМ), посухи, засолення тощо. Відомо, що посередниками між несприятливими умовами (зокрема токсичністю ВМ) та рослинами є мікроорганізми, вони сприяють значному зростанню стійкості макросимбіоту до стресу [1].

В аграрному виробництві широко використовуються мікробні препарати, основу яких складають мікроорганізми різної функціональної дії: азотфіксація, рістстимуляція, фосфатмобілізація, антагонізм до фітопатогенів.

Мета наших досліджень полягала у вивченні штамів-біоагентів мікробних препаратів різних за домінуючими властивостями та їх впливу на нітрогеназну активність ризосфери пшениці озимої, а також впливу бактеризації (Фосфоентерин) на вміст сульфоліпідів у листках пшениці озимої на ранніх етапах онтогенезу за стресової дії ВМ.

Матеріал і методи досліджень

Польові досліди з пшеницею озимою (*Triticum aestivum* L.) сорту Заможність проведені на чорноземі південному малогумусному, важко суглинковому після чорного пару. Для передпосівної інокуляції насіння використано біопрепарати Діазофіт (*Rhizobium radiobacter* 204, азофіксатор), Фосфоентерин (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3, фосфатмобілізатор), Біополіцид (*Paenibacillus polymyxa* П, антагоніст до фітопатогенів) та КБП (комплекс бактеріальних препаратів: Діазофіт, Фосфоентерин, Біополіцид у пропорції 1:1:1) із розрахунку 100 см³/га, контроль — вода. Зразки ґрунту ризосфери відбирали у фазу цвітіння пшениці. Чисельність аеробних діазотрофів враховували на середовищі Виноградського для азотфіксаторів [2]. Потенційну нітрогеназну активність визначали ацетиленовим методом на газовому хроматографі „Chrom” 5 [3].

Вміст метилових ефірів жирних кислот у культуральній рідині та кореневих ексудатах визначали методом хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС) на газовому хроматографі Agilent Technologies 6890n з квадрупольним мас-селективним детектором (мас-спектрометром) Agilent 5973n Еі/рсі аналізували водну суспензію та культуральну рідину, що над осадом [5].

Вегетаційні модельні досліди проведено в теплиці, об’єкт: пшениця озима *Triticum aestivum* L. сорту Фантазія одеська. Для передпосівної інокуляції насіння використано біопрепарат Фосфоентерин, контроль — без інокуляції. Рослини вирощували у вегетаційних посудинах протягом 6 тижнів, ґрунт: чорнозем південний. Перед висівом насіння в кожен із посудин внесено солі ВМ: Pb(CH₃COO)₂, CuSO₄, K₂CrO₄ з розрахунку, що відповідав наступним рівням забруднення: 1ГДК та 5ГДК. У контролі ВМ не вносили. Вміст сульфоліпідів у листках визначали за методикою Зіла та Хармона в модифікації Яковенко і Михно [4, 6].

Результати досліджень та їх обговорення

У наших дослідженнях встановлено, що біоагенти досліджуваних препаратів не виявляють антагоністичної дії один до одного *in vitro*, отже, вони можуть застосовуватись для бактеризації насіння сумісно.

Важливе значення у азотному живленні рослин займає угруповання діазотрофів, які в умовах енергетичного забезпечення здатні асимілювати молекулярний азот повітря. Відмічено збільшення діазотрофів у варіантах з інокуляцією в 2-3 рази в порівнянні з контролем (таблиця).

Таблиця

Чисельність азотфіксувальних мікроорганізмів і потенційна азотфіксувальна активність (ПАА) у ризосфері пшениці озимої сорту Заможність (польовий дослід, чорнозем південний, фаза цвітіння)

Варіант досліду	Діазотрофи, млн. КУО /1 г а.с.г.	Азотобактер, %	ПАА, нМоль С ₂ Н ₄ /г-годину
Контроль	3,3±0,09	54	148±4,36
Діазофіт	6,5±0,03	78	215,3±33,58
Фосфоентерин	6,5±0,08	60	184,8±26,10
Біополіцид	5,7±0,23	56	292,0±11,10
КБП	8,4±0,47	56	344,4±53,22

Індикатором агрохімічного стану ґрунтів є *Azotobacter*, здатний існувати як вільно у ґрунті, так і в асоціації з рослиною, у тому числі з пшеницею. Стимуляцію розвитку азотобактеру відмічено у варіантах з Діазофітом і Фосфоентерином. Потенційна азотфіксувальна активність ризосферного ґрунту підвищується у варіантах з бактеризацією насіння, а найбільший її показник 344,4±53,22 С₂Н₄/г-годину зафіксовано у варіанті з КБП, що можна пояснити позитивною взаємодією штамів.

Відмічено високу ефективність бактеризації насіння пшениці озимої: максимальну прибавку урожаю в 1,26 т/га (38%) забезпечив комплекс біопрепаратів (КБП) при 3,31 т/га у контролі.

Важливу роль у обмінних процесах між клітинами та оточуючим середовищем відіграють ліпіди, зокрема жирні кислоти та сульфоліпіди, які є джерелом енергії та структурними компонентами клітинних мембран. Необхідною структурною та функціональною складовою молекули будь-якого класу ліпідів є жирні кислоти, які володіють різноманітною біологічною активністю та беруть участь в адаптації організму до оточуючого середовища.

У лабораторних дослідках визначено вміст жирних кислот у штамів бактерій – біоагентів препаратів. Встановлено, що штам *R. radiobacter* 204 вирізнявся за кількісним і компонентним складом. У нього виявлено 13 жирних кислот, які подані в порядку зменшення їх кількості (від 485 до 8 мкг/см³): пальмітинова, олеїнова, пальмітолеїнова, лінолева, міристинова, стеаринова, пентадеканова, арахінова, лауринова, маргарінова, бегенова, каприлова, капронова. За компонентним складом штами *E. nimipressuralis* 32-3 та *P. polymyxa* П відрізнялись від азотфіксатора відсутністю бегенової і арахінової та наявністю ундецилової, ліноленої і пеларгонової кислот, а між собою – лише за їх кількістю.

Однією з складових мембранних структур пластид є сульфоліпіди, які підтримують оптимальний рівень перебігу фотосинтетичних процесів у хлоропластах. Відмічено негативну дію ВМ на вміст цього компоненту ліпідного комплексу в листках пшениці озимої. Так, забруднення ґрунту ВМ на рівні 1 ГДК призвело до зниження вмісту сульфоліпідів у листках пшениці на 16% проти контролю (11,0 мг/г сирової маси проти 13,17 мг/г). А за збільшення рівня забруднення ґрунту ВМ до 5 ГДК вміст сульфоліпідів у листках пшениці знизився до 9,07 мг/г сирової маси, що було меншим, ніж контрольні показники на 31%.

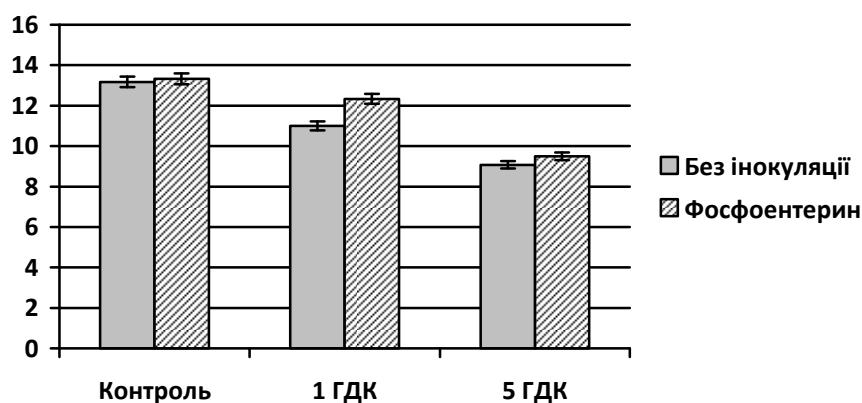


Рисунок. Вміст сульфоліпідів у листках пшениці озимої, мг/г сирової маси

Використання Фосфоентерину для передпосівної бактеризації насіння сприяло зростанню вмісту сульфоліпідів у листках пшениці. Їх вміст в листках бактеризованих рослин, порівняно з небактеризованими, зростав при забрудненні ґрунту ВМ на рівні 1 ГДК на 12%: 12,33 мг/г сирової маси проти 11,0 мг/г, а при 5 ГДК – на 5%: 9,50 мг/г сирової маси проти 9,07 мг/г. Отже, отримані результати свідчать про позитивну дію передпосівної бактеризації насіння (Фосфоентерин) на складові ліпід-пігментного комплексу пшениці озимої на ранніх етапах онтогенезу рослин, що сприяє пом'якшенню стресової дії при забрудненні ґрунту ВМ.

Висновки

1. Показана ефективність застосування комплексу мікробних препаратів різної функціональної спрямованості, яка виражена в підвищенні потенціальної азотфіксувальної активності ризосферного ґрунту і урожайності пшениці озимої на 38% до контролю.

2. Встановлено, що при забрудненні ґрунту ВМ вміст сульфоліпідів у листках пшениці озимої знижувався на 16 - 31% проти контролю залежно від рівня ГДК ВМ. Виявлено, що в

листяках бактеризованих рослин вміст сульфоліпідів зростає до 10% порівняно з небактеризованими рослинами.

1. *Белимов А.А.* Микробиологические аспекты устойчивости и аккумуляции тяжелых металлов у растений / А.А. Белимов, И.А. Тихонович // Сельскохозяйственная биология. 2011. — № 3. — С. 17—22.
2. *Звягинцев Д.Г.* Почва и микроорганизмы / Д.Г. Звягинцев. — М.: Изд-во МГУ, 1987. — 207 с.
3. *Умаров М.М.* Ассоциативная азотфиксация. М.: Изд. Моск. Ун-та, 1986. — 136 с.
4. *Яковенко Г.М.* Метод выделения и разделения по классам липидов листьев и хлоропластов растений / Г.М. Яковенко, А.И. Михно // Физиол. и биохимия культурных растений. — 1971. — Т. 3, № 6. — С. 651—656.
5. *Carrapiso A.I.* Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification / A.I. Carrapiso, C. Garcia // Lipids. — 2000. — Vol. 35, № 11. — P. 1167—1177.
6. *Zill L.* Lipids of photosynthetic tissue. I. Salicylic acid chromatography of the lipids from whole leaves and chloroplasts / L. Zill, E. Harmonn // Biochem. Biophys. Acta. — 1962. — Vol. 57. — P. 573—575.

Т.Н. Мельничук, Л.А. Чайковская, И.А. Каменева, А.И. Якубовская, А.А. Лолойко

Институт сельского хозяйства Крыма НААН

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БИОАГЕНТОВ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ И РАСТЕНИЙ

Изучали взаимодействие биоагентов микробных препаратов Диазофит (*Rhizobium radiobacter* 204, азотфиксатор), Фосфоэнтерин (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3, фосфатмобилизатор), Биополицид (*Paenibacillus polymyxa* П, антагонист фитопатогенов), влияние их отдельно и в комплексе на растения пшеницы озимой, а также действие бактериализации (Фосфоэнтерин) на содержание сульфолипидов в листьях на ранних этапах онтогенеза при стрессовом воздействии тяжелых металлов (ТМ).

Установлено, что биоагенты исследуемых препаратов, не проявляют антагонистического действия друг к другу *in vitro*, следовательно, могут применяться для бактериализации семян совместно. Штамм *R. radiobacter* 204 отличался по количественному и компонентному составу жирных кислот от *E. nimipressuralis* 32-3 и *P. polymyxa* П, тогда как последние только по их количеству.

Выявлена эффективность применения комплекса микробных препаратов различного функционального действия, выраженная в повышении потенциальной азотфиксирующей активности ризосферной почвы более, чем в 2 раза и урожайности озимой пшеницы на 38%. Установлено, что при загрязнении почвы ТМ содержание сульфолипидов в листьях озимой пшеницы снижалось на 16-31% против контроля в зависимости от уровня ПДК ТМ, тогда как при бактериализации (Фосфоэнтерин) возрастало до 10% по сравнению с небактеризованными растениями.

Ключевые слова: азотфиксирующая активность, diaзотрофы, сульфолипиды, жирные кислоты, комплекс микробных препаратов, озимая пшеница

T.N. Melnichuk, L.A. Chaykovskaya, I.A. Kameneva, A.I. Yakubovskaya, A.A. Loloyko

Institute of Agriculture of Crimea NAAS, Ukraine

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF THE INTERACTION OF BIOAGENTS MICROBIAL PREPARATIONS AND PLANTS

It was studied the interaction of bio-agents microbial preparations Diazophit (*Rhizobium radiobacter* 204, nitrogen fixers) Phosphoenterin (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3, phosphate-mobilization) Biopolicid (*Paenibacillus polymyxa* P antagonist, plant pathogens), its influence separately and in combination on plant winter wheat, as well as action bacterization (Phosphoenterin) sulfolipids content in leaves at early stages of ontogenesis under stress of heavy metals (HM).

It was established that bioagents of investigational biofertilizers do not exhibit an antagonistic action to each other *in vitro*, can therefore be used for common bacterization of seeds. *R. radiobacter* strain 204 different quantitative and component composition of fatty acids from *E. nimipressuralis* 32-3 and *P. polymyxa* P, whereas the latter only by their quantity.

It was shown the effective of using of complex microbial preparations of various functional activities, expressed in increasing the potential nitrogen-fixing activity of the rhizosphere soil more than in two times and wheat yield by 38 %. It was found that under soil contamination by HM the content of sulfolipids in the leaves of winter wheat was reduced by 16 - 31 % in compared to control, depending on the level of MPC HM, under bacterization (Phosphoenterin) one increased to 10% compared with not bacterized plants.

Keywords: nitrogen-fixing activity, diazotrophy, sulfolipid, fatty acids, complex microbial preparations, winter wheat

Рекомендує до друку
Г.О. Іутинська

Надійшла 29.04.2014

УДК 631.8:631.86/87

¹Т.Б. МІЛЮТЕНКО, ²О.В. ШЕРСТОБОЄВА

¹Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України
вул. Шевченка, 97, Чернігів, 14027

²Інститут агроекології і природокористування НААН України
вул. Метрологічна, 12, Київ, 03143

ВПЛИВ МІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ ПОЛІМІКСОБАКТЕРИНУ ТА СИДЕРАЦІЇ НА ВІНОС БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ З ҐРУНТУ

Встановлено, що застосування сидерата – зеленої маси люпину вузьколистого при вирощуванні кукурудзи сприяє обмеженню вертикальної міграції рухомих сполук біогенних елементів за межі кореневмісного шару ґрунту. Отриманий ефект посилюється за вирощування на фоні сидерації рослин, бактеризованих *Paenibacillus polymyxa* КВ. Також значно обмежується збільшення концентрації біогенних елементів у промивних водах при внесенні в ґрунт мінеральних добрив.

Ключові слова: біогенні елементи, ґрунт, добрива, поліміксобактерин, кукурудза

Одне з чільних місць у технології вирощування кукурудзи займає удобрення культури, зокрема зеленими добривами, що зумовлено дефіцитом гною, високою вартістю мінеральних добрив і низькими коефіцієнтами їх використання рослинами [3].

У свою чергу набуває популярності застосування мікробних препаратів для оптимізації складу та функціонування мікробного угруповання ґрунту. Інтродуковані в ґрунти агроценозів агрономічно корисні мікроорганізми активно впливають на формування кореневої системи культурних рослин, істотно збільшують її абсорбуючу та поглинальну здатність, і, відповідно, й асиміляцію сполук біогенних елементів [2].

Вертикальна міграція біогенних елементів за профілем ґрунту, крім економічних втрат спричиняє екологічну загрозу для природного середовища, особливо водних екосистем.

У контексті вищезазначеного, дослідження виносу біогенних елементів з ґрунту під час вирощування кукурудзи і впливу на цей процес бактеризації та сидерації набуває актуальності.

Матеріал і методи досліджень

Вертикальну міграцію сполук біогенних елементів у ґрунті досліджували в лізіметричній установці Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН. Посівна площа лізіметричної чарунки – 3,8 м², повторення – чотириразове. Шар ґрунту однієї чарунки – 155 см, його маса – 10,5 т. Ґрунт – дерново-підзолистий супіщаний, вміст гумусу за Тюрнімом – 1,1%, рН_{сол} – 5,0, гідролітична кислотність (за Каппеном) – 2,5 мг-екв./100 г, вміст Р₂О₅ (за Кірсановим) – 170,0 мг/кг, К₂О (за Масловою) – 62,0 мг/кг ґрунту.