

<sup>1</sup>В.І. СІЧКАР, <sup>1</sup>П.І. ХУХЛАЄВ, <sup>1</sup>О.В. БУШУЛЯН, <sup>2</sup>С.В. ДІДОВИЧ, <sup>1</sup>С.В. КОБЛАЙ,  
<sup>1</sup>Г.Д. ЛАВРОВА, <sup>1</sup>О.І. ГАНЖЕЛО

<sup>1</sup>Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насінництва та сортовивчення  
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036

<sup>2</sup>Південна дослідна станція ІСГМ НААН

вул. К.Маркса, 107, с. Гвардійське, Сімферопольський р-н, 97513, АР Крим

## **ІНТЕНСИФІКАЦІЯ АЗОТФІКСУВАЛЬНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР ШЛЯХОМ КОМПЛЕМЕНТАРНОГО ДОБОРУ МАКРО- І МІКРОСИМБІОНТІВ**

За умов нестачі вологи в ґрунті та дуже високих температур повітря у весняно-літній період у польових умовах оцінили виробничі та перспективні штами бульбочкових бактерій у деяких сортів сої, гороху та нуту. Високу ефективність у сортів гороху виявив новий штам У-1. У сортів нуту найкращим виявився штам А-44.

У вегетаційних дослідженнях з соєю на безазотному середовищі спостерігали дуже сильний вплив сорту на показники симбіозу. Найбільш активним за кількістю бульбочок виявився новий штам Х-9, а серед сортів максимальне значення цього показника спостерігали у сорту Ятрань.

*Ключові слова: азотфіксувальна активність, штами бульбочкових бактерій, соя, нут, горох, показники симбіозу, селекція*

Основними шляхами підвищення продуктивності сільськогосподарських культур є створення і впровадження у виробництво нових сортів і гібридів, а також застосування інтенсивних технологій, які включають внесення великої кількості мінеральних добрив, пестицидів для захисту від хвороб і шкідників, регуляторів і стимуляторів росту рослин [1, 3]. При цьому суттєво зростають урожаї, але одночасно це веде до значного погіршення стану довкілля, особливо ґрунтів. Крім того, використання підвищеної кількості азотних мінеральних добрив призводить до збільшення енергетичних затрат. У ґрунті, водоймищах, продукції рослинництва нагромаджуються нітрати, які в організмах людей і тварин провокують формування ракових пухлин.

Біологічний азот, зв'язаний із повітря, не має таких недоліків. Він є екологічно чистим, засвоюється рослинами повністю, сприяє покращенню родючості ґрунтів [2, 5]. Інокуляція ефективними штамами бульбочкових бактерій насіння зернобобових культур перед сівбою дозволяє зв'язувати 90-250 кг/га азоту в діючій речовині, який є легкозасвоюваним і використовується на формування врожаю, а певна його частина залишається в ґрунті й слугує стартовою дозою для наступних в сівозміні культур. Величина симбіотично зв'язаної кількості вищезазначеного елемента в значній мірі залежить від обох партнерів цього процесу.

Селекціонери нашої країни інтенсивно працюють над створенням нових сортів сої, гороху, нуту, багаторічних бобових трав. Щорічно державний реєстр поповнюється сортами цих культур, тому дуже важливо для них добрати ефективні штами бульбочкових бактерій. Як показують наші, а також результати інших дослідників, за рахунок вдалого добору макро- і мікросимбіонтів можливо збільшити урожай зернобобових культур на 3-5 ц/га. Ми вважаємо, що на сьогоднішній день це найбільш дешевий спосіб збільшення урожайності без порушення екологічної рівноваги довкілля.

### **Матеріал і методи досліджень**

Наші дослідження, які проводяться в останні роки, направлені на виявлення стійких асоціацій «сорт рослини – штам бульбочкових бактерій» у сої, гороху та нуту, які за умов недостатнього зволоження та високої температури ґрунту здатні формувати значну кількість бульбочок на рослині, які характеризуються підвищеною активністю та ефективністю.

Польові дослідження проводили на полях дослідного господарства Селекційно-генетичного інституту "Дачна", яке розташоване у степовій зоні Одеської області [4]. У процесі вегетації сої,

нуту і гороху проводили фенологічні спостереження, необхідні обліки та оцінки. Кількість бульбочок і їх масу визначали у фазі цвітіння рослин.

У дослідах використовували штами мікроорганізмів колекцій Південної дослідної станції та Інституту фізіології рослин і генетики НАН України та насіння сортів і селекційних ліній Селекційно-генетичного інституту.

У вегетаційних дослідах рослини вирощували в теплиці у посудинах з перфорованим дном об'ємом 0,3 л на безазотному субстраті – вермикуліті, насиченому 0,2% розчином калію фосфорнокислого однозаміщеного (KН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub>). Насіння обробляли перед посівом суспензією 7-добової культури ризобій із розрахунку 10<sup>6</sup> бактерій/насінину. Щільність суспензії бульбочкових бактерій для дозування інокуляційного навантаження визначали на фотоелектроколориметрі (КФК-2). Повторність вегетаційних дослідів 6-разова.

Ефективність бобово-ризобіального симбіозу оцінювали за кількістю, біомасою, нітрогеназною активністю бульбочок і сухою надземною масою рослин. Нітрогеназну активність аналізували ацетиленовим методом на газовому хроматографі "Chrom 5".

### Результати досліджень та їх обговорення

У вегетаційних дослідах із соєю виявили дуже сильну сортову залежність від штаму за кількістю бульбочок на рослині. Наприклад, на рослинах сорту Ятрань за інокуляції експериментальним штамом Х-9 в середньому за два роки сформувалось 31,2 бульбочок, тоді як у сорту Аркадія одеська - всього 6,5, а у сорту Сяйво – 10,4. Перевагу цього штаму за кількістю бульбочок на рослині спостерігали і у сорту Фенікс. У цілому штам Х-9 виявився найбільш продуктивним за середнім значенням кількості бульбочок у всіх сортів (табл. 1), максимальна їх кількість сформувалась на проростках сорту Ятрань (табл. 2). У середньому за інокуляції всіма штамами на рослинах сорту Ятрань нарахували 19,1 бульбочок, тоді як у сорту Аркадія одеська їх кількість становила 9,4, а у сорту Симфонія – 10,6 штук.

Таблиця 1

Порівняльна ефективність штамів *Bradyrhizobium japonicum* у сої

Штам	Кількість бульбочок			Маса бульбочок на рослині, мг			Нітрогеназна активність, мМоль етилену/год			Надземна маса проростків, г		
	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня
Контроль	0,0	8,2	4,1	0,0	71,8	35,9	0,0	0,0	0,0	3,2	4,8	4,0
М-8	9,4	20,5	15,0	73,0	99,0	86,0	3,0	1,9	2,4	4,4	6,0	5,2
36	7,7	18,3	13,0	61,2	110,2	85,7	1,4	1,1	1,2	4,1	5,8	5,0
Х-9	16,5	17,8	17,2	140,0	109,3	124,6	0,8	2,2	1,5	4,6	5,9	5,2
ГС-4	8,0	21,8	14,9	66,0	122,0	94,0	3,7	1,7	2,7	4,3	6,1	5,2

Важливо зауважити, що штам Х-9 досить чітко виділився позитивною дією у сортів Аркадія одеська, Ятрань і Симфонія за середньою за два роки масою бульбочок на рослині. У сорту Сяйво він був кращим за цим показником у 2012 році. Таким чином, цей штам в середньому на всіх сортах виявився найкращим за масою бульбочок на рослині (табл. 1). Серед сортів за цим показником також перевагу мав сорт Ятрань (табл. 2).

Нітрогеназна активність у всіх сортів була невисокою. Надземна маса проростків у всіх варіантах була вищою порівняно з контролем і суттєво залежала від штаму бульбочкових бактерій. У сортів Аркадія одеська, Ятрань і Симфонія найбільш ефективними за цим показником штамами виявились М-8 і Х-9, у сорту Сяйво – 36 і ГС-4, у сорту Фенікс – ГС-4 і М-8. В цілому за інакуляції всіма штамами надземна маса проростків була досить близькою (табл.1). Сорт Сяйво виділився серед інших за цією ознакою (табл. 2).

У дослідженнях такого роду з горохом чітко виявився новий високопродуктивний штам *Rhizobium leguminosarum* 34.

Показники симбіозу нових сортів сої за інокуляції виробничими та перспективними штамми бульбочкових бактерій

Сорт	Кількість бульбочок			Маса бульбочок на рослині, мг			Нітрогеназна активність, мМоль етилену/год			Надземна маса проростків, г		
	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня
Аркадія одеська	4,6	14,2	9,4	17,5	80,2	48,8	1,3	0,8	1,0	4,0	5,3	4,6
Ятрань	23,7	14,5	19,1	237,5	68,0	152,8	4,6	1,1	2,8	4,9	5,5	5,2
Симфонія	5,2	16,0	10,6	42,8	68,0	55,4	1,2	1,4	1,3	3,6	5,5	4,6
Сяйво	6,2	25,5	15,8	55,0	137,0	96,0	2,0	2,5	2,2	4,6	7,2	5,9
Фенікс	12,4	20,8	16,6	72,5	118,2	95,4	2,1	1,7	1,9	5,2	5,8	5,5
Берегиня	-	26,8	-	-	185,2	-	-	2,9	-	-	6,4	-

У гороху за інокуляції різними штамми *Rhizobium leguminosarum* найбільш ефективним виявився перспективний штам У-1, у варіантах з яким спостерігали максимальні прибавки урожаю насіння порівняно зі стандартним штамом 261б (табл. 3). У середньому за два роки найбільше перевищення урожаю за інокуляції штамом У-1 мало місце у сорту Одорус (23,8 ц/га проти 20,8 ц/га). Аналіз елементів продуктивності свідчить про те, що підвищення урожаю обумовлене формуванням крупнішого насіння.

Таблиця 3

Вплив штамів бульбочкових бактерій на урожай насіння гороху (ц/га)

Штам	Сорт								
	Світ			Одорус			Сіріус (ЛІ 35-11)		
	2012	2013	середнє	2012	2013	середнє	2012	2013	середнє
261б, ст.	23,1	18,2	20,6	22,6	19,1	20,8	24,7	18,6	21,6
К-29	25,8	19,6	22,7	23,3	20,5	21,9	27,5	20,2	23,8
У-1	26,4	19,6	23,0	25,1	22,5	23,8	25,8	20,8	23,3
НІР <sub>05</sub>	1,58	1,38		1,47	1,44		1,59	1,46	

Польові дослідження зі сортами нуту Пам'ять і Буджак виявили високу ефективність виробничого штаму *Mesorhizobium ciceri* Н-12 протягом 2012-2013 рр. Середня прибавка урожаю насіння при його використанні у сорту Пам'ять склала 3,6 ц/га, сорту Буджак – 3,0 ц/га або 26,5% і 24,4% відповідно. Серед вивчених штамів більш ефективним виявився лише А-44, прибавки врожаю від інокуляції яким склала 4,4 ц/га у сорту Пам'ять і 3,3 ц/га у сорту Буджак. Суттєвий позитивний ефект у сорту Пам'ять виявила суміш ризобіфіту і експериментального зразка на основі мікоризних грибів, якою інокулювали насіння нуту перед сівбою.

### Висновки

1. За умов недостатнього зволоження ґрунту і підвищених температур повітря у сої, гороху та нуту виділені комплементарні асоціації «сорт рослини – штам бульбочкових бактерій», які характеризуються підвищеною насінневою продуктивністю, формуванням значної кількості бульбочок і їх маси на рослині.
2. До державного випробування передано сорт гороху Сіріус і сорт сої Астер, які поряд з підвищеною насінневою продуктивністю виділяються покращеною азотфіксувальною здатністю.

1. *Биорегуляция* микробно-растительных систем / Иутинская Г. А., Пономаренко С. П., Андреюк Е. И. и др.; Под общей ред. Г. А. Иутинской, С. П. Пономаренко. — К.: Ничлава, 2010. — 464 с.
2. *Біологічний азот* / В. П. Патики, С. Я. Коць, В. В. Волкогон та ін.; За ред. В. П. Патики. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
3. *Біологічно активні речовини в рослинництві* / Грицаєнко З. М., Пономаренко С. П., Карпенко В. П., Леонтюк І. Б. — К.: ЗАТ «Нічлава», 2008. — 352 с.
4. *Доспехов Б. А. Методика полевого опыта* / Б. А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
5. *Мікроорганізми і альтернативне землеробство* / [Патики В.П., Тихонович І.А., Філіп'єв І.Д. та ін]; за ред. В. П. Патики. — К.: Урожай, 1993. — 176 с.

В.И. Сичкарь, И.И. Хухлаев, О.В. Бушулян, С.В. Дидович, С.В. Коблай, Г.Д. Лаврова, О.И. Ганжелю  
 Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения  
 Южная опытная станция ИСХМ НААН Украины

#### ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПОТЕНЦИАЛА АЗОТФИКСАЦИИ ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР ПУТЕМ КОМПЛЕМЕНТАРНОГО ПОДБОРА МАКРО- И МИКРОСИМБИОНТОВ

В условиях недостатка влаги в почве и очень высокой температуры воздуха в весенне-летний период в полевых условиях оценили производственные и перспективные штаммы клубеньковых бактерий ряда сортов сои, гороха и нута. Высокую эффективность на сортах гороха показал новый штамм *Rhizobium leguminosarum* У-1, прибавка урожая при его использовании составила 1,21-3,3 ц/га в сравнении со стандартным штаммом 261 б. Неплохие результаты дало также использование штамма К-29.

Для сортов нута лучшим оказался штамм *Mesorhizobium ciceri* А-44, при инокуляции которым прибавка урожая составила у сорта Память 4,8 ц/га, у сорта Буджак – 4,1 ц/га, или 47 и 42,7% соответственно. Приблизительно такой же эффект имел место и у штамма 068 при его взаимодействии с сортом Буджак.

В вегетационных опытах с соей на безазотном субстрате наблюдали очень сильное влияние сорта на показатели симбиоза. Самым активным по количеству клубеньков был новый штамм *Bradyrhizobium japonicum* Х-9, а среди сортов максимальное значение этого показателя имело место у сорта Ятрань. Установлена высокая корреляция между количеством клубеньков на растении и их массой.

В подобных исследованиях с горохом был выявлен новый высокопродуктивный штамм *Rhizobium leguminosarum* 34, как по количеству клубеньков, так и по их массе. В вариантах с этим штаммом наблюдали более интенсивный рост проростков у исследуемых сортов.

*Ключевые слова:* азотфиксирующая активность, штаммы клубеньковых бактерий, соя, нут, горох, показатели симбиоза, селекция

V.I. Sichkar, I.I. Khuhlayev, O.V. Bushulyan, S.V. Didovich, S.V. Koblay, G.D. Lavrova, O.I. Ganzhelo<sup>1</sup>  
 Plant Breeding and Genetic Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, Ukraine  
 South research station of the Institute of Agricultural Microbiology, Ukraine

#### THE INTENSIFICATION OF NITROGEN FIXATION POTENTIAL IN LEGUME CROPS VIA COMPLEMENTARY SELECTION OF HOSTS AND MICROSymbionTS

A range of industrial and perspective strains of nodulating bacteria in soybeans, pea and chickpea were evaluated in field plots under extremely dry and hot conditions during the growing period. A new *Rhizobium leguminosarum* strain У-1 has been highly effective with pea cultivars which have yielded 0.12-0.33 t/ha more than with the standard strain 2616. Good results were also obtained with the strain К-29.

The *Mesorhizobium ciceri* strain А-44 was the best for chickpea varieties. Being inoculated with А-44, the cultivar Pamyat' increased the seed yield for 0.48 t/ha, or 47% and the cultivar Budzhak for 0.41 t/ha (42.7%). Approximately the same effect was observed in Budzhak-strain 068 combination.

A significant variation in nitrogen fixation has been observed among soybean cultivars grown in the greenhouse on the non-nitrogen substrate. The cultivar Yatran' showed the largest number and weight of nodules per plant. It also had the highest nitrogenase activity. The inoculation with the *Bradyrhizobium japonicum* strain Х-9 resulted in the largest number of nodules. The high correlation between nodule number and nodule weight was observed during two years of the research.

A new highly productive *Rhizobium leguminosarum* strain 34 has been determined in similar experiments with pea. It exceeded the other strains for nodule number and nodule weight. The inoculation with this strain resulted in more intensive shoot growth.

*Keywords: nitrogen fixation ability, nodulating bacteria strains, soybean, pea, chickpea, symbiosis characters, breeding*

Рекомендує до друку

Надійшла 08.04.2014

С.В. Пида

УДК 579.22+579.26

<sup>1</sup>А.Б. ТАШИРЕВ, <sup>1</sup>О.С. СУСЛОВА, <sup>1</sup>П.В. РОКИТКО, <sup>2</sup>К.М. БОНДАРЬ, <sup>3</sup>В.В. ПОКАЛЮК

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К.Заболотного НАН України

ул. Академика Заболотного, 154, Київ ДСП, Д03680

<sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ул. Васильковська, 90, Київ, 03022

<sup>3</sup>Інститут геохімії оточуючої середовища НАН України і МЧС України

просп. Академика Палладина, 34 а, Київ, 03680

## **ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЗОФИКСАТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ КАРСТОВЫХ ПОЛОСТЕЙ МУШКАРОВА ЯМА И КУЙБЫШЕВСКАЯ**

З глинистих відкладів двох карстових порожнин Мушкарова Яма (Поділля, Україна) та Куйбишевська (Західний Кавказ, Абхазія) були виділені шість штамів азотфіксуючих бактерій. Встановлено, що штами здатні рости як в копію-, так і в олігокарботрофних умовах, утилізувати широкий спектр органічних речовин (цукри, органічні кислоти, спирти, ароматичні сполуки), в тому числі центральні метаболіти циклу вуглецю. Показано, що всі штами мають широкий температурний діапазон росту. Вони представлені мезотермофілами та психлотолерантами. За температури 5°C лаг-фаза штамів подовжується в 4 рази і складає 20-25 діб.

*Ключевые слова: азотфиксирующие бактерии, карстовые полости*

Наряду с хорошо известными наземными и водными экосистемами на нашей планете существуют уникальные и малоизученные сообщества живых организмов. Некоторые из них формируются в подземных полостях различного происхождения. Наиболее распространенными являются карстовые полости, образующиеся в результате растворения и механического разрушения проницаемых растворимых (карстующихся) карбонатных и сульфатных горных пород. Их возраст, как правило, измеряется миллионами лет. По оценкам разных авторов [7, 8], открыто и описано лишь 0,1% – 10% карстовых полостей. Особенности карстовых полостей как среды обитания являются полное отсутствие света, относительная стабильность физико-химических параметров (постоянная температура, влажность, низкая концентрация органических соединений) на протяжении сотен лет. В карстовых полостях можно обнаружить редкие и экстремальные виды микроорганизмов, являющиеся реликтами прошлых геологических эпох.

Как правило, микроорганизмы экстремальных экосистем устойчивы к токсичным соединениям (например, металлы или органические ксенобиотики) и способны взаимодействовать с ними. Таким образом, данные экосистемы могут служить полигоном для биоразведки – скрининга промышленно перспективных микроорганизмов. Большой интерес к пещерным экосистемам проявляет NASA, рассматривая карстовые полости в качестве модельных объектов для отработки технологий поиска жизни на других планетах [5]. Принимая во внимание масштабы распространения и объемы карстовых полостей, микробные сообщества в них могут существенно