

увеличивается плотность метки в 3,7 раз в фибриллярных центрах ядрышка и в 2,8 раз в плотном гранулярном компоненте. Установлено повышение функциональной активности ядрышек растительных клеток под влиянием инокуляции, что свидетельствует о возрастании уровня транскрипции ДНК и процессинга РНК в них.

Ключевые слова: меристемы, ДНК, ядрышко, фибриллярный центр, плотный фибриллярный компонент, инокуляция

N.I. Adamchuk-Chala

Institute of Microbiology and Virology DC Zabolotnogo NAS Ukraine

EFFECT INOCULATION *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* UCM B- 6035 ON THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ORGANIZATION OF NUCLEOLAR SUBCOMPONENTS CELL APICAL MERISTEM OF SEEDLINGS SOYBEAN

Aim of investigation was to discover effect of inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* UCM B-6035 on the structural and functional organization of nucleolar subcomponents apical meristem cells of soybean seedlings cultured under aseptic conditions. Using methods were transmission electron microscopy and immunocytochemical analysis with gold-labeled antibodies to DNA. Immunocytochemical analysis shows that density increasing of 3.7 times the label in the fibrillar centers of the nucleoid and 2.8 times in dense granular component under inoculation. The functional activity of the nucleoid of plant cells under the influence of inoculation indicating that the increase in DNA transcription and RNA processing them.

Keywords: meristem DNA nucleoid, fibrillar cente, dense fibrillar component inoculation

Рекомендує до друку

Надійшла 07.05.2014

Н.М. Дробик

УДК 579.64:631.461.5: 633.31/37

¹О.О. АЛЕКСЕЕВ, ²В.П. ПАТИКА

¹Вінницький національний аграрний університет

вул. Сонячна, 3, Вінниця, Україна

²Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України

вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680

ФОРМУВАННЯ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* – СОЯ

Досліджено взаємодію активних штамів *Bradyrhizobium japonicum* M8 та 6346 з вірусостійким сортом сої Горлиця та більш толерантним сортом КиВін у поєднанні з пестицидами та гербіцидами. На основі результатів вегетаційних і польових експериментів доведено, що досліджувані штами формують ефективний симбіоз із сортами сої. Встановлено, що передпосівна обробка насіння даними штамми активізує засвоєння молекулярного азоту і забезпечує підвищення врожайності та якості зеленої маси, зерна, збільшує вихід білка, що свідчить про наявність у досліджуваних ризобій комплементарності до вірусостійких сортів. Пестициди, які застосовувались при дослідженнях зокрема: протруювач Максим XL, ґрунтовий гербіцид Харнес та вегетаційний гербіцид Базагран показали досить високу ефективність відносно шкідників, хвороб та бур'янів, причому взаємодія з штамми *Bradyrhizobium japonicum* M8 та 6346 виявилась сумісною протягом усіх фаз вегетації рослин.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum* M8 та 6346, соя, симбіотична система, азотфіксація, штам, пестициди, гербіциди

Екологічно орієнтоване сільське господарство – це сучасна парадигма, яка повинна прийти на зміну хіміко-технологічній. Стратегічною культурою для розвитку цього напрямку є соя (*Glycine hispida Maxim.*) [1, 8].

Соя – унікальна рослина, її можна назвати природною фабрикою, завдяки успішному поєднанню двох важливих процесів: фотосинтезу та біологічної фіксації азоту, вона покращує азотний баланс ґрунту, є добрим попередником для інших культур, забезпечує одержання чистої продукції. Феномен сої полягає у високому вмісті в насінні білка та жиру, рідкісному і різноманітному поєднанні ферментативного та вітамінного складу [1, 8, 9].

Фіксація атмосферного азоту – це унікальний біологічний процес збагачення азотом ґрунту. Тому велике значення в азотному балансі ґрунту має «біологічний азот», одержаний завдяки бобовим рослинам, які існують у симбіозі з азотфіксувальними бактеріями. Цей шлях одержання зв'язаного азоту не потребує матеріальних витрат і в період енергетичної кризи привертає дедалі більшу увагу землеробів у всіх країнах [2, 3, 9].

Ще однією актуальною проблемою на сьогоднішній день постає питання забур'яненості посівів сої та пошук способів боротьби з ними в умовах мінімальної хімізації зернобобових культур, тобто зменшення застосування пестицидів і в першу чергу гербіцидів [4, 7].

Посіви сої значною мірою потерпають від бур'янів. Це пов'язано як з рівнем культури землеробства в господарствах, засміченістю полів бур'янами, так із особливостями росту й розвитку рослин сої та технології її вирощування [4].

Мета дослідження – вивчити вплив інокулянту бактеріальних штамів *Bradyrhizobium japonicum* М8 і 6346 на насінневий матеріал вірусостійкого сорту Горлиця та більш толерантного сорту КиВін у поєднанні з пестицидами та гербіцидами, для встановлення існування залежності між цими компонентами.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили у 2012-2014 роках в умовах дослідної ділянки Вінницького національного аграрного університету (с. Агрономічне, Вінницький район, Вінницька область) та на базі Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ.

У ґрунтового покриві переважають чорноземи опідзолені. За даними агрохімічного обстеження, характеристика ґрунту дослідної ділянки така: вміст гумусу в орному шарі 3,3. Гідролітична кислотність – 1,23 м.екв. на 100 г ґрунту, рН сольової витяжки 5,7. Вміст легкогідролізованого азоту (за Корнфілдом) -7,0, рухомий фосфор та обмінний калій (за Чіркоковим) - 6,6 та 6,5 мг /100 г ґрунту. Технологія вирощування культури відповідала рекомендованій для зони Лісостепу, без урахування факторів, які досліджували. Спосіб сівби широкорядний з міжряддям 45см. Облікова площа ділянки 10 сотих, повторення досліду чотириразове. Попередник – соняшник.

Об'єктами досліджень слугували вірусостійкий сорт сої Горлиця та більш толерантний сорт КиВін. У роботі використовували штами *Bradyrhizobium japonicum* М8 з колекції Інституту сільськогосподарської мікробіології НАН України і 6346 з Національної колекції ГНУ Всеросійського науково-дослідного Інституту сільськогосподарської мікробіології (С.-Петербург, Росія). У якості протруйників і гербіцидів використовували протруйник Максим ХЛ, т.к.с. (флудіоксоніл, 25 г/ л + металаксил- М, 10 г/ л), ґрунтові гербіциди Харнес, к.е. (ацетохлор, 900 г/ л), та вегетаційний гербіцид Базагран, 48% в.р. (д.р. бентазон) Симбіотичні властивості штамів вивчали в умовах вегетаційного досліду в посудинах із 3 кг нестерильного сірого лісового середньосуглинкового ґрунту (агрохімічні показники наведені вище) та польових дослідах. Облікова площа ділянки 10 м², повторність досліду 4-х кратна [6, 10].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою дисперсійного аналізу за Б.О. Доспеховим [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати вивчення азотфіксувальної активності та ефективності симбіотичних систем сої, утворених із використанням двох штамів бульбочкових бактерій, наведені в табл. 1.

При визначенні активності відновлення ацетилену кореневими бульбочками сої вірусостійкого сорту сої Горлиця та більш толерантного сорту КиВін показано, що використані у

ЕКОЛОГІЯ

досліді штами М8 і 6346 *Bradyrhizobium japonicum* є ефективними і характеризувались високою азотфіксувальною активністю. Проте штам М8 відрізнявся більш широкою комплементарністю, що забезпечувало найвищу азотфіксувальну активність симбіотичних систем *Gycine hispida Maxim.*– *Bradyrhizobium japonicum* на обох досліджуваних сортах. Варто також зауважити, що рівень азотфіксувальної активності штаму в значній мірі залежав від сорту сої. Найвищою вона була у сорту Горлиця.

Ефективність фіксації азоту також впливала на формування вегетативної маси рослинами сої. Як видно з (табл.1), рослини сої сорту КиВін, симбіотична система якого мала нижчу ефективність відновлення ацетилену, порівняно із сортом Горлиця, за інокуляції штамами М8 і 6346 мали приріст зеленої маси від 40,4 до 46,5 г/посудину. У той же час інокуляція цими ж штамами рослин сої сорту Горлиця забезпечувала достовірну прибавку урожаю від 45,3 до 52,7 г/посудину.

Таблиця 1

Азотфіксувальна активність та ефективність штамів *Bradyrhizobium japonicum* у симбіозі з *Gycine hispida Maxim.* (вегетаційний дослід)

Варіант	Сорт сої			
	Горлиця		КиВін	
	А	ΔМ	А	ΔМ
Без інокуляції	0	0	0	0
Штам				
М8	5,23	+52,7	4,09	+46,5
6346	4,35	+45,3	3,91	+40,4

Примітка: А – ацетиленредуктазна активність, мкМоль C_2H_4 /(рослину x год), ΔМ – прибавка врожаю зеленої маси, г/посудину.

Разом із тим, ефективність симбіотичних систем можна достовірно оцінити лише в природних неконтрольованих умовах. Із цією метою було проведено 3-х річні польові випробування із тими ж сортами і штамами. Продуктивність симбіозу *Bradyrhizobium japonicum* – *Gycine hispida Maxim.* наведена в табл. 2.

Як видно з результатів даної (табл.2), використання у якості мікросимбіонтів для обох сортів сої штамів *Bradyrhizobium japonicum* М8 і 6346 призводило до суттєвого достовірного збільшення врожаю зерна рослин, поживності, а також вмісту у ньому білка. Ефективнішою виявилась інокуляція насіння сої сорту Горлиця штамом М8. Обробка зазначеними штамами забезпечила урожай зерна у межах 2,76–3,31 т/га, вихід білка – 401,0–635,2 кг/га і поживності – 1879,3–2253,0 к.од.

Таблиця 2

Вихід білка зерна сої та вміст протеїну

Варіант	Сорт					
	Горлиця			КиВін		
	Врожай, т/га	Вихід білка, кг/га	Пожив- ність, к. од	Врожай, т/га	Вихід білка, кг/га	Пожив-ність, к. од
Без інокуляції	2,09	495,0	1553,0	1,80	364,0	1232,0
Штам						
М8	3,31	635,2	2253,0	2,83	476,0	1987,0
6346	3,02	590,4	2021,0	2,76	401,0	1879,3
НІР ₀₅	1,11			1,29		

Соя - це культура, що на початкових етапах вегетації розвивається повільно, а, отже, є низько конкурентною з хворобами, шкідниками, бур'янами за споживання вологи, поживних речовин та світла. Тому інтегрована боротьба з цими процесами є першочерговим завданням для успішного вирощування культури. Комплекс заходів з захисту сої від збудників хвороб, що передаються через насіння, належать протруйникам. Використання у дослідженні препарату

Максим XL 035 FS, т.к.с. (1,0 л/т), що належить до найбільш сумісних препаратів із бульбочковими бактеріями, дає можливість знищити інфекцію на насінні та захистити його під час проростання від ґрунтових патогенів. Але найбільш ефективним та дієвим шляхом боротьби з бур'янами при вирощування сої є застосування ґрунтових та страхових гербіцидів. Так внесення ґрунтових гербіцидів дає можливість на 30-40 днів відтермінувати появу бур'янів. На посівах сої ефективними є гербіциди на основі таких діючих речовин: S-метолахлору, ацетохлору, метрибузину, імазетапіру, прометрину і т.д. Тому в даному випадку для дослідження вибрано препарат проти однорічних злакових культур та деяких дводольних бур'янів ацетохлору – Харнес, 90% к.е., який протягом дослідження проявив себе досить високоефективно у боротьбі з бур'янами, що дало можливість якісно розвиватись культурі та формуванню бульбочок.

Застосування гербіцидів під час вегетації є менш не безпечнішим, ніж використання ґрунтових гербіцидів, оскільки найбільш вразливі до впливу хімікатів є перші етапи взаємодії мікроорганізмів з рослинами та росту і розвитку рослин сої. Для боротьби із злаковими бур'янами застосовують препарати на основі таких діючих речовин як хізалоп-п-етил, клетодим, флузіафоп-п-бутил, пропаквізафоп, сетоксидим, імазетапір, імазамокс, а проти дводольних: бентазон, тифенсульфуронметил, бентазон + ацифлуорфен, імазетапір + хлоримурон-етил, імазетапір, імазамокс.

Під час дослідження, особливу увагу приділено препарату Базагран, 48% в.р. (д.р. бентазон) – це контактний післясходовий гербіцид, що використовується для знищення широколистяних бур'янів, і характеризується високою ефективністю при боротьбі з бур'янами. На відміну від ґрунтового гербіциду, вищезазначений гербіцид не впливає на фіксації атмосферного азоту.

Висновки

1. У результаті дослідження встановлено, що високоефективні штами *Bradyrhizobium japonicum* М8 і 6346, завдяки відсутності вузької комплементарності до рослини-живителя, характеризувалися високою азотфіксуючою активністю та сприяли формуванню рослинами сої сортів Горлиця і КиВін високих урожаїв зерна та вмісту у ньому білка.
2. Застосування Максим XL 035 FS, ґрунтового гербіциду Харнес 90% к.е., та вегетативного гербіциду Базагран 48% в.р. у боротьбі із хворобами, шкідниками та з бур'янами, не знижувало активності симбіотичних систем сої з бульбочковими бактеріями.
3. *Bradyrhizobium japonicum* штаму М8 відрізняється більш широкою комплементарністю, що забезпечувало найвищу азотфіксуючу активність симбіотичних систем *Gucine hispida Maxim.*– *Bradyrhizobium japonicum* на обох досліджуваних сортах. На рівень азотфіксуючої активності штаму в значній мірі впливають сортові особливості сої. Симбіотичні системи сої сорту Горлиця з бульбочковими бактеріями характеризувалися вищою азотфіксуючою активністю, порівняно з аналогічними сорту КиВін.

1. *Бабич А.О.* Соя і соєвий шрот в годівлі тварин, птиці і риби / Бабич А.О., Омер Р., Побережна А.А. — К., 2000. — 87 с.
2. *Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз* / [Коць С.Я., Моргун В.В., Патька В.Ф., Даценко В.К., Кругова Е.Д., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н., Михалкив Л.М.] - [монографія: в 4-х т.] / том 1/. — К.: Логос, 2010. — 508 с.
3. *Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз* / [Коць С.Я., Моргун В.В., Патька В.Ф., Маличенко С.М., Маменко П.Н., Киричий Д.А., Михалкив Л.М., Береговенко С.К., Мельникова Н.Н.] — [монографія: в 4-х т.]. — / том 2/. — К.: Логос, 2011. — 523 с.
4. *Галиш Ф.С.* Агротехніка – проти бур'янів (соя) / Ф.С. Галиш. — Карантин та захист. — 2007. — № 10. — С. 13—14.
5. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов — М.: Колос, 1985. — 351 с.
6. *Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія* / [Волкогон В.В., Надкернична О.Н., Токмакова Л.М., Менльничук Т.М., Чайковська Л.О., Надкерничний С.П., Шерстобоев М.К., Козар С.Ф., Копилов Є.П., Крутило Д.В., Пархоменко Т.Ю., Каменєва І.О., Адамчук-Чала Н.А., Ковалевська Т.М., Дідович С.В., Волкогон К.І., Пищур І.М., Волкогон М.В., Дімова С.Б., Комок М.С.]; за наук.ред. В.В.Волкогона. — К.: Аграр.наука, 2010. — 464 с.
7. *Жеребко В.* Технології вирощування та інтегрований захист посівів сої / В. Жеребко. — Пропозиція, 2008. № 5. — С. 68—76.

8. *Зінченко О.І.* Рослинництво: / Салатенко В.Н., Білоножко М.А. Підручник /за ред. О.І.Зінченка. — К.: Аграрна освіта, 2001. — 591 с.
9. *Мікроорганізми і альтернативне землеробство* / [Патика В.П., Тихонович І.А., Філіп'єв І.Д., Гамаюнова В.В., Андрусенко І.І.] — під ред. В.П. Патики. — К.: Урожай, 1993. — С. 64—99.
10. *Шерстобоева Е.В.*, Биопрепараты азотфиксирующих бактерий: проблемы и перспективы применения / Шерстобоева Е.В., Дудинова И.А., Шерстобоев Н.К. // Микробиол. журн. — 1997. — 58, № 4. — С. 109—117 с.

О.О. Алексеев, В.П. Патыка

Винницький національний аграрний університет

Институт микробиологии та вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины

**ФОРМИРОВАНИЕ ВЫСОКОЭФЕКТИВНОЙ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ
BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM - СОЯ**

В статье отражены данные исследований по взаимодействию активных штаммов клубеньковых бактерий штамма *Bradyrhizobium japonicum* M8 и 634b с вирусостойким сортом сои Горлица и более толерантным сортом Кивин в сочетании с пестицидами и гербицидами. На основании результатов вегетационных и полевых экспериментов было доказано, что исследуемые штаммы формируют эффективный симбиоз с сортами сои. Установлено, что предпосевная обработка семян данными штаммами активизирует усвоение молекулярного азота и обеспечивает повышение урожайности и качества зеленой массы, зерна, увеличивают выход белка, что свидетельствует о наличии в исследуемых ризобий комплементарности к вирусостойким сортам. Ряд пестицидов, применявшихся при исследованиях, в частности: протравитель Максим XL, почвенный гербицид Харнес и вегетационный гербицид Базагран, показали достаточно высокую эффективность в отношении вредителей, болезней и сорняков, причем взаимодействие со штаммом *Bradyrhizobium japonicum* M8 и 634b оказалось совместимым на протяжении всех этапов вегетационного цикла растений .

Ключевые слова: *Bradyrhizobium japonicum* M8 и 634b, соя, симбиотическая система, азотфиксация, штамм, пестициды, гербициды

O. O. Aliksieiev, V. Patuka

Vinnytsya National Agrarian University, Ukraine

Institute of microbiology and virology named by D. K. Zabolotnyy National Academy of Sciences of Ukraine

**FORMING OF THE POWERFUL SYMBIOTIC SYSTEM *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* -
SOYBEAN**

This article shows the research data on the interaction of active strains of nodule bacterium strain of *Bradyrhizobium japonicum* M8 and 634b with virus resistance soybean variety Horlytsya and more tolerant variety KyVin combined with pesticides and herbicides. On the basis of vegetation and field experiments investigated strains form effective symbiosis with soybean varieties. Established that presowing seed treatment with these strains activates consumption of molecular nitrogen and insures the enhance of crop-producing and quality of green mass, seed, increases the output of protein, which indicates the presence of complementarity to virus resistance in studied nodule bacteria. A number of pesticides that were used in research such as: treater Maxim XL, soil herbicide Harnes and vegetation herbicide Bazahran showed relatively high efficiency in regard to pests, diseases and weedages, and interaction with *Bradyrhizobium japonicum* strain M8 and 634b appeared to be compatible for all stages of the growing cycle of plants .

Keywords: *Bradyrhizobium japonicum* M8 and 634b, soybean, symbiotic system, nitrogen fixation, strain, pesticides, herbicides

Рекомендує до друку

Надійшла 14.05.2014

С. Я. Коць