

## ЕФЕКТИВНІСТЬ СИМБІОЗУ БУЛЬБОЧКОВИХ БАКТЕРІЙ З РОСЛИНАМИ СОЇ

**В. В. Волкогон**, доктор сільськогосподарських наук;

**М. С. Комок**

Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН України

Викладено результати досліджень впливу різних біопрепаратів на основі виробничого штаму *Bradyrhizobium japonicum* М 8 на формування та продуктивність соєво-ризобіального симбіозу за наявності в ґрунті «місцевих» популяцій ризобій сої. Встановлено, що біопрепарат комплексної дії ризогумін забезпечував збільшення кількості бульбочок, утворених інтродукційним штамом нітрогеназної та глутамінсинтезної активності, а також підвищення вмісту білка в рослинах сої порівняно з іншими бактеріальними препаратами. Ризогумін сприяв одержанню найбільшого приросту урожайності насіння сої.

**Ключові слова:** бульбочкові бактерії, біопрепарати, симбіотична азотфіксація, фізіологічно активні речовини, глутамінсинтеза.

Соя – цінна зернобобова і олійна культура з широким спектром використання. Дефіцит продовольчого і кормового білка на ринку України тривалий час гарантуватиме високий попит на зерно і продукти переробки сої.

Однією з головних особливостей сої як бобової культури є здатність формувати високоефективні азотофіксуючі симбіози з бульбочковими бактеріями. Збільшити продуктивність азотфіксації соєво-ризобіального симбіозу можливо шляхом інтродукції ефективних штамів бульбочкових бактерій в агроценози. З цією метою проводять бактеризацію насіння або ґрунту шляхом використання мікробних препаратів.

Слід зазначити, що використання біопрепаратів на основі специфічних бульбочкових бактерій сої призводить до утворення місцевих популяцій сої [1]. Наявність конкурентоспроможних спонтанних популяцій ризобій – це потенційний бар'єр для інтродукції нових високоефективних штамів в агроценози [2].

За такої ситуації ефективним може виявитися застосування біопрепаратів комплексної дії. Останніми роками для інокуляції насіння сої в Україні використовують препарат комплексної дії ризогумін, який, крім бульбочкових бактерій розмножених у торфі, містить фізіологічно активні речовини біологічного походження. Дослідники відмічають позитивний вплив рістстимулюючих речовин на активацію бобово-ризобіального симбіозу [3, 4]. При застосуванні комплексних препаратів, навіть за неважкої інтродукції виробничого штаму, в складних екологічних умовах спостерігається позитивний ефект від їх дії.

Метою роботи було вивчення впливу різних біопрепаратів на ефективність симбіозу бульбочкових бактерій з рослинами сої за наявності місцевих популяцій бульбочкових бактерій.

Об'єктами досліджень були бульбочкові бактерії сої *Bradyrhizobium japonicum* М 8 (колекція мікроорганізмів Інституту сільськогосподарської мікробіології), сорт сої Устя (*Glycine max* (L.) Merr.). В дослідях використовували бактеріальну суспензію штаму *B. japonicum* М 8, біопрепарат ризоторфін, а також препарати комплексної дії ризогумін та біогран.

Вивчення впливу різних біопрепаратів на ефективність соєво-ризобіального симбіозу за щільної популяції «місцевих» бульбочкових бактерій сої здійснювали в польовому дрібноділянковому досліді. Щільну популяцію бульбочкових бактерій сої створювали штучно в попередньому році на основі штаму *B. japonicum* 634 б шляхом вирощування бактеризованої сої на досліджуваній ділянці. Штам *B. japonicum* 634 б серологічно відмінний від штаму *B. japonicum* М 8. Серологічне визначення частки бульбочок, утворених штамом *B. japonicum* М 8, проводили методом крапельної аглютинації. Для серологічних досліджень використовували сироватку власного виробництва [5].

Дослідження симбіотичних властивостей при дії різних біопрепаратів свідчить про позитивний вплив бактеризації на вірулентність бульбочкових бактерій (табл. 1). В усі фази

органогенезу рослин відмічено достовірне збільшення кількості бульбочок у варіантах з інокуляцією мікробними препаратами. Утворення найбільшої кількості бульбочок забезпечували біопрепарат комплексної дії ризогумін і стандартний препарат ризоторфін в усі фази розвитку рослини. Так, у фазі цвітіння ці біопрепарати сприяли збільшенню кількості бульбочок у 1,4 і 1,3 раза відповідно порівняно з показниками контролю.

Всі біопрепарати забезпечували достовірний приріст маси бульбочок порівняно з варіантом без інокуляції (табл. 1). Найбільшу масу бульбочок відмічено у варіанті з інокуляцією ризогуміном в усі фази розвитку рослини.

### 1. Вірулентність бульбочкових бактерій сої при дії різних біопрепаратів

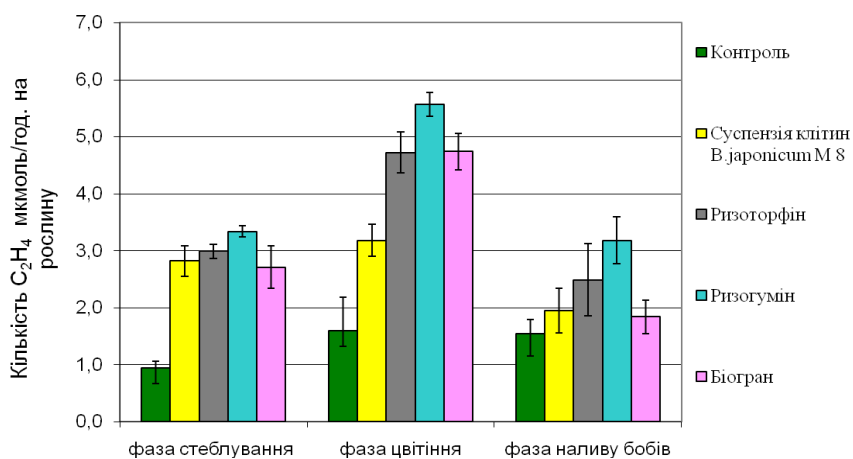
Варіант досліджу	Кількість бульбочок, од./ рослину			Маса бульбочок, г/рослину		
	фаза гілкування	фаза цвітіння	фаза утворення бобів	фаза гілкування	фаза цвітіння	фаза утворення бобів
Контроль	21,9 ± 2,2	36,3 ± 4,0	40,1 ± 1,9	0,20 ± 0,04	1,09 ± 0,11	1,23 ± 0,05
Бактеріальна суспензія	28,2 ± 2,3	46,4 ± 2,9	51,9 ± 4,6	0,44 ± 0,05	1,29 ± 0,06	1,46 ± 0,06
Ризоторфін	30,6 ± 1,8	47,4 ± 3,4	54,9 ± 1,8	0,41 ± 0,03	1,33 ± 0,04	1,42 ± 0,03
Ризогумін	33,9 ± 2,0	50,7 ± 3,0	57,1 ± 3,1	0,49 ± 0,02	1,43 ± 0,07	1,58 ± 0,15
Біогран	25,8 ± 1,8	40,4 ± 2,3	47,6 ± 3,2	0,38 ± 0,04	1,25 ± 0,09	1,35 ± 0,10

Дослідження впливу інокуляції сої на конкурентоспроможність штаму *B. japonicum* М 8 свідчить, що жоден препарат не забезпечував домінування інтродукованого штаму. Торф'яний біопрепарат комплексної дії ризогумін сприяв утворенню найбільшої кількості бульбочок при наявності вищезазначеного штаму, відповідно від 46,1% у фазі стеблуння до 54,6% у фазі наливу бобів, що в 1,3 та 1,1 раза більше за показники варіанту з інокуляцією суспензією клітин (табл. 2.) Відсутність домінування інтродукованого штаму *B. japonicum* М 8 можна пояснити тим, що місцева популяція брадиризобій утворена висококонкурентним штамом *B. japonicum* 6346 має високу щільність.

### 2. Частка бульбочок, утворених *B. japonicum* М 8 при дії різних біопрепаратів

Варіант досліджу	% бульбочок, утворених <i>B. japonicum</i> М 8		
	фаза гілкування	фаза цвітіння	фаза утворення бобів
Контроль	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Бактеріальна суспензія	36,3 ± 3,5	39,4 ± 2,6	47,6 ± 4,1
Ризоторфін	40,2 ± 5,7	42,5 ± 3,0	50,9 ± 6,6
Ризогумін	46,1 ± 7,0	49,7 ± 6,0	54,6 ± 4,8
Біогран	34,7 ± 3,5	39,1 ± 2,8	43,8 ± 3,2

При дослідженні азотфіксуючої активності симбіотичної системи встановлено її зростання у всіх варіантах з обробкою біопрепаратами. Ризогумін сприяв найбільшому прояву азотфіксуючої активності в усі фази розвитку рослин (рис. ). Найбільші показники нітрогеназної активності спостерігалися в фазі цвітіння у варіанті із застосуванням ризогуміну – 5,57 мкмоль С<sub>2</sub>Н<sub>4</sub>/ (рослину·год), що в 3,5 раза більше за показники контролю. Підвищення рівня азотфіксуючої активності симбіотичного апарату у варіанті з інокуляцією ризогуміном може бути як наслідком посилення модуляційної здатності ризобій, так і результатом впливу рістстимулюючих речовин на бобово-ризобіальний симбіоз.



**Рис. Азотфіксуюча активність бульбочок сої при дії різних біопрепаратів, застосованих на фоні аборигенних популяцій бульбочкових бактерій.**

Проведені дослідження свідчать про значне збільшення як надземної маси рослин, так і маси коріння у варіантах з інокуляцією (табл. 3). У варіантах із застосуванням ризогуміну, ризоторфіну і біограну спостерігалось найбільш інтенсивне накопичення надземної маси рослин. У фазі цвітіння в цих варіантах відмічено перевищення контрольних показників на 29; 22 і 20 % відповідно. Найбільше зростала маса коренів сої при застосуванні гранульованого препарату біогран. Маса коренів у варіанті із застосуванням біограну перевищувала контрольні показники на 22–35% залежно від фази органогенезу.

### 3. Вплив біопрепаратів на формування вегетативної маси рослин сої

Варіант дослідження	Маса сухих рослин сої (г/рослину)			Маса сухих коренів сої (г/рослину)		
	фаза					
	гілкування	цвітіння	утворення бобів	гілкування	цвітіння	утворення бобів
Контроль	2,24 ± 0,33	8,03 ± 0,60	9,29 ± 0,97	0,34 ± 0,03	0,97 ± 0,07	1,18 ± 0,18
Бактеріальна суспензія	3,65 ± 0,15	9,51 ± 0,44	11,35 ± 0,28	0,36 ± 0,03	1,04 ± 0,05	1,26 ± 0,10
Ризоторфін	3,90 ± 0,22	9,77 ± 0,77	12,83 ± 0,48	0,39 ± 0,04	1,10 ± 0,05	1,35 ± 0,13
Ризогумін	4,18 ± 0,34	10,38 ± 0,53	13,35 ± 0,24	0,40 ± 0,03	1,15 ± 0,05	1,35 ± 0,13
Біогран	3,95 ± 0,20	9,67 ± 0,71	12,37 ± 0,69	0,46 ± 0,03	1,18 ± 0,10	1,45 ± 0,06

Вивчення впливу бактеріальних препаратів на азотний обмін рослини-живителя свідчить про позитивний вплив інокуляції, навіть за умов щільної популяції ризобій сої.

При визначенні активності глутамінсинтетази як одного з основних ферментів азотного обміну встановлено, що достовірний приріст активності ферменту забезпечував лише біопрепарат комплексної дії ризогумін – 14,48 мкмоль Р /мг·хв, що у 1,74 раза більше порівняно з контролем (табл. 4). Високу активність глутамінсинтетази у варіанті із застосуванням ризогуміну можна пояснити як високою азотфіксуючою активністю бульбочок сої, так і позитивним впливом фізіологічно активних речовин, особливо похідних цитокиніну, що входять до складу препарату. Водночас, в усіх варіантах спостерігалось збільшення вмісту водорозчинного білка в листках сої порівняно з контролем без бактеризації. Інокуляція забезпечила прирости водорозчинного білка від 0,67 до 1,85 % до абсолютного контролю (табл. 4).

Інтегральним показником ефективності симбіозу є формування урожайності зерна макросимбіоту. Вивчення продуктивності сої сорту Устя в умовах щільної популяції ризобій у ґрунті свідчить про позитивну дію ризогуміну та ризоторфіну (табл. 5). Ці препарати сприяли збільшенню урожайності на 27,8 та 21,3% відповідно порівняно з контролем.

#### 4. Вплив бактеріальних препаратів на азотний обмін рослин сої

Варіант досліджу	Активність глутамінсинтетази, (мкмоль Р /мг*хв)	Вміст водорозчинного білка	
		мг/г	%
Контроль	8,33 ± 1,11	37,18 ± 2,67	3,72 ± 0,27
Бактеріальна суспензія	11,42 ± 2,60	43,89 ± 4,84	4,39 ± 0,48
Ризоторфін	12,23 ± 4,80	50,56 ± 6,19	5,06 ± 0,62
Ризогумін	14,48 ± 1,68	55,72 ± 4,22	5,57 ± 0,42
Біогран	11,16 ± 1,91	48,05 ± 2,16	4,81 ± 0,22

#### 5. Урожайність зерна сої залежно від виду інокулянта

Варіант досліджу	Урожайність, ц/га	Приріст, %
Контроль (без інокуляції)	15,23	-
Бактеріальна суспензія	16,90	10,9
Ризоторфін	18,48	21,3
Ризогумін	19,47	27,8
Біогран	16,93	11,1

Вивчення впливу бактеріальних препаратів на вміст азоту в зерні сої дало можливість встановити, що тільки два препарати – ризогумін і ризоторфін достовірно збільшували вміст загального азоту в зерні – на 1,29% і 1,17% порівняно з контролем (табл. 6).

#### 6. Вплив бактеріальних препаратів на вміст загального азоту в насінні сої

Варіант досліджу	Вміст азоту в насінні сої	
	мг/г	%
Контроль (без інокуляції)	37,73 ± 6,49	3,77 ± 0,65
Бактеріальна суспензія	39,72 ± 6,34	3,97 ± 0,63
Ризоторфін	49,43 ± 5,00	4,94 ± 0,50
Ризогумін	50,63 ± 4,23	5,06 ± 0,42
Біогран	46,45 ± 4,92	4,64 ± 0,49

Одержані результати свідчать, що в умовах щільної аборигенної популяції бульбочкових бактерій передпосівна бактеризація насіння сої є доцільним заходом. У варіантах з інокуляцією значно збільшується кількість бульбочок, їх маса, нітрогеназна активність, посилюється накопичення вегетативної маси рослин, зростає вміст водорозчинного білка в листках сої.

Водночас, застосування ризогуміну, який включає, крім бактеріального компоненту, ще й ріст стимулюючий, є більш ефективним. Ризогумін сприяв збільшенню кількості бульбочок, утворених інтродукованим штамом (до 54,63%), забезпечував зростання нітрогеназної активності, а також активності глутамінсинтетази порівняно з іншими бактеріальними препаратами. Ризогумін сприяв одержанню найбільшого приросту урожайності – 27,8 % і забезпечував збільшення вмісту загального азоту в продукції.

#### Бібліографічний список

1. Крутило Д.В. Особливості поширення бульбочкових бактерій сої в різних регіонах України / Д.В. Крутило, Т.М Ковалевська // Агроєкологічний журн. – 2003. – № 3. – С. 59–63.
2. Catroux G. Trends in rhizobial inoculants production and use / G. Catroux, A. Hartmann, C. Revellin // Plant and Soil. – 2001. – Vol. 230, № 1. – P. 21–30.
3. Симбіотичні властивості *Bradyrhizobium japonicum* 634 б за дії фіторегулятора Reglgalg / О. В.Кириченко, Л. В. Тумова, А. В. Жемойда [та ін.] // Мікробіол. журн. – 2008. – Т. 70, № 1. – С. 17–24.

4. Ефективність нового біологічного препарату ризогуміну для сої / *В.В. Волкогон, Н.П. Штанько, В. П. Сальник* [та ін.] // Селекція і насінництво (міжвід. темат. зб.). – 2005. – № 90. – С.254–259.
5. *Комок М.С.* Застосування реакції аглютинації для ідентифікації *Bradyrhizobium japonicum* М 8 / *М.С. Комок, І.В. Волкова, В.В. Волкогон* // С.-г. мікробіологія. – 2009. – № 9. – С. 115–125.