

<https://doi.org/10.15407/frg2020.06.494>

УДК 631.847.211:632.952

ЕФЕКТИВНІСТЬ ІНОКУЛЯЦІЇ СОЇ БІОПРЕПАРАТАМИ НА ОСНОВІ СТІЙКИХ ДО ФУНГІЦИДІВ ШТАМІВ РИЗОБІЙ ЗА ВПЛИВУ ПРОТРУЙНИКІВ НАСІННЯ

К.П. КУКОЛ, Н.А. ВОРОБЕЙ, П.П. ПУХТАЄВИЧ, С.Я. КОЦЬ

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17, Україна
e-mail: katerinakukol@gmail.com*

У вегетаційних дослідках вивчали ефективність інокуляції сої стійкими до пестицидів штамми бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* PC07 та PC10 на фоні передпосівного протруювання насіння препаратами максим ХЛ, стандак топ і февер. Виявлено, що за впливу фунгіцидного протруйника максим ХЛ кількість і маса бульбочок, маса надземної частини рослин і коренів сої перевищували показники контрольних рослин упродовж усієї вегетації у варіантах із бактеризацією обома штамми ризобій. Пригнічувальний вплив на рослини *Glycine max* (L.) Merrill та їх взаємодію з азотфіксувальними мікроорганізмами чинив февер. За дії цього препарату кількість кореневих бульбочок зменшувалась на 8,0—30,2 %, надземна маса — на 6,8—18,9, маса коренів — на 13,2—21,3 %. За комбінованого застосування всіх залучених у дослідження протруйників насіння та бульбочкових бактерій знижувався рівень асиміляції N_2 у фазу трьох справжніх листків. У фазу бутонізації—початку цвітіння за інокуляції насіння сої *B. japonicum* PC10 на фоні застосування фунгіцидів показники азотфіксувальної активності були вищими на 4,4—22,7 % порівняно з контрольними рослинами. У фазу утворення бобів у варіантах із протруюванням насіння препаратами максим ХЛ і стандак топ найбільшою виявилась активність азотфіксації бульбочок, сформованих за участю *B. japonicum* PC07 і PC10, яка в 1,8—3,9 раза перевищувала показники контрольних рослин. За комплексної обробки насіння февером із бактеризацією *B. japonicum* PC07 негативний вплив на функціонування симбіотичного апарату упродовж усієї вегетації сої позначився на рівні зернової продуктивності культури. За дії протруйників стандак топ і максим ХЛ та інокуляції *B. japonicum* PC07 і PC10 зернова продуктивність сої зросла на 9,5—25,8 %, що зумовлено толерантністю утворених симбіотичних систем до діючих речовин у складі досліджених пестицидів. Застосування для обробки насіння сої бактеріальних препаратів, виготовлених на основі штамів ризобій, резистентних до сучасних фунгіцидів, сприятиме ослабленню наслідків хімічного стресу на формування та функціонування симбіотичних систем. Збереження ефективності рослинно-мікробних систем, поєднане з реалізацією профілактичної дії протруєння посівного матеріалу, створять передумови для підвищення продуктивності рослин.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, *Glycine max* (L.) Merrill, інокуляція, азотфіксувальна активність, фунгіциди, протруювання, продуктивність.

Цитування: Кукол К.П., Воробей Н.А., Пухтаєвич П.П., Коць С.Я. Ефективність інокуляції сої біопрепаратами на основі стійких до фунгіцидів штамів ризобій за впливу протруйників насіння. *Фізіологія рослин і генетика*. 2020. 52, № 6. С. 494—506. <https://doi.org/10.15407/frg2020.06.494>

Соя — цінна зернобобова й олійна культура із широким спектром використання. Найважливішими та унікальними особливостями сої є здатність у симбіозі з азотфіксувальними бактеріями утворювати кореневі бульбочки й асимілювати атмосферний азот [1]. За вирощування зернобобових культур і зокрема сої знижується собівартість продукції рослинництва внаслідок включення у процес сільськогосподарського виробництва біологічно фісованого азоту, поліпшується фітосанітарний стан посівів, значно зростає продуктивність ріллі [2].

У багатьох країнах світу одним із найпоширеніших серед методів захисту рослин є хімічний, який передбачає використання пестицидів (препаратів хімічного синтезу), що спричинюють загибель шкідливих організмів. Висока ефективність застосування фунгіцидів, інсектицидів і гербіцидів дає змогу захистити рослинні ресурси та відмовитися від інших трудомісткіших методів обмеження розвитку збудників хвороб, зменшення чисельності фітофагів і бур'янів. Інтенсивний ріст виробництва сільськогосподарської продукції та необхідність її збереження зумовлюють постійну розробку нових препаратів [3, 4].

Для запобігання розвитку хвороб, що передаються з насінням і через ґрунт, важливим елементом технології вирощування сої є протруєння насіння фунгіцидами, що дає змогу захистити проростки на ранніх етапах онтогенезу [5].

Отримання високих урожаїв зерна сої можливе за умов комплексного, науково обґрунтованого проведення протруєння насіння та його бактеризації, що не лише збереже основне призначення цих технологічних заходів, а й посилить його.

На сьогодні є дані щодо комплексного застосування перспективних протруйників з інокулянтами сої. Російські дослідники встановили, що завчасна обробка насіння хімічними засобами захисту рослин (ЗЗР) і бактеризація у день посіву знижують інфекційне навантаження, зберігають азотфіксувальну здатність бульбочкових бактерій і підвищують урожайність сої на 10—20 % [6]. Повідомлялось також про виділення та ідентифікацію стійкого до гексаконазолу штаму *B. japonicum* RV9 [7]. Досліджено різні концентрації (від 400 до 1200 мкг/мл) хімічного препарату, ризобії культивували на твердому й рідкому поживних середовищах у лабораторних умовах. Доведено толерантність бактерій зазначеного штаму до високого вмісту гексоконазолу, що підтверджує можливість його застосування як інокулянта вигни за умов фунгіцидного навантаження, оскільки саме цей препарат часто використовують для обмеження розвитку патогенних мікроміцетів.

У працях [8, 9] наведено позитивні результати комплексного застосування хімічних ЗЗР та обробки ризобіями насіння люпину й гороху. В досліді з оцінювання впливу діючих речовин фунгіцидів тирам, тіабендазол + тирам, металаксил, дифенконазол + тирам, карбендазим + тирам, флудіоксоніл + металаксил-М, тіофанатметил + толілфлуанід, тіабендазол і каптан на виживаність штамів *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 5019, *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 5079 не виявлено інгібувального впливу на кількість і масу сформованих на коренях сої бульбочок [10]. Подібні результати отримано при

дослідженні впливу різних концентрацій фунгіцидів каптан, карбоксин + тирам, тіабендазол, тирам, тирам + тіабендазол, пентахлорнітробензол + тіабендазол у торф'яному інокулянті на життєздатність штамів *Bradyrhizobium* SEMIA 5079, SEMIA 5080, SEMIA 587, SEMIA 5019 [11]. Не виявлено негативного впливу застосування цих препаратів на формування симбіозу за винятком каптану, за дії якого зменшувались кількість і маса бульбочок на коренях і знижувався вміст азоту в тканинах листків *Glycine max* (L.) Merrill [12].

Загалом, вплив протруйників насіння і фунгіцидів, якими обприскують рослини під час вегетації, на формування та функціонування бобово-ризобіального симбіозу залежить від діючих речовин препаратів, регламентів їх застосування і фізіолого-біохімічних властивостей використовуваних для інокуляції бактерій.

Метою нашої роботи було дослідження ефективності інокуляції сої стійкими до пестицидів ризобіями за передпосівного протруювання насіння препаратами максим XL, стандак топ і февер.

Методика

Веgetаційні дослідження проводили з рослинами сої (*Glycine max* (L.) Merrill) сорту Алмаз, що занесений до Реєстру сортів рослин України з 2007 року. Вирощували рослини у 15-кілограмових пластикових посудинах на вегетаційному майданчику Інституту фізіології рослин і генетики (ІФРГ) НАН України. Субстратом для вирощування рослин слугував річковий пісок. Джерелом мінерального живлення була поживна суміш Гельригеля, збагачена мікроелементами і збіднена на азот — 0,25 норми (1 норма відповідає 708 мг $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ на 1 кг піску).

У дослідженні використано фунгіциди з різними діючими речовинами у дозах згідно з рекомендаціями виробника (табл. 1).

Перед посівом оброблене фунгіцидами насіння інокулювали упродовж 60 хв суспензією клітин *V. japonicum* PC07 і PC10. Інфекційне навантаження становило 10^9 кл/мл. Для приготування інокуляційних суспензій біомасу бактерій змивали з поверхні агаризованого поживного середовища водою. У контрольному варіанті інокульоване насіння хімічними ЗЗР не обробляли. Повторність у варіантах дослідження п'ятиразова.

ТАБЛИЦЯ 1. Перелік і характеристики досліджуваних протруйників

Препарат	Механізм дії	Діюча речовина	Норма витрати, л/т	Спосіб обробки	Компанія-виробник
Максим XL, 035 FS, т. к. с.		Флудіоксоніл, 25 г/л + металаксил-М, 10 г/л	1,0		Syngenta, Швейцарія
Февер 300 FS, т. к. с.	Контактний і системний	Протиоконазол, 300 г/л	0,2—0,4	Протрусіння насіння	Bayer Crop Science, Німеччина
Стандак топ, т. к.		Фіпроніл, 250 г/л + тіофанатметил, 225 г/л + піраклостробін, 25 г/л	1,0—2,0		BASF, Німеччина

Залучені в роботу штами ризобій за результатами проведених нами лабораторних дослідів виявили стійкість до виробничих норм фунгіцидів у чистій культурі [13]. Вони зберігаються в колекції азотфіксувальних мікроорганізмів ІФРГ НАН України.

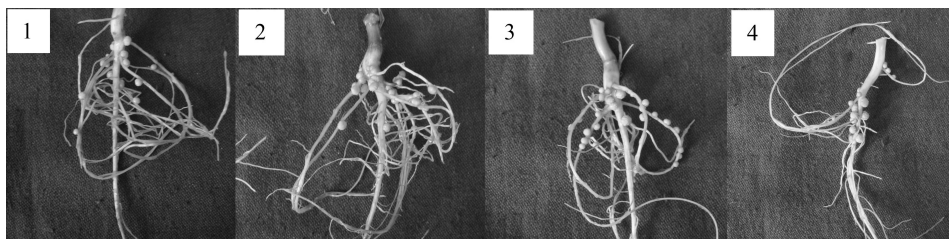
Для дослідження азотфіксувальної активності (АФА), обліку кількості та маси корневих бульбочок рослини відбирали у три фази розвитку: трьох справжніх листків, бутонізації—початку цвітіння та утворення бобів. Показники АФА визначали за відновленням ацетилену до етилену за методом Харді та співавт. [14] на газовому хроматографі «Agilent Technologies 6850 Network GC System».

Експериментальні дані оброблено статистично за загальноприйнятими методиками із залученням пакета програм Microsoft Excel 2013. У таблицях наведено середньоарифметичні дані та їх стандартні похибки.

Результати та обговорення

Встановлено, що бульбочки на коренях сої сорту Алмаз утворювалися на рослинах усіх варіантів, проте їх кількість і маса різнилися залежно від впливу діючих речовин досліджуваних препаратів (рисунок). За впливу препарату максим XL кількість і маса бульбочок на коренях сої були більшими, ніж у контрольних рослин, у варіантах з інокуляцією обома штамами ризобій. Так, у фазу трьох справжніх листків за інокуляції насіння бульбочковими бактеріями *V. japonicum* PC07 і PC10 кількість симбіотичних утворень була більшою порівняно з контрольними рослинами на 34,8 та 22,5 %. У фазу утворення бобів у сформованих симбіотичних системах при застосуванні протруйника максим XL кількість бульбочок перевищувала ці значення у контрольних рослин на 42,4 і 36 %, а їх маса була більшою у 2,8 та 1,9 раза за інокуляції відповідно *V. japonicum* PC07 і PC10.

За впливу протіоконазолу, що є діючою речовиною феверу, кількість та маса симбіотичних утворень на коренях сої були дещо меншими порівняно з іншими варіантами дослідів впродовж вегетації. При формуванні симбіозу між рослинами сої сорту Алмаз та бактеріями *V. japonicum* PC07 кількість бульбочок за дії феверу була меншою порівняно з контрольним варіантом на 24,6 % (фаза трьох листків), 30,2 % (фаза бутонізації—початку цвітіння) та 28,3 % (фаза



Бульбочки на коренях сої сорту Алмаз у фазу трьох листків, сформовані унаслідок передпосівної обробки насіння протруйниками та інокуляції ризобіями, стійкими до пестицидів у чистій культурі:

1 — *V. japonicum* PC07 (контроль, без хімічних ЗЗР); 2 — максим XL + PC07; 3 — стандак топ + PC07; 4 — февер + PC07

утворення бобів); у варіанті з інокуляцією насіння сої штамом РС10 токсичний вплив цього препарату призводив до зменшення кількості бульбочок на коренях сої відповідно на 17,5, 22,2 і 8,0 %.

Фунгіцидний протруйник стандак топ чинив менш виражений токсичний вплив на формування бобово-ризобіального симбіозу порівняно з февером. Однак у варіанті з протруюванням стандак топом і бактеризацією насіння сої *B. japonicum* РС07 у фазу трьох листків кількість бульбочок на коренях була на рівні контрольних рослин, а їх маса — на 12,7 % меншою. У подальшому протягом вегетації маса кореневих бульбочок за дії стандак топу порівняно з показниками контрольних рослин у фазу бутонізації—початку цвітіння збільшувалась на 25,1 %, у фазу утворення бобів — на 33,1 %.

Симбіотична фіксація азоту істотно залежить від біотичних чинників, таких як генотипів рослин-хазяїнів та штамів мікроорганізмів. Однак на їх взаємодію впливає низка абіотичних чинників: температура, вологість ґрунту, рН, ступінь аерації, застосування пестицидів, наявність поживних речовин, макро- і мікроелементів та ін. [15].

У результаті аналізу азотфіксуючої активності сформованих симбіотичних систем встановлено зниження рівня асиміляції N_2 рослинами сої у фазі трьох листків та бутонізації—початку цвітіння за комбінованого застосування протруйників насіння і бульбочкових бактерій *B. japonicum* РС07 порівняно з варіантами лише з інокуляцією. У фазу утворення бобів негативний вплив препаратів фунгіцидної дії на функціонування бобово-ризобіальних симбіозів ослаблювався. Утворені рослинами сої сорту Алмаз і бактеріями штаму РС10 симбіотичні системи були стійкішими до впливу діючих речовин протруйників, оскільки вже у фазу бутонізації—початку цвітіння показники АФА були вищими, ніж у рослин, насіння яких не обробляли хімічними ЗЗР (табл. 2).

У фазу утворення бобів найвищою АФА (5,225 і 5,675 мкмоль C_2H_4 /(рослину · год)) характеризувалися симбіотичні системи, сформовані за інокуляції *B. japonicum* РС07 і РС10, за комбінованого застосування інокулянтів і препарату максим ХЛ. У варіанті з обробкою насіння сої інноваційним протруйником стандак топ у поєднанні з бактеризацією *B. japonicum* РС07 АФА збільшилась в 1,8 раза порівняно з рослинами тільки з інокуляцією; за поєднання впливу діючих речовин цього препарату та бактеризації *B. japonicum* РС10 рівень асиміляції N_2 підвищувався у 2,9 раза порівняно з контрольним варіантом. Колеги, які досліджували вплив на рослини та ефективність комплексної обробки насіння сої фунгіцидами (февер, максим ХЛ) та інокулянтом (штам *B. japonicum* 634б), встановили підвищення рівня пероксидазної активності і збереження високої активності роботи симбіотичного апарату [16]. Отже, складний характер комбінованого впливу мікросимбіонтів і пестицидів на формування азотфіксуючого апарату і нітрогеназну активність бульбочок підтверджує істотний вплив хімічних ЗЗР на формування і функціонування симбіотичних систем.

Важливим чинником формування високого врожаю рослин, у тому числі й сої, є приріст маси вегетативних органів. У процесі до-

ЕФЕКТИВНІСТЬ ІНОКУЛЯЦІЇ СОЇ БІОПРЕПАРАТАМИ

ТАБЛИЦЯ 2. Азотфіксувальна активність рослин сої (мкмоль C_2H_4 /(рослину · год)) за обробки протруйниками фунгіцидної дії та інокуляції стійкими до пестицидів штамми *V. japonicum* PC07 і PC10

Варіант	Штам-інокулянт	Фаза розвитку рослин сої		
		Три справжні листки	Бутонізація—початок цвітіння	Утворення бобів
Контроль	<i>V. japonicum</i> PC07	2,881±0,24	2,431±0,19	1,897±0,13
Максим XL		2,095±0,11	2,268±0,14	5,225±0,25
Стандак топ		1,023±0,05	1,037±0,08	3,370±0,17
Февер	<i>V. japonicum</i> PC10	0,535±0,04	0,671±0,05	1,808±0,09
Контроль		1,624±0,12	1,830±0,09	1,450±0,06
Максим XL		1,480±0,09	2,445±0,14	5,675±0,34
Стандак топ		1,511±0,09	1,981±0,16	4,255±0,24
Февер		1,246±0,07	1,910±0,09	1,793±0,12

зрівняння рослини ремобілізують із них вуглеводи, азотовмісні та інші речовини для утворення репродуктивних органів. В умовах вегетаційних дослідів ми встановили зменшення показників наростання надземної маси рослин сої сорту Алмаз у разі застосування протруйників стандак топ і февер.

Так, у варіанті з бактеризацією насіння сої штамом *V. japonicum* PC10 і протруйником стандак топ маса надземної частини рослин порівняно з контрольними знижувалась у фазу трьох листків на 12,9 %, у фазу бутонізації—початку цвітіння — на 6,1, у фазу утворення бобів — на 4,0 %. У варіанті з бактеризацією насіння *V. japonicum* PC07 за обробки насіння стандак топом вегетативна маса рослин була меншою порівняно з контрольним варіантом за даними двох відборів на 6,3—13,1 %.

У досліді з обробкою насіння сої февером показник наростання вегетативної маси рослин у варіанті з інокуляцією *V. japonicum* PC07 знижувався на 13,1 % (фаза трьох листків), 18,9 (фаза бутонізації—початку цвітіння) та 12,7 % (фаза утворення бобів); у варіанті з інокуляцією *V. japonicum* PC10 цей показник знижувався відносно контрольного відповідно на 10,2; 7,1 та 6,8 %.

У разі застосування для інокуляції насіння сої стійких до фунгіцидів штамів бульбочкових бактерій і протруювання препаратом максимум XL виявлено стимулювальний ефект на ріст рослин протягом вегетації, що підтвердили вищі порівняно з контрольними та отримані при обробці іншими препаратами показники вегетативної маси рослин. Отримані нами результати узгоджуються з даними інших дослідників, які за передпосівного протруювання насіння сої максимумом XL комплексно з обробкою інокулянтами встановили підвищення біометричних показників рослин як за ресурсоощадної, так і за інтенсивної систем захисту посівів від бур'янів [17].

Ми виявили також відмінності у дії протруйників максимум XL, стандак топ і февер на формування кореневої системи рослин сої. Так, за дії препарату максимум XL протягом вегетації маса коренів сої у варіанті з бактеризацією *V. japonicum* PC07 була більшою порівня-

но з контрольними рослинами в 1,2–1,9 раза; за бактеризації стійким до пестицидів штамом *B. japonicum* PC10 — в 1,4–1,8 раза. Стандак топ забезпечив зростання маси коренів у варіанті з PC07 в 1,3 раза у фази бутонізація—початку цвітіння та утворення бобів і в 1,2–1,4 раза протягом усієї вегетації за обробки насіння штамом PC10.

Виражений токсичний вплив чинив препарат февер, унаслідок чого маса коренів у фази трьох листків і бутонізації—початку цвітіння зменшувалась. Так, маса коренів на фоні інокуляції *B. japonicum* PC07 була меншою на 21,3–16,2 % порівняно з контрольним варіантом; на фоні бактеризації PC10 — на 13,2–14,7 %. У фазу утворення бобів маса коренів контрольних рослин була меншою порівняно з обробленими пестицидами. Це може бути пов'язано зі зменшенням інгібувального впливу діючих речовин хімічних ЗЗР на рослини внаслідок процесу детоксикації.

За допомогою моніторингу вмісту діючих речовин пестицидів різних хімічних класів у рослинах і ґрунті в разі протруювання насіння цукрових буряків виявлено залежність досліджуваних показників від фізико-хімічних властивостей (полярності) застосованих сполук і норм їх витрати [18]. Процеси трансформації (перетворення) та транслокації (переміщення) хімічних ЗЗР вивчали за протруювання насіння *Beta vulgaris* var. *saccharifera* композицією інсектицидів і фунгіцидів форс 200 CS, к.с. + круїзер 350 FS, т.к.с. + максим XL 035 FS, т.к.с. із різними нормами їх витрат. Токсикацію рослин неполярним інсектицидом тефлутрином (норма витрати 0,42 г/кг) спостерігали протягом 50 діб. Полярніший тіаметоксам у разі його застосування з більшою в 10 разів нормою витрати (5,07 г/кг) мав такий самий період токсикації. Фунгіциди металаксил-М (норма витрати 0,062 г/кг) і флудіоксоніл (0,155 г/кг) виявляли протягом 20 й 50 діб відповідно. У ґрунті знаходили тільки тіаметоксам — до 30-ї доби і флудіоксоніл — до 20-ї доби в кількості 0,011 мг/кг. Отже, для ефективного, раціонального й безпечного застосування пестицидів важливим є добір препаратів, які пройшли екотоксикологічні дослідження та спеціальні випробування.

Основним показником ефективності застосованих при вирощуванні рослин технологічних заходів є урожайність. Як відомо, обробка насіння сої біопрепаратами зумовлена не тільки їх позитивним впливом на урожайність, а й можливістю забезпечення рослин азотом. Ми встановили, що за комплексної дії протруйника максим XL та інокуляції насіння сої стійкими до пестицидів бульбочковими бактеріями *B. japonicum* PC07 і PC10 в умовах вегетаційних дослідів зернова продуктивність культури зросла відповідно на 20,6 та 25,8 %, що зумовлено стійкістю утворених симбіотичних систем до діючих речовин препарату (табл. 3).

З літературних джерел відомі дані щодо вивчення ефективності передпосівної обробки насіння сої інокулянтами у різних препаративних формах із попереднім протруєнням та без нього за різних систем захисту від бур'янів. Автори встановили, що в разі використання для обробки насіння фунгіциду максим XL урожайність сої у середньому зростала на 0,18 т/га (8,7 %) за ресурсощадної і на 0,14 т/га (5,6 %) за інтенсивної системи захисту посівів від бур'янів

ЕФЕКТИВНІСТЬ ІНОКУЛЯЦІЇ СОЇ БІОПРЕПАРАТАМИ

ТАБЛИЦЯ 3. Продуктивність рослин сої сорту Алмаз за обробки протруйниками фунгіцидної дії та інокуляції стійкими до пестицидів штамами *B. japonicum* PC07 і PC10

Варіант	Штам-інокулянт	Маса зерна з однієї рослини, г	+/- до контролю, %
Контроль	<i>B. japonicum</i> PC07	2,11±0,13	—
Максим XL		2,55±0,14	+20,6
Стандак топ		2,31±0,13	+9,5
Февер		2,00±0,09	-5,2
Контроль	<i>B. japonicum</i> PC10	2,26±0,12	—
Максим XL		2,84±0,16	+25,8
Стандак топ		2,52±0,14	+11,7
Февер		2,34±0,13	+3,6

порівняно з варіантами дослідів з використанням препарату фунгіцидної дії скарлет [17].

У нашій роботі у варіанті з протруюванням насіння препаратом стандак топ, призначеним для обмеження розвитку збудників хвороб та фітофагів, і бактеризацією *B. japonicum* PC07 ми отримали 2,31 г/рослину зерна, що на 9,5 % більше порівняно з рослинами, насіння яких обробляли лише ризобіями. За комплексного застосування препарату стандак топ та бактеризації *B. japonicum* PC10 продуктивність рослин підвищувалась на 11,7 %.

У разі комплексного застосування обробки насіння февером із бактеризацією насіння *B. japonicum* PC07 негативний вплив на функціонування симбіотичного апарату позначився на рівні зернової продуктивності культури. Так, за дії феверу маса зерна з однієї рослини у варіанті з інокуляцією *B. japonicum* PC07 становила 2,0 г/рослину, що на 5,2 % менше порівняно з контрольним варіантом. Однак за комплексного застосування феверу та інокуляції *B. japonicum* PC10 урожай зростав на 3,6 %.

Слід враховувати, що у польових умовах негативний вплив речовин хімічного синтезу, що їх застосовують для передпосівної обробки насіння сільськогосподарських культур, ослаблюється внаслідок перебігу обмінних процесів та інтенсивної діяльності мікробіоти ґрунту.

Стійкість певних штамів мікроорганізмів до високих концентрацій фунгіцидів деякі науковці пов'язують із їх здатністю захищати свої клітини від токсичної дії синтетичних сполук або з наявністю механізмів, які уможливають руйнування (розщеплення) цих хімічних речовин бактеріальними клітинами [12]. Наприклад, резистентність бактерій *Achromobacter album* 1122 до неспецифічної дії протруйників круїзер 350 FS та максимум XL 035 FS пояснюють тим, що діючі речовини пестицидів нездатні проникати всередину клітин крізь цитоплазматичну мембрану чи порушувати її функціонування. Відомо, що цитоплазматична мембрана затримує проникнення в клітину шкідливих речовин і полегшує проникнення речовин, необхідних для її життєдіяльності. Можливість проходження сполуки крізь цитоплазматичну мембрану залежить від розміру і конфігурації

молекул, хімічного складу, електричного заряду, наявності та кількості молекул води, зв'язаних із молекулою речовини, а також від її розчинності в ліпідах [19].

З літературних джерел відомо також про зміни інтенсивності продукування екзополісахаридів ізолятами бульбочкових бактерій за підвищення концентрації пестицидів (з 0,5 до 1 %) у середовищі їх культивування. У зв'язку з цим автори припустили, що продукування екзополісахаридів бактеріями, пропорційне вмісту ксенобіотиків у середовищі, може бути своєрідним механізмом захисту ґрунтових мікроорганізмів від токсичної дії різних сполук або їхніх комплексів [20].

У контрольованих умовах модельного вегетаційного досліду як антидот токсичної дії фунгіцидів (февер, максим XL, стандак топ) на симбіотичний апарат досліджено гомологічний лектин насіння сої, що його застосовували в концентрації 100 мкг/мл як компонент інокуляційної суспензії [16]. Встановлено підвищення ефективності симбіотичних систем соя—*Bradyrhizobium japonicum* (штам-стандарт 6346), однак негативний вплив діючих речовин пестицидів на рослини не ослаблювався.

Перспективним напрямом досліджень є виділення й вивчення біологічних властивостей стійких до пестицидів і важких металів штамів ендоефітних бактерій, які можуть бути використані для очищення забруднених ґрунтів. Крім того, важливе значення має ідентифікація у мікроорганізмів генів детоксикації синтетичних сполук та важких металів із подальшим їх дослідженням з метою застосування для зменшення негативного впливу забруднювальних речовин на корисну мікробіоту й рослини в агроценозах [21]. Наведені вище дані підкреслюють важливість добору резистентних до фунгіцидів штамів бульбочкових бактерій для комплексного застосування із рекомендованими й законодавчо дозволеними хімічними ЗЗР, актуальність розкриття механізмів стійкості мікроорганізмів до подібних стресорів та дослідження шляхів зменшення вмісту ксенобіотиків у ґрунтах.

Отже, в умовах вегетаційних дослідів ми довели, що для збереження потенціалу високої азотфіксувальної активності й підвищення продуктивності рослин сої найефективнішим є комплексне застосування обробки насіння протруйниками максим XL і стандак топ та бактеризації мікробними препаратами на основі стійких у чистій культурі до пестицидів штамів *B. japonicum* PC07 і PC10. Загалом застосування під сою бактеріальних добрив, виготовлених на основі штамів *B. japonicum*, резистентних до сучасних протруйників фунгіцидної дії, ослаблюватиме негативний вплив хімічного стресу на формування й функціонування симбіотичних систем, створить передумови для господарського та захисного ефектів.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Петибская В.С. Соя: химический состав и использование. Майкоп: ОАО «Полиграф-ЮГ», 2012. 432 с.
2. Мартинюк О.М. Особливості формування врожаю зернобобових культур залежно від технології вирощування в західному Лісостепу. Новітні технології вирощуван-

- на сільськогосподарських культур — у виробництво: Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених (Чабани, 23-25 лист. 2004). Київ, 2004. С. 42—43.
3. Тітова Л.Г., Клечковський Ю.Е. Хімічний метод захисту: правові проблеми застосування у практиці карантину рослин. *Карантин і захист рослин*. 2012. № 5. С. 9—10.
 4. Carvalho F.P. Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security*. 2017. 6, N 2. P. 48—60. <https://doi.org/10.1002/fes3.108>
 5. Бублик Л.І., Балюх О.В., Жмурко Л.Г. Вплив протруєння насіння сої фунгіцидами на ураженість рослин бактеріальними хворобами. *Захист і карантин рослин*. Міжвідом. тем. наук. зб. 2010. Вип. 56. С. 45—50.
 6. Борзенкова Г.А. Оптимизация технологии предпосевного протравливания и возможность его сочетания с инокуляцией для защиты сои от семенной инфекции. Зернобобовые и крупяные культуры. 2014. 9, № 1. С. 22—30.
 7. Shahid M., Khan M.S. Fungicide tolerant *Bradyrhizobium japonicum* mitigate toxicity and enhance greengram production under hexaconazole stress. *Journal of Environmental Sciences*. 2019. 78. P. 92—108. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.07.007>
 8. Martyniuk S., Oron J., Martyniuk M. Interaction between chemical seed dressings and *Bradyrhizobium* inoculant on lupine seeds. *Botanica. Lithuanica Supplement*. 1999. 3. P. 95—98.
 9. Martyniuk S., Wozniakowska A., Martyniuk M., Oron J. Interaction between chemical dressings and *Rhizobium* inoculant on pea seeds. *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roslin*. 1999. 39, N 1. P. 120—125.
 10. Bueno C.J., Meyer M.C., de Souza N.L. Efeito de fungicidas na sobrevivencia de *Bradyrhizobium japonicum* (Semia 5019 e Semia 5079) e na nodulacao da soja. *Acta Scientiarum. Agronomy*. 2003. 25, N 1. P. 231—235. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v25i1.2676>
 11. Cattelan A.J., Spoladori C.L., Henning A.A. Efeito do tratamento de sementes de soja com fungicidas recomendados sobre a fixacao do nitrogenio atmosferico e a sobrevivencia do *Bradyrhizobium japonicum* em casa de vegetacao: anais do 3. Simposio Brasileiro sobre Microbiologia do solo e 6. Reuniao de Laboratorios para Recomendacao e Estirpes de *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* «Microbiologia do solo: desafios para o seculo XXI». (Londrina, 1994). Londrina: IAPAR: EMBRAPA-CNPSO, 1995. P. 399—403.
 12. Moawad H., Abd El-Rahim W.M., Shawky H., Higazy A.M., Daw Z.Y. Evidence of fungicides degradation by rhizobia. *Agricultural Sciences*. 2014. 5, N 7. P. 618—624. <https://doi.org/10.4236/as.2014.57065>
 13. Воробей Н.А., Кукол К.П., Коць С.Я. Оцінка токсичності впливу фунгіцидів на бульбочкові бактерії *Bradyrhizobium japonicum* у чистій культурі. *Мікробіологічний журнал*. 2020. 82, № 3. С. 45—54. <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.03.045>
 14. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol*. 1968. 42, N 8. P. 1185—1207. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>
 15. Nandanwar S., Yele Y., Dixit A., Goss-Souza D., Singh R., Shanware A., Kharbikar L. Effects of pesticides, temperature, light, and chemical constituents of soil on nitrogen fixation. Nitrogen fixation. 2020. P. 1—8. URL: Available from: <https://www.intechopen.com/books/nitrogen-fixation/effects-of-pesticides-temperature-light-and-chemical-constituents-of-soil-on-nitrogen-fixatio>. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86128>
 16. Павлище А.В., Мащенко Т.П., Рибаченко Л.І., Коць С.Я. Вплив фунгіцидів на формування, функціонування та пероксидазну активність кореневих бульбочок сої за інокуляції ризобіями, інкубованими з лектином. *Мікробіологічний журнал*. 2018. 80, № 5. С. 76—89. <https://doi.org/10.15407/microbiolj80.05.076>
 17. Григор'єва О.М., Дімова С.Б., Алмаєва Т.М. Ефективність біопрепаратів у технології вирощування сої на чорноземі звичайному важкосуглинковому Правобережного Степу України. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2019. 29. С. 46—55. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.29.46-55>
 18. Черв'якова Л.М., Балюх О.В., Панченко Т.П. Екотоксикологічна оцінка застосування пестицидів для захисту сільськогосподарських культур від шкідників і хвороб способом протруєння насіння. *Захист і карантин рослин*. Міжвідом. тем. наук. зб. 2014. Вип. 60. С. 465—472.
 19. Токмакова Л.М., Пишур І.М., Саблук В.Т., Грищенко О.М. Вплив інсектициду Круїзер 350 FS та фунгіциду Максим XL 035 FS на життєздатність та функціональ-

- ну активність бактерій *Achromobacter album* 1122, біоагента мікробного препарату Альобактерину. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2011. **13**. С. 42–51.
20. Sultana T., Begum A., Akhter H. Effect of pesticides on Exopolysaccharide (EPS) production, antibiotic sensitivity and phosphate solubilization by *Rhizobial* isolates from *Sesbania bispinosa* in Bangladesh. *African Journal of Agricultural Research*. 2019. **14**, N 34. P. 1845–1854. <https://doi.org/10.5897/AJAR2019.14304>
 21. Sharma A., Kumar V., Handa N., Bali S., Kaur R., Khanna K., Kumar A.T., Bhardwaj R. Potential of endophytic bacteria in heavy metal and pesticide detoxification. Egamberdieva D., Ahmad P. (eds.). *Plant microbiome: stress response*. Microorganisms for sustainability Singapore: Springer. 2018. P. 307–336. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5514-0_14

Отримано 11.11.2020

REFERENCES

1. Petibskaya, V.S. (2012). Soybean: chemical composition and use. Maykop: OAO «Poligraf-YuG» [in Ukrainian].
2. Martynyuk, O.M. (2004). Features of the leguminous crops harvest depending on the technology of cultivation in the Western Forest-Steppe. The latest technologies for growing crops — in production: Materials of Scientific and Practical Conference of Young Scientists (pp. 42-43), Kyiv [in Ukrainian].
3. Titova, L.G. & Klechkovsky, Y.E. (2012). Chemical method of protection: legal problems of application in practice of plant quarantine. *Karantin i zahist roslyn*, No. 5, pp. 9-10 [in Ukrainian].
4. Carvalho, F.P. (2017). Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security*, 6, No. 2, pp. 48-60. <https://doi.org/10.1002/fes3.108>
5. Bublik, L.I., Balyuh, O.V. & Zhmurko, L.H. (2010). Effect of soybean seed treatment by fungicides on the development of bacterial diseases. *Zakhyst i karantyn roslyn*, Iss. 56, pp. 45-50.
6. Borzenkova, G.A. (2014). Optimization of technology of preseedling treatment and possibility of its combination with inoculation for protection of soya against contamination with seed infection. *Zernobovyie i krupyanyie kulturyi*, 9, No. 1, pp. 22-30 [in Russian].
7. Shahid, M. & Khan, M.S. (2019). Fungicide tolerant Bradyrhizobium japonicum mitigate toxicity and enhance greengram production under hexaconazole stress. *Journal of Environmental Sciences*, 78, pp. 92-108. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.07.007>
8. Martyniuk, S., Oron, J. & Martyniuk, M. (1999). Interaction between chemical seed dressings and Bradyrhizobium inoculant on lupine seeds. *Botanica. Lithuanica Supplement*, 3, pp. 95-98.
9. Martyniuk, S., Wozniakowska, A., Martyniuk, M. & Oron, J. (1999). Interaction between chemical dressings and Rhizobium inoculant on pea seeds. *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roslin.*, 39, No. 1, pp. 120-125.
10. Bueno, C.J., Meyer, M.C. & de Souza, N.L. (2003). Effect of fungicides on survival of Bradyrhizobium japonicum (Semia 5019 and Semia 5079) and soybeans nodulation. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 25, No. 1, pp. 231-235 [in Portuguese]. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v25i1.2676>
11. Cattelan, A.J., Spoladori, C.L. & Henning, A.A. Effect of soybean seed treatment with recommended fungicides on atmospheric nitrogen fixation and Bradyrhizobium japonicum survival in a greenhouse: Materials of 3. Brazilian Symposium on Soil Microbiology and 6. Meeting of Laboratories for Recommendation and Strains of Rhizobium and Bradyrhizobium «Soil microbiology: challenges for the 21st century» (pp. 399-403), Londrina: IAPAR: EMBRAPA-CNPSO [in Portuguese].
12. Moawad, H., Abd El-Rahim, W.M., Shawky, H., Higazy, A.M. & Daw, Z.Y. (2014). Evidence of fungicides degradation by rhizobia. *Agricultural Sciences*, 5, No. 7, pp. 618-624. <https://doi.org/10.4236/as.2014.57065>
13. Vorobey, N.A., Kukol, K.P. & Kots, S.Ya. (2020). Fungicides toxicity assessment on Bradyrhizobium japonicum nodule bacteria in pure culture. *Mikrobiolohichnyy zhurnal*, 82, No. 3, pp. 45-54 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.03.045>

14. Hardy, R.W.F., Holsten, R.D., Jackson, E.K. & Burns, R.C. (1968). The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.*, 42, No. 8, pp. 1185-1207. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>
15. Nandanwar, S., Yele, Y., Dixit, A., Goss-Souza, D., Singh, R., Shanware, A. & Kharbikar, L. (2020). Effects of pesticides, temperature, light, and chemical constituents of soil on nitrogen fixation. In *Nitrogen fixation* (pp. 1-8). Retrieved from: Available from: <https://www.intechopen.com/books/nitrogen-fixation/effects-of-pesticides-temperature-light-and-chemical-constituents-of-soil-on-nitrogen-fixatio>. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86128>
16. Pavlyshche, A.V., Mamenko, T.P., Rybachenko, L.I. & Kots, S.Ya. (2018). Influence of fungicides on the formation, functioning and peroxidase activity of root soybean nodules at inoculation by Rhizobia, incubated with lectin. *Mikrobiolohichnyy zhurnal*, 80, No. 5, pp. 76-89 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/microbiolj80.05.076>
17. Hryhorieva, O.M., Dimova, S.B. & Almaieva, T.M. (2019). The efficiency of biological preparations in the technology of soybean growing on heavy loamy chernozem on the right-bank steppe of Ukraine. *Silskohospodarska mikrobiolohiia*, 29, pp. 46-55 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.35868/1997-3004.29.46-55>
18. Chervyakova, L.N., Balyuh, O.V., Panchenko, T.P. & Bublik, L.I. (2014). Ecotoxicological assess the application of pesticides to protect crops from pests and diseases by seed treatment method. *Zakhyst i karantyn roslyn*, Iss. 60, pp. 465-472 [in Ukrainian].
19. Tokmakova, L.M., Pyschur, I.M., Sabluk, V.T. & Gryschenko, O.M. (2011). Influence of insecticide cruiser 350 FS and fungicide Maxim XL 035 FS on viability and functional activity of bacteria *Achromobacter album* 1122, the bioagent of microbic preparation albobacterin. *Silskohospodarska mikrobiolohiia*, 13, pp. 42-51 [in Ukrainian].
20. Sultana, T., Begum, A. & Akhter, H. (2019). Effect of pesticides on exopolysaccharide (EPS) production, antibiotic sensitivity and phosphate solubilization by Rhizobial isolates from *Sesbania bispinosa* in Bangladesh. *African Journal of Agricultural Research*, 14, No. 34, pp. 1845-1854. <https://doi.org/10.5897/AJAR2019.14304>
21. Sharma, A., Kumar, V., Handa, N., Bali, S., Kaur, R., Khanna, K., Kumar, A.T. & Bhardwaj, R. (2018). Potential of endophytic bacteria in heavy metal and pesticide detoxification. In: Egamberdieva D., Ahmad P. (eds) *Plant microbiome: stress response. Microorganisms for sustainability* (pp. 307-336), Singapore: Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-5514-0_14

Received 11.11.2020

EFFICACY OF SOYBEAN INOCULATION BY BIOPREPARATIONS BASED ON FUNGICIDE-RESISTANT RHIZOBIUM STRAINS UNDER SEED TREATERS IMPACT

K.P. Kukol, N.A. Vorobey, P.P. Pukhtaievych, S.Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine
e-mail: katerinakukol@gmail.com

The effectiveness of soybean inoculation with pesticide-resistant nodule bacteria strains *Bradyrhizobium japonicum* PC07 and PC10 on the background of pre-sowing seed treatment with Maxim XL, Standak Top and Fever was studied in pot experiments. Under the influence of fungicide Maxim XL, the number and weight of nodules, the weight of the above-ground part of plants and soybean roots exceeded the control plants throughout the growing season in variants with bacterization of both rhizobia strains. Fever had a depressing effect on soybean plants, and their interaction with nitrogen-fixing microorganisms. Under the action of this preparation there was a decrease in the root nodules number by 8.0–30.2 %, an increase in aboveground mass by 6.8–18.9 %, and root mass by 13.2–21.3 %. With the combined use of all seed treaters and nodule bacteria, there was a decrease in the level of N_2 assimilation at the stage of three true leaves. At the budding-beginning of flowering stage under inoculation of soybean seeds with *B. japonicum* PC10 on the background of fungicide

application, the indices of nitrogen-fixing activity were higher by 4.4–22.7 % in comparison with control plants. At the bean formation stage in the variants with seed treatment with Maxim XL and Standak Top, it was observed the highest nitrogen fixation by nodules formed with the participation of *B. japonicum* PC07 and PC10, which exceeded the indices of control plants by 1.8–3.9 times. When seed treatment with Fever was combined with bacterization by *B. japonicum* PC07, the negative influence on the functioning of the symbiotic apparatus throughout the soybean vegetation affected the level of crop productivity. Under the application of pesticides Standak Top and Maxim XL and inoculation of *B. japonicum* PC07 and PC10, soybean grain productivity increased by 9.5–25.8 %, due to the tolerance of the formed symbiotic systems to the active substances in these pesticides. Thus, the use for soybean seed treatment of bacterial preparations based on rhizobia strains resistant to modern fungicides will help reduce the effects of chemical stress on the symbiotic systems formation and functioning. In turn, maintaining the efficiency of plant-microbial systems combined with the implementation of seed treaters prophylactic action create the preconditions for increasing plant productivity.

Key words: *Bradyrhizobium japonicum*, soybean, inoculation, nitrogen-fixing activity, fungicides, treatment, productivity.