

КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА НОДУЛЯЦІЙНОЇ ЗДАТНОСТІ БУЛЬБОЧКОВИХ БАКТЕРІЙ ТА ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ СОЇ ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ НАСІННЯ МІКРОБНИМИ КОМПОЗИЦІЯМИ

*В умовах вегетаційних дослідів із ґрунтовою культурою досліджено особливості формування симбіотичних систем та проведено комплексну оцінку нодуляційної здатності бульбочкових бактерій за інокуляції насіння сої мікробними композиціями на основі специфічних ризобій, бактерій роду *Azotobacter* і фітолектинів (лектину насіння сої, аглютиніну зародків пшениці). Встановлено, що комплексні інокулянти порівняно до монокультури прискорюють процес інфікування рослин ризобіями на ранніх етапах розвитку сої; сприяють розширенню спектру генетично-детермінованої здатності бульбочкових бактерій до утворення певної кількості корневих бульбочок на рослині-хазяїні протягом вегетації, формуванню більшої кількості корневих бульбочок із більшою їх масою у другу половину вегетації сої, та суттєвому підвищенню маси однієї бульбочки, а також уповільненню процесу старіння корневих бульбочок при завершенні вегетації рослин. При оцінці нодуляційної здатності ризобій у мікробних композиціях пропонується застосовувати комплекс критеріїв, а саме: «активність нодуляції», «шкала нодуляції», «кількість бульбочок на рослині», «маса бульбочок з рослини», «маса однієї бульбочки», які є показовими на різних етапах формування симбіозу.*

К л ю ч о в і с л о в а: соя, симбіоз, мікробні композиції, ризобії, азотобактер, фітолектини, нодуляційна здатність.

Комплексні бактеріальні композиції для рослинництва є ефективним елементом сучасних мікробних біотехнологій [4, 8, 11–13, 19]. Особливе місце серед них займають бактеріальні препарати під бобові культури на основі активних, ефективних і конкурентоспроможних бульбочкових бактерій, що пропонуються для штучної інокуляції насіння з метою утворення активних і ефективних симбіотичних систем – джерела екологічно чистого біологічного азоту для рослин і ґрунту [4, 8, 11, 13, 19, 20]. Нодуляційна (бульбочкоутворююча) здатність ризобій – одна з симбіотичних характеристик бактерій, яка поряд із компліментарністю до рослини-хазяїна, конкурентоспроможністю й активністю фіксації молекулярного азоту визначає формування ефективного бобово-ризобіального симбіозу [3]. До факторів, які впливають на успішність формування симбіотичних взаємовідносин, зокрема реалізацію нодуляційної здатності ризобіальних клітин при взаємодії з коренем бобової рослини, відносять також пряму й опосередковану дію ризосферних мікроорганізмів на макро- і мікросимбіоти [2]. Відомо, що потенціал симбіозів можливо підвищувати шляхом внесення до ризобіального інокулянту інших агрономічно корисних мікроорганізмів, зокрема ризобактерій, арбускулярно-мікоризних грибів

[4, 8, 11, 16, 18, 19, 22], або ж біологічно-активних речовин рiстрегуляторної i фiтопротекторної дiї, зокрема фiтолектинiв [4, 9, 11, 17, 19], що обумовлює поширення спектру i стабiлiзацiю дiї мiкробних композицiй. Додатковi компоненти у складi комплексних iнокулянтiв, що iнтродукованi на насiння, за рахунок здатностi до синтезу рiзноманiтних фiзiологiчно-активних речовин, i, в першу чергу, гормонiв цитокiнiнової й ауксинової природи (мiкробнi агенти) та здатностi проявляти гормоноподiбну дiю, або ж включатися до гормональної регуляцiї росту й розвитку рослин та впливати на розвиток i фiзiологiчну активнiсть ґрунтових мiкроорганiзмiв (фiтолектини) [9], певним чином визначають успiшнiсть формування симбiотичних систем, починаючи з самих раннiх етапiв iх утворення.

Виходячи з цього, мета роботи полягала в дослiдженнi особливостей формування симбiотичних систем сої та оцiнцi критерiїв нодуляцiйної здатностi ризобiй за комплексної iнокуляцiї насiння мiкробними композицiями на основi бульбочкових бактерiй, ризобактерiй i фiтолектинiв.

Матерiали i методи. Об'єктом дослiдження були симбiотичнi системи, утворенi за участю рослин сої сорту Аннушка, бульбочкових бактерiй *Bradyrhizobium japonicum* 634б, ризосферних дiазотрофiв *Azotobacter chroococcum* T79 (колекцiя азотфiксувальних мiкроорганiзмiв вiддiлу симбiотичної азотфiксацiї IФРГ НАНУ), фiтолектинiв – лектину насiння сої (ЛНС), аглютинiну зародкiв пшеницi (АЗП, «Лектинотест», м. Львiв), як біологічно-активних речовин. Культурнi мiкроорганiзмiв вирощували на твердих живильних середовищах – манiтно-дрiжджовому та Ешбi [1] протягом 10 i 3 дiб вiдповiдно, пiсля чого робили змиви культур стерильною водою. Титр мiкроорганiзмiв у суспензiях – 10^9 i 10^8 кл/мл вiдповiдно. Мiкробнi композицiї готували шляхом змiшування та iнкубацiї (i) компонентiв протягом доби.

Особливостi формування симбiотичних систем сої за комплексної iнокуляцiї насiння оцiнювали в умовах вегетацiйних дослiдiв (2013, 2014 рр.) у ґрунтовiй культурi, якi проводили на вегетацiйному майданчику IФРГ НАНУ при природних освiтленнi та температурi повітря у 5-кратнiй повторностi по варiантам. У ґрунтовий субстрат росту рослин вносили живильну сумiш Гельригеля з 0,25 норми мiнерального азоту [5]. Iнокуляцiю насiння здiйснювали протягом 1 год до висiву насiння. Дослiди проводили за наступною схемою (у дужках спiввiдношення вiдносно ризобiй, як основних компонентiв композицiй):

1. Iнокуляцiя *Bradyrhizobium japonicum* 634б + вода (штам-контроль, 1:1).

2. Iнокуляцiя (*B. japonicum* 634б + *Azotobacter chroococcum* T79)i (бiінокулянт, 1:1).

3. Iнокуляцiя (*B. japonicum* 634б + ЛНС)i (бiінокулянт, 1:1).

4. Iнокуляцiя *B. japonicum* 634б + (*A. chroococcum* + АЗП)i (полiінокулянт, 1:1).

5. Iнокуляцiя (*B. japonicum* 634б + ЛНС)i + *A. chroococcum* T79 (полiінокулянт, (1:1):1).

6. Iнокуляцiя (*B. japonicum* 634б + ЛНС)i + (*A. chroococcum* + АЗП)i (полiінокулянт, (1:1):1).

Протягом вегетацiї рослин оцiнювали нодуляцiйну здатнiсть ризобiй за комплексом показникiв: активнiсть нодуляцiї – вiдсоток нодульованих

рослин (НОД⁺) від загальної кількості проаналізованих у варіанті; шкала нодуляції – відсоток рослин із певною кількістю кореневих бульбочок до загальної кількості НОД⁺ рослин даного варіанту; середня кількість та маса бульбочок на рослині; середня маса однієї кореневої бульбочки – маса кожної бульбочки на певній рослині із статистикою вибірки бульбочок з усіх рослин, взятих для відбору; старіння корневих бульбочок – відсоток старих і відмерлих бульбочок до загальної кількості на рослині.

Відбори рослин здійснювали у наступні фази онтогенезу: примордіального листка (15, 16-денні рослини), одного справжнього листка (23, 25-денні рослини), повного цвітіння – початку плодоутворення (40, 43-денні рослини), активного плодоутворення (49, 57-денні рослини), повної стиглості насіння (84–90-денні рослини). При кожному відборі проаналізовано від 8 до 50 рослин. Статистична обробка результатів проведена у програмі Statgraphics Plus (V. 3.0). У таблицях наведено середні арифметичні значення та стандартні похибки ($M \pm m$). Примітка в таблицях: * – достовірно ($p \leq 0,05$) до контролю (варіант № 1).

Результати та їх обговорення. Встановлено, що комплексна інокуляція насіння сої суттєво активує процес нодуляції коренів ризобіальними клітинами. На ранньому етапі розвитку рослин (фаза примордіального листка) у варіантах № 2–6 (комплексна інокуляція насіння) порівняно до варіанту № 1 (інокуляція монокультурою ризобій) кількість рослин, які утворили на коренях бульбочки (НОД⁺ рослини) зростала від 25 до 48 % (2013 р.) і від 19 до 93 % (2014 р., табл. 1). Максимальним (на 48 і 93 % більше за контроль) даний показник був у варіантах № 6 і № 4 (обидві композиції містять азотобактер, активований АЗП). У наступну фазу вегетації кількість НОД⁺ рослин суттєво (на 56 %) збільшувалась у варіантах № 3–5 (2013 р.). Дані комплексні інокулянти містять бактеріальні культури, активовані відповідними рослинними лектинами, що може підтверджувати встановлену раніше участь фітолектинів у підготовці бактеріальних клітин до процесу нодуляції рослин [10]. Переваги комплексних інокулянтів порівняно до ризобіальної монокультури у нодуляції рослин спостерігались у першу половину вегетації сої, тоді як 100 %-ва нодуляція рослин бактеріями і формування корневих бульбочок на усіх рослинах усіх варіантів відмічена у фазі повного цвітіння й початку плодоутворення, тобто в середині вегетації сої.

Отже, «активність нодуляції» рослин ризобіальною культурою може бути одним із критеріїв ранньої оцінки бульбочкоутворюючої здатності ризобій у комплексних інокулянтах.

За другий критерій оцінки нодуляційної здатності бульбочкових бактерій у комплексних композиціях пропонується шкала нодуляції рослин, яка побудована з розрахунку: відсоток рослин із певною кількістю корневих бульбочок до загальної кількості НОД⁺ рослин даного варіанту протягом онтогенезу сої, що дозволяє виявити відхилення як у сторону зниження, так і підвищення здатності ризобій до утворення корневих бульбочок у композиціях порівняно до ризобіального штаму. Із використанням критерію «шкала нодуляції» встановлено аналогічні закономірності у різні роки досліджень, а більш детально розглянуто та проаналізовано результати, отримані у 2014 р. (рис. 1).

Таблиця 1

Вплив мікробних інокулянтів на активність нодуляції рослин сої у ранні фази онтогенезу за комплексної бактеризації насіння

| № | Нодульовані рослини (НОД ⁺) на варіант | | | | | |
|---------|---|---|---|--|-----|----------------|
| | % | % [^] | % | % [^] | % | % [^] |
| | 2013 р. | | | | | |
| | Фаза розвитку примордіального листка, 15-денні рослини, t повітря 20 °С | Фаза одного справжнього листка, 25-денні рослини, t повітря 25 °С | Фаза трьох справжніх листків, 35-денні рослини, t повітря 29 °С | Фаза повного цвітіння, 40-денні рослини, t повітря 26 °С | | |
| 1 | 37,8 | 100 | 60,0 | 100 | 93 | 100 |
| 2 | 52,2 | 138 | 86,7 | 145 | 100 | 108 |
| 3 | 47,1 | 125 | 93,3 | 156 | 100 | 108 |
| 4 | 50,0 | 132 | 93,3 | 156 | 100 | 108 |
| 5 | 52,1 | 138 | 93,3 | 156 | 100 | 108 |
| 6 | 56,1 | 148 | 80,0 | 133 | 100 | 108 |
| 2014 р. | | | | | | |
| № | 16-денні рослини t повітря 20 °С | 23-денні рослини t повітря 20 °С | Фаза початку плодоутворення, 48-денні рослини, t повітря 23 °С | | | |
| 1 | 40,0 | 100 | 90 | 100 | 100 | |
| 2 | 66,7 | 167 | 100 | 111 | 100 | |
| 3 | 59,4 | 149 | 100 | 111 | 100 | |
| 4 | 77,1 | 193 | 100 | 111 | 100 | |
| 5 | 52,4 | 131 | 100 | 111 | 100 | |
| 6 | 47,4 | 119 | 100 | 111 | 100 | |

Примітка: Див. тут і у наступних таблицях. 1. № – № варіанту, аналогічний для всіх таблиць: 1 – ризобії, 2 – (ризобії + азотобактер)і, 3 – (ризобії + ЛНС)і, 4 – ризобії + (азотобактер + АЗП)і, 5 – (ризобії + ЛНС)і + азотобактер, 6 – (ризобії + ЛНС)і + (азотобактер + АЗП)і; 2. %[^] – відносно штам-контролю (варіант № 1)

Показано (рис. 1), що на початку вегетації сої (рис. 1А) при застосуванні монокультури ризобій 100 % 16-денних рослин утворили на коренях від 1 до 5 бульбочок. Така ж закономірність характерна і для варіанту № 2. В інших варіантах із комплексною інокуляцією при наявності достатньо суттєвої частки рослин із даною кількістю бульбочок (85,8–94,9 %) з'являються рослини (від 5,3 до 14,3 %) , які містять на коренях по 6–10 бульбочок.

У фазу розвитку одного справжнього листка (рис. 1Б) основна частка рослин (88,8 %) контрольного варіанту утворила від 6 до 25 бульбочок. Із комплексних інокулянтів, що перевищують даний показник, відмічено варіант № 4 (90 % рослин, із них 60 % мають по 6–10 бульбочок і 30 % – по 11–25 шт.), а також варіант № 5, у якому 50 % рослин формують від 11 до 25 бульбочок. У варіанті № 2 переважають рослини (37,5 %) із 1–5 бульбочками на коренях. Отже, на ранніх етапах формування симбіотичного апарату рослинами сої за критерієм «шкала нодуляції» відмічено варіанти № 4 (ризобії + азотобактер, стимульований АЗП) і № 5 (ризобії, стимульовані ЛНС + азотобактер), тобто мікроорганізми були активовані відповідними їм лектинами рослин. У даних варіантах нодуляційна здатність бульбочкових бактерій була максимальною.

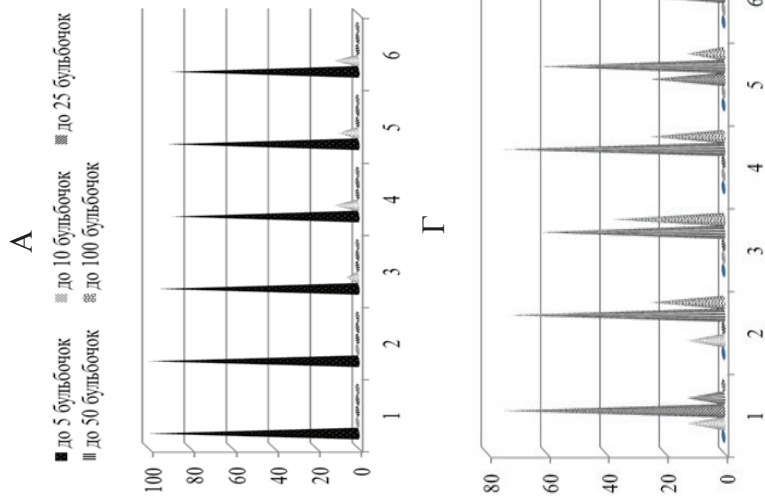


Рис. 1. Шкала нодуляції рослин сої протягом вегетації за комплексної бактеризації насіння (2014 р.)

На осі абсцис – № варіанту: 1 – ризобії, 2 – (ризобії + азотобактер), 3 – (ризобії + ЛНС)і, 4 – ризобії + (азотобактер + АЗП)і, 5 – (ризобії + ЛНС)і + азотобактер, 6 – (ризобії + ЛНС)і + (азотобактер + АЗП)і.

На осі ординат – % рослин із певною кількістю бульбочок.

Фази розвитку рослин: А – примордіального листка, Б – одного справжнього листка, В – початку плодоутворення, Г – активного плодоутворення, Д – повної стиглості насіння.

У середині вегетації сої (фази початку й активного плодоутворення, рис. 1 В, Г відповідно) нодуляційна здатність ризобій у комплексних інокулянтах знаходилася майже на рівні контролю, оскільки у більшості варіантів 100 % рослин утворювали від 11 до 50 бульбочок на рослині. Однак, якщо у фазу початку плодоутворення (рис. 1 В) у варіантах № 2–4, 6 переважали рослини, що сформували по 11–25 бульбочок (відповідно 85,7; 100,0; 75,0; 87,5 %) і це було більшим, ніж у контрольному варіанті (57,2 %), то відсоток рослин (87,5 %), що сформували по 26–50 бульбочок був більшим за контроль (42,9 %) лише у варіанті № 5. У фазу активного плодоутворення (рис. 1Г) за моноінокуляції ризобіями (№ 1) основна частка рослин (75 %) утворила від 11 до 25 бульбочок; за комплексної інокуляції в усіх варіантах 42,9–75,0 % рослин сформували від 26 до 50 бульбочок. При цьому дані рослини, на відміну від контрольного варіанту, здатні формувати і більшу кількість корневих бульбочок. Так, від 12,5 до 49,2 % рослин із комплексною інокуляцією насіння утворили від 51 до 100 бульбочок на рослину.

Отже, у середині вегетації сої, особливо у фазу активного плодоутворення, нодуляційна здатність бульбочкових бактерій у комплексних інокулянтах суттєво перевищувала таку монокультури ризобій.

Наприкінці вегетації сої (фаза повної стиглості насіння, рис. 1Д) у варіантах із комплексними інокулянтами основна частка рослин (від 62,5 до 100 %) містила від 26 до 100 бульбочок на рослині, тоді як у контролі лише 50 % рослин утворили 26–50 бульбочок і були відсутні рослини, що сформували від 51 до 100 корневих бульбочок. Отже, якщо рослини контрольного варіанту (моноінокуляція ризобіями) протягом онтогенезу здатні формувати від 1–5 (початок вегетації) до 26–50 (кінець вегетації) бульбочок на рослині, то рослини за комплексної інокуляції насіння формують більшу кількість бульбочок: від 1–10 (початок вегетації) до 51–100 (кінець вегетації), що свідчить про суттєве підвищення бульбочкоутворюючої здатності ризобіальних клітин у присутності як ризобактерій, так і фітолектинів, а також може вказувати на доцільність використання критерію «шкала нодуляції» для оцінки бульбочкоутворюючої здатності ризобій у комплексних композиціях протягом усіх фаз вегетації сої.

Оцінка нодуляційної здатності ризобій за показником «середня кількість бульбочок на рослині» показала (табл. 2), що суттєва різниця (у 1,8–2,5 рази) між контрольним і всіма дослідними варіантами та для варіантів № 3, 4 (у 1,7 рази більше за контроль) встановлена у фазу активного плодоутворення відповідно у 2014 і 2013 рр., а також у фазу повного цвітіння – початку плодоутворення у варіантах № 4 і 5 (відповідно в 1,4–1,7 і 1,6–2,0 рази). На ранньому етапі формування симбіотичного апарату сої за комплексної інокуляції насіння не виявлено достовірних відмінностей за даним показником між дослідними і контрольним варіантами за винятком результатів, отриманих у 2013 р. для варіантів № 3, 4, 6 (у 1,6–1,8 рази більше за контроль).

Отже, на ранніх етапах онтогенезу сої більш доцільним є визначення нодуляційної здатності ризобій за критеріями «активність нодуляції» та «шкала нодуляції», а не «середня кількість бульбочок на рослині».

Рослини, насіння яких інокулювали комплексними композиціями, містили на коренях бульбочки, які за масою достовірно перевищували

Таблиця 2

Характеристика кореневих бульбочок протягом вегетації рослин сої за комплексної бактеризації насіння

| Варіант | Кількість бульбочок на рослині, шт. | | Маса бульбочок із рослини, мг | | Маса 1 кореневої бульбочки, мг | |
|---|-------------------------------------|-----------|-------------------------------|---------------|--------------------------------|-------------|
| | 2013 р. | 2014 р. | 2013 р. | 2014 р. | 2013 р. | 2014 р. |
| <i>Фаза розвитку 1 справжнього листка</i> | | | | | | |
| Ризобії | 6,4±1,2 | 10,4±1,4 | 5,06±1,68 | 18,0±2,4 | 0,75±0,11 | 1,41±0,17 |
| (Ризобії + азотобактер)і | 9,1±1,8 | 8,8±2,0 | 9,56±1,40* | 12,6±3,5 | 1,34±0,20* | 1,46±0,04 |
| (Ризобії + ЛНС)і | 11,7±1,3* | 9,1±2,1 | 13,15±1,48* | 20,0±4,9 | 1,69±0,21* | 2,01±0,46* |
| Ризобії + (азотобактер + АЗП)і | 11,0±1,3* | 8,9±0,9 | 12,11±1,44* | 13,8±2,1 | 1,78±0,42* | 1,29±0,21 |
| (Ризобії + ЛНС)і + азотобактер | 8,7±1,3 | 10,1±1,7 | 9,21±1,40* | 33,4±8,9* | 1,42±0,17* | 2,73±0,32* |
| (Ризобії + ЛНС)і + (азотобактер + АЗП)і | 10,2±1,1* | 8,2±1,3 | 13,48±1,10* | 18,4±5,1 | 1,71±0,32* | 1,78±0,24* |
| <i>Фаза повного цвітіння – початку плодоутворення</i> | | | | | | |
| Ризобії | 9,8±1,4 | 16,0±2,0 | 79,44±14,88 | 166,86±12,03 | 8,31±1,32 | 7,65±0,37 |
| (Ризобії + азотобактер)і | 11,6±1,2 | 14,3±0,9 | 208,22±26,41* | 171,14±16,35 | 17,47±1,56* | 11,96±1,01* |
| (Ризобії + ЛНС)і | 12,3±1,4 | 13,6±1,9 | 175,44±16,24* | 295,33±21,67* | 14,12±1,51* | 19,08±1,38* |
| Ризобії + (азотобактер + АЗП)і | 17,0±1,9* | 23,0±2,3* | 200,33±17,48* | 413,75±24,01* | 12,36±0,62* | 18,90±1,68* |
| (Ризобії + ЛНС)і + азотобактер | 16,1±1,7* | 31,5±3,4* | 149,78±18,31* | 285,38±42,09* | 9,88±0,40 | 8,94±1,07 |
| (Ризобії + ЛНС)і + (азотобактер + АЗП)і | 7,2±1,1 | 15,1±1,6 | 55,17±4,83 | 281,00±39,07* | 10,28±2,10 | 18,21±1,78* |
| <i>Фаза активного плодоутворення</i> | | | | | | |
| Ризобії | 14,8±1,7 | 20,9±3,2 | 211,80±50,37 | 394,13±55,94 | 13,27±2,10 | 19,43±1,44 |
| (Ризобії + азотобактер)і | 15,4±2,2 | 41,9±9,0* | 411,67±64,67* | 652,75±97,48* | 25,85±1,94* | 17,51±0,51 |
| (Ризобії + ЛНС)і | 25,3±3,6* | 51,6±3,3* | 403,11±34,22* | 860,75±50,01* | 17,52±1,93 | 16,83±0,76 |
| Ризобії + (азотобактер + АЗП)і | 24,4±1,4* | 46,1±2,6* | 456,44±56,03* | 743,63±29,20* | 18,77±1,52* | 16,54±1,23 |
| (Ризобії + ЛНС)і + азотобактер | 14,7±1,4 | 37,0±5,8* | 311,67±36,39 | 715,88±42,99* | 21,73±1,04* | 21,07±1,72 |
| (Ризобії + ЛНС)і + (азотобактер + АЗП)і | 17,8±2,3 | 45,7±5,8* | 324,11±31,06* | 586,00±63,31* | 19,16±1,44* | 13,69±1,82 |

контрольні значення протягом досліджуваних фаз онтогенезу сої в 2013 р. (табл. 2). У фазу розвитку одного справжнього листка сої різниця становила від 1,8 до 2,7 рази, у середині вегетації – від 1,9 до 2,6 рази (цвітіння – початку плодоутворення) та від 1,5 до 2,2 рази (активне плодоутворення).

У наступному році досліджень за комплексної інокуляції насіння достовірно збільшення (у 1,9 рази) показника «маса бульбочок на рослині» виявлено на ранній стадії розвитку рослин лише у варіанті № 5 (ризобії, активовані ЛНС із додаванням азотобактеру), а також у фазу цвітіння – початку плодоутворення (від 1,7 до 2,5 рази), за виключенням варіанту № 2 (ризобії + азотобактер), та активного плодоутворення (від 1,5 до 2,2 рази) для усіх варіантів із комплексною інокуляцією насіння. Отже, оцінка нодуляційної здатності ризобій у комплексних інокулянтах за критерієм «середня маса бульбочок із рослини» є доцільною, починаючи з середніх фаз вегетації сої, а саме цвітіння, початку та активного плодоутворення.

Маса бульбочок на рослині може підвищуватися за рахунок як збільшення їхньої кількості, так і маси кожної кореневої бульбочки при незначній їх кількості. Визначення маси кореневої бульбочки показало (табл. 2), що на ранній стадії формування симбіозу (одного справжнього листка) у переважній більшості варіантів із комплексною інокуляцією насіння при кількості та масі кореневих бульбочок, які знаходилися на рівні контрольних значень, утворені бульбочки достовірно відрізнялися за своєю масою. Маса кожної утвореної бульбочки даних варіантів перевищувала контроль

у 1,8–2,4 та 1,3–1,9 рази відповідно для двох років досліджень. Аналогічна закономірність спостерігалась і в наступній фазі вегетації рослин за винятком фази активного плодоутворення (2014 р.), коли маса бульбочок на рослинах збільшилася не за рахунок підвищення маси кожної кореневої бульбочки, а за рахунок суттєвого збільшення (у 1,8–2,5 рази) їхньої кількості на рослині порівняно до контролю.

Отже, показник «середня маса кореневої бульбочки» може бути прийнятним, як один із критеріїв оцінки нодуляційної здатності ризобій у комплексних інокулянтах.

У фазу повної стиглості насіння сої (табл. 3) на рослинах варіантів № 2, 4 і 6 середня кількість бульбочок перевищувала контроль у 1,6; 1,2 і 1,6 рази відповідно. При цьому, достовірне збільшення маси бульбочок на рослині та маси однієї бульбочки відмічено у варіантах № 4 і 6 (композиції містять азотобактер, активований лектином пшениці). У дану фазу онтогенезу сої встановлено, що за останній тиждень вегетації рослин активно відбувався процес старіння й відмирання кореневих бульбочок (рис. 2): відсоток старих і відмерлих бульбочок до загальної кількості на рослині збільшувався майже вдвічі (90,4 % порівняно до 54,5 %, контрольний варіант, табл. 3). Однак, при застосуванні комплексних інокулянтів для передпосівної обробки насіння уповільнювалося старіння й відмирання кореневих бульбочок, оскільки достовірно зменшувався (на 22–32 %) відсоток старих і відмерлих бульбочок від загальної їх кількості на рослині (табл. 3).

Таблиця 3
Характеристика кореневих бульбочок сої за комплексної інокуляції насіння у фазу повної стиглості насіння

| № варіанту | Кількість бульбочок із рослини | | Маса бульбочок із рослини | | Маса кореневої бульбочки | | % старих і відмерлих бульбочок від загальної кількості на рослині | |
|-----------------------------|--------------------------------|----------------|---------------------------|----------------|--------------------------|----------------|---|----------------|
| | шт. | % [^] | мг | % [^] | мг | % [^] | % | % [^] |
| <i>Збір урожаю 12.08.14</i> | | | | | | | | |
| 1 | 31,4±2,3 | 100 | 781,88±69,78 | 100 | 25,05±1,48 | 100 | 54,5±7,5 | 100 |
| 2 | 48,6±6,4* | 155 | 944,63±107,73 | 121 | 19,84±0,82 | 79 | 37,0±3,8* | 68 |
| 3 | 35,6±5,2 | 113 | 946,25±121,41 | 121 | 26,50±1,70 | 106 | 39,9±4,0* | 73 |
| 5 | 36,5±5,8 | 116 | 735,63±102,51 | 94 | 20,62±0,93 | 82 | 50,1±6,4 | 92 |
| <i>Збір урожаю 18.08.14</i> | | | | | | | | |
| 1 | 23,1±2,4 | 100 | 318,71±40,63 | 100 | 13,75±0,53 | 100 | 90,4±5,4 | 100 |
| 4 | 28,6±2,8* | 124 | 458,57±65,31* | 144 | 15,80±1,25* | 115 | 64,9±2,7* | 72 |
| 6 | 36,2±4,4* | 157 | 639,63±66,24* | 201 | 15,90±0,97* | 116 | 70,5±8,1* | 78 |

Отже, комплексні інокулянти на основі ризобій (специфічного рослини штаму), ризобактерій (азотобактеру) і фітолектинів (ЛНС і АЗП) прискорюють процес інфікування рослин бульбочковими бактеріями на ранніх етапах онтогенезу сої, що дозволяє їм сформувати симбіотичні структури – кореневі бульбочки значно раніше, ніж за моноінокуляції ризобіями. Перевага комплексних інокулянтів щодо формування симбіотичного апарату рослинами сої спостерігається також протягом вегетації рослин, що вказує на суттєву роль додаткових агентів композицій – азотобактера і



Рис. 2. Кореневі бульбочки різної стадії старіння (1 – нормальні бульбочки; 2 – старі бульбочки; 3 – відмерлі бульбочки) у фазу повної стиглості зерна сої

фітолектинів – як активаторів процесу успішного інфікування рослин і бульбочкоутворення на коренях. Реалізація даної функції здійснюється за рахунок здатності бактерій роду *Azotobacter* до синтезу речовин рістрегуляторної дії [6, 14, 15], якими, в першу чергу, є гормони цитокінінової й ауксинової природи, а також здатності фітолектинів залучатися до гормональної регуляції росту й розвитку рослин і активації синтезу гормональних речовин різними видами мікроорганізмів [9], а також стимуляції росту, розвитку і фізіологічної активності ґрунтових мікроорганізмів, як аборигенних, так і інтродукованих на насіння, в тому числі й популяції бульбочкових бактерій [9, 10].

Отже, особливостями формування симбіотичного апарату сої за комплексної інокуляції насіння композиціями на основі специфічних бульбочкових бактерій, мікроорганізмів роду *Azotobacter* і фітолектинів (лектину насіння сої, аглютиніну зародків пшениці) в умовах ґрунтової культури є:

- прискорення процесу інфікування рослин ризобіями (збільшення % НОД⁺ рослин) на ранніх етапах розвитку сої;
- розширення спектру генетично-детермінованої здатності бульбочкових бактерій до утворення певної кількості корневих бульбочок на рослині-хазяїні протягом вегетації;
- формування більшої кількості корневих бульбочок на рослині з більшою їх масою у другу половину вегетації сої, а при утворенні меншої кількості бульбочок – у суттєвому підвищенні маси однієї бульбочки;
- уповільнення процесу старіння й відмирання корневих бульбочок (зменшення відсотка старих і відмерлих бульбочок від загальної кількості на рослині) при завершенні вегетації сої.

Зазвичай, нодуляційна здатність бульбочкових бактерій визначається за показниками кількості та маси корневих бульбочок на рослині [3]. Виходячи з представлених результатів, при створенні комплексних мікробних композицій, як біотехнологічних елементів для рослинництва, можна запропонувати комплексну оцінку нодуляційної здатності бульбочкових бактерій за крите-

ріями: «активність нодуляції», що є доцільним на ранніх етапах формування симбіозу, «кількість бульбочок на рослині», «маса бульбочок із рослини» та «маса однієї бульбочки», що є показовими, починаючи з середніх фаз вегетації сої, а також «шкала нодуляції» – критерій, який дозволяє визначати нодуляційну здатність бульбочкових бактерій протягом усього онтогенезу рослин.

Е.В. Кириченко

*Институт физиологии растений и генетики НАН Украины,
ул. Васильковская, 31/17, Киев, 03022, Украина*

**КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА НОДУЛЯЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ
КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ И ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ
СИМБИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМ СОИ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН
МИКРОБНЫМИ КОМПОЗИЦИЯМИ**

Резюме

В условиях вегетационных опытов с почвенной культурой исследована особенность формирования симбиотических систем и проведена комплексная оценка нодуляционной способности клубеньковых бактерий при инокуляции семян сои микробными композициями на основе специфических растений ризобий, бактерий рода *Azotobacter* и фитолектинов (лектина семян сои, агглютинина зародышей пшеницы). Установлено, что комплексные инокулянты по сравнению с монокультурой ризобий ускоряют процесс инфицирования растений клубеньковыми бактериями на ранних этапах развития сои; способствуют расширению спектра генетически-детерминированной способности клубеньковых бактерий к образованию определенного количества клубеньков на растении-хозяине на протяжении вегетации, формированию большего количества корневых клубеньков с большей их массой во вторую половину вегетации сои, существенному увеличению массы одного клубенька, а также замедлению процесса старения корневых клубеньков при завершении вегетации растений. При оценке нодуляционной способности ризобий в микробных композициях предлагается использовать комплекс критериев, а именно: «активность нодуляции», «шкала нодуляции», «количество клубеньков на растении», «масса клубеньков с растения», «масса одного клубенька», которые являются показательными на разных этапах формирования симбиоза.

К л ю ч е в ы е с л о в а: соя, симбиоз, микробные композиции, ризобии, азотобактер, фитолектины, нодуляционная способность.

О. V. Kyrychenko

*Institute of Plant Physiology and Genetics NAS of Ukraine,
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine*

**THE COMPLEX ESTIMATE OF THE RHIZOBIUM NODULATION ABILITY
AND THE FEATURES OF SOYBEAN SYMBIOTIC SYSTEMS FORMATION AT
THE MICROBIAL COMPOSITIONS SEED INOCULATION**

Summary

The features of the soybean symbiotic systems formation and carry out the complex estimate of the rhizobium nodulation ability at the seed inoculation of the microbial composi-

tions on the bases of nodule bacteria, azotobacter and phytolectins (soybean seeds lectin, wheat germ agglutinin) were studied in the green-house experiments with a soil cultures. It was shown, that complex inoculants accelerate the process of becoming infected of plants by rhizobia in the early stages of soybean development; contribute to the expansion of the spectrum of genetically determined ability of nodule bacteria in the formation of a certain number of nodules on the host plant during the growing season as well as the formation of more root nodules with more of their weight during the second half of the growing season of soybean and significant increase mass of the one nodule and also slow the root nodules aging process at the end of the growing season compared with a rhizobial monoinoculant. It was proposed to use a complex of criteria in the estimating of the rhizobia nodulation ability in the microbial compositions: “nodulation activity”, “nodulation range”, “the number of nodules on the plant”, “mass of nodules per plant”, “mass of one nodule”, which are indicative for different stages of the symbiosis formation.

Key words: soybean, symbiosis, microbial compositions, rhizobium, azotobacter, phytolectins, nodulation ability.

1. Антипчук А.Ф., Піляшенко-Новохатний А.І., Євдокименко Т.М. Практикум з мікробіології. Навч. посіб. – К.: Університет «Україна», 2011. – 156 с.
2. Биологическая фиксация азота: ассоциативная азотфиксация: монография в 4-х т. / том 4. / С.Я. Коць, В.В. Моргун, В.Ф. Патыка, В.Ф. Петриченко, Е.В. Надкерничная, Е.В. Кириченко. – К.: Логос, 2014. – 412 с.
3. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобияльный симбиоз: монография в 4-х т. / том 1. / С.Я. Коць, В.В. Моргун, В.Ф. Патыка, В.К. Даценко, Е.Д. Кругова, Е.В. Кириченко, Н.Н. Мельникова, Л.М. Михалкив. – К.: Логос, 2010. – 508 с.
4. Биорегуляция микробно-растительных систем / Г.А. Иутинская, С.П. Пономаренко, Е.И. Андреюк, А.Ф. Антипчук, О.В. Бабаянц, Л.А. Белявская, И.С. Бровко, Е.В. Валагурова, А.П. Галкин, Л.А. Галкина, А.А. Гладун, З.М. Грицаенко, И.В. Драгозов, Д. Икин, В.Е. Козырицкая, Л.А. Крючкова, Н.О. Леонова, Т.В. Моисеева, Л.И. Мусатенко, Т.В. Петрук, А.А. Пиндрус, О.И. Терек, Л.В. Титова, В.А. Цыганкова, Ху Вень Ксю, В.К. Яворская, Н.А. Ямборко. – К.: Ничлава, 2010. – 464 с.
5. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. – К: Наук. думка, 1973. – 388 с. (цит. с. 36).
6. Драгозов І.В., Леонова Н.О., Білявська Л.О., Іутинська Г.О., Яворська В.К. Продукування фітогормонів деякими вільноіснуючими та симбіотичними ґрунтовими мікроорганізмами // Доповіді НАН України. – 2010. – № 12. – С. 154–159.
7. Иванчина Н.В., Гарипова С.Р., Шавалеева Д.В. Влияние штаммов *Bacillus subtilis* на продуктивность растений гороха при автономной и совместной инокуляции со штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 1078 // Агрохимия. – 2008. – № 10. – С. 34–39.
8. Кириченко Е.В. Биотехнологии в растениеводстве. – Николаев: Илион, 2014. – 436 с.
9. Кириченко О.В. Лектини і діазотрофи – поліфункціональні компоненти комплексних біологічних композицій // *Biotechnologia Acta*. – 2014. – 7, № 1. – С. 40–53.
10. Косенко Л.В. Екологічна роль лектинів бобових рослин // *Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть*. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 1. – С. 248–251.

11. Мікробні препарати у землеробстві: теорія і практика / В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська, Л.М. Токмакова, Є.П. Копилов, С.Ф. Козар, М.З. Толкачов, Т.М. Мельничук, Л.О. Чайковська, М.К. Шерстобоев, А.М. Москаленко, Ю.А. Халеп; за ред. В.В. Волкогона. – Київ: Аграрна наука, 2006. – 312 с.
12. Лисицкая Т.Б., Трошева Т.Д. Микроорганизмы – стимуляторы роста растений для экологического земледелия // Экол. химия. – 2013. – **22**, № 3. – С. 169–179.
13. Тихонович И.А. Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика использования микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве) – М.: Россельхозакадемия, 2005. – 154 с.
14. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Микроорганизмы – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – **42**, № 2. – С. 133–143.
15. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – **42**, № 3. – С. 261–268.
16. Antunes P.M., Varennes A., Zhang T., Goss M.J. The tripartite symbiosis formed by indigenous arbuscular mycorrhizal fungi, *Bradyrhizobium japonicum* and soya bean under field conditions // J. Agr. And Crop Sci. – 2006. – **192**, N 5. – P. 373–378.
17. Fons F., Amellal N., Leyval C., Saint-Martin N., Henry M. Effects of gypsophila saponins on bacterial growth kinetics and on selection of subterranean clover rhizosphere bacteria // Can. J. Microbiol. – 2003. – **49**, N 6. – P. 367–373.
18. Kuprava N., Betsiashvili M., Dzamukashvili N., Sadunishvili T. Influence of rhizobium and free-living nitrogen-fixing bacteria on nitrogen assimilation enzymes of soybean plants // Bull. Georg. Acad. Sci. – 2006. – **173**, N 2. – P. 348–351.
19. Kyrychenko O.V. Market analysis and microbial biopreparations creation for crop production in Ukraine // Biotechnologia Acta. – 2015. – **8**, N 4. – P. 40–53.
20. Lupwayi N.Z., Clayton G.W., Rice W.A. Rhizobial inoculants for legume crops // J. Crop. Improv. – 2005. – **15**, N 2. – P. 289–321.
21. Narula N., Deubel A., Gans W., Behl R.K., Merbach W. Paranodules and colonization of wheat roots by phytohormone producing bacteria in soil // Plant Soil Environ. – 2006. – **52**, N 3. – P. 119–129.
22. Nuccio E.E., Hodge A., Pett-Ridge J., Herman D.J., Weber P.K., Firestone M.K. An arbuscular mycorrhizal fungus significantly modifies the soil bacterial community and nitrogen cycling during litter decomposition // Environ. Microbiol. – 2013. – **15**, N 6. – P. 1870–1881.

Отримано 02.06.2016