

ВПЛИВ МІКРОСИМБІОНТІВ НА УРОЖАЙНІСТЬ СОЇ

Абдурашитов С.Ф.

Відділ мікробіології Інституту сільського господарства
Криму НААН,
вул. К. Маркса, 107, смт. Гвардійське,
Сімферопольський район, 97513, Україна
E-mail: asuleyman83@rambler.ru.

*Показано, що інокуляція насіння експериментальними препаратами на основі нових асоціацій грибів арбускулярної мікоризи P3 і S7 сумісно з Ризобофітом позитивно впливає на розвиток потрійного симбіозу і підвищує урожайність сої сорту Аннушка порівняно з бактеризацією *Bradyrhizobium japonicum*.*

Ключові слова: *симбіоз, гриби арбускулярної мікоризи, *Bradyrhizobium japonicum*, соя.*

Однією з умов розвитку рослин у природних біоценозах та агроценозах є симбіоз з різноманітними мікроорганізмами, у тому числі з грибами арбускулярної мікоризи (АМ). Це підтверджено сучасними дослідженнями, згідно яких здатність до підтримки життєдіяльності грибів АМ, а також і інших ендосимбіонтів, є фундаментальною функцією кореня, не менш важливою за асиміляторну і механічну функції. Широке розповсюдження АМ у природних екосистемах і ґрунтах агроценозів робить її екологічно та економічно важливим типом симбіозу. За рахунок тісної інтеграції партнерів симбіозу рослини отримують важкодоступні елементи: фосфор, калій, воду та ін. з ґрунту; а ендомікоризні гриби – продукти фотосинтезу рослин [17].

Слід зазначити, що потребу в азотному живленні рослин сої можна забезпечити шляхом створення активного азотфіксувального симбіозу за проведення інокуляції препаратами на основі бульбочкових бактерій [10]. В Україні сьогодні зареєстровано п'ятнадцять препаратів для сої на основі брадиризовій, у т.ч. й вітчизняні [7]. У той же час, вплив мікоризних грибів на розвиток

рослин сої в нашій країні не достатньо вивчено, відповідно, й розробленого препарату на їх основі не існує.

Метою наших досліджень було вивчення впливу інокуляції насіння сої грибами АМ і бульбочковими бактеріями на показники симбіотичної системи і продуктивність культури.

Матеріали і методи. Для вирішення поставленої мети готували експериментальні препарати на основі грибів АМ за використання кварцового піску, вермікуліту і подрібнених коренів суданської трави, насичених міцелієм і спорами. В окремих препаратах використовували: не мікоризовані корені (далі СКС), корені з референтним ізолятом *Glomus intraradices* BEG 144 (надано ВНДСГМ, м. Санкт-Петербург) та виділеними нами асоціаціями *Glomus sp.* P3, P5, S3, S4, S5, S7, S8, S9. Біопрепарати вносили перед посівом у рядки за дотримання дози 50 г/м². В одному грамі препаратів було не менше 50 інфікуючих одиниць. Для забезпечення азотного живлення рослин сої використовували Ризобофіт на основі штаму *Bradyrhizobium japonicum* 36, із титром 2,0-2,8 млрд КУО/мл (виготовлено в лабораторії технічної мікробіології Інституту сільського господарства Криму НААН).

Вплив експериментальних препаратів на ефективність симбіозу вивчали в умовах польових дослідів на лучно-чорноземному ґрунті (з ґрунтовою популяцією *B. japonicum* щільністю 10³ бульбочкоутворювальних одиниць на грам ґрунту і аборигенною расою ендомікоризних грибів) на базі Відділу мікробіології впродовж 2009–2011 рр. Агрохімічна характеристика ґрунту: рН_{сол.} – 7,4; NH₄ (обмінний) – 26,3 мг/кг ґрунту; NO₃ – 21,3 мг/кг; рухомий P₂O₅ – 60,6 мг/кг; K₂O – 564,6 мг/кг; вміст гумусу – 2,1 %. Досліди проводили з районованим ультраскоростиглим сортом сої Аннушка.

Сою вирощували на зрошенні за загальноприйнятою технологією для півдня України [8]. Облікова площа ділянок складала 4,2 м², повторність дослідів 4-разова. Урожай збирали вручну снопами, які підсушували і обмолочували на сноповій молотарці. Отриману масу насіння перераховували на 100 % чистоту та 14 % вологість.

Інтенсивність мікоризації коріння рослин визначали в період

цвітіння сої мікроскопіюванням [21, 22]. Визначення нітрогеназної активності бульбочок проводили за ацетиленовим методом на газовому хроматографі «Chrom-5» [12].

Статистичну обробку отриманих даних – за методами дисперсійного [4] та граф- [6] аналізів.

Результати та обговорення. З природних фітоценозів та агроценозів нами виділено 15 асоціацій грибів АМ. Серед них 8 відзначалися більшою кількістю структурних одиниць на рослинах-накопичувачах. Всі виділені асоціації мають у своєму складі гриби з роду *Glomus sp.*, що визначено за морфологією розвитку внутрішньокоренових мікоризних структур і спор, а для асоціацій P3, P5, S1, S3, S5, S8, S9 це показано молекулярними методами.

За роки досліджень погодні умови були різноманітними і впливали на розвиток рослин і мікросимбіонтів на їх коренях. У 2009 р. азотфіксувальні бульбочки у контролі формувалися у кількості 6,9 одиниць на рослину та масою 269 мг/рослину, бактеризація забезпечила збільшення їх кількості у 1,9-2,7, а маси – у 1,7-2,3 раза (табл. 1).

У 2010 р. кількість і маса бульбочок були у 5-10 разів нижчими від показників попереднього року, а в контролі зустрічалися лише поодинокі бульбочки. У той же час, спостерігали високий рівень нітрогеназної активності в бульбочках. На третій рік досліджень маса бульбочок у варіантах з обробкою Ризобофітом у 2,1–6,3 раза була вищою, ніж у контролі, і сягала 43 мг на рослину.

Застосування окремих препаратів на основі мікоризних грибів при посіві в окремі роки сприяло істотному збільшенню кількості та маси бульбочок, а також нітрогеназної активності. Асоціації S5, S9 та ізолят BEG 144 забезпечували підвищення кількості бульбочок порівняно з впливом Ризобофіту на 43,6–52,9 %, але не впливали на їх масу і нітрогеназну активність у досліді 2009 року. У 2010–2011 рр. за цих умов збільшували кількість бульбочок на 52,8–92,8 % асоціації P5, S7, S8, S9 та ізолят BEG 144. У 2010 р. на нітрогеназну активність позитивно впливали препарати з асоціаціями P3, P5 і S3, а у 2011 р. – BEG144, P5, S3, S4, S5, S7, S8, S9, збільшуючи показники в 7,9–22,3 раза.

Таблиця 1. Вплив інокуляції *Bradyrhizobium japonicum* та асоціаціями арбускулярної мікоризи на розвиток азотфіксувального симбіозу (фаза цвітіння, лучно-чорноземний ґрунт, 2009-2011 рр.)

Варіанти дослідів	Кількість бульбочок, од./рослину				Маса бульбочок, мг/рослину				Нітрогеназна активність, нМоль C ₂ H ₄ /рослину за годину			
	2009 р.	2010 р.	2011 р.	середнє	2009 р.	2010 р.	2011 р.	середнє	2009 р.	2010 р.	2011 р.	середнє
Без інокуляції (контроль)	6,9	1,2	3,6	3,9	269	14	43	109	164	313	209	229
Інокуляція Ризобіфітом	14,0	1,4	5,3	6,9	476	32	90	199	123	1285	536	648
<i>Фон – обробка Ризобіфітом</i>												
СКС	18,5	1,6	6,6	8,9	617	39	61	239	166	4090	328	1528
BEG144	21,4	2,3	5,9	9,9	614	70	133	272	104	834	6020	2319
P3	13,3	1,9	6,1	7,1	490	86	161	246	148	7765	686	2866
P5	13,9	2,7	8,1	8,2	586	60	181	276	118	7945	8106	5390
S3	14,6	2,3	7,1	8,0	457	61	190	236	168	8326	6973	5156
S4	17,4	1,5	8,5	9,1	567	40	167	258	132	3493	8791	4139
S5	20,1	1,3	7,5	9,6	576	36	214	275	134	269	8492	2965
S7	15,2	2,5	8,8	8,8	464	39	164	222	381	765	10102	3749
S8	13,5	2,3	8,6	8,1	464	32	233	243	111	1846	11950	4636
S9	20,7	3,3	10,1	11,4	524	53	271	283	233	806	4233	1757
НІР ₀₅	4,6	0,9	2,4		156	36	119		147	2557	1945	

Ймовірно, це пов'язано з ураженням сої грибною хворобою, за припущенням – азіатською іржею (збудник – *Uromyces sojae* Syd.). Невелика кількість бульбочок на уражених рослинах характеризувалася низькими показниками фіксації азоту з повітря, а мікоризний препарат, внесений з насінням, проявив захисну дію і сприяв підвищенню нітрогеназної активності. Протекторний ефект ендомікоризних грибів відмічено також і іншими дослідниками [14, 18].

У ґрунті з щільною популяцією грибів арбускулярної мікоризи частота виявлення мікоризної інфекції в коренях сої за три роки досліджень складала 30,1-60,2 %^{КП} (кількісний показник), а інтенсивність мікоризації – 11,0-17,1 %^{КП} на 1 см коренів у варіанті без обробки біопрепаратами (табл. 2). У 2009 р. у фазу цвітіння сої всі варіанти за показниками мікоризованості достовірно не відрізнялися один від одного.

У двох наступних роках при застосуванні інокуляції Ризо-бофітом відмічали більш розвинену мікоризу, а саме: виявлення мікоризної інфекції збільшилося на 47,8-127,6 %^{ВП} (відносний показник), інтенсивність – на 2,3-242,7 %^{ВП}, кількість арбускул – на 2,4-305,8 %^{ВП}.

Існує кілька гіпотез щодо пояснення такого збільшення. З одного боку, інокуляція бульбочковими бактеріями сприяє підвищенню вмісту хлорофілу у листках, а це збільшує надходження продуктів фотосинтезу у кореневі сфери, до 20 % яких надходить до грибів АМ [13, 16]. З іншого, ефект збільшення мікоризної інфекції при інокуляції насіння брадиризовіями можна пояснити регулюванням гормонального стану коренів рослин, з наступним впливом на розвиток мікоризи у коренях. Існує також версія впливу продуктів метаболізму бактерій (вітаміни, амінокислоти, гідролітичні ензими клітинної стінки) на ріст і розвиток грибних структур і/або на розвиток коренів і їх проникність для інфекції.

Отже, рослини формували активний симбіоз з мікроорганізмами, результатом чого можна вважати отриману урожайність насіння сої.

Таблиця 2. Вплив інокуляції на розвиток арбускулярної мікоризи в коренях рослин сої сорту Аннушка (фаза цвітіння, лучно-чорноземний ґрунт, 2009-2011 рр.)

Варіанти дослідів	Частота виявлення інфекції, % на 1 см кореня				Інтенсивність мікоризації, % на 1 см кореня				Кількість арбускул, % на 1 см кореня			
	2009 р.	2010 р.	2011 р.	середнє	2009 р.	2010 р.	2011 р.	середнє	2009 р.	2010 р.	2011 р.	середнє
Без інокуляції (контроль)	60,2	30,1	37,8	42,7	16,9	17,1	11,0	15,0	5,9	12,5	6,9	8,4
Інокуляція Ризобіфітом	66,1	59,1	70,0	65,1	16,6	24,7	27,3	22,9	5,8	16,0	17,2	13,0
<i>Фон – обробка Ризобіфітом</i>												
СКС	70,3	57,1	60,0	62,5	26,9	17,5	13,6	19,3	13,6	12,8	6,1	10,8
BEG144	48,6	53,5	65,6	55,9	8,6	26,4	23,5	19,5	1,1	15,3	13,5	10,0
P3	45,1	44,5	76,7	55,4	14,9	19,0	31,2	21,7	10,0	15,0	18,8	14,6
P5	51,7	46,2	74,4	57,4	16,6	18,9	25,1	20,2	4,2	10,8	17,1	10,7
S3	60,3	65,4	74,4	66,7	19,6	17,6	18,3	18,5	7,6	19,3	8,6	11,8
S4	64,9	53,3	64,5	60,9	17,0	29,3	22,2	22,8	6,4	22,2	13,0	13,9
S5	56,5	64,0	61,8	60,8	19,1	26,9	20,6	22,2	5,5	22,3	14,6	14,1
S7	61,1	65,6	64,4	63,7	20,3	28,4	37,7	28,8	7,8	17,8	28,0	17,9
S8	71,4	65,6	64,4	67,1	27,1	26,1	19,5	24,2	14,2	21,1	10,7	15,3
S9	53,5	68,5	57,8	59,9	9,2	29,1	20,9	19,7	5,0	13,1	12,0	10,0
НІР ₀₅	20,3	15,3	22,1		11,5	12,1	11,2		6,4	11,5	8,4	

Як свідчать одержані дані, урожайність культури у контролі (без інокуляції) протягом трьох років була на рівні 0,52–0,68 т/га (рис.). При обробці препаратом бульбочкових бактерій у середньому за роки досліджень отримано приріст урожаю 51,6 % порівняно до контролю.

Урожайність насіння у варіанті із застосуванням референтного ізоляту ВЕГ 144 складала в середньому 0,96 т/га або на 0,36 т/га більше, ніж у контролі. При цьому спостерігали тенденцію до збільшення продуктивності культури відносно показників варіанту з обробкою Ризобофітом. У варіантах з асоціаціями мікоризних грибів Р3 і S7 отримано максимальну урожайність насіння, яка склала, відповідно, 1,07 і 1,04 т/га, що на 73,3-78,3 % вище за контроль і на 14,3–17,6 % – за показники варіанту з обробкою насіння Ризобофітом.

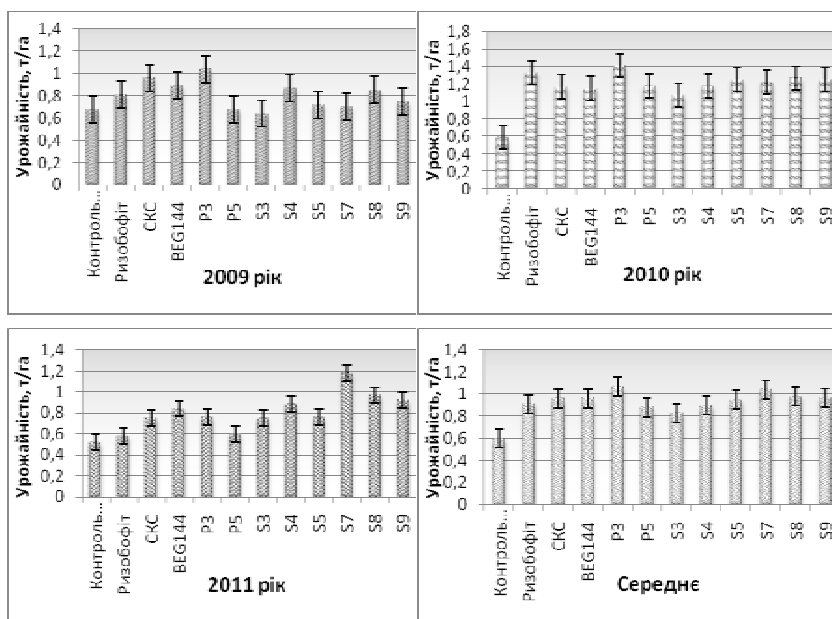


Рис. Урожайність насіння сої сорту Аннушка за передпосівної інокуляції мікроорганізмами (лучно-чорноземний ґрунт, 2009-2011 рр).

Субстратний компонент мікоризного препарату (без грибів АМ) практично не впливав на ефективність асоціацій. На це вказує неістотна різниця продуктивності у варіанті з СКС у порівнянні з обробкою Ризобіфітом. Слід також відмітити результати ефективності внесення інших асоціацій. Наприклад, ефективність асоціацій грибів АМ S8 і S9 була на рівні впливу референтного штаму *G. intraradices*. Асоціації P5 і S3 хоча і забезпечували приріст урожайності на рівні 38,3-46,7 % порівняно з контролем, але дещо зменшували ефективність Ризобіфіту.

Результати статистичної обробки середніх трирічних даних методом граф-аналізу свідчать, що урожайність насіння сої в рівній мірі корелює з масою бульбочок і інтенсивністю мікоризної інфекції. Ступінь кореляції при цьому складає 0,7. Кореляція між кількістю структур ризобіального симбіозу і мікоризного складала 15-48 %, що в умовах даного дослідження підтверджує різний рівень розвитку окремих асоціацій за роками.

Таким чином, за різних умов розвитку рослин упродовж трьох років показано позитивний вплив мікробних препаратів на утворення системи соя-брадиризовії-гриби АМ та активність фіксації атмосферного азоту. В середньому за три роки досліджень отримано підвищення урожайності насіння сої за використання *Glomus* P3 на 78,3 % відносно необробленого контролю і на 17,6 % – порівняно з ефектом обробки Ризобіфітом, асоціацією *Glomus* S7 відповідно – на 73,3 % і на 14,3 %. Формування такої урожайності стало можливим, завдяки взаємодії різного типу симбіозів, що видно з результатів кореляційного аналізу даних. Відмічено протекторний ефект від обробки грибами АМ і його вплив на симбіотичну систему.

1. Абдурашитов С.Ф. Ідентифікація нових асоціацій арбускулярно-мікоризних грибів, високоефективних у симбіозі з рослинами суданської трави/С.Ф. Абдурашитов, А.Г. Пінаєв, О.Ю. Штарк [та ін.]//Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві : матеріали VI наук. конф. молодих вчених (Чернігів, 29–30 вересня 2009 р.). – Чернігів : ЦНТЕІ, 2009. – С. 19–21.

2. Антипчук А.Ф. Связь между показателями фотоассимиляционной активности бобовых растений и их симбиотической азотфиксацией

/А.Ф. Антипчук, Р.М. Канцелярук, В.Н. Рангелова [и др.] //Микробиол. журн. – 1990. – Т. 52, № 6. – С. 49–53.

3. Гельцер Ф.Ю. Симбиоз с микроорганизмами – основа жизни растений /Ф.Ю. Гельцер. – М. : Изд-во МСХА, 1990. – 134 с.

4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта /Б.А. Доспехов – М. : Агропромиздат, 1985. – 352 с.

5. Лабутова Н.М. Взаимоотношения эндомикоризных грибов с микроорганизмами ризосферы /Н.М. Лабутова //Микол. и фитопатол. – 2009. – Т. 43, № 1. – С. 3–19.

6. Методические рекомендации по использованию граф-анализа в исследованиях систем, состоящих из биотических и абиотических компонентов /Н.И. Воробьев, О.В. Свиридова, Р.С. Кутузова. – [2-е издание, переработанное и дополненное]. – СПб.: ГНУ ВНИИСХМ, 2006. – 59 с.

7. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика: монографія /[В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська та ін.]; ред. В.В. Волкогон. – К. : Аграрна наука, 2006. – 312 с.

8. Соя: новые сорта и прогрессивная технология возделывания /Составитель: В.И. Сичкарь. – Одесса : СГИ-НАЦ СЕИС, 2003. – 46 с.

9. Тихонович И.А. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агросистем будущего /И.А. Тихонович, Н.А. Проворов. – СПб : Изд-во С-Петербур. ун-та, 2009. – 209 с.

10. Толкачов М.З. Селекція бульбочкових бактерій на високоефективний симбіоз з сучасними сортами зернобобових культур /М.З. Толкачов, С.В. Дідович, Є.М. Турін [та ін.] //X з'їзд Товариства мікробіологів України (15-17 вересня 2004 р., Одеса): тези доп. – Одеса, 2004. – С. 247.

11. Borowicz V.A. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogens relations /V.A. Borowicz //Ecol. – 2001. – Vol. 82 (11). – P. 3057–3068.

12. Hardy R.W.F. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation laboratory and field evaluation /R.W.F. Hardy, R.D. Holsten, E.K. Jackson [et al.] //Plant. Physiol. – 1968. – Vol. 42 (8). – P. 1185–1207.

13. Jakobsen I. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants /I. Jakobsen, L. Rosendahl //New Phytol. – 1990. – Vol. 115. – P. 77–83.

14. Newsham K.K. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas /K.K. Newsham, A.H. Fitter, A.R. Watkinson //Trends in Ecology & Evolution. – 1995. – Vol. 10. – P. 407–411.

15. Pinior A. Plants colonized by AM fungi regulate further root

colonization by AM fungi through altered root exudation /A. Pinior, U. Wyss, Y. Pichř, H. Vierheilig //Can. J. Bot. – 1999. – Vol. 77. – P. 891–897.

16. Rillig M.C. What is the role of Arbuscular mycorrhizal fungi in plant-to-ecosystem responses to elevated atmospheric CO₂? /M.C. Rillig, M.F. Allen //Mycorrhiza. – 1999. – Vol. 9. – P. 1–8.

17. Smith S.E. Mycorrhizal symbiosis /S.E. Smith, D.J. Read. – [2nd ed.]. – London : Academic Press, 1997. – 605 p.

18. Sikes B.A. Plant and fungal identity determines pathogen protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas /B.A. Sikes, K. Cottenie, J.N. Klironomos //J. of Ecol. – 2009. – Vol. 97. – P. 1274–1280.

19. Tobar R.M. Impact of a genetically modified *Rhizobium* strain with improved nodulation competitive nesson thee early stages of arbuscular mycorrhiza formation /R.M. Tobar, C. Azcon-Aguilar, J. Sanjuan, J.M. Barea //Appl. Soil Ecol. – 1996. – Vol. 4. – P. 15–21.

20. Toljander J.F. Interactions between Soil Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Doctoral dissertation /Jonas F. Toljander. – Uppsala, 2006. – 39 p.

21. Trouvelot A. Mesure du taux de mycorhization VA d'un systemeradiculaire. Recherche de methods d'estimationayantune signification fonctionnelle /A. Trouvelot, J.L. Kough, V. Gianinazzi-Pearson //Physiological and genetical aspects of mycorrhizae /Eds. V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi. – Paris : INRA, 1986. – P. 217–221.

22. Vierheilig H. Ink and vinegar a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi /H. Vierheilig, A.P. Coughlan, U. Wyss //Appl. and Environ. Microbiol. – American Society for Microbiology, 1998. – Vol. 64 (12). – P. 5004–5007.

23. Williams L.E. Carbon and Nitrogen Limitations on Soybean Seedling Development /L.E. Williams, T.M. Dejong, D.A. Phillips //Plant Physiol. – 1981. – Vol. 68. – P. 1206–1209.

ВЛИЯНИЕ МИКРОСИМБИОНТОВ НА УРОЖАЙНОСТЬ СОИ

Абдурашитов С.Ф.

Отдел микробиологии Института сельского хозяйства Крыма
НААН, Гвардейское

Показано, что инокуляция семян экспериментальными препаратами на основе новых ассоциаций грибов арбускулярной микоризы P3 и S7 совместно с Ризобифитом положительно влияет на развитие тройного симбиоза и повышает урожайность сои сорта Аннушка по сравнению с обработкой Bradyrhizobium japonicum.

Ключевые слова: симбиоз, грибы арбускулярной микоризы, *Bradyrhizobium japonicum*, соя, урожайность.

INFLUENCE OF MICROSymbionTS ON SOYBEAN YIELD

Abdurashytov S.F.

Department of Microbiology of Institute of Agriculture of Crimea,
NAAS, Gvardeyskoye

Seeds inoculation with preparations created on the basis of new associations of Glomus P3 and S7 and Rhizobifit has positively influenced formation of triple symbiosis and enhanced yield of soybean of «Annushka» variety in comparison with seeds inoculation with Bradyrhizobium japonicum only.

Key words: symbiosis, arbuscular mycorrhizal fungi, *Bradyrhizobium japonicum*, soybean, yield.