

## **ОЦІНКА СОРТІВ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ ЗА ЗДАТНІСТЮ ДО ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АСОЦІАТИВНОЇ АЗОТФІКСАЦІЇ**

**<sup>1</sup>Надкернична О.В., <sup>1</sup>Міненко С.М., <sup>2</sup>Богуславський Р.Л.,  
<sup>2</sup>Леонов О.Ю.**

<sup>1</sup>Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН,  
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна

<sup>2</sup>Національний центр генетичних ресурсів рослин України,  
пр-т Московський, 142, м. Харків  
e-mail: isgm@ukrpost.ua

*У контрольованих умовах вегетаційного дослідження досліджено міжсортову мінливість пшениці озимої сортів Альбатрос одеський, Кірія, Золотоколоса, Либідь та Одеська 267 за здатністю до забезпечення асоціативної азотфіксації. Виявлено 5,6–13,7-кратні розбіжності між сортами за цією ознакою.*

*Показано, що поряд з міжсортовою має місце внутрішньосортова мінливість пшениці озимої за здатністю до стимулювання асоціативної азотфіксації.*

*Серед досліджуваних сортів відібрано сорт Золотоколоса, який є генетично однорідним, з високим азотфіксувальним потенціалом мікроорганізмів кореневої зони і може бути рекомендований для використання в селекційній роботі як джерело підвищеної здатності до асоціативної азотфіксації. Одержання сортів пшениці озимої з високим азотфіксувальним потенціалом, які здатні повноцінно розвиватися не лише за рахунок використання мінеральних азотних добрив, а й завдяки взаємодії з асоціативними азотфіксувальними мікроорганізмами, дозволить частково замінити мінеральний азот на біологічний, що буде запорукою отримання продукції високої якості та збереження агроландшафтів у благополучному стані.*

*Ключові слова: сорти пшениці озимої, асоціативна азотфіксація, потенційна нітрогеназна активність, міжсортова і внутрішньосортова мінливість за азотфіксувальним потенціалом.*

Пшениця є однією з найважливіших продовольчих культур світу, їй належить провідне місце серед зернових культур. Це найцінніша і найпоширеніша зернова культура. За посівними площами пшениця озима займає в Україні перше місце і є головною продовольчою культурою [1].

Пшениця озима вибаглива до запасів поживних речовин у ґрунті та його водно-фізичних властивостей [2]. При вирощуванні цієї культури необхідно, щоб протягом всього періоду вегетації рослини були в достатній кількості забезпечені всіма поживними речовинами, при оптимальному співвідношенні всіх елементів мінерального живлення [3]. Впровадження у практику сільського господарства високоврожайних і, особливо, високобілкових сортів пшениці потребує створення у прикореневій зоні рослин достатньо високих концентрацій легкодоступних сполук азоту.

Зважаючи на вищезазначене, необхідною умовою вирощування та підвищення врожайності пшениці озимої є застосування мінеральних добрив. Проте внесення високих доз мінеральних добрив, особливо азотних, негативно впливає на екологічну ситуацію, оскільки накопичення сполук азоту у навколишньому середовищі призводить до деградації ґрунтів, евтрофікації водойм тощо.

Альтернативою застосуванню мінерального азоту є використання потенціалу ґрунтових азотфіксувальних мікроорганізмів [4–6], які поповнюють запаси азоту в ґрунтах, що в свою чергу суттєво впливає на їх родючість і забезпеченість рослин екологічно чистим азотом [7].

Активність процесу фіксації азоту мікроорганізмами запропоновано визначати ацетиленовим методом, який характеризується високою чутливістю, швидкістю і простотою [8]. М.М. Умаровим [9] і В.В. Волкогоном [10] запропоновано модифікації цього методу для визначення потенційної асоціативної азотфіксувальної активності ризосферного ґрунту та відмитих коренів рослин.

На активність асоціативної азотфіксації у кореневій зоні впливає багато факторів, серед яких важливу роль відіграють генотипові особливості рослин [11]. На перших етапах досліджень процесу асоціативної азотфіксації було встановлено, що нітроге-

назна активність у ризосфері варіює в залежності від типу ґрунтів, якщо рослина і гідротермічні умови залишаються стабільними. При поглибленому вивченні сортового розмаїття культур відносно здатності до асоціативної азотфіксації виявилось, що в залежності від ґрунтових умов показники у окремих сортів можуть відрізнятися, тому оцінка конкретного генотипу рослин повинна проводитися з урахуванням екологічного фону [12]. Вивчення нітрогеназної активності в кореневій зоні рослин тимофіївки лучної, грястиці збірної, костриці безостої на різних ґрунтах показало, що потенціал асоціативної азотфіксації більшою мірою залежить від генотипу рослини, ніж особливостей ґрунту [13].

З літератури [12–17] відомо, що існує як міжсортова, так і внутрішньосортова мінливість злакових культур за здатністю до стимулювання асоціативної фіксації молекулярного азоту.

Наші дослідження потенційної нітрогеназної активності у ризоплані пшениці озимої за умов польових дослідів показали, що зазначений показник характеризується значним діапазоном коливання як упродовж вегетаційного періоду, так і під час однієї фенофази у різні роки досліджень [18, 19].

Одержані результати багаторічних польових дослідів вказують на те, що азотфіксація є дуже мобільним процесом, на який впливають численні екологічні фактори (температура, вологість, фаза розвитку рослин, кількість продуктів кореневого екзоосмосу та ін.). Висока варіабельність фіксації атмосферного азоту викликана також динамічністю процесів трансформації азоту в ґрунті (денітрифікації, амоніфікації, нітрифікації) і перетворенням сполук азоту, які виникли в результаті їх перебігу [18].

Значний вплив факторів навколишнього середовища на нітрогеназну активність не дає змоги в умовах польових дослідів оцінювати сорти злакових культур за азотфіксувальним потенціалом. Крім того, польовий метод визначення асоціативної азотфіксації характеризується трудоемністю і значною тривалістю у часі, що унеможливорює одночасний аналіз великої кількості рослин.

У селекції злакових культур традиційно враховуються продуктивна кущистість, озерненість колоса, крупність зерна,

стійкість до патогенів. Водночас існує значна мінливість за ознакою азотфіксувального потенціалу, селекція в цьому напрямку не проводиться, тому, безперечно, актуальним є пошук сортів із підвищеним азотфіксувальним потенціалом у кореневій зоні.

На сьогоднішній день наявні поодинокі дослідження взаємозв'язків між селекційними ознаками рослин та підвищеною здатністю до стимулювання асоціативної азотфіксації. Встановлено наявність позитивних генетичних кореляцій між окремими селекційними ознаками та підвищеною здатністю до асоціативної азотфіксації. В той же час стверджується, що лише близько 30 % рослин і сімей злакових культур успадковують у потомстві підвищену спроможність до активізації асоціативної азотфіксації [20].

Вивчення генетичних ознак рослин, які сприяють формуванню високоактивних щодо азотфіксації рослинно-мікробних асоціацій, дасть змогу розробити підходи до вирішення актуальної проблеми – поліпшення живлення рослин за рахунок біологічного азоту. Накопичені досі нечисленні публікації стосовно контролю геномом рослини процесу асоціативної азотфіксації потребують аналізу, доповнення експериментальними даними і оцінки сучасного стану генетики рослин за ознакою асоціативної азотфіксації.

Метою нашої роботи було за контрольованих умов вегетаційного дослідження оцінити азотфіксувальний потенціал сортів пшениці озимої та віднайти сорти з підвищеною здатністю до стимулювання асоціативної азотфіксації.

**Матеріали і методи.** Для дослідження відібрано 5 сучасних перспективних сортів м'якої озимої пшениці: Альбатрос одеський, Одеська 267, Кірія, Золотоколоса, Либідь.

Веgetаційний дослід проводили на чорноземі вилугуваному неглибокому легкосуглинковому на лесовидних суглинках. Посудини ємністю 200 мл наповнювали заздалегідь просіяним і звільненим від рослинних решток ґрунтом. У кожну посудину висівали по 3–4 насінини досліджуваного сорту пшениці озимої. За 3–5 діб після появи сходів у кожній посудині залишали по одній рослині, які вирощували протягом трьох тижнів за умов люміностату (інтенсивність освітлення 2000–2500 люкс, фотоперіод

16 годин, температура  $26 \pm 2$  °С). Вологість ґрунту підтримували на рівні 60 % від повної вологості. Дослід закладали в п'ятикратній повторності. Всього аналізували 45–55 рослин кожного сорту.

Після закінчення дослідів визначали потенційну нітрогеназну активність коренів рослин ацетилен-етиленовим методом [4, 5]. Для цього обережно вивільняли кореневу систему з ґрунту, відмивали її під водогінною водою, корені подрібнювали і вмішували у стерильні флакони ємністю 40 см<sup>3</sup> з ватно-марлевими пробками. У кожен флакон додавали 5 мл напіврідкого середовища Доберейнер [5]. За три доби флакони герметизували, вводили ацетилен (10 % від об'єму газової фази у флаконі) та інкубували протягом доби за температури 26–28 °С. Зразки аналізували на газовому хроматографі «Chrom-4» з полум'яно-іонізаційним детектором. Колонка довжиною 370 см була заповнена хромосорбом з  $\beta$ - $\beta'$ -оксидіпропіонітрилом. Температура термостату 50 °С, газ-носії – азот, витрата газів (у мл/хвилину): водню – 30, азоту – 100, повітря – 500.

**Результати та обговорення.** Отримані результати визначення потенційної нітрогеназної активності в кореневій зоні рослин різних сортів пшениці озимої вказують на значне коливання цього показника (табл.). За рівнем потенційної нітрогеназної активності досліджувані сорти пшениці відрізняються у 5,6–13,7 разів, що свідчить про існування міжсортової мінливості пшениці озимої.

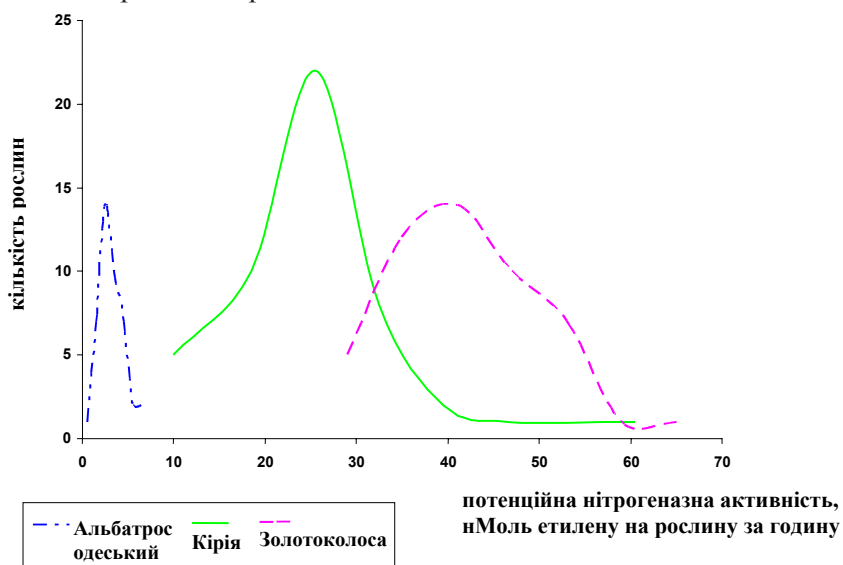
*Таблиця. Потенційна азотфіксувальна активність на коренях рослин сортів пшениці озимої (вегетаційний дослід)*

Сорти	Середні значення потенційної нітрогеназної активності, нмоль етилену/рослину/годину
Альбатрос одеський	3,05±0,19
Одеська 267	17,02±1,41
Кірія	27,92±1,42
Либідь	31,31±3,40
Золотоколоса	41,86±1,14

Визначення потенційної азотфіксувальної активності на коренях достатньої кількості рослин кожного сорту (45–55 рослин) дає можливість оцінити також внутрішньосортову мінливість

пшениці озимої за азотфіксувальним потенціалом. Одержані результати щодо сортів Альбатрос одеський, Кірія та Золотоколоса наведені на рис. 1, сортів Либідь та Одеська 267 – на рис. 2.

Так, сорт Альбатрос одеський (рис. 1) характеризується низьким азотфіксувальним потенціалом з діапазоном коливань потенційної нітрогеназної активності від 0 до 7 нмоль етилену/рослину/годину. Цей сорт в однаковій мірі насичений рослинами з низькими та високими значеннями щодо асоціативної азотфіксації та має нормальний розподіл за цією ознакою.



*Рис. 1. Внутрішньосортова мінливість сортів Альбатрос одеський, Кірія та Золотоколоса за здатністю до стимулювання асоціативної азотфіксації*

Азотфіксувальна активність у кореневій зоні рослин сорту Кірія змінюється в межах від 5 до 71 нмоль етилену/рослину/годину, максимум значень вибірки (майже 49 %) припадає на діапазон 22–29 нмоль етилену/рослину/годину. Кількість рослин з низькою та високою нітрогеназною активністю є приблизно однаковою та складає відповідно 22,2 та 28,9 % (рис. 1). Сорт Кірія відзначається достатньо високим потенціалом азотфіксації порівняно з Альбатросом одеським.

Діапазон мінливості сорту Золотоколоса дещо вужчий, ніж у сорту Кірія і становить 26–68 нмоль етилену/рослину/годину. Сорт досить рівномірно насичений рослинами з мінімальними, максимальними та середніми значеннями азотфіксувальної активності у кореневій зоні. Так, середні за вибіркою значення (31 %) знаходяться в діапазоні 38–44 нмоль етилену/рослину/годину (рис. 1).

Сорти Либідь та Одеська 267 (рис. 2) характеризуються асиметричним розподілом значень потенційної нітрогеназної активності. В цих сортах переважають рослини з нижчим азотфіксувальним потенціалом, проте в популяціях вказаних сортів існують генотипи з високим потенціалом азотфіксації. У зв'язку з цим існує можливість проведення селекційної роботи з подальшого вдосконалення сортів.

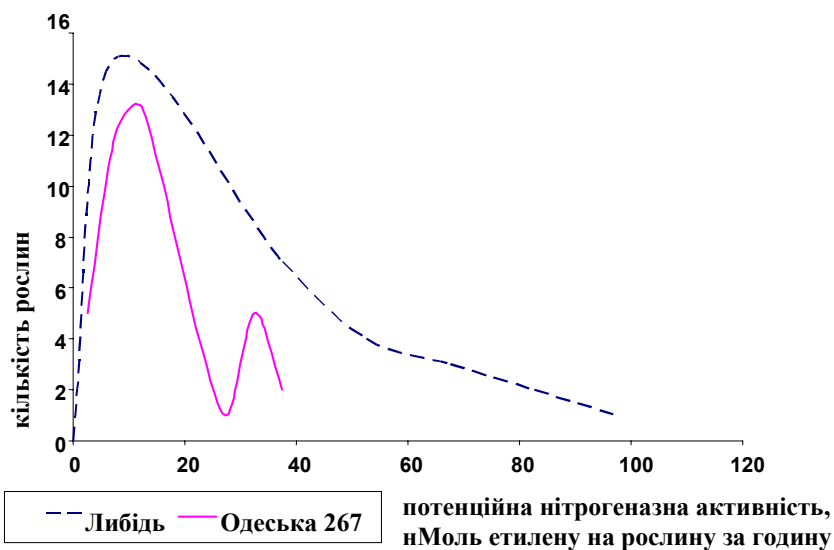


Рис. 2. Внутрішньосортова мінливість сортів Либідь та Одеська 267 за здатністю до асоціативної азотфіксації

Серед досліджуваних сортів звертає на себе увагу сорт Золотоколоса, який є генетично однорідним, з високим азотфіксувальним потенціалом і може бути рекомендований для використання в селекційній роботі як джерело підвищеної здатності до стимулювання асоціативної азотфіксації.

Отже, оцінку міжсортової і внутрішньосортової мінливості пшениці озимої за азотфіксувальним потенціалом доцільно проводити за контрольованих умов. При цьому кількість досліджуваних рослин певного сорту повинна бути достатньою для отримання нормального розподілу значень потенційної нітрогеназної активності в кореневій зоні рослин (в середньому 50 рослин). Насиченість популяцій того чи іншого сорту генотипами, які характеризуються високою азотфіксувальною активністю в зоні коренів, обумовлює високий азотфіксувальний потенціал сорту.

Отримані результати можуть бути використані селекціонерами при виведенні нових та вдосконаленні існуючих сортів пшениці озимої. Одержання сортів культури, що будуть здатні повноцінно розвиватися не лише за рахунок використання мінеральних добрив, а й завдяки взаємодії з асоціативними азотфіксувальними мікроорганізмами, дозволить частково замінити мінеральний азот на біологічний. Переваги біологічного азоту у порівнянні з азотом мінеральних добрив загальновідомі: при його використанні не відбувається забруднення довкілля і порушення екологічних систем. Крім того, при заміні мінерального азоту біологічним економляться кошти та енергетичні ресурси. За оцінками дослідників, використання сортів з високим азотфіксувальним потенціалом може дозволити замінити до 60 кг/га мінерального азоту на азот біологічний [6, 7, 13, 17]. При цьому необхідно звернути увагу на закономірності успадкування ознаки підвищеної здатності до асоціативної азотфіксації, оскільки ця проблема мало досліджена, існують лише поодинокі відомості щодо зазначеного питання [20]. Виведення сортів з високим азотфіксувальним потенціалом буде запорукою одержання продукції високої якості без надмірного застосування мінеральних азотних добрив та збереження агроландшафтів у благополучному стані.

1. Пруцков Ф.М. Озимая пшеница /Ф.М. Пруцков. – М.: Колос, 1976. – 351 с.
2. Губанов Я.В. Агротехника озимой пшеницы /Я.В. Губанов,



Н.Г. Потеха. – М.: Колос, 1967. – 400 с.

3. Созинов А.А. Озимая пшеница в Причерноморской степи /А.А. Созинов, В.Н. Гармашов, И.В. Вовченко [и др.]. – Одесса: Маяк, 1979. – 143 с.

4. Newton W.E. Nitrogen fixation: some perspectives and prospects /Newton W.E. //Proc. 1st European Nitrogen Fixation Conference. – Szeged, 1994. – P. 1–6.

5. Fried M. Biological nitrogen fixation: Present and future /M. Fried //Nucl. Techn. Soil-Plant Stud. Sustain. Agr. and Environ. Preserv.: Proc. Int. Symp. (Vienna, 17–21 Oct., 1994). – Vienna, 1995. – P. 199–204.

6. Коць С.Я. Роль біологічного азоту у підвищенні продуктивності сільськогосподарських рослин /С.Я. Коць //Физиол. и биохим. культурных раст. – 2001. – Т. 33, № 3. – С. 208–215.

7. Надкернична О.В. Здатність діазотрофів до формування асоціативних систем з рослинами озимого жита /О.В. Надкернична //Агроекол. журн. – 2003. – № 3. – С. 17–20.

8. Hardy R.W.F. The acetylene-ethylene assay for  $N_2$ -fixation: laboratory and field evolution /R.W.F. Hardy, R.D. Holsten, E.K. Jakson, K.S. Burris //Plant Physiol. – 1968. – Vol. 43, № 8. – P. 1185–1207.

9. Умаров М.М. Ацетиленовый метод изучения азотфиксации в почвенно-микробиологических исследованиях /М.М. Умаров //Почвоведение. – 1976. – № 11. – С. 119–123.

10. Волкогон В.В. Методичні рекомендації по визначенню активності азотфіксації в ґрунті та кореневій зоні рослин ацетиленовим методом /В.В. Волкогон. – Чернігів, 1997.

11. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай /А.А. Завалин. – М.: Изд. ВНИИА, 2005. – 302 с.

12. Родынюк И.С. Ассоциативная азотфиксация в ризоценозе иммунных и короткостебельных линий яровой мягкой пшеницы /И.С. Родынюк, И.Л. Степаненко, С.Ф. Коваль //С.-х. биология. – 1991. – № 5. – С. 88–93.

13. Родынюк И.С. Генетические и экологические факторы ассоциативной азотфиксации /И.С. Родынюк //Биологическая фиксация азота. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1991. – 271 с.

14. Rennie R.J.  $N_2$ -fixation in cereals /R.J. Rennie //Can. Agriculture. – 1983. – Vol. 29, № 3–4. – P. 4–9.

15. Танцова О.И. Оценка коллекций ячменя и тритикале по активности азотфиксации /О.И. Танцова, Б.М. Черемисов //Докл. ВАСХНИЛ. – 1992. – № 1. – С. 9–12.

16. Шумный В.К. Полиморфизм по ассоциативной азотфиксации у ячменя /В.К. Шумный, К.К. Сидорова, И.Я. Клевенская [и др.] //Биологическая фиксация азота. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1991. – 271 с.

17. Надкернична О.В. Генетичний поліморфізм озимого жита за здатністю до асоціативної азотфіксації /О.В. Надкернична //Агрокол. журн. – 2003. – № 4. – С. 62–65.

18. Надкернична О.В. Функціонування асоціативної системи діазотрофи-озиме жито залежно від сортових особливостей рослин /О.В. Надкернична //Бюл. Інституту с.-г. мікробіології. – 2006. – № 1. – С. 7–17.

19. Міненок С.М. Міжсортна мінливість пшениці озимої за здатністю до асоціативної азотфіксації /С.М. Міненок //Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві: Матер. VI наук. конф. молодих вчених (м. Чернігів, 29–30 вересня 2009 р.) /Українська академія аграрних наук, Інститут сільськогосподарської мікробіології. – Чернігів: ЦНТЕІ, 2009. – 112 с.

20. Скорик В.В. Вивчення генетичної детермінації ознаки азот фіксуючої активності в кореневій зоні озимого жита /В.В. Скорик, О.В. Надкернична, В.П. Сальник //Цитология и генетика. – 1994. – Т. 28, № 6. – С. 61–65.

## ОЦЕНКА СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПО СПОСОБНОСТИ К АССОЦИАТИВНОЙ АЗОТФИКСАЦИИ

<sup>1</sup>Надкерничная Е.В., <sup>1</sup>Миненок С.М., <sup>2</sup>Богуславский Р.Л.,  
<sup>2</sup>Леонов О.Ю.

<sup>1</sup>Институт сельскохозяйственной микробиологии НААН,  
г. Чернигов

<sup>2</sup>Национальный центр генетических ресурсов Украины, г. Харьков

*В контролируемых условиях вегетационного опыта исследована межсортовая изменчивость озимой пшеницы сортов Альбатрос одесский, Кирия, Золотоколосая, Лыбидь и Одесская 267 по способности к стимулированию ассоциативной азотфиксации. Обнаружены 5, 6–13, 7-кратные различия между сортами по этому признаку.*

*Показано, что, наряду с межсортовой, наблюдается внутрисортовая изменчивость озимой пшеницы по способности к обеспечению ассоциативной азотфиксации. Насыщенность популяций того или иного сорта генотипами, которые характеризуются высокой азотфиксирующей активностью, обуславливает высокий азотфиксирующий потенциал сорта.*

*Среди исследуемых сортов выбран сорт Золотоколосая, являющийся генетически однородным, с высоким азотфиксирующим потенциалом, который может быть рекомендован для использования в селекционной работе как источник повышенной способности к ассоциативной азотфиксации. Получение сортов озимой пшеницы с высоким азотфиксирующим потенциалом, способных полноценно развиваться не только за счет использования минеральных азотных удобрений, но и благодаря взаимодействию с ассоциативными азотфиксирующими микроорганизмами, позволит частично заменить минеральный азот на биологический, что является залогом получения продукции высокого качества и сохранения агроландшафтов в благополучном состоянии.*

*Ключевые слова: сорта озимой пшеницы, ассоциативная азотфиксация, потенциальная нитрогеназная активность, межсортовая и внутрисортовая изменчивость по азотфиксирующему потенциалу.*

## ASSESSMENT OF WINTER WHEAT VARIETIES BY THEIR ASSOCIATIVE NITROGEN FIXATION ABILITY

<sup>1</sup>Nadkernychna E.V., <sup>1</sup>Minenok S.M., <sup>2</sup>Buguslavsky R.L.,  
<sup>2</sup>Leonov O.Yu.

<sup>1</sup>Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial  
Manufacture, NAAS, Chernihiv

<sup>2</sup>National Centre for Plant Genetic Resources of Ukraine

*The paper depicts the results of intervarietal variability study of winter wheat plants in controlled environment with varieties Albatross Odessa, Kiriya, Zolotokolosa, Lybid and Odeska 267 by their associative nitrogen fixation ability. The 5.6 – 13.7 – fold divergence between the varieties by given index was revealed.*

*It was shown that intravarietal variability of winter wheat plants by their ability to stimulate associative nitrogen fixation occurs along with the intervarietal one. Populations intensity of a different genotypes characterized by high nitrogen fixation activity in root zone, stipulates high nitrogen fixation potential of variety.*

*Among the studied varieties Zolotokolosa was selected as genetically homogeneous variety with high nitrogen fixation potential of rhizosphere microorganisms that can be recommended for use in breeding as a source with high capacity for associative nitrogen fixation. New winter wheat varieties with high nitrogen fixation potential can fully develop using not only mineral nitrogen fertilizers, but also interacting with associative nitrogen fixation microorganisms should partially replace mineral nitrogen with biological that, in turn, will guarantee a high yield quality and conservation of agricultural landscapes.*

*Keywords: winter wheat, associative nitrogen fixation, potential nitrogenase activity, intervarietal and intravarietal variability by nitrogen fixation potential.*