

УДК 579.262:631.847.211:635.657

НОВИЙ ШТАМ *MESORHIZOBIUM SP. 1* ТА ЙОГО ВПЛИВ НА СТРУКТУРНІ ПОКАЗНИКИ ВРОЖАЮ НУТУ СОРТУ СКАРБ

О. В. Логоша¹, Ю. О. Воробей¹, І. М. Романова¹,
Т. О. Усманова¹, О. В. Бушулян²

¹Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14027, Україна; e-mail: olga.logosha94@gmail.com

²Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннезнавства та сортоживчення
Овідіопольська дорога, 3; м. Одеса, 65036, Україна

Проведено аналітичну селекцію бульбочкових бактерій нуту з метою створення ефективного бобово-ризобіального симбіозу. З бульбочок нуту сорту Скарб виділено новий штам ризобій, який за культурально-фізіологічними ознаками віднесено до роду *Mesorhizobium*.

Досліджено вплив передпосівної бактеризації насіння нуту штамом *Mesorhizobium sp. 1* на структурні показники врожаю. Показано, що бактеризація насіння нуту новим штамом забезпечує підвищення продуктивності культури на 47 % за вирощування на ґрунті з активною місцевою популяцією ризобій.

Ключові слова: бобово-ризобіальний симбіоз, бульбочкові бактерії, *Mesorhizobium*, нут.

Нут — бобова культура з цінними біологічними та господарськими ознаками, яка є важливим джерелом продовольчого і кормового рослинного білка. Насіння нуту за доступністю та кількістю амінокислот, особливо метіоніну та триптофану, переважає інші бобові культури, тому ця культура має важливе значення у харчовій промисловості [1; 2; 17].

За посівними площами нут посідає третє місце у світі серед зернобобових культур. В останні кілька років посіви цієї культури в Україні суттєво зросли: з 20 до майже 100 тис. га, що пояснюється високою цінністю зерна, стійкістю рослин до посухи та низки інших негативних природних чинників [5]. Тенденція до розширення посівних площ цієї культури спостерігається і нині.

Традиційно нут в Україні вирощували в посушливих умовах степової зони [4]. Але зміна інтегральних показників погодних умов сприяє значному розширенню посівів даної культури у Лісостеповій зоні та на Поліссі [10; 14; 15; 17; 19].

Рослини нуту здатні за рахунок симбіозу з бактеріями *Mesorhizobium ciceri* засвоїти за вегетацію до 80–150 кг/га молекулярного азоту та формувати без застосування азотних

добрив високі рівні урожайності зерна [9].

Успішна інтродукція даної культури у різних ґрунтово-кліматичних зонах України і, особливо, у регіонах, де її раніше не вирощували, передбачає використання такого агроприйому як передпосівна бактеризація насіння ризобіями, що в свою чергу обумовлює необхідність скринінгу активних штамів — мікосимбіонтів нуту. Застосування високо-ефективних бульбочкових бактерій нуту у технологіях вирощування даної культури сприятиме реалізації симбіотичного потенціалу рослин, підвищенню стійкості до несприятливих ґрунтово-кліматичних умов та зростанню урожайності.

У 1997 р. ризобії нуту запропоновано віднести до роду *Mesorhizobium* [21], представники якого характеризуються середньою швидкістю росту, на відміну від повільнорослих бактерій роду *Bradyrhizobium* та швидкорослих роду *Rhizobium*. В Україні рід *Mesorhizobium* представлений видами: *M. ciceri*, *M. loti*, *M. robiniae*.

Ризобії, виділені з бульбочок різних видів бобових рослин, близькі між собою за морфологічними і культуральними ознаками, однак виявляють високу специфічність щодо

рослини-живителя. Специфічність бульбочкових бактерій, тобто їхня здатність утворювати бульбочки на коренях певного виду або групи бобових рослин [3; 22], є однією з найважливіших систематичних ознак цих мікроорганізмів.

Окремі вітчизняні та зарубіжні вчені відзначають велике значення підбору певних сортів рослин нуту до селекціонованого штаму бульбочкових бактерій (створення комплементарних пар) з метою формування ефективного бобово-ризобіального симбіозу [8; 9; 16].

Селекція нових сортів та розширення посівних площ нуту обумовлює актуальність досліджень особливостей симбіотичних взаємовідносин даної культури з ризобіями та виділення нових ефективних штамів — представників роду *Mesorhizobium*.

Метою нашої роботи було проведення аналітичної селекції бульбочкових бактерій нуту та вивчення впливу бактеризації новим штамом ризобій на структурні показники врожаю нуту сорту Скарб.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були штами *M. ciceri*: Н-12, Н-18, НС-6, 065 та *Mesorhizobium* sp. 1, рослини нуту сортів Скарб, Буджак, Одісей, Тріумф, Пам'ять селекції Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насінництва та сортовивчення НААН (СГІ — НЦНС), вони включені до Державного реєстру сортів рослин придатних для поширення в Україні.

Виділення ізолятів ризобій проводили у фазу цвітіння рослин модифікованим методом [11; 12].

Нодулюючу здатність виділених ізолятів бактерій досліджували у вегетаційних дослідах. Вирощували рослини нуту на стерильному субстраті — вермікуліті, у посудинах об'ємом 1 л в люміностації протягом 45 днів за інтенсивності освітлення 20 тис. люкс; світловий період становив 16 годин та температурний режим 27 ± 3 °С. Насіння поверхнево стерилізували 96 % етанолом протягом 15 хв., потім промивали водопровідною водою і за дві години до висіву обробляли суспензією 7-добової культури бульбочкових бактерій з розрахунку 10^6 клітин/насінину.

Культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості визначали згідно із загальноприйнятими мікробіологічними методами [13].

Польові дослідження проводили на полях СГІ-НЦНС, які розташовані на території південної частини Причорноморської низини, у степовій зоні Одеської області. Рельєф представлений майже ідеальною рівниною. Грунтовий покрив являє південні середньогумусні важкосуглинисті чорноземи на лесових відкладеннях. Товщина гумусного шару 40–50 см, вміст гумусу 3,5–4,5 %.

Планування та проведення польового дослідження здійснювали за Б. О. Доспеховим [7]. Агротехніка відповідає зональній технології вирощування нуту [5; 6].

Математичну обробку виконували за допомогою програми Microsoft Office Excel 2003.

Результати та їх обговорення. На дослідних полях СГІ — НЦНС нут вирощується понад 20 років, що сприяло формуванню популяцій бульбочкових бактерій — мікросимбіонтів даної бобової культури.

З метою дослідження симбіотичних властивостей ризобій «місцевої» популяції відбирали рослини сортів Скарб, Буджак, Одісей, Тріумф та Пам'ять у фазі цвітіння, визначали кількість бульбочок та їх масу (табл. 1).

Таблиця 1. Симбіотична активність аборигенної популяції бульбочкових бактерій нуту в ґрунті дослідних ділянок СГІ — НЦНС (Одеська область)

Сорти	Середня кількість бульбочок, од./рослину	Середня маса бульбочок, мг/рослину
Скарб	11,42 ± 0,19	109 ± 2,00
Одісей	12,22 ± 0,56	138,22 ± 2,89
Буджак	10,67 ± 0,68	118,25 ± 5,97
Тріумф	18,22 ± 1,95	178,13 ± 4,91
Пам'ять	13,67 ± 1,76	120 ± 10,21

Встановлено, що на коренях не інокульованих рослин утворювалося в середньому від 10 до 18 бульбочок, масою від 109 до 178 мг, що свідчить про наявність у ґрунті дослідного поля активної аборигенної популяції бульбочкових бактерій нуту.

Активна селекційна робота в СГІ з виведення нових сортів нуту обумовлює актуальність виділення нових високоефективних штамів ризобій нуту. Новий високоурожайний сорт Скарб, внесений до Державного реєстру сортів рослин у 2017 р., крупнонасін-

ний та середньостиглий, зі світлим кольором насінин, рекомендований для вирощування в Лісостепу України. З корневих бульбочок рослин нуту даного сорту, відібраних на дослідних ділянках СГІ — НЦНС (Одеська область), нами було отримано 18 ізолятів.

Культурально-морфологічні ознаки виділених штамів бактерій відповідали характеристикам роду *Mesorhizobium* [20]. Отримані ізоляти є аеробами. Температурний діапазон їх культивування становить 26–30 °С. При посіві на бобовому агаризованому середовищі на 4–5-у добу утворюють однотипні округлі помірно опуклі слизисті напівпрозорі колонії слабо-білуватого кольору, з рівним краєм, діаметр яких коливається від 1 до 3 мм (рис. 1). Штрих посіву слизуватий, опуклий, білого кольору. Клітини паличкоподібні, спор не утворюють.

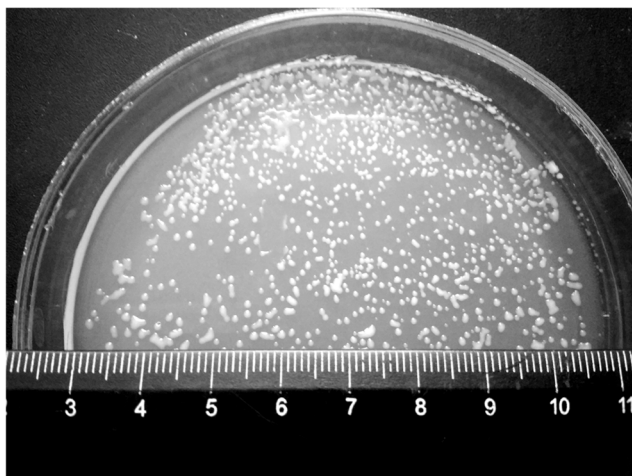


Рис. 1. Колонії бактерій *Mesorhizobium* sp. 1 на бобовому агарі (6-а доба).

В умовах вегетаційного дослідження вивчали симбіотичні властивості отриманих ізолятів та стандартного штаму *M. ciceri* Н-12. На коренях рослин формувались бульбочки округлої або овальної форми діаметром 1–3 мм. Інокуляція двома з досліджуваних ізолятів забезпечувала формування бульбочок у кількості більшій (на 24–65 %), ніж за інокуляції

M. ciceri Н-12. Найбільшу кількість бульбочок на коренях дослідних рослин спостерігали у варіанті з інокуляцією насіння *Mesorhizobium* sp. 1.

З метою визначення систематичного положення нових ізолятів бульбочкових бактерій вивчали характер їх росту на м'ясо-пептонному агарі та на молоці з лакмусом [11; 13].

Серед представників роду *Mesorhizobium* є штами, що характеризуються відсутністю росту на м'ясо-пептонному агарі (*M. ciceri*: Н-12, Н-18; *M. loti*: ЛД-6, ЛД-8; *M. robiniae* sp.) та здатні до помірного росту штами (*M. ciceri* НС-6 та 065). За культивування на МПА нового штаму *Mesorhizobium* sp. 1. також спостерігали відсутність росту.

Протеолітична активність мікроорганізмів, що визначається за характером росту бактерій на знежиреному молоці з лакмусом, є важливою систематичною ознакою бактерій роду *Mesorhizobium* [20]. Культивування *Mesorhizobium* sp. 1 на даному середовищі сприяло незначному підлугуванню середовища на 7 добу, а через 30 діб — підкисленню. Аналогічні зміни рН спостерігали за культивування в стерильному молоці з лакмусом стандартних штамів *M. ciceri* Н-12, Н-18, НС-6 та 065.

Отже, досліджені властивості виділеного нами нового ізоляту *Mesorhizobium* sp. 1 відповідають культурально-фізіологічним ознакам даного роду та характеристикам стандартних штамів *Mesorhizobium ciceri*.

Ефективність інокуляції насіння нуту сорту Скарб новим штамом *Mesorhizobium* sp.1 вивчали в умовах польового дослідження СГІ — НЦНС.

Бактеризація насіння даним штамом сприяла підвищенню показників маси насінин в одному бобі на 4 %, маси насінин з рослини на 47 % і маси тисячі насінин на 5 % (табл. 2).

Отже, з бульбочок нуту сорту Скарб виділено новий штам бульбочкових бактерій,

Таблиця 2. Вплив інокуляції насіння нуту штамом *Mesorhizobium* sp. 1 на структурні показники врожаю даної культури (сорт нуту «Скарб», Одеська обл., 2017 р.)

Варіанти дослідження	Кількість насіння в бобі, од.	Маса насіння в 1 бобі, г	Маса насіння, г/рослину	Маса 1000 насінин, г
Контроль (без інокуляції)	1,1 ± 0,18	0,472 ± 0,010	7,93 ± 0,24	410 ± 3,1
Інокуляція <i>Mesorhizobium</i> sp. 1	1,05 ± 0,13	0,489 ± 0,010	11,69 ± 1,38	432 ± 3,9

який за культурально-фізіологічними ознаками віднесено до роду *Mesorhizobium*.

Показано, що бактеризація насіння нуту новим штамом забезпечує підвищення показників продуктивності рослин даної культури за умов вирощування на полях з активною місцевою популяцією ризобій нуту.

1. Аникеева Н. В. Перспективы применения белковых продуктов из семян нута / Н. В. Аникеева // Известия вузов. Пищевая технология. — 2007. — № 5–6. — С. 33–35.

2. Балашова Н. Н. Мировые тенденции производства и потребления нута / Н. Н. Балашова // Зерновое хозяйство. — Москва, 2003. — № 8. — С. 5–8.

3. Биорегуляция микробно-растительных систем : монография / под ред. Г. А. Иутинской, С. П. Пономаренко. — К. : НІЧЛАВА, 2010. — 472 с.

4. Результаты и перспективы селекции нута в Украине / О. В. Бушулян, В. И. Сичкар, М. А. Бушулян, С. М. Пасичник // Зернобобовые и крупяные культуры. — 2015. — № 4 (16). — С. 49–54.

5. Бушулян О. В. Сучасна інтегрована система захисту посівів нуту / О. В. Бушулян, В. І. Січкарь, О. В. Бабаянц. — Одеса : СГІ — НЦНС, 2017. — 32 с.

6. Бушулян О. В. Сучасна технологія вирощування нуту : методичні рекомендації / О. В. Бушулян, В. І. Січкарь. — Одеса : СГІ — НЦНС, 2011. — 31 с.

7. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. — М. : Агропромиздат, 1985. — 351 с.

8. Дюсебаев Б. К. Эффективность биологического препарата Ризовит-АКС при обработке нута в условиях Костанайской области / Б. К. Дюсебаев, С. К. Коканов, Т. Х. Мулдагалиев // 3i: intellect, idea, innovation — интеллект, идея, инновация. — 2015. — № 2. — С. 114–122.

9. Дідович С. В. Ефективність симбіотичної азотфіксації в агроценозах України / С. В. Дідович, М. З. Толкачов, О. Ю. Бутвіна // Сільськогосподарська мікробіологія. — 2008. — Вип. 8. — С. 117–125.

10. Каленська С. М. Економічна ефективність вирощування нуту в умовах Правобережного Лісостепу України / С. М. Каленська, Н. В. Новицька, І. Т. Барзо // Молодий вчений. — 2014. — № 10. — С. 18–20.

11. Методи культивування та тривалого зберігання бульбочкових бактерій у колекціях : ме-

тодичні рекомендації / [Т. М. Ковалевська, С. Ф. Козар, Д. В. Крутило та ін.]. — Чернівці : ІСМАВ НААН, 2015. — 36 с.

12. Новикова А. Т. выделение клубеньковых бактерий из клубеньков бобовых растений (аналитическая селекция) / А. Т. Новикова, И. В. Загорье // Методы исследований клубеньковых бактерий : методические рекомендации для курсов повышения квалификации научных сотрудников по сельскохозяйственной микробиологии / под ред. Л. М. Доросинского — Л., 1981. — С. 4–5.

13. Методы общей бактериологии / под ред. Ф. Герхардта и др. ; [пер. с англ. Е. Н. Кондратьевой и Л. В. Калакуцкого] : в 3 т. — М. : Мир, 1983–1984. — Т. 3. — 1984. — 264 с.

14. Петкевич З. З. Нут, сочевиця — перспективні зернобобові культури для вирощування на півдні України / З. З. Петкевич, Г. В. Мельніченко // Зрошуване землеробство. — 2016. — Вип. 65. — С. 104–107.

15. Барзо І. Т. Продуктивність нуту залежно від технології вирощування в Правобережному Лісостепу України : автореф. дис. ... канд. с.-г. наук : 06.01.09 / І. Т. Барзо ; Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. — К., 2013. — 21 с.

16. Інтенсифікація азотфіксувального потенціалу зернобобових культур шляхом комплементарного добору макро- і мікросимбіонтів / [В. І. Січкарь, І. І. Хухлаєв, О. В. Бушулян та ін.] // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету. Серія: Біологія. — 2014. — № 3 (60). — С. 165–169.

17. Тітова А. Є. Перспективи вирощування та використання нуту під час глобальних змін клімату / А. Є. Тітова, В. К. Пузік // Вісник Харківського національного аграрного університету ім. В. В. Докучаєва. Серія: Рослинництво, селекція і насінництво, плодоовочівництво. — 2013. — № 9. — С. 210–214.

18. Холодова О. Ю. Характеристика поживних властивостей нуту та сучасний стан його використання у харчовій промисловості / О. Ю. Холодова // Товарознавство та інновації. — 2011. — Вип. 3. — С. 165–170.

19. Холод С. М. Нут — перспективна зернобобова культура для Лісостепу України / С. М. Холод, С. Г. Холод, Ю. Г. Іллічов // Вісник Полтавської державної аграрної академії : науково-виробничий, фаховий журнал. — 2013. — № 2. — С. 49–54.

20. Bergeys Manual of Systematic Bacteriology / G. M. Garrity, D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley. — Vol. 2: The Proteobacteria, Part B: Gammaproteobacteria. — Springer US, 2005. — 1106 p. <https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7>.

21. Transfer of *Rhizobium loti*, *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum*,

and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov. / [B. D. W. Jarvis, P. Van Berkum, W. X. Chen et al.] // International Journal of Systematic Bacteriology. — 1997. — Vol. 47, № 3. — P. 895–898. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-3-895>.

НОВЫЙ ШТАММ *MESORHIZOBIUM SP. 1* И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА СТРУКТУРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ УРОЖАЯ НУТА СОРТА СКАРБ

О. В. Логоша¹, Ю. А. Воробей¹,
И. Н. Романова¹, Т. О. Усманова¹,
О. В. Бушулян²

¹Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, г. Чернигов

²Селекционно-генетический институт — Национальный центр семеноводства и сортоизучения, г. Одесса

Проведена аналитическая селекция клубеньковых бактерий нута с целью создания эффективного бобово-ризобияльного симбиоза. Выделен новый штамм ризобий с клубеньков нута сорта Скарб, который по культурально-физиологическим признакам был отнесен к роду *Mesorhizobium*.

Исследовано влияние бактеризации штаммом *Mesorhizobium sp. 1* на структурные показатели урожая нута. Показано, что бактеризация семян нута новым штаммом *Mesorhizobium sp. 1* обеспечивает повышение продуктивности растений данной культуры на 47 %, в условиях выращивания на полях с активной местной популяцией ризобий.

Ключевые слова: бобово-ризобияльный симбиоз, клубеньковые бактерии, *Mesorhizobium*, нут.

22. *Rhizobiaceae*. Молекулярная биология бактерий, взаимодействующих с растениями / под ред. Спайнка Г., Кондорози А., Хукаса П.; рус. перевод под ред. Тихоновича И. А., Проворова Н. А. — СПб., 2002. — 567 с.

NEW *MESORHIZOBIUM SP. 1* STRAIN AND ITS INFLUENCE ON THE STRUCTURAL PARAMETERS OF YIELD OF CHICKPEA OF VARIETY SKARB

O. V. Lohosha¹, Yu. O. Vorobei¹,
I. M. Romanova¹, T. O. Usmanova¹,
O. V. Bushulian²

¹Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv

²Institute of Selection and Genetic — National Institute of Seed Farming and Variety Research, Odessa

The analytical selection of rhizobial bacteria of chickpea was carried out in order to create an effective legume-rhizobial symbiosis. A new strain of rhizobia has been isolated from the nodules of chickpea of Skarb variety, which, according to its cultural and physiological characteristics, is classified as Mesorhizobium.

The influence of pre-sowing bacterization of seeds by Mesorhizobium sp. 1 strain on the structural parameters of yield was studied. It has been shown that the bacterization of chickpea seeds with the new strain provides an increase in the productivity of culture by 47 % under cultivation on the soil with the active local population of rhizobia

Key words: legume-rhizobial symbiosis, rhizobial bacteria, *Mesorhizobium*, chickpea.

Отримано 30.04.2018