

С.В. Вознюк¹, Л.В. Титова¹, О.В. Ратушинська², Г.О. Іутинська¹

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

²Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології»,
просп. Академіка Глушкова, 2, Київ, 03022, Україна

ФОРМУВАННЯ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ ТА МІКРОБІОЦЕНОЗУ РИЗОСФЕРИ СОЇ ЗА ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ ФУНГІЦИДІВ

Актуальність. У посівах сої в останні роки збільшилась кількість фітопатогенних грибів. Для боротьби з ними інтенсивно використовують фунгіциди системної і контактної дії. Після потрапляння у ґрунт фунгіциди та/або продукти їх розпаду можуть порушувати діяльність нецільових об'єктів – корисних ґрунтових мікроорганізмів, пригнічувати нодуляційний процес та азотфіксуючу активність діазотрофів. Метою роботи було дослідити вплив комбінованого застосування фунгіцидів та інокуляції на симбіотичні системи сої і ризосферні мікроорганізми. **Методи.** Мікробіологічні, статистичні методи, метод газової хроматографії. **Результати.** За інокуляції насіння сої високоактивними штамами *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 та УКМ В-6023 підвищувалась азотфіксуюча активність симбіотичних систем у 1,4–3,4 рази відносно контрольного варіанту. Обробка насіння фунгіцидом Вітавакс 200 ФФ призводила до зниження азотфіксуючої активності промислових штамів ризобій у симбіозі з соєю у 3–5 разів. Інокуляція насіння *B. japonicum* УКМ В-6035 сприяла зниженню негативного впливу фунгіциду Максим Стар 025 FS на нітрогеназну активність нодуляційного апарату. Позитивний ефект бактеризації спостерігали також у збільшенні чисельності ризосферних мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп. У варіантах з обробкою насіння фунгіцидами Максим Стар 025 FS та Кінто дуо встановлено зниження кількості мікроорганізмів досліджуваних груп відносно контрольного варіанту; використання фунгіциду Вітавакс 200 ФФ сприяло покращенню розвитку цих мікроорганізмів у порівнянні з варіантом без обробки фунгіцидами та бактеризації. За інокуляції насіння промисловими штамами ризобій відбувалось нівелювання негативного впливу фунгіцидів Максим Стар 025 FS та Кінто дуо на олігоазотрофні і прототрофні мікроорганізми. **Висновок.** Найвищою нодуляційною та азотфіксуючою активностями характеризувалась симбіотична система варіанту з комбінованим застосуванням фунгіциду Кінто дуо і штаму *B. japonicum* УКМ В-6023.

К л ю ч о в і с л о в а: фунгіциди, інокуляція, соя, ризобії, симбіоз, нодуляційний процес, азотфіксуюча активність, ризосфера, мікробіоценоз.

За останні роки в усьому світі, у тому числі й в Україні, біологічне землеробство набуває все більшого поширення. Поглиблення уявлень про роль мікроорганізмів у житті рослин стало науковим підґрунтям технологій, які дозволили зменшити об'єми використання азотних і фосфорних добрив при вирощуванні рослин, дали можливість знизити негативний ефект фунгіцидів на мікробіоценоз ризосфери за рахунок їх сумісного застосування з мікробними препаратами, а в деяких випадках – замінити

фунгіциди на біопрепарати, захистити рослини від стресу. Такі технології засновані на використанні мікробних препаратів на основі живих клітин мікроорганізмів, селекціонованих за корисними властивостями. В одиниці об'єму (1 мл або 1 г) мікробних препаратів міститься до 5 і більше млрд клітин мікроорганізмів, за рахунок чого внесені форми можуть успішно конкурувати з аборигенними і захоплювати екологічні ніші, надані рослинами [21]. До складу мікробних препаратів, крім живих бактерій, входять їхні біологічно-активні метаболіти з антифунгальними, бактерицидними та бактеріостатичними властивостями. Використання біопрепаратів дозволяє контролювати рівень шкодочинності фітопатогенів, суттєво підвищити ступінь реалізації генетичного потенціалу рослин, а також родючість ґрунту [10, 19, 23].

Особливе місце належить мікробним препаратам на основі симбіотичних азотфіксувальних бактерій, які у симбіозі з бобовими рослинами набувають здатності фіксувати атмосферний азот у доступній рослинам формі [10]. Ризобії, що входять до складу таких препаратів, здатні не тільки покращувати азотне живлення бобових, але й виступати регуляторами росту рослин завдяки здатності синтезувати широкий спектр біологічно-активних речовин – амінокислот, фітогормонів та ін. [5, 22].

В Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (ІМВ НАНУ) у відділі загальної та ґрунтової мікробіології розроблені мікробні інокулянти на основі високоефективних штамів ризобій [17, 18], які покращують живлення і розвиток бобових та підвищують їх продуктивність [10].

У наш час спостерігається значне збільшення чисельності фітопатогенних мікроміцетів у посівах сої, основними причинами чого є ввезення інфікованого посівного матеріалу з інших країн, недотримання сівозмін, порушення строків сівби [12]. Для контролю чисельності фітопатогенних грибів використовують фунгіциди. Після потрапляння у ґрунт з обробленого насіння, фунгіциди та/або продукти їх розпаду можуть порушувати діяльність нецільових ґрунтових, і, особливо, корисних ризосферних мікроорганізмів, що призводить до порушення біологічної рівноваги ґрунту [11, 15]. Проте сумісне застосування інокуляції і фунгіцидів досліджено недостатньо.

Метою нашої роботи було визначити особливості формування та функціонування симбіотичних систем і мікробіоценозу ризосфери сої за умов застосування фунгіцидів системної і контактної дії Максим Стар 025 FS, Кінто дуо та Вітавакс 200 ФФ з наступною інокуляцією насіння високоефективними штамми ризобій.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження симбіотичних систем та мікробіоценозу ризосферного ґрунту проводили на сої сорту Аннушка (ультраскоростиглий, з вегетаційним періодом 75–85 діб) селекції Наукової селекційно-насінницької фірми «Соевий вік». Рослини вирощували у посудинах об'ємом 1,5 л в умовах вегетаційного дослідження на темно-сірому опідзоленому ґрунті.

Насіння сої за добу до посіву обробляли одним з фунгіцидів системної та контактної дії: Максим Стар 025 FS – далі Максим Стар (діюча речовина – флудіоксоніл і ципроконазол, норма обробки 1 л/т насіння), Кінто дуо (діюча речовина – трітіконазол і прохлораз, норма обробки 1 л/т насіння)

або Вітавакс 200 ФФ – далі Вітавакс (діюча речовина – тирам і карбоксил, норма обробки 3 л/т насіння).

У день посіву насіння інокулювали високоактивними штамми ризобій *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 та УКМ В-6023 з колекції відділу загальної і ґрунтової мікробіології ІМВ НАНУ.

Попередньо у лабораторних умовах перевіряли високоактивні штамми ризобій на чутливість до досліджуваних фунгіцидів методом паперових дисків [20], з використанням концентрацій фунгіцидів, рекомендованих виробниками для обробки насіння.

Зразки ризосферного ґрунту відбирали за загальноприйнятою методикою [20] у період цвітіння – початку плодоношення сої та визначали кількість мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп (прототрофних, олігоазотрофних і фосфатмобілізувальних) методом посіву ґрунтової суспензії на агаризовані середовища [20].

Нітрогеназну активність бобово-ризобіального симбіозу визначали ацетиленовим методом [9] на газовому хроматографі «Хром-5» (Чехія).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Office Excel 2007.

Результати. За результатами вивчення чутливості ризобій до фунгіцидів у лабораторних умовах усі досліджувані штамми виявились стійкими до Кінто Дуо і Максим Стар. До дії Вітаваксу чутливими були штамми

Таблиця 1

Чутливість бактерій-біоагентів препаратів до фунгіциду Вітавакс 200 ФФ

Штами ризобій	Діаметр зон затримки росту, мм
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6035	14,5±1,5
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6018	25,7±1,6
<i>B. japonicum</i> УКМ В-6023	0

B. japonicum УКМ В-6035 та УКМ В-6018 – діаметр зон затримки росту газонів цих культур становив 14,5 та 25,7 мм відповідно (табл. 1).

Дослідження формування нодуляційного апарату показали, що у варіантах з бактеризацією насіння, в основному, формувався потужний нодуляційний апарат (рис. 1). Кількість бульбочок за інокуляції штамом *B. japonicum* УКМ В-6035 була у 2,5 рази, а штамом *B. japonicum* УКМ В-6023 – у 1,8 рази більшою за таку ж за спонтанної інокуляції. Фунгіциди не пригнічували процес бульбочкоутворення аборигенними ризобіями (крім Вітаваксу), а за обробки Кінто дуо кількість бульбочок зростала в 1,5 рази відносно варіанту без інокуляції та обробки фунгіцидами.

За умов комбінованого застосування Кінто дуо з інокуляцією спостерігали підсилення бульбочкоутворення штамом УКМ В-6023 у 1,3 рази порівняно з варіантом, де застосовували цей фунгіцид без інокуляції. Подібний ефект було отримано за комбінованого застосування Максим Стар зі штамом *B. japonicum* УКМ В-6035 – кількість бульбочок збільшувалась у 1,3 рази. Вітавакс пригнічував нодуляційний процес за всіх варіантів інокуляції у 1,5–2 рази.

Бактеризація всіма досліджуваними штамми обробленого Кінто дуо та Вітаваксом насіння сприяла нівелюванню негативного ефекту цих фун-

гіцидів на нодуляційний процес. При застосуванні фунгіциду Максим Стар подібний ефект спостерігали лише за інокуляції штамом *V. japonicum* УКМ В-6035.

Дослідження впливу пестицидів на загальну масу бульбочок (з 1 рослини) показало, що обробка насіння фунгіцидом Максим Стар за інокуляції штамми *V. japonicum* УКМ В-6035 та УКМ В-6018 сприяла утворенню бульбочок з більшою масою відносно варіантів тільки з інокуляцією. Аналогічна закономірність прослідковувалась за застосування фунгіциду Кінто дуо з наступною інокуляцією штамми *V. japonicum* УКМ В-6035 та УКМ В-6018, та Вітаваксу з наступною інокуляцією штамом *V. japonicum* УКМ В-6018.

Встановлено, що нітрогеназна активність бобово-ризобіального симбіозу збільшувалась за інокуляції досліджуваними ризобіями в 1,5–3,5 рази відносно контрольного варіанту (рис. 2). Найбільш високою активністю (до 1,1 мкмоль C_2H_4 /рослину за 1 год) характеризувалась симбіотична система, сформована за інокуляції *V. japonicum* УКМ В-6023.

За обробки насіння фунгіцидами Кінто дуо та Вітавакс азотфіксувальна активність зростала в 1,4 рази відносно контрольного варіанту, а за застосування Максим стар – знижувалась у стільки ж разів.

За комбінованого застосування Кінто дуо зі штамом *V. japonicum* УКМ В-6035 нітрогеназна активність залишалась на рівні варіанту з інокуляцією, а зі штамом *V. japonicum* УКМ В-6023 – збільшувалась у 1,7 рази відносно варіанту з інокуляцією цим штамом, проте за використання Кінто дуо у комбінації зі штамом *V. japonicum* УКМ В-6018 цей показник зменшувався.

За послідовної обробки насіння фунгіцидом Максим Стар та штамом *V. japonicum* УКМ В-6035 азотфіксувальна активність була такою ж, як і у варіанті з інокуляцією, але за використання штамів *V. japonicum* УКМ В-6018 та УКМ В-6023 вона знижувалась у 1,9 та 1,2 рази відповідно відносно варіантів з інокуляцією цими штамми.

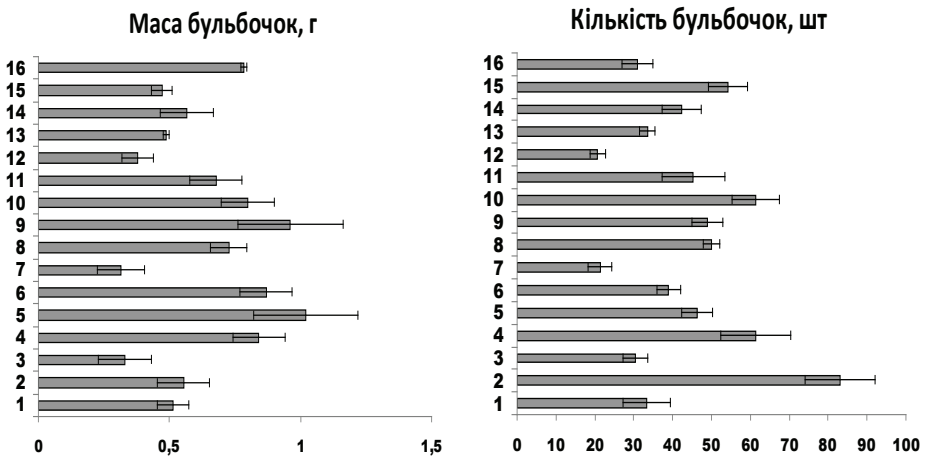


Рис. 1. Нодуляційна активність ризобій за умов обробки фунгіцидами

1 – контроль (обробка стерильною водою); 2, 3, 4 – інокуляція *V. japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 та УКМ В-6023 відповідно; 5, 6, 7 – обробка фунгіцидами Кінто дуо, Максим Стар та Вітавакс відповідно; 8, 9, 10 – обробка Кінто дуо з наступною інокуляцією *V. japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 та УКМ В-6023 відповідно; 11, 12, 13 – обробка Максим Стар з наступною інокуляцією цими ж штамми; 14, 15, 16 – обробка Вітаваксом з наступною інокуляцією

Вітавакс пригнічував азотфіксувальну активність промислових штамів у симбіозі, але сприяв підвищенню нітрогеназної активності бульбочок, утворених ендемними ризобіями.

Дослідженнями мікробіоценозу ризосферного ґрунту сої сорту Аннушка за бактеризації насіння встановлено, що розвиток олігоазотрофних і фосфатмобілізувальних мікроорганізмів стимулювався або залишався на рівні контрольного варіанту (рис. 3).

За використання фунгіцидів Кінто дуо і Максим Стар без інокуляції у ризосфері рослин чисельність мікроорганізмів у більшості випадків зменшувалась. У варіантах з обробкою насіння Вітаваксом спостерігали підвищення кількості олігоазотрофних та прототрофних мікроорганізмів порівняно з контролем. Встановлено також нівелювання негативного впливу Кінто дуо на олігоазотрофні мікроорганізми за умов інокуляції насіння досліджуваними штамми ризобій.

За інокуляції даними штамми негативна дія фунгіцидів на олігоазотрофні мікроорганізми, здебільшого, не проявлялась. Інгібувальний ефект фунгіциду Максим Стар на прототрофні мікроорганізми знімався за умов застосування всіх інокулянтів, а на фосфатмобілізувальні – за інокуляції

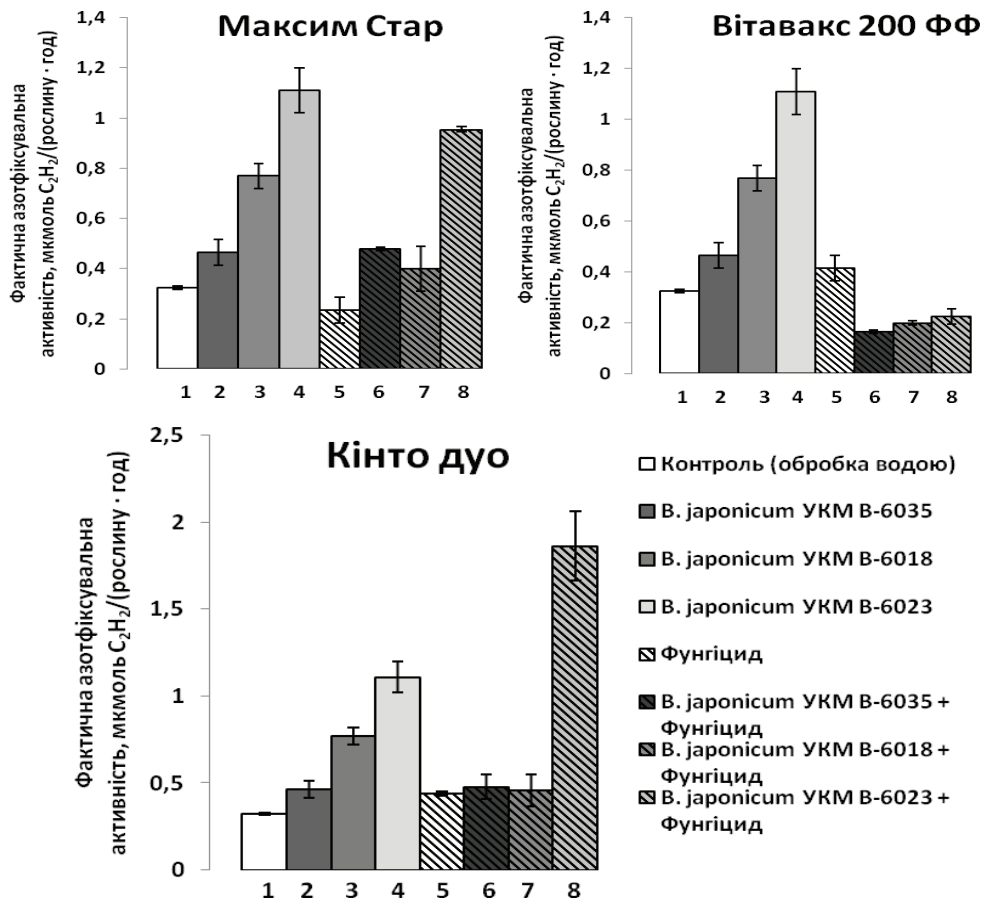


Рис. 2. Нітрогеназна активність симбіотичного апарату сої сорту Аннушка за обробки насіння фунгіцидами та різними інокулянтами

1 – контроль (обробка стерильною водою); 2, 3, 4 – інокуляція *V. japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 та УКМ В-6023 відповідно; 5 – обробка фунгіцидом; 6, 7, 8 – обробка фунгіцидом з наступною інокуляцією *V. japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 та УКМ В-6023 відповідно

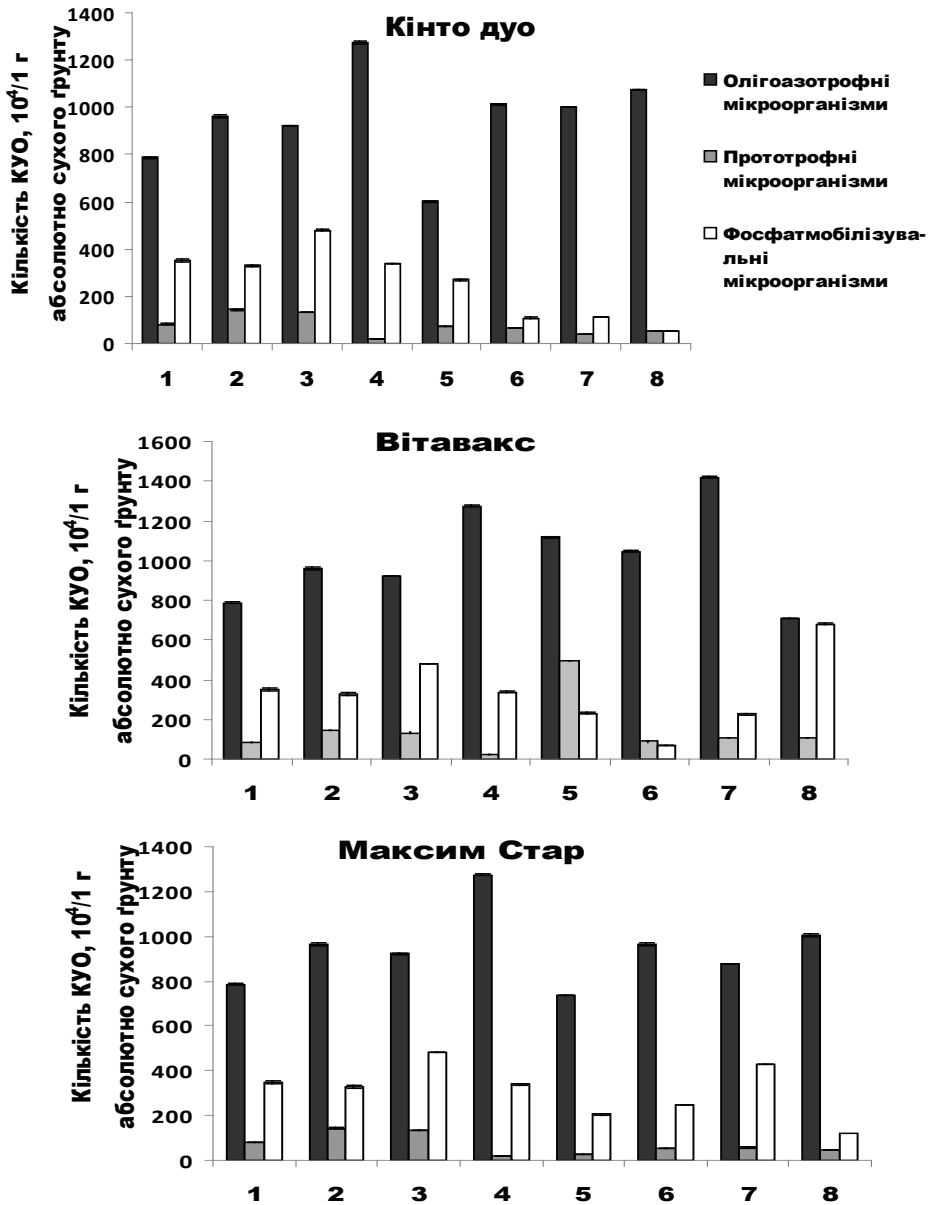


Рис. 3. Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп у ризосферному ґрунті сої сорту Аннушка за використання фунгіцидів та інокуляції (фаза цвітіння)

1 – контроль (обробка стерильною водою); 2, 3, 4 – інокуляція штамми *B. japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 та УКМ В-6023 відповідно; 5 – обробка фунгіцидом; 6, 7, 8 – обробка фунгіцидом + інокуляція штамми *B. japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 та УКМ В-6023 відповідно

штамами УКМ В-6035 та УКМ В-6018. За бактеризації насіння штамом УКМ В-6023 нівелювався негативний вплив фунгіциду Вітавакс на фосфатмобілізуювальні мікроорганізми.

Обговорення результатів. У сучасній літературі значна увага приділяється питанню впливу протруювачів насіння, зокрема фунгіцидів, на мікроорганізми-біоагенти мікробних препаратів.

Mishra G. et al. [13] досліджували чутливість бактерій *B. japonicum* до фунгіциду Вітавакс і до кожного його компоненту (тираму і карбоксилу). Результати експериментів показали, що бактерії *B. japonicum* були більш чутливими до Вітаваксу, ніж до тираму. За застосування тираму у концентрації 0,5 % чисельність ризобій знижувалась на 59,7 % щодо контролю, а при внесенні у середовище культивування карбоксилу в такій же концентрації – на 83,3 %. Вітавакс (як комплекс зазначених діючих речовин) знижував кількість *B. japonicum* на 80,6 %. Схожі результати отримані у роботі Ahmed M. et al. [1], де показано, що збільшення концентрації фунгіциду вело до зниження чисельності та зменшення діаметру колонії. За нашими результатами, до фунгіциду Вітавакс були чутливими штами *B. japonicum* УКМ В-6035 і УКМ В-6018.

У роботі Pudełko K. et al. [16] показано зниження нодуляційного процесу за обробки насіння сої фунгіцидом Фунабен Т (148 г/л карбендазин + 332 г/л тирам) з подальшою інокуляцією. Кількість бульбочок зменшувалась на 31,5 і 45,7 % у залежності від того, який штам використовували для інокуляції насіння – *B. japonicum* USDA 110 чи *B. japonicum* USDA 123 відповідно. Guene N.F.D. et al. [8] також звертають увагу на те, що вплив обробки насіння квасолі фунгіцидами на бульбочкоутворення залежить від штаму ризобій, яким інокульоване насіння. За бактеризації насіння штамом *Rhizobium etli* ISRA 353 відбувалось повне інгібування нодуляційного процесу, а за інокуляції штамом *Rhizobium etli* ISRA 554 негативного впливу не спостерігали. Схожі результати отримані у роботі Ahmead M. et al. [3]. Наші результати також показали, що за обробки насіння фунгіцидами з наступною інокуляцією різними штамми *B. japonicum* ефект був як позитивний, так і негативний. Збільшення кількості бульбочок спостерігали за застосування композицій Кінто дуо + *B. japonicum* УКМ В-6023 та Максим Стар + *B. japonicum* УКМ В-6035, негативний ефект відмічали за обробки насіння Вітаваксом з бактеризацією насіння досліджуваними штамми.

У дослідженнях Fox J.E. et al. [7] показано негативний вплив обробки насіння люцерни фунгіцидами на нітрогеназну активність. Дослідники використовували для обробки насіння хімічні засоби захисту рослин різних класів і перевіряли азотфіксувальну активність бульбочок протягом усього вегетаційного періоду. Як позитивний контроль використовували насіння люцерни, інокульоване штамом *S. meliloti* 1021. У всіх варіантах з протруєнням насіння нітрогеназна активність знижувалась у 1,5–2 рази.

На противагу цим результатам, у роботах Ahemad M. et al. [2] показано, що обробка тебуконазолом у рекомендованих дозах насіння сої, інокульованого 9-ма ізолятами *Bradyrhizobium*, сприяла підвищенню нітрогеназної активності симбіотичного апарату на 29 % відносно варіанту з інокуляцією. Також встановлено Vikrol A. et al. [4], що тирам, у концентраціях від 10 до 100 мкг/мл, сприяв підвищенню нітрогеназної активності бобово-ризобіального симбіозу, а подальше підвищення концентрацій – інгібувало азотфіксацію.

Отримані нами результати показали, що обробка фунгіцидами з подальшою бактеризацією насіння, в основному, знижувала азотфіксувальну активність симбіотичного апарату сої, утвореного дослідженими промисловими штамми ризобій. Проте є можливість підібрати такі композиції

фунгіциду і ризобій, за яких нітрогеназна активність підвищується.

Одним з механізмів негативного впливу фунгіцидів на бобово-ризобіальний симбіоз є інгібування продукування рослинами фітоестрогенів, які виступають атрактантами для ризобій, що має важливе значення для приваблювання симбіотичних бактерій. Fox J.E. et al. [7] перевірили, чи дійсно фунгіциди перешкоджають фітоестрогеновій сигнальній системі, яка регулює симбіоз бобових рослин і ризобій. Ними було виявлено, що 45 з 62 фунгіцидів інгібують флавоноїдний NodD рецептор, а також активацію генів бульбочкоутворення під час симбіотичного процесу. Інший шлях, яким фунгіциди опосередковано інгібують життєдіяльність ризобій – це зниження синтезу фітогормонів і сидерофорів [7].

З літературних даних [2, 4, 8] видно, що застосування для бактеризації насіння бобових штамів ризобій, не чутливих до фунгіцидів, не тільки стимулювало нодуляційний процес та азотфіксувальну активність, а й значно підвищувало урожайність бобових.

Важливим є також питання щодо впливу фунгіцидів на ґрунтові мікроорганізми і ризосферне угруповання [6, 13, 14]. У роботі Filimon M.N. et al. [6] показано, що обробка насіння фунгіцидами циперметрин і тіаметоксам негативно впливає як на аеробні (азотобактер) так і анаеробні (кlostридії) діазотрофи – їх кількість знижується майже у 2 рази. Відзначено [13] інгібувальний вплив фунгіциду Вітавакс на фосфатмобілізувальні мікроорганізми в залежності від його концентрації: зростання концентрації з 0,1 до 0,5 % призводило до зниження їх чисельності у 1,3–6,7 рази. У наших дослідженнях також виявлено негативний вплив обробки насіння Вітаваксом на фосфатмобілізувальні та позитивний – на прототрофні та олігоазотрофні мікроорганізми. У дослідженнях Mishra G. et al. [14] вивчали вплив фунгіцидів, у тому числі тираму та Вітаваксу, на загальну кількість бактерій у ґрунті та кількість азотфіксувальних і фосфатмобілізувальних бактерій. Ними встановлений стимулювальний ефект даних фунгіцидів як на загальну кількість бактерій, так і чисельність азотфіксувальних та фосфатмобілізувальних мікроорганізмів.

Висновки. Інокуляція насіння сої високоактивними штамми ризобій сприяла підвищенню азотфіксувальної активності бобово-ризобіального симбіозу та збільшенню чисельності олігоазотрофних, прототрофних і фосфатмобілізувальних мікроорганізмів у ризосфері рослин. Обробка насіння фунгіцидами, в основному, спричиняла зменшення кількості мікроорганізмів досліджуваних груп. За інокуляції протруєного насіння відбувалось нівелювання негативного ефекту фунгіцидів Максим Стар та Кінто дуо на олігоазотрофні і прототрофні мікроорганізми. Вітавакс, в основному, стимулював розвиток мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп, але пригнічував азотфіксувальну активність усіх промислових штамів інокулянтів. Фунгіцид Максим Стар у меншій мірі інгібував ці процеси, при цьому не спостерігали зменшення азотфіксувальної активності за інокуляції штамом *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035. Найвищою нодуляційною та азотфіксувальною активностями характеризувалась симбіотична система варіанту з комбінованим застосуванням Кінто дуо і штаму *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6023.

Результати лабораторного тестування штамів на їхню резистентність до фунгіцидів не завжди корелюють з їх ефективністю у бобово-ризо-

біальній системі за умов застосування хімічних засобів захисту рослин.

Результати лабораторного тестування штамів на їхню резистентність до фунгіцидів не завжди корелюють з їх ефективністю у бобово-ризобіальній системі за умов застосування хімічних засобів захисту рослин.

С.В. Вознюк¹, Л.В. Титова¹, О.В. Ратушинская², Г.А. Иутинская¹

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина

²Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко,
ННЦ «Институт биологии»,
просп. Академика Глушкова, 2, Киев, 03022, Украина

ФОРМИРОВАНИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМ И МИКРОБИОЦЕНОЗА РИЗОСФЕРЫ СОИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНГИЦИДОВ

Резюме

Актуальность. В посевах сои в последние годы возросло количество фитопатогенных грибов. Для борьбы с ними интенсивно используют фунгициды системного и контактного действия. После попадания в почву фунгициды и/или продукты их распада могут нарушать деятельность нецелевых объектов – полезных почвенных микроорганизмов, подавлять нодуляционный процесс и азотфиксирующую активность диазотрофов. Целью работы было исследовать влияние комбинированного применения фунгицидов и инокуляции на симбиотические системы сои и ризосферные микроорганизмы. **Методы.** Микробиологические и статистические методы, метод газовой хроматографии. **Результаты.** При инокуляции семян сои высокоактивными штаммами *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035, УКМ В-6018 и УКМ В-6023 повышалась азотфиксирующая активность симбиотических систем в 1,4–3,4 раза относительно контрольного варианта. Обработка семян фунгицидом Витавакс 200 ФФ приводила к снижению азотфиксирующей активности промышленных штаммов ризобий в симбиозе с соей в 3–5 раз. Инокуляция семян *B. japonicum* УКМ В-6035 способствовала уменьшению негативного влияния фунгицида Максим Стар 025 FS на нитрогеназную активность нодуляционного аппарата. Положительный эффект бактеризации наблюдали также в увеличении численности ризосферных микроорганизмов основных эколого-трофических групп. В вариантах с обработкой семян фунгицидами Максим Стар 025 FS и Кинто дуо установлено снижение количества микроорганизмов исследуемых групп относительно контрольного варианта, в то время как использование фунгицида Витавакс 200 ФФ способствовало улучшению развития этих микроорганизмов по сравнению с вариантом без обработки фунгицидами и бактеризации. При инокуляции семян промышленными штаммами ризобий наблюдали нивелирование негативного эффекта фунгицидов Максим Стар 025 FS и Кинто дуо на олигоазотрофные и прототрофные микроорганизмы. **Вывод.** Самой высокой нодуляционной и азотфиксирующей активностями характеризовалась симбиотическая система варианта с комбинированным использованием фунгицида Кинто дуо и штамма *B. japonicum* УКМ В-6023.

К л ю ч е в ы е с л о в а: фунгициды, инокуляция, соя, ризобии, симбиоз, нодуляционный процесс, азотфиксирующая активность, ризосфера, микробиоценоз.

S.V. Vozniuk¹, L.V. Tytova¹, O.V. Ratushinska², G.O. Iutynska¹

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
154 Acad. Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine

²Taras Shevchenko Kyiv National University, AC "Institute of Biology"
2 Acad. Hlushkov Ave., Kyiv, 03022, Ukraine

FORMATION AND FUNCTIONING OF SYMBIOTIC SYSTEMS AND RHIZOSPHERE MICROBIOCENOSIS OF SOYBEAN UNDER VARIOUS FUNGICIDES APPLICATION

Summary

The Relevance. At the recent years in soybean crops the quantity of plant pathogenic fungi has increased. The fungicides of systemic and contact action have been applied intensively against of them. After introducing into the soil fungicides and/or their degradation products can to disrupt the activities of non-target objects – beneficial soil microorganisms, inhibit nodulation process and the nitrogen-fixing activity of diazotrophs. The purpose of the work was to investigate the impact of combined application of fungicides with inoculation on the soybean symbiotic system and rhizosphere microorganisms.

The Methods. The microbiological and statistical methods, gas chromatography method.

The Results. Inoculation of seeds by the highly active *Bradyrhizobium japonicum* UCM B-6035, UCM B-6018 and UCM B-6023 strains the activity of nitrogen-fixing symbiotic systems increased by 1.4–3.4 times in comparison with the variant without of fungicides application and bacterization. Seed treatment by Vitavaks 200 FF fungicide caused a decrease of nitrogen-fixing activity of rhizobia industrial strains in symbiosis with soybean by 3–5 times. The seeds inoculation by *B. japonicum* UCM B-6035 strain promoted to reduce the negative impact of the Maxim Star 025 FS fungicide on the nitrogenase activity of nodulation apparatus. The positive effect of seeds bacterization was observed in the increase of the quantity of rhizosphere microorganisms of main ecological trophic groups. In the variant with seed treatment by Maxim Star 025 FS and Kinto duo fungicides was found a decrease in the number of microorganisms of studied groups in comparison with the control variant; the Vitavaks 200 FF fungicide application promoted to improve of these microorganisms development compared with the variant without the fungicides application and bacterization. At the inoculation of rhizobia industrial strains the negative effect of the Maxim Star 025 FS and Kinto duo fungicides to oligoazotrophic and prototrophic microorganisms was not observed. **The Conclusion.** The symbiotic system of variant with the combined application of the Kinto duo fungicide with *B. japonicum* UCM B-6023 strain characterized by the highest nodulation and nitrogen-fixing activity.

Key words: fungicides, inoculation, soybean, rhizobia, symbiosis, nodulation process, nitrogen-fixing activity, rhizosphere, microbiocenosis.

1. Ahmed M., Elesheikh E.A.E, Mahdi A.A. The in vitro compatibility of some *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* strains with fungicides // Afr. Crop Sci. Conf. Proc. – 2007. – Vol. 8. – P. 1171–1178.
2. Ahemad M., Khan M.S. Productivity of greengram in tebuconazole-stressed soil, by using a tolerant and plant growth-promoting *Bradyrhizobium* sp. MRM 6 strain // Acta Physiol Plant. – 2012. – Vol. 34. – P. 245–254.
3. Ahmead M., Khan M.S. Pesticides as antagonists of rhizobia and the legume-*rhizobium* symbiosis: a paradigmatic and mechanistic outlook // Biochemistry and Molecular

- Biology. – 2013. – Vol. 1, N 4. – P. 63–75.
4. *Bikrol A., Saxena N., Singh K.* Response of *Glycine max* in relation to nitrogen fixation as influenced by fungicide seed treatment // African J. Biotechnol. – 2005. – Vol. 4, N 7. – P. 667–671.
 5. *Dragovoz I.V., Leonova N.O., Biliavska L.O., Yavorska V.K., Iutynska G.O.* Phytohormone production by some free-living and symbiotic soil microorganisms // Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine. – 2010. – N 12. – P. 154–159.
 6. *Filimon M.N., Voia S.O., Popescu R., Dumitrescu G., Ciochina P.L., Mituletu M., Vlad D.C.* The effect of some insecticides on soil microorganisms based on enzymatic and bacteriological analyses // Romanian Biotechnological Letters. – 2015. – Vol. 20, N 3. – P. 10439–10447.
 7. *Fox J.E., Gullledge J., Engelhaupt E., Burow M.E., McLachlan J.A.* Pesticides reduce symbiotic efficiency of nitrogen-fixing rhizobia and host plants // PNAS. – 2007. – Vol. 104, N 24 – P. 10282–10287.
 8. *Guene N.F.D., Diouf A., Gueye M.* Nodulation and nitrogen fixation of field grown common bean (*Phaseolus vulgaris*) as influenced by fungicide seed treatment // Afr. J. Biotechnol. – 2003. – Vol. 2, N 7. – P. 198–201.
 9. *Hardy R.W., Burns R.C., Holsten R.D.* Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation / *R.W. Hardy*, // Soil. Biol. Biochem. – 1973. – Vol. 5, N 1. – P. 41–83.
 10. *Iutynska G.O., Tytova L.V., Leonova N.O., Antypchuk A.F., Brovko I.C.* Complex bacterial preparations // Bioregulation of microbial-plant system / Editors *G.O. Iutynska, S.P. Ponomarenko* – Kiev: Nichlava. – 2010. – P. 352–376.
 11. *Kaur C., Maini P., Shukla N.P.* Interaction studies of copper fungicides with biological environment of soil // Current World Environ. – 2007. – Vol. 2, N 1. – P. 89–92.
 12. *Medić-Pap S., Milošević M., Jasnić S.* Soybean seed-borne fungi in the Vojvodina province // Phytopathol. Pol. – 2007. – Vol. 45. – P. 55–65.
 13. *Mishra G., Kumar N., Giri K., Pandey S.* *In vitro* interaction between fungicides and beneficial plant growth promoting Rhizobacteria // Afr. J. Agric. Res. – 2013. – Vol. 8, N 45. – P. 5630–5633.
 14. *Mishra G., Kumar N., Giri K., Pandey S., Kumar R.* Effect of fungicides and bioagents on number of microorganisms in soil and yield of soybean (*Glycine max*) // Nusantara Bioscience. – 2014. – Vol. 6, N 1. – P. 45–48.
 15. *Monkiedje A., Ilori M.O., Spitteller M.* Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil // Soil Biol. Biochem. – 2002. – N 34. – P. 1939–1948.
 16. *Pudelko K., Mądrzak C.J.* Influence of fungicide Funaben T on nodulation of soybean (*Glycine Max* (L.) Merr.) in the field conditions // Journal of Plant Protection Research. – 2004. – Vol. 44, N 2. – P. 155–160.
 17. *Pat. 101388 UA, MPK C05F 11/00, C12P 39/00.* Complex microbial bioformulation Ekovital for the seeds legumes inoculation / Tytova L.V., Leonova N.O., Brovko I.C., Iutynska G.O. // Publ. 25.03.13. – Bul. N 6 (in Ukrainian).
 18. *Pat. 85089 UA, MPK C05F 11/08 C12N 1/20, C12R 1/01.* Inoculant for the increase of soybean productivity / Antypchuk A.F., Tytova L.V., Leonova N.O., Iutynska G.O. // Publ. 25.12.08. – Bul. N 24 (in Ukrainian).

19. *Salantur A., Ozturk A., Akten S.* Growth and yield response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to inoculation with rhizobacteria // *Plant Soil Environment*. – 2006. – V. 52, N 3. – P. 111–118.
20. *Tepper E. Z., Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I.* Workshop on microbiology: a textbook for high schools // М.: Drofa. – 2005. – 256 p.
21. *Tikhonovich I.A., Kojemyakov A.P., Chebotar V.K.* Biopreparations in agriculture (Methodology and practice of microorganisms application in plant growing and crop production) / Editor *I.A. Tikhonovich* – Moscow: Rosselkhozakademiia. – 2005. – 154 p. (In Russian).
22. *Tsavkelova E.A., Klimova S.Yu., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I.* Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2006. – T. 42, N 2. – P. 117–126.
23. *Volkogon V.V., Nadkernichna O.V., Kovalevska T.M.* Microbial preparations in agriculture: theory and practice / Editor *V.V. Volkogon* – Kyiv: Ahrarna nauka. – 2006. – 312 p. (In Ukrainian).

Отримано 05.02.2016