

УДК 631.847.211:633.34
© 2010

Д.В. Крутило,
Т.М. Ковалевська,
кандидати
біологічних наук
О.В. Надкернична,
доктор
біологічних наук
Інститут
сільськогосподарської
мікробіології УААН
С.І. Колісник,
кандидат сільсько-
господарських наук
М.О. Балан
Інститут кормів УААН

ШТАМ BRADYRHIZOBIUM JARONICUM 46 ЯК ОСНОВА ЕФЕКТИВНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ СОЇ

**Отримано високоефективний штам
Bradyrhizobium jaronicum 46, який
запропоновано використовувати як біоагент
ризобіофіту та нового комплексного препарату
ризогуміну. Застосування штаму V. jaronicum 46
у складі цих препаратів сприяє збільшенню
врожаю зерна сої порівняно до виробничого
штаму V. jaronicum 6346 на 0,31–0,75 т/га.**

У багатьох країнах світу гостро стоїть питання щодо скорочення виробництва мінеральних добрив, зокрема азотних і фосфорних. Їхню нестачу для мінерального живлення культурних рослин пропонують компенсувати за рахунок використання біопрепаратів на основі мікроорганізмів з відповідною функцією (азотфіксування або фосфатмобілізація). Так, у США, Канаді, Франції до 70–80% зернових і зернобобових культур вирощують з інокуляцією азотфіксувальними мікроорганізмами і завдяки цьому на 25–40% скорочують застосування дорогих і екологічно небезпечних мінеральних азотних добрив [2, 3, 8].

Найбільш поширеною і вигідною білково-олійною культурою світового землеробства є соя (*Glycine max* (L.) Merr.). Упродовж останнього десятиріччя площі посівів сої в Україні зросли майже в 20 разів і планується збільшити обсяги її виробництва до 1 млн га [1, 9].

Багатьма дослідниками доведено, що в регіонах інтенсивного вирощування сої із застосуванням біопрепаратів на основі бульбочкових бактерій у ґрунті формуються численні популяції ризобій. Проте широке використання пестицидів і мінеральних добрив призводить до зниження активності місцевих бульбочкових бактерій. Втрачаючи здатність до фіксації молекулярного азоту повітря, ці мікроорганізми перешкоджають повноцінному симбіозу інтродукованих штамів з рослиною, в результаті чого застосування біопрепаратів може виявитися неефективним [7, 10]. Тому пошук нових високоефективних і конкурентоспроможних штамів ризобій сої — потенційних агентів мікробних препаратів залишається нагальною проблемою сьогорядення.

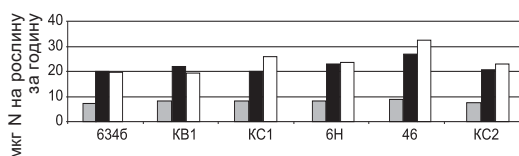
Мета роботи — оцінити симбіотичні властивості перспективних штамів бульбочкових бак-

терій сої та запропонувати виробництву високоефективний конкурентоспроможний штам *V. jaronicum* для удосконалення існуючих і створення нових мікробних препаратів.

Матеріали та методи. Симбіотичні властивості штамів ризобій сої, виділених з ґрунтів різних регіонів України, вивчали в серії польових і виробничих дослідів.

Польові досліді проводили впродовж 2006–2008 рр. в умовах Полісся України (дослідна ділянка Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, м. Чернігів) на дерново-підзолистому супіщаному ґрунті (2006, 2007 рр.) (рН — 6,47; уміст гумусу 0,8–1,1%; азоту, що легко гідролізується, (за Тюрнімом і Коновою) — 56–57 мг; P₂O₅ — 160–170 мг і K₂O (за Кирсановим) — 100–110 мг на 1 кг ґрунту) та на чорноземі вилугуваному (2008 р.) (рН_{сол} — 6; уміст гумусу — 3,5 %; азоту, що легко гідролізується (за Корнфільдом) — 95 мг; рухомих форм фосфору (P₂O₅) (за Кирсановим) — 251 мг; обмінного калію (K₂O) (за Кирсановим) — 108 мг на 1 кг ґрунту). У 2006 р. дослід проводили на ділянці, у ґрунті якої наявна численна місцева популяція ризобій сої (8000 клітин в 1 г ґрунту), а у 2007, 2008 рр. — на полях без специфічних бульбочкових бактерій. Використовували насіння сої сорту Устя. Повторність — 4-разова. Площа облікової ділянки — 6 м². Розміщення ділянок рендомізоване.

Виробничі досліді проводили в центральному Лісостепу України (дослідне господарство «Бохоницьке» Інституту кормів УААН, м. Вінниця) на сірому лісовому ґрунті (рН сольове — 4,9–5,3; уміст гумусу (за Тюрнімом) — 1,8–2,1%; азоту, що легко гідролізується (за Корнфільдом) — 72–90 мг; P₂O₅ — 100–120 мг і K₂O (за Чириковим) — 130–140 мг на 1 кг ґрунту). Оцінювали ефективність штаму *V. jaronicum* 46



Активність симбіотичної азотфіксації сої за інокуляції новими штамми *B. japonicum* (польові дослідження, середнє за 2006–2008 рр.):
■ – бутонізація; ■ – цвітіння; □ – налив бобів

як біоагента ризобію (ТУУ 319.00494456-006—2002) і нового комплексного біопрепарату ризогуміну (ТУУ 24.1-00497360-003—2007). Крім бульбочкових бактерій, до складу ризогуміну входять компоненти вермикомпосту: регулятори росту рослин, гумінові кислоти, амінокислоти, вітаміни, невелика кількість макроелементів і мікроелементи в хелатованому вигляді. В досліді використовували насіння сої сортів Артеміда та Феміда. Площа виробничої перевірки — 3—7,5 га.

Активність симбіотичної азотфіксації визначали ацетиленовим методом на газовому хроматографі «Chrom-4». Математичну обробку отриманих даних здійснювали за методикою Б.О. Доспехова [4] та застосовували комп'ютерну програму Statistica 6.0.

Результати досліджень. Взаємовідносини із соєю 5-ти найкращих, за результатами вегетаційних дослідів, штамів (*B. japonicum* 6H, 46, KB1, KC1, KC2) вивчали в польових умовах у зоні Полісся України.

Усі досліджувані штамми активно інфікували кореневу систему як за відсутності у ґрунті бульбочкових бактерій сої, так і на фоні численної місцевої популяції ризобій. Найбільший приріст кількості бульбочок та їхньої маси виявлено за інокуляції штамми *B. japonicum* 46, 6H і KC2.

Відомо, що потенційні можливості симбіотичних систем «макро-мікросимбіонт» оцінюють не стільки за кількістю і масою корневих бульбочок, скільки за їхньою нітрогеназною ак-

тивністю. Кращим азотфіксатором протягом трьох років виявився штам *B. japonicum* 46 (рисунки). У фазах цвітіння і наливу бобів кількість фіксованого азоту за інокуляції цим штамом була у 1,4—1,6 раза більшою порівняно з виробничим штамом 6346.

Виявлено також позитивний вплив досліджуваних штамів на фотосинтетичний апарат сої. Так, за інокуляції штамми *B. japonicum* KC2, KB1, 6H і 46 сума хлорофілів *a* і *b* була на 14,9—25,4% більшою, ніж за обробки виробничим штамом *B. japonicum* 6346.

Інтегральним показником, який свідчить про ефективність бактеризації насіння, є отриманий урожай. Виявлено стабільний за роками достовірний приріст урожайності сої за використання штамів *B. japonicum* 46, 6H і KC2 (табл. 1). Урожайність зерна в середньому за 3 роки збільшувалася, відповідно, на 19,4; 10,6 та 14,1% порівняно до штаму *B. japonicum* 6346. Кращим за всіма симбіотичними показниками виявився штам *B. japonicum* 46, який забезпечував істотний приріст урожайності як за відсутності у ґрунті специфічних бульбочкових бактерій (0,75 т/га), так і на фоні численної місцевої популяції ризобій сої (0,48 т/га).

Крім зазначеного позитивного впливу на симбіотичні показники, штам *B. japonicum* 46 сприяє підвищенню стійкості рослин до збудників хвороб, що є важливим складником отримання високих урожаїв [5]. Він значно стримує розвиток бактеріозів сої та пероноспорозу, ефективність його дії може сягати 70%.

Отже, новий штам *B. japonicum* 46 є активним симбіотичним азотфіксатором, спроможним витримувати конкуренцію з місцевими популяціями бульбочкових бактерій та колонізувати кореневу систему сої. Він здатний інтенсифікувати процес хлоропластогенезу, підвищувати стійкість рослин до бактеріальних і грибних хвороб. Сукупність усіх властивостей зумовлює вищу ефективність цього штаму порівняно з існуючим виробничим штамом *B. japonicum* 6346.

1. Вплив інокуляції на насіннєву продуктивність сої сорту Устя (польові дослідження 2006–2008 рр.)

Варіант дослідження	Урожайність, т/га				Приріст урожаю, %	
	2006 р.	2007 р.	2008 р.	Середнє	до контролю	до штаму 6346
Без інокуляції (контроль)	3,03	2,25	2,22	2,50	–	–
Інокуляція <i>B. japonicum</i> :						
6346	3,17	3,63	2,81	3,20	28,0	–
KB1	3,23	3,75	2,99	3,32	32,8	3,8
KC1	3,28	3,76	2,97	3,34	33,6	4,4
6H	3,55	3,98	3,08	3,54	41,6	10,6
46	3,65	4,38	3,42	3,82	52,8	19,4
KC2	3,57	4,11	3,26	3,65	46,0	14,1
HIP ₀₅	0,18	0,28	0,42			

2. Вплив інокуляції ризогуміном на продуктивність сої сорту Артеміда (виробничий дослід, Інститут кормів, 2006 р.)

Варіант досліді	Урожайність, т/га	Приріст урожаю	
		т/га	%
Інокуляція <i>B. japonicum</i> :			
6346	1,57	—	—
46	2,03	0,46	29,3

3. Вплив інокуляції ризобіотом на продуктивність сої сорту Феміда (виробничий дослід, Інститут кормів, 2008 р.)

Варіант досліді	Урожайність, т/га	Приріст урожаю	
		т/га	%
Без інокуляції (контроль)	2,24	—	—
Інокуляція <i>B. japonicum</i> 46	2,62	0,38	17,0

Важливою умовою впровадження штаму у виробництво є перевірка його в існуючих технологіях вирощування бобової культури на фоні численних популяцій специфічних мікроорганізмів.

Ефективність штаму *B. japonicum* 46 у складі 2-х принципово різних біопрепаратів ризобіоту та ризогуміну вивчали у виробничих дос-

лідах у ґрунтово-кліматичних умовах центрального Лісостепу України.

За наявності у ґрунті численних популяцій ризобій сої (17000—25000 клітин в 1 г ґрунту) штам *B. japonicum* 46 сприяв збільшенню врожайності зерна сої на 17—29,3% порівняно з контролем і виробничим штамом *B. japonicum* 6346 (табл. 2, 3).

Висновки

Методом аналітичної селекції нами отримано високоефективний конкурентоспроможний штам бульбочковий бактерій сої *B. japonicum* 46 [6]. Запропоновано використовувати цей штам як біоагент 2-х препаратів для сої — ризогуміну та ризобіоту. Застосовуван-

ня біопрепаратів на основі штаму *B. japonicum* 46 у різних ґрунтово-кліматичних умовах на фоні численних місцевих популяцій ризобій сприяє стабільному збільшенню урожайності сої порівняно до стандартного штаму *B. japonicum* 6346 на 0,31—0,75 т/га.

Бібліографія

1. Бабич А.О. Сучасне виробництво і використання сої. — К.: Урожай, 1993. — 432 с.
2. Базилінська М.В. Исследования по проблеме биологической фиксации азота в Канаде//С.-х. пр-во и наука. — 1986. — № 1. — С. 21. (Обзор информ. Сер. 1. Экономика, земледелие и растениеводство).
3. Берестецкий О.А. Биологические факторы повышения плодородия почв//Вестн. с.-х. науки. — 1986. — № 3. — С. 84—89.
4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Агропромиздат, 1985. — 352 с.
5. Ковалевська Т.М. Роль *Bradyrhizobium japonicum* у підвищенні стійкості сої проти бактеріозів//Т.М. Ковалевська, Л.Г. Жмурко, О.В. Надкернична, Д.В. Крутило, С.В. Поліщук/ Агроекологіч. журн. — 2008. — Спецвипуск. — С. 102—105.
6. Пат. 85943 Україна, МПК С 12 N 1/20, С 05 F 11/08. Штам бактерій *Bradyrhizobium japonicum* для одержання бактеріального добрива під сою//Т.М. Ковалевська, О.В. Надкернична,

- Д.В. Крутило, В.П. Горбань; заявник та патенто-власник Ін-т с.-г. мікробіології УААН. — № а 2007 07156; заявл. 25.06.07; опубл. 10.03.09, Бюл. № 5. — 4 с.
7. Патица В.П. Вплив аборигенних популяцій бульбочкових бактерій сої на симбіотичну активність інтродукованого штаму *Bradyrhizobium japonicum* 6346//В.П. Патица, Д.В. Крутило, Т.М. Ковалевська//Мікробіол. журн. — 2004. — 66, № 3. — С. 14—21.
8. Симбіотическая азотфиксация и пути ее повышения//Отв. ред. М.В. Кауш. — Кишинев: Штиница, 1992. — 148 с.
9. Січкач В.І. Стратегія селекції сої на покращення харчових якостей насіння//Селекція і насінництво. — Харків: Магда LTD, 2005. — Вип. 90. — С. 22—34.
10. Толкачев Н.З. Потенциальные возможности симбиотической азотфиксации при выращивании сои на юге Украины//Мікробіол. журн. — 1997. — 59, № 4. — С. 34—41.