УДК 579:631.461:57.083.13

© 2015

ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОЇ БАКТЕРИЗАЦІЇ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ СОЇ

С.Ф. Козар,
кандидат сільськогосподарських наук
Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН

Мета. ***Вивчити вплив передпосівної бактеризації насіння діазотрофами Bradyrhizobium japonicum і Azospirillum brasilense на ефективність симбіозу бульбочкових бактерій з рослинами і продуктивність сої.*** **Методи.** ***Польовий, лабораторний, статистичний.*** **Результати.** ***Показано, що комплексна передпосівна бактеризація насіння сої сприяє збільшенню кількості та маси бульбочок, підвищенню активності азотфіксації в кореневій зоні рослин. Із застосуванням змішаних культур діазотрофів урожайність сої підвищується на 0,23 – 0,41 т/га, або 9 – 16 % порівняно з інокуляцією чистою культурою бульбочкових бактерій.*** **Висновки.** ***Установлено доцільність використання інокулянта на основі змішаних культур мікроорганізмів B. japonicum і A. brasilense у технології вирощування сої.***

Ключові слова: *азоспірили, бульбочкові бактерії, змішані бактеріальні культури, соя, урожайність.*

Нині актуальними є питання, пов'язані з використанням різних видів азотфіксувальних бактерій для підвищення продуктивності сільськогосподарських культур [2, 8, 9]. Оскільки в ґрунтах України здебільшого немає аборигенних популяцій бульбочкових бактерій сої, застосування бактеризації здатне підвищити врожайність цієї культури до 50% і більше [3].

Використання мікробних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур сприяє підвищенню якості рослинницької продукції. Крім того, із застосуванням бактеризації зменшується ураженість рослин хворобами через те, що екологічну нішу займають корисні мікроорганізми, які безпосередньо стримують розвиток патогенів і сприяють підвищенню імунного стану рослин.

Одним із перспективних напрямів створення нових високоефективних біопрепаратів є використання як їх діючої основи змішаних культур діазотрофів. За результатами попередніх досліджень та даними інших авторів [12 – 14], перспективним є створення препаратів для сої, які б містили бульбочкові бактерії *Bradyrhizobium japonicum* та асоціативні діазотрофи *Azospirillum brasilense.* Комплексна передпосівна бактеризація насіння цими мікроорганізмами може підвищувати порівняно з використанням чистих культур ризобій ростову і функціональну активності симбіотичних діазотрофів.

З огляду на зазначене вище актуальними є дослідження ефективності комплексної інокуляції насіння сої бульбочковими бактеріями та азоспірилами.

Мета досліджень — вивчити вплив передпосівної бактеризації насіння діазотрофами *B. japonicum* і *A. brasilense* на ефективність симбіозу бульбочкових бактерій з рослинами і продуктивність сої.

Матеріали і методи досліджень. Об'єкти досліджень: *B. japonicum* М-8 [10], *A. brasilense* 18-2 [1], *A. brasilense* 410 [11]. Усі мікроорганізми отримані з колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН.

Культивування бактерій здійснювали в посудинах об'ємом 500 см^3 на качалці з частотою 240 об./хв за температури (28±2)°С. Використовували оптимізоване поживне середовище для поєднаного культивування *B. japonicum* і *A. brasilense* [11, 12]. Посівний матеріал *B. japonicum* і *A. brasilense* вносили у співвідношенні 1:1. Тривалість культивування — 72 год.

Посівну культуру *Azospirillum brasilense* вирощували в умовах періодичного культивування на мікробіологічній качалці з частотою 220 об./хв за температури 28°С. Використовували таке поживне середовище (г/дм^3):

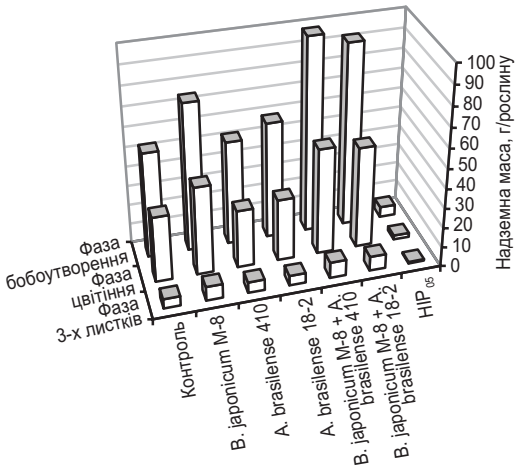

Рис. 1. Вплив передпосівної бактеризації на надземну масу рослин сої сорту Легенда

кукурудзяний екстракт — 30; меляса — 30; $(NH_4)_2SO_4$ — 0,10; KH_2PO_4 — 0,25; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ — 0,25; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,20; $CaCO_3$ — 0,30. Бактерії роду *Bradyrhizobium* культивували за тих самих умов у рідкому поживному середовищі такого складу (г/дм^3): відвар насіння гороху — 100; глюкоза — 10; сахароза — 5; $(NH_4)_2SO_4$ — 1,0; KH_2PO_4 — 0,5; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ — 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,2; $CaCO_3$ — 0,3.

Чисельність мікроорганізмів у бактеріальній суспензії визначали чашковим методом [5].

Вплив *B. japonicum* і *A. brasilense*, культивованих у чистих і змішаних культурах, перевіряли в польовому досліді із соєю сорту Легенда на лучно-чорноземному ґрунті. Планування і проведення польових дослідів, облік урожаю та статистичну обробку одержаних даних проведено згідно із загальноприйнятими методиками [4].

Схема польових дослідів: без бактеризації (контроль); передпосівна бактеризація насіння сої *Bradyrhizobium japonicum* М-8; передпосівна бактеризація *Azospirillum brasilense* 410; передпосівна бактеризація *Azospirillum brasilense* 18-2; передпосівна бактеризація *Bradyrhizobium japonicum* М-8 і *Azospirillum brasilense* 410; передпосівна бактеризація *Bradyrhizobium japonicum* М-8 і *Azospirillum brasilense* 18-2.

Активність азотфіксації в бульбочках сої визначено ацетиленовим методом на газовому хроматографі Chrom — 4 з полум'яно-іонізаційним детектором на колонці з β–β-оксидипропіонітрилом [5].

Результати досліджень. У ризосфері рослин, як правило, розвиваються бактерії (зокрема діазотрофи), які належать до різних видів. Слід відзначити специфічність взаємодії азотфіксувальних мікроорганізмів між собою, що може виявлятися у позитивному і негативному впливах один на одного. Це позначається на ефективності застосування бактеризації під час вирощування сільськогосподарських культур, зокрема сої.

Установлено, що в усіх фазах розвитку найбільшою надземна маса рослин сої була у варіантах з передпосівною комплексною бактеризацією насіння. Найвищі показники відзначено у варіанті з поєднаним застосуванням бульбочкових бактерій і штаму *A. brasilense* 410 (рис. 1): у фазах 3-х листків цей показник перевищував варіант з *B. japonicum* М-8 на 12,7%, цвітіння — 20,6, бобоутворення — на 31,5%.

Бульбочки на коренях рослин сої утворилися лише у варіантах з передпосівною бактеризацією насіння *B. japonicum* М-8 у чистій культурі і поєднанні з азоспірилами (рис. 2).

Слід зазначити, що найефективнішою виявилася передпосівна бактеризація бульбочковими бактеріями разом з *A. brasilense* 410. Так, кількість бульбочок у цьому варіанті перевищувала досліджуваний показник у рослин, бактеризованих *B. japonicum* М-8, у фазах 3-х листків — на 83%, цвітіння — 23,3, бобоутворення — на 40,7%.

Маса бульбочок, утворених на коренях сої, була вищою за використання бульбочкових

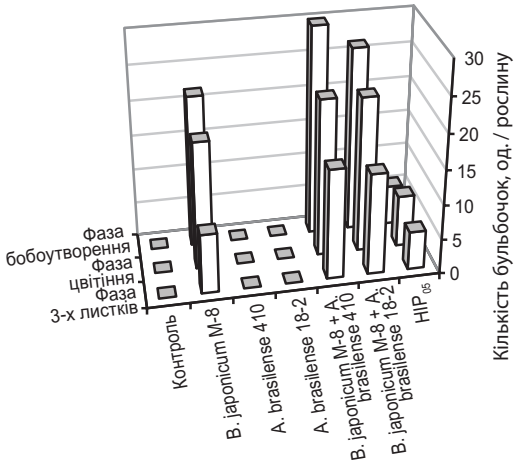

Рис. 2. Вплив передпосівної бактеризації на кількість бульбочок на кореневій системі рослин сої сорту Легенда

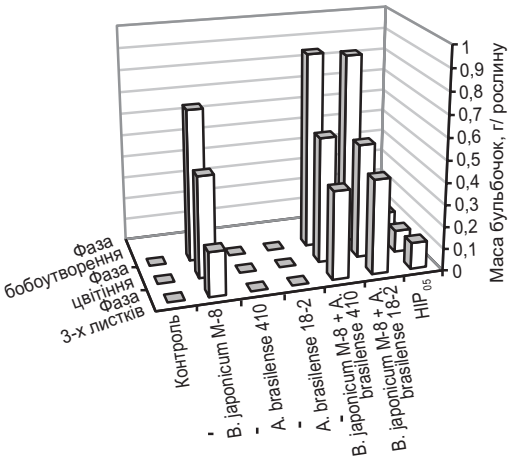

Рис. 3. Вплив передпосівної бактеризації на масу бульбочок на кореневій системі рослин сої сорту Легенда

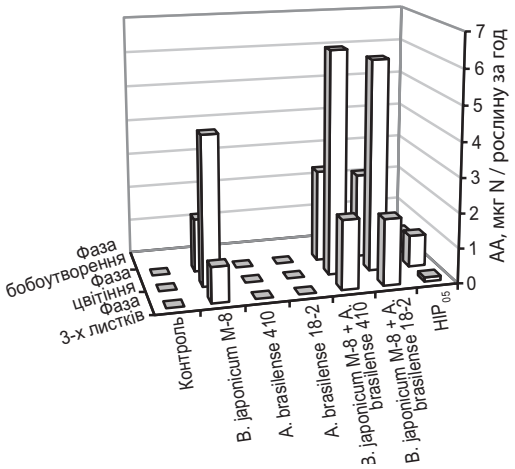

Рис. 4. Вплив передпосівної бактеризації на азотфіксувальну активність бульбочок сої

бактерій, культивованих разом із *A. brasilense* 410 і *A. brasilense* 18-2 (рис. 3). Така закономірність простежувалася впродовж усього вегетаційного періоду рослин у всі роки досліджень. До того ж у варіантах з комплексною бактеризацією маса і кількість бульбочок були істотно вищими порівняно з варіантом, де здійснювали передпосівну інокуляцію насіння сої чистою культурою ризобій.

У фазах 3-х листків маса бульбочок у варіантах з поєднанням бульбочкових бактерій з *A. brasilense* 410 і *A. brasilense* 18-2 була відповідно вищою на 100 і 115%, цвітіння — на 24 і 13%, бобоутворення — на 30 і 26%. Отримані дані свідчать про позитивний вплив азоспірил на розвиток симбіотичного апарату сої, що також підтверджується показниками активності азотфіксації ризобій у симбіозі з рослинами сої.

Під час дослідження впливу передпосівної бактеризації на азотфіксувальну активність (АА)бульбочкових бактерій сої установлено її зростання в усіх фазах розвитку рослин у варіантах з *B. japonicum* М-8 у чистій культурі і поєднанні зі штамами азоспірил (рис. 4). Найвища активність була у варіанті з поєднаною бактеризацією *B. japonicum* і *A. brasilense* у фазі цвітіння — 6,06–6,38 мкг N на рослину/год, що на 42–49% вище за показники у варіанті з ризобіями. Отримані дані можна пояснити здатністю азоспірил продукувати фізіологічно активні сполуки, які впливають на ефективність рослинно-мікробного симбіозу.

Інтегральним показником, який визначає ефективність певного способу, є врожайність сільськогосподарських культур. Дослідження

Вплив передпосівної бактеризації на врожайність зерна сої сорту Легенда (польовий дослід 2011–2013 рр.)

Варіант досліду	Урожайність, т/га				Приріст урожайності	
	2011	2012	2013	Середня	т/га	%
Без бактеризації (контроль)	2,23	2,33	1,67	2,08	–	–
Бактеризація *B. japonicum* М-8	2,61	2,87	2,17	2,55	0,47	22,6
Бактеризація *A. brasilense* 410	2,29	2,23	1,87	2,13	0,05	2,4
Бактеризація *A. brasilense* 18-2	2,25	2,22	1,70	2,06	–	–
Бактеризація *B. japonicum* М-8 і *A. brasilense* 410	3,06	3,18	2,63	2,96	0,88	42,3
Бактеризація *B. japonicum* М-8 і *A. brasilense* 18-2	2,94	3,10	2,30	2,78	0,70	33,7
HIP_{05}	0,36	0,16	0,21			

продуктивності сої за передпосівної обробки насіння бульбочковими бактеріями та азоспірилами підтвердили високу ефективність комплексної бактеризації.

У 2011–2013 рр. середня врожайність зерна сої у варіанті з *B. japonicum* М-8 і *A. brasilense* 410 становила 2,96 т/га, що на 16% вище, ніж у варіанті з інокуляцією чистою культурою бульбочкових бактерій, у варіанті з *B. japonicum* М-8 і *A. brasilense* 18-2 — 2,78 т/га, що на 9% вище, ніж у варіанті з чистою культурою ризобій (таблиця).

Висновки

Дослідженнями встановлено, що комплексна передпосівна бактеризація насіння сої бульбочковими бактеріями та азоспірилами сприяє збільшенню кількості бульбочок на кореневій системі рослин на 22–83%, підвищенню маси бульбочок на 13–115 та активності азотфіксації на 42–96%. Виявлено зростання маси рослин сої в усіх фазах розвитку за дії бактеризації ризобіями та азоспірилами. Урожайність зерна сої у варіантах зі змішаними культурами зростає на 0,23–0,41 т/га, або 9–16% порівняно з інокуляцією чистою культурою бульбочкових бактерій.

Результати досліджень підтверджують доцільність використання інокулянта на основі змішаних культур мікроорганізмів B. japonicum і A. brasilense у технологіях вирощування сої.

Бібліографія

1. *А.с.*1796603 СССР, МКИ С05F11/08, С12 № 1/12 Штамм бактерий *Azospirillum brasilense* для производства бактериального удобрения под кострец безостый/ В.В. Волкогон, Н.Н. Мальцева, Л.И. Онищенко, В.Г. Миняйло, Т.В. Харченко, С.В. Лемешко, Е.Н. Шевчук; опубл. 23.02.93. Бюл. № 7.

2. *Біологічний* азот/[В. П. Патика, С. Я. Коць, 01В. В. Волкогон та ін.]; за ред. В.П. Патики. — К.: Світ, 2003. — 424 с.

3. *Волкогон В.В.* Біологічна меліорація ґрунтів. Традиційне і нове/В.В. Волкогон//Сільськогосподарська мікробіологія: міжвід. тем. наук. зб. — 2011. — Вип. 13. — С. 7–22.

4. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта/ Б.А. Доспехов. — М.: Колос, 1985. — 376 с.

5. *Експериментальна* ґрунтова мікробіологія/ [В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, С.Ф. Козар та ін.]; за ред. В.В. Волкогона. — К.: Аграр. наука, 2010. — 464 с.

6. *Козар С.Ф.* Вплив джерел біогенних елементів на ріст *Bradyrhizobium japonicum* і *Azospirillum brasilense* за їх сумісного культивування/С.Ф. Козар// Сільськогосподарська мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб. — Чернігів: Сівер-Друк, 2013. — Вип. 18. — С. 75–86.

7. *Козар С.Ф.* Оптимізація середовища для сумісного культивування *Bradyrhizobium japonicum* і *Azospirillum brasilense*/С.Ф. Козар//Там само. — Чернігів: Сівер-Друк, 2014. — Вип. 19. — С. 27–32.

8. *Методологія* і практика використання мікробних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур/[В.В. Волкогон, А.С. Заришняк, І.В. Гриник та ін.]. — К.: Аграр. наука, 2011. — 156 с.

9. *Мікробні* препарати в землеробстві. Теорія і практика/[В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська та ін.]. — К.: Аграр. наука, 2006. — 312 с.

10. *Пат.* 39545 А Україна МПК6 С12N 1/20, С12R 1/41, С05F 11/08, А01N 63/00, А01P 21/00, А01С 1/06. Штам бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* М-8 kirchner, який використовують для приготування бактеріального препарату, що підвищує урожайність сої/М.З. Толкачов, В.П. Патика, І.О. Каменєва, Л.Ю. Грітчіна; заявн. і патентовласн. Південний філіал Інституту сільськогосподарської мікробіології Української академії аграрних наук. — № 2000105680; заявл. 06.10.2000; опубл. 15.06.2001. Бюл. № 5.

11. *Пат.* 40542 Україна МПК С05F11/08, С12 № 1/20 Штам бактерій Azospirillum brasilense для виробництва бактеріального добрива під гречку/ В.І. Лохова, О.В. Надкернична; заявн. і патентовл. Український НДІ сільськогосподарської мікробіології УААН. — № 4323845/SU; заявл. 02.11.1987; опубл. 16.07.2001. Бюл. № 6.

12. *Benintende* S. Comparacion entre coinoculacion con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense* e inoculación simple con *Bradyrhizobium japonicum* en la nodulación, crecimiento y acumulacion de N en el cultivo de soja/S. Benintende, W. Uhrich, M. Herrera et al.//AgriScientia. — 2010. — V. 27, № 2. — P. 71–77.

13. *Galal Y.G.M.* Dual inoculation with strains of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum brasilense* to improve growth and biological nitrogen fixation of soybean (*Glycine max L.*)/*Y.G.M. Galal*//Biology and Fertility of Soils. — 1997. — V. 24, № 3. — P. 317–322.

14. *Thi Thi Aung.* Enhanced soybean biomass by co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and plant growth promoting rhizobacteria and its effects on microbial community structures/T. Aung, B. Buranabanyat, P. Piromyou et al.//Afr. J. Microbiol. Res. — 2013. — V. 7(29). — P. 3858–3873.

Надійшла 02.09.2014.