

УДК 635.652:631.559:631.461
© 2015

Ю.М. ШКАТУЛА,
кандидат сільськогосподарських
наук

Л.С. КРАЄВСЬКА,
аспірантка

Вінницький національний
аграрний університет, Україна
E-mail: liubasha91@gmail.com

м. Вінниця, вул. Сонячна, 3

ЕФЕКТИВНІСТЬ СІМБІОТИЧНОЇ АЗОТФІКСАЦІЇ В АГРОЦЕНОЗАХ КВАСОЛІ

*Викладено результати досліджень впливу факторів передпосівної інокуляції насіння кvasолі виробничими та новими штамами бульбочкових бактерій, їх активності на процес формування симбіотичного апарату. Найбільш високою азотфіксувальною активністю відмічені штами *Rhizobium phaseoli* Ф-16, нітрогеназна активність була на рівні 84,23 нМоль етилену на рослину за годину. На основі перспективних штамів можуть бути розроблені технології виготовлення біопрепаратів для передпосівної інокуляції насіння кvasолі.*

Ключові слова: кvasоля, насіння, агроценози, мікроорганізми, бульбочкові бактерії, симбіотична активність, урожайність.

Важливим джерелом забезпечення населення високоякісним харчовим білком є вирощування зернобобових культур, зокрема кvasолі. Цінність її обумовлюється як високим вмістом білка, збалансованого за амінокислотним складом, так і властивістю культури фіксувати азот повітря у симбіозі з бульбочковими бактеріями, покращуючи таким чином родючість ґрунту.

Завдяки цим перевагам кvasоля набула значного поширення на земній кулі і серед зернобобових культур за посівними площами, які становлять 26 млн га, займає друге місце після сої. Попит на її зерно у світі постійно зростає [6].

У той же час аграрії України не приділяють кvasолі належної уваги. До основних причин цього належить досить низька врожайність культури у виробничих умовах, що є наслідком недосконалості окремих елементів технології вирощування.

Інтенсифікація процесу симбіотичної азотфіксації залишається однією з актуальних

проблем сучасного землеробства. Перспективний шлях її вирішення полягає у збільшенні частки симбіотрофного азоту в агроценозах при забезпеченні високоєфективного симбіозу бобових культур із відповідними видами бульбочкових бактерій. Ефективна взаємодія бульбочкових бактерій з бобовими рослинами забезпечує активацію низки метаболічних процесів їх життєдіяльності й насамперед фіксацію атмосферного азоту. У результаті цього поліпшується живлення рослин, підвищується їх продуктивність, зростає якість сільськогосподарської продукції [3].

Бульбочкові бактерії є грамнегативними паличками, у вільному стані – суворі аероби, не здатні фіксувати азот. Після зараження тканини кореня утворюється інфекційна нитка, в якій бактерії починають активно розмножуватися. Вона проникає в кору кореня, де починають формуватися бульбочки, які згодом утворюють бактероїди [8]. За підрахунками науковців [7], нітрогеназна активність симбіотичного апарату кvasолі досить

висока – 130 мкг N₂ на одну рослину за годину, що перевищує активність ризобіального комплексу сочевиці на 85 мкг, вики – на 80, гороху – на 40, нуту – на 30 мкг, поступаючись лише сої, бобам і люпину.

У дослідженнях А.І. Чундерової передпосівне інокулювання насіння препаратом на основі штаму № 8 сприяло нітрогеназній активності, яка становила від 10 до 311 мг/рослину, що перевищує показники контролю на 75,8–97,7 %. Така велика різниця пояснюється тим, що для квасолі звичайної в більшій мірі, ніж для інших зернобобових культур, характерне досить незначне бульбочкоутворення за рахунок спонтанного аборигенного інокулювання [5].

Азотфіксувальний потенціал симбіозу квасолі з присутніми у ґрунті ризобіями часто обмежений невисокою азотфіксувальною активністю бактерій. У зв'язку з цим обов'язковим заходом у технології вирощування квасолі повинна бути передпосівна обробка насіння біопрепаратами на основі селекціонованих штамів специфічних ризобій, яка підвищує продуктивність рослин квасолі.

Метою даної роботи було оцінити та визначити доцільність передпосівної інокуляції насіння високоефективними штамми азотфіксувальних бактерій для формування активного симбіозу з квасолею.

Матеріали і методи досліджень. Роботи виконували на полях дослідного господарства Бохоничьке Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААНУ протягом 2014–2015 рр.

Ґрунт дослідного поля – сірий опідзолений середньосуглинковий за механічним складом з такими показниками орного шару: вміст гумусу – 2,0–2,2 %; рН (сольове) – 5,2–5,4; гідролізованого азоту (за Корнфільдом) – 8,0–8,4 мг; рухомого фосфору (за Чириковим) – 15,0–15,8 мг і обмінного калію – 12,0–12,4 мг на 100 г ґрунту. Вирощування квасолі відповідало рекомендаціям для зони Лісостепу, без урахування факторів, які досліджували.

У досліді використано штами ризобій з колекції Інституту мікробіології і вірусології НАН України.

За 1–2 год до висіву насіння контрольного варіанта зволожували водою (1–2 % від

маси), інших варіантів – обробляли водною суспензією семидобової культури ризобій відповідних штамів із розрахунку 0,2–0,5·10⁶ бактерій на насінину.

Сорт квасолі звичайної Галактика висівали в другій декаді травня в добре прогрітій і достатньо зволожений ґрунт. Спосіб сівби – широкорядний з міжряддям 45 см, норма висіву – 500 тис. схожих насінин на 1 га на фоні мінеральних добрив у дозі N₃₀P₆₀K₆₀. Облікова площа ділянки – 100 м², повторення досліді – чотириразове, розміщення ділянок – систематичне. Попередник – озима пшениця.

Урожайність насіння квасолі аналізували за пробними снопами, які формували перед збиранням з двох несуміжних повторень за “Методикою державного сортопробування сільськогосподарських культур”.

Кількість і масу кореневих бульбочок визначали у період їх максимального формування (фазу цвітіння рослин) у вибірках по 10 рослин з кожного повторення досліді. Нітрогеназну активність встановлювали ацетиленовим методом на газовому хроматографі [1].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом дисперсійного аналізу [2].

Результати досліджень та їх обговорення. В останні роки в умовах посушливого клімату лісостепової зони України широко впроваджується цінна продовольча зернобобова культура квасоля, яка характеризується стійкістю до високих температур, суховіїв, нестачі вологи.

Бактеріальні препарати з використанням асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів поліпшують мінеральне живлення рослин, накопичують біологічний азот у ґрунті, знижують темпи розкладання гумусових речовин, покращують структурованість ґрунту, зменшують випаровування вологи ґрунту і масштаби ерозії. Бактеріальні препарати дозволяють одержати екологічно чисту продукцію, тому що містять природні ефективні штами, які не здатні викликати у людини віддалені генетичні наслідки подібно неприродним хімічно синтезованим засобам.

За умови утворення активного компонента рослина – *Rhizobium* утворює взаємовигідне співіснування, симбіоз, у процесі

якого сонячна енергія використовується для зв'язування біологічним шляхом атмосферного азоту. Рослина-господар у процесі фотосинтезу акумулює сонячну енергію й у формі хімічно зв'язаної енергії вуглеводів та інших речовин забезпечує нею мікросимбіонт, який, у свою чергу, задовольняє на 30–50 % потребу рослини-господаря в азоті [4].

Проведення передпосівного інокулювання насіння досліджуваними препаратами сприяло подовженню періодів сходи–перший трійчастий листок, бутонізація–цвітіння, цвітіння–налив бобів на 1–2 доби кожен. За сівби насіння, інокулюваного *Rhizobium phaseoli*, Ф-16, подовжувалися тривалість міжфазних періодів сходи–перший трійчастий листок, бутонізація–цвітіння, налив бобів–повна стиглість на одну добу кожен, що подовжило вегетаційний період рослин квасолі на 3 доби відносно контролю (87 діб).

Інокуляція покращує умови для контакту кореневої системи з бульбочковими бактеріями, а показники вірулентності штамів прийнято оцінювати за кількістю та масою бульбочок, які з'явилися на кореневій системі квасолі. Бульбочки не утворюються на коренях рослини в занадто сухому ґрунті, наприклад його вологість на початку вегетації нижча за

50–60 % повної польової вологоємкості. Нестача вологи в пізніший період може призвести до відмирання вже сформованих бульбочок. Оптимальним інтервалом вологості для розвитку бульбочок та азотфіксації є 60–70 % від повної польової вологоємкості. Надлишкова вологість менш шкідлива, ніж нестача її.

Спостереження показали, що ефективний симбіоз характеризувався значною кількістю великих бульбочок на коренях квасолі рожевого кольору. За менш активного симбіозу бульбочки були маленького розміру, білого та жовтуватого кольорів.

Отримані результати свідчать про те, що досліджувані фактори суттєво впливали на діяльність у ризосфері рослин квасолі бульбочкових бактерій, зокрема на кількість і масу бульбочок на коренях рослин. Інтенсивність бульбочкоутворення у квасолі досягала максимуму на початку цвітіння культури. Так, у фазі цвітіння рослин квасолі на контрольних ділянках кількість бульбочок на одній рослині сягала 8 штук. Найбільша кількість (38 бульбочок) на одній рослині квасолі зареєстрована на тих ділянках, де перед сівбою проводили інокуляцію штамом Ф-16, маса бульбочок становила 0,36 мг/рослину, серед них 30 бульбочок були активними, рожевого кольору.

Ефективність симбіозу штамів з квасолею сорту Галактика

Варіант досліджу	Кількість бульбочок на рослину	Маса бульбочок, мг/рослину	Нітрогеназна активність, нМоль етилену/рослину/год	Урожайність зерна, т/га
Без інокулювання (контроль)	8	0,09	22,13	0,9
Штам – еталон <i>Rhizobium phaseoli</i> , 657a	17	0,22	40,89	1,2
<i>Rhizobium phaseoli</i> , 700	35	0,31	70,26	1,5
<i>Rhizobium phaseoli</i> , Ф-16	38	0,36	84,23	1,7
<i>Rhizobium phaseoli</i> , ФК-6	27	0,28	63,59	1,1
НІР ₀₅			0,07	

Фіксація азоту повітря відбувається в бульбочках, тому найбільш чітку оцінку такого факту можна зробити з огляду на розвиток симбіотичного процесу. Спостереження показали, що інтенсивний ріст бульбочок квасолі закінчується до фази утворення бобів. Незважаючи на наявність спонтанної інокуляції квасолі аборигенними штамми, штучна передпосівна інокуляція насіння сприяє інтенсивній нодуляції. Накопичення великої маси бульбочок закономірно приводить до підвищення активного симбіотичного потенціалу. Спостереження показали, що інокуляція насіння квасолі сприяє більш активному формуванню жвавих азотфіксуювальних бульбочок. Активність фермента нітрогенази має особливості відновлювати азот та інші компоненти.

Вивчення азотфіксуювальної активності в кореневій зоні рослин показує її збільшення

за передпосівної інокуляції. Найбільш високою азотфіксуювальною активністю характеризувалися штамми *Rhizobium phaseoli*, Ф-16 та *Rhizobium phaseoli*, 700. Нітрогеназна активність цих штамів була відповідно 84,23 та 70,26 нМоль етилену/рослину/год, тоді як на контрольних ділянках даний показник становив 22,13 нМоль (таблиця).

У наших дослідженнях найвищу і найбільш стабільну врожайність зерна квасолі забезпечив варіант з обробкою насіння штамом з асоційованими мікроорганізмами *Rhizobium phaseoli*, Ф-16. На цьому варіанті в середньому за роки досліджень урожайність зерна становила 1,7 т/га. У варіанті, де насіння обробляли штамом бульбочкових бактерій *Rhizobium phaseoli*, 700, урожайність була дещо нижчою (1,5 т/га). Найнижчу врожайність (0,9 т/га) одержано в контролі.

Висновки

Дослідження симбіотичної діяльності рослин квасолі показало, що передпосівна біостимуляція бобово-ризобіального комплексу сприяє ранній появі бульбочок, більшій їх кількості та масі. Такі показники зберігаються протягом усієї вегетації і проявляються не тільки в кількості і масі бульбочок, а і в активності нітрогеназної системи, показники якої становили на ділянках з інокуляцією насіння квасолі 40,89–84,23 нМоль етилену/рослину/год.

Штами бульбочкових бактерій *Rhizobium phaseoli*, Ф-16 і *Rhizobium phaseoli*, 700, які комплементарні до сучасних сортів квасолі, за ефективністю симбіотичної азотфіксації переважають еталонні. Ці штамми мають найбільш високу азотфіксуювальну активність, вони перспективні. На їх основі можуть бути розроблені технології виготовлення біопрепаратів для інокуляції насіння квасолі.

Бібліографія

1. Алисова С.М. Методические указания по использованию ацетиленового метода при селекции бобовых культур на повышение симбиотической азотфиксации / С.М. Алисова, А.И. Чундерова. – Л., 1982. – 12 с.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
3. Біологічний азот / [В.П. Патики, С.Я. Коць, В.В. Волкогон та ін.]; за ред. В.П. Патики. – К.: Світ, 2003. – 424 с.
4. Патики В.П. Селекція бульбочкових бактерій квасолі / В.П. Патики, Л.М. Поташова, М.З. Толкачов // Вісник аграрної науки. – 2001. – № 1. – С. 54–57.
5. Чундерова А.И. Влияние эффективных

штаммов клубеньковых бактерий на урожай и содержание протеина в зерне фасоли / А.И. Чундерова // Селекция, семеноводство и приемы возделывания фасоли. – Орел, 1975. – С. 192–195.

6. Шляхтуров Д.С. Особливості формування продуктивності квасолі залежно від технології вирощування в умовах північного степу / Д.С. Шляхтуров: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук. – К., 2009. – 19 с.

7. Шотт П.Р. Фиксация атмосферного азота в однолетних агроценозах / П.Р. Шотт. – Барнаул: Азбука, 2007. – 176 с.

8. Яковлева В.М. Бактероиды клубеньковых бактерий / В.М. Яковлева. – Новосибирск: Наука, 1975. – 172 с.

Рецензенти – доктори сільськогосподарських наук,
професори І.Ф. Підпалій, О.О. Якунін