

УДК 633.31/37: 631.461

С.В. Дідович¹, І.А. Мальцева²
**ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ АЛЬГОРИЗОБАКТЕРІАЛЬНОГО
КОНСОРЦІУМУ ПРИ ВИРОЩУВАННІ БОБОВИХ РОСЛИН**

¹*Інститут сільського господарства Криму НААН України*²*Мелітопольський державний педагогічний університет імені Богдана Хмельницького*

Експериментально доведено можливість створення ефективного альгобактеріального консорціуму з високою нодулюючою здатністю бульбочкових бактерій. Передпосівна бактеризація насіння нуту таким поліфункціональним ціаноризобіальним комплексом забезпечила підвищення продуктивності рослин на 43,4% в умовах польового досліду. Це може стати основою біологічної технології вирощування бобових культур для отримання екологічно безпечної продукції.

Ключові слова: ціанобактерії, бульбочкові бактерії, консорціум, бобові культури, ефективність, продуктивність

С.В. Дидович¹, И.А. Мальцева²
**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ АЛГОРИЗОБАКТЕРИАЛЬНОГО
КОНСОРЦИУМА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ**

¹*Институт сельского хозяйства Крыма НААН Украины*²*Мелитопольский государственный педагогический университет имени Богдана Хмельницкого*

Експериментально доказана можливість створення ефективного альгобактеріального консорціума з високою нодулюючою здатністю ризобіальних кліток. Предпосівна бактеризація насіння нуту таким поліфункціональним ціаноризобіальним комплексом забезпечила підвищення продуктивності рослин на 43,4% в умовах польового досліду. Це може стати основою біологічної технології вирощування бобових культур для отримання екологічно безпечної продукції.

Ключевые слова: цианобактерии, клубеньковые бактерии, консорциум, бобовые культуры, эффективность, продуктивность

S.V. Didovych¹, I.A. Maltseva²
**ADVANTAGES OF APPLICATION OF ALGORIZOBACTERIAL CONSORTIA IN
CULTIVATION OF LEGUME CROPS**

¹*Institute of Agriculture of Crimea, National Academy
of Agriculture Sciences of Ukraine*²*Bogdan Chmelnitskiy Melitopol State Pedagogical University*

Possibility of creation of effective algobacterial consortia with high nodule ability of rhizobial cells is experimentally proven. Pre-sowing bacterization treatment of chickpea seeds provided the increase of the productivity of plants such polyfunctional cyanorhizobial complex by 43,4% in the conditions of the field experiment. It may serve as a base for biological technology of growing chickpea for obtaining of ecologically safe production.

Key words: cyanobacteria, nodule bacteria, consortia, legume crops, efficiency, productivity

В останні роки в землеробстві поширюється використання мікробних препаратів для рістстимуляції, посилення азотфіксації, фосфатмобілізації в ризосфері рослин,



захисту від патогенів і шкідників (Bashan, 1998; Тихонович, Круглов, 2005; Волкогон та ін., 2011). Серед біопрепаратів, що використовують при вирощуванні бобових культур, провідна роль належить тим, які мають у складі ефективні селекційні штами специфічних бульбочкових бактерій для забезпечення азотного живлення рослин за рахунок біологічної азотфіксації з повітря, формування високих врожаїв без застосування мінеральних азотних добрив і поповнення азотного балансу ґрунту. Проте, оптимізація і потенціал активної бобово-ризобіальної взаємодії залежить від багатьох факторів, у тому числі і від інтродукції в ризосферу рослин мікроорганізмів різної функціональної дії.

У зв'язку з цим актуальним стає питання ефективності сумісного використання бульбочкових бактерій і мікроорганізмів різної функціональної дії в умовах сучасних технологій вирощування бобових культур. При цьому особливій уваги заслуговують дослідження з вивчення впливу на ефективність функціонування бобово-ризобіальної системи фототрофних мікроорганізмів – ціанобактерій, які складають постійну й активну частину ґрунтової біоти, пов'язані складними взаємодіями з усіма її компонентами, і беруть участь у різних процесах, що відбуваються в ґрунтах, а також пошуку можливості створення високопродуктивних рослинно-мікробних систем в агроценозах бобових рослин, що і стало метою даної роботи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В дослідках були використані штами бактерій *Bradyrhizobium japonicum* М-8 і *Mesorhizobium ciceri* 065 з колекції корисних мікроорганізмів відділу мікробіології Інституту сільського господарства Криму НААН; штам ціанобактерій *Nostoc linckia* 144 з колекції Мелітопольського державного педагогічного університету; сучасні сорти нуту Тріумф, Розанна і сорт сої Аннушка, селекції СГІ НЦНС НААН і НСНФ „Соевий век”.

Виділення мікроорганізмів – супутників ціанобактерії проводили загальноприйнятими мікробіологічними методами (Возняковская, Попова, 1995; Волкогон, 2010) і ідентифікували за визначником Бержі (Хоулт, Криг и др, 1997). Накопичувальну культуру ціанобактерій отримували в рідкому середовищі Громова №6. Її загальну мікробну масу визначали за абсолютно сухою речовиною. Сумісне культивування ризобій і ціанобактерій проводили в експериментальному середовищі протягом трьох діб на качалці (220 об./хвилину) при температурі 28⁰ С. Кількість бульбочкоутворювальних одиниць (БУОД) в 1 мл ціаноризобіального консорціуму (ЦРК) визначали методом Красільнікова-Кореняко (Толкачев, 1990).

У вегетаційних дослідках рослини вирощували в теплиці на безазотному субстраті - вермикуліті (Доросінській, 1981). Насіння перед висівом обробляли суспензією 5–7-добової культури ризобій і 3-добової культури штаму – супутнику ціанобактерії із розрахунку 10⁷ бактерій/насініну. Щільність суспензії мікроорганізмів для дозування інюляційного навантаження визначали на фотоелектроколориметрі (КФК-2).

В польових дослідках нут вирощували за сучасною зональною технологією (Бушулян, Січкара, 2009). До посіву насіння в контрольному варіанті обробляли біопрепаратом Ризобіфит на основі штаму *Mesorhizobium ciceri*, у дослідному варіанті – ЦРК, які застосовували у розведенні з водопровідною водою 1:10.

Ефективність бактеризації насіння оцінювали за симбіотичними показниками, біометричними даними і продуктивністю рослин. Отримані результати аналізували з використанням програми Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При мікроскопіюванні ціанобактерії *Nostoc linckia* штаму 144 було встановлено наявність у культуральній масі різних мікроорганізмів, які певно знаходяться з нею в асоціативних відносинах. На різних селективних середовищах нами було виділено 12 і ідентифіковано 10 штамів мікроорганізмів асоційованих з ціанобактерією, серед яких штами *Halococcus saccharaliticus* NR, *Halobacterium saccharovorum* GAFb, *Haloferax mediterranei* MB2, *Microbacterium laevaniformans* KAGK, *Pseudomonas sp.* ChPU-1, PK, V2, MB1, *Nocardioides albus* КАВТ, *Bacillus sp.* ChP, штамм GAFm і штам мікроміцету G-1.

В умовах безазотного субстрату виявлено позитивний вплив штаму ціанобактерії *Nostoc linckia* 144 і 8-ми (62%) штамів – асоціантів водорості в ризосфері сої та 10-ти (77%) штамів в ризосфері нуту на ефективність симбіотичної азотфіксації штамів *Bradyrhizobium japonicum* M8 і *Mesorhizobium ciceri* 065 відповідно. Кількість бульбочок збільшувалася на 10–11 од./рослину (39–41%), кількість бобів на рослині – в 2,5 рази, суха надземна маса – на 1,2–1,5 г/рослину (28,6–35,7%) порівняно до монообробки ризобіями.

В умовах вегетаційного дослідження на чорноземі південному спостерігали аналогічний вплив водорості і виділених штамів асоціативних з ностоком на бульбочкоутворення і симбіотичну азотфіксацію нуту. Максимальну ефективність виявлено при застосуванні штаму *Microbacterium laevaniformans* KAGK з ризобіями, у цьому варіанті спостерігали підвищення сухої наземної маси рослин на 0,82 г/рослину (21,1%) порівняно до монообробки.

В умовах лабораторного дослідження було показано, що введення ризобіального партнера в ціанобактеріальний консорціум і їх сумісне культивування в експериментальному середовищі може забезпечувати високу нодулюючу здатність клітин бульбочкових бактерій. Обробка насіння ЦРК дозволила суттєво підвищити, практично на два-три порядки, кількість бульбочок на коренях нуту (до $9,7 \times 10^5$ БУОД/мл консорціуму) у порівнянні з монообробкою ризобіями (табл. 1).

У наших наступних дослідженнях було виявлено, що клітини *Mesorhizobium ciceri* зберігають життєздатність і нодулюючу активність у ЦРК 12 місяців при зберіганні, що має важливе значення для практичного застосування.

Ефективність застосування ЦРК для передпосівної обробки насіння нуту була досліджена в польових умовах на чорноземі південному на фоні ґрунтової популяції нутових ризобій щільністю 10^2 БУОД/г ґрунту. Як свідчать експериментальні дані таблиці 2, при вирощуванні нуту спостерігали в усіх варіантах дослідження утворення азотфіксуючих бульбочок на коренях в кількості 2,3 одиниць/рослину, але біомаса бульбочок у варіанті з обробкою ЦРК була в 1,9 рази більшою і складала 917 мг/рослину, їх азотфіксуюча активність була вищою у 9,4 рази, що відбилося на урожайності рослин, яка збільшилася на 0,69 т (43,4%).

Таблиця 1

Нодулююча здатність клітин *Mesorhizobium ciceri* за умов культивування з ціанобактеріальним консорціумом *Nostoc linckia* 144

Варіант дослідження	<i>Nostoc linckia</i> 144 (N)	<i>M. ciceri</i> 065 (R)	рН середовищ				БУОД*/мл
			вихідне, без мікро-	після культиву-	після культиву-	після культиву-	
	вихідна біомаса,	вихідний титр,	культиву-	культиву-	культиву-	культиву-	



	мг(а.с.р.)/мл	млн. КУО/мл	організмів	вання з N	вання з R	вання з N+R	
R	–	14,1±0,52	7,2	–	7,4	–	3,5x10 ⁴
Агаризовані поживні середовища							
R–6/2a	–	12,1±0,52	7,3	–	5,6	–	2,0x10 ³
N+R–6/2a	0,021±0,0001	11,2±0,52	7,0	7,8	–	7,0	4,4x10 ⁵
R–6/4a	–	13,0±0,52	7,3	–	5,3	–	3,0x10 ³
N+R–6/4a	0,019±0,0001	11,0±0,52	7,0	7,8	–	7,0	9,7x10 ⁵
R–6/10a	–	15,2±0,52	7,1	–	5,5	–	3,5x10 ³
N+R–6/10a	0,018±0,0001	12,8±0,52	7,0	7,6	–	7,0	9,5x10 ⁵
Рідкі поживні середовища							
R–6/2b	–	17,4±0,52	7,3	–	5,8	–	2,5x10 ³
N+R–6/2b	0,019±0,0001	12,8±0,52	7,0	8,5	–	7,4	4,0x10 ⁵
R–6/4b	–	14,5±0,52	7,3	–	5,5	–	3,5x10 ⁴
N+R–6/4b	0,020±0,0001	10,7±0,52	7,0	8,5	–	7,5	1,5x10 ⁵
R–6/10b	–	12,2±0,52	7,0	–	5,5	–	2,5x10 ⁴
N+R–6/10b	0,017±0,0001	14,0±0,52	7,3	6,9	–	7,5	9,5x10 ³

Примітки: а.с.р. – абсолютно-суха речовина; * – визначено за таблицею Мак-Креді, „–”, – не визначалося.

Таблиця 2

Ефективність симбіозу *Mesorhizobium ciceri* з рослинами нуту при бактеризації насіння ЦРК (польовий дослід, чорнозем південний, ВП НУБіП „Кримський агропромисловий коледж”, 2011р.)

Варіант досліді	Кількість бульбочок, од/рослину	Маса бульбочок, мг/рослину	НА, мкМоль етилену за годину на рослину	Урожайність насіння, т/га
Ризобіфіт	2,3	490	5,1	1,59
ЦРК	2,3	917	48,0	2,28
НІР ₀₅	1,01	363,0	37,26	0,340

Примітка. НА – нітрогеназна активність бульбочок.

ВИСНОВКИ

1. Виділено в чисту культуру 12 штамів мікроорганізмів асоційованих з штамом ціанобактерії *Nostoc linckia* 144, визначені їх морфолого-культуральні, фізіолого-біохімічні властивості.
2. Виявлено, що на безазотному субстраті 62 і 77% штамів-супутників ціанобактерії і сама водорість позитивно впливають на бульбочкоутворення сої і нуту та збільшують суху надземну масу рослин на 28,6-35,7%, а на чорноземі південному сумісна бактеризація штамів *Microbacterium laevaniformans* KAGK і *Mesorhizobium ciceri* підвищила суху наземну масу рослин на 0,82 г/рослину (21,1%) у порівнянні з монообробкою.

3. Створено ефективний альгобактеріальний консорціум з високою нодулюючою активністю клітин *Mesorhizobium ciceri*, кількість яких складала $9,7 \times 10^5$ БУОД/мл препаративної форми, що на два порядки вище у порівнянні з монокультурою ризобій.
4. Експериментально доведено перспективність застосування ціанобактерій у комплексі з бульбочковими бактеріями в агробіотехнології і показано високу ефективність передпосівної бактеризації насіння ціаноризобіальним консорціумом на нуті, що забезпечило підвищення продуктивності рослин на 43,4%.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве)* (2005). (Ред. И. А. Тихонович, Ю. В. Круглова). Москва.
- Бушулян, О. В., & Січкара, В.І. (2009). *Нут: генетика, селекція, насінництво, технологія вирощування*. Одеса.
- Возняковская, Ю. М., & Попова, Ж.П. (1995). *Методические указания по идентификации неспорных бактерий, доминирующих в ризосфере растений*. Л.
- Експериментальна ґрунтова мікробіологія*. (2010). (Ред. В. В. Волкогон). Київ: Аграрна наука.
- Волкогон, В. В., Заришняк, А. С., & Гриник, І.В. (2011). *Методологія і практика використання мікробних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур*. Київ: Аграрна наука.
- Методы исследований клубеньковых бактерий*. (1981). Методические рекомендации для курсов повышения квалификации научных сотрудников по сельскохозяйственной микробиологии. (Ред. Л. М. Доросинский). Л.
- Определитель бактерий Бержи в 2-х т.* (1997). (Перевод Г. Заварзина, ред. Дж. Хоулт, Н. Криг). Том 1. Москва: Мир.
- Определитель бактерий Бержи в 2-х т.* (1997). (Перевод Г. Заварзина, ред. Дж. Хоулт, Н. Криг). Том 2. Москва: Мир.



Толкачев, Н. З. (1990). Метод определения количества клубеньковых бактерий сои в почв. *Труды ВНИИСХМ*, 37–43.

Bashan, Yoav. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. *Biotechnology Advances*, 16(4), 729-770.

REFERENCES

Biopreparations in agricultures (Methodology and practice of the using microorganism in plant growing and feedproduction). (2005). (Editors I. A. Tihonovich, Yu. V. Kruglov). Moscow.

Bushulyan, O. V., & Sichkar, V. I. (2009). *Chickpea: genetics, selection, seed-growing, technology of growing*. Odesa.

Voznyakovskaya, Yu. M., & Popova, Zh. P. (1995). *Methodical instructions on identification of nonsporen bacteria dominant in rhizosphere of plants*. L.

Experimental ground microbiology. (2010). (Editor V. V. Volkogon). Kyiv: Agrarian science.

Volkogon, V. V., Zarishnyak, A. S., & Grynyk, I. V. (2011). *Methodology and practice of the use of microbial preparations in technologies of growing of agricultural crops*. Kyiv: Agrarian science.

Methods of researches of rhizobiums. Methodical recommendations for the extension course scientific employee on agricultural microbiology. (1981). (Editor L. M. Dorosinskiy). L.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. (1997). (Trans .G. Zavarzin, editors John G Holt, N. Krieg). Vol. 1. Moscow: World.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. (1997). (Trans .G. Zavarzin, editors John G Holt, N. Krieg). Vol. 2. Moscow: World.



Tolkachev, N. Z. (1990). Method of determining the quantity of soy-bean rhizobiums in soil.

Proceedings of ARRIAM, 37–43.

Bashan, Y. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture.

Biotechnology Advances, 16(4), 729-770.