



Наукові записки

**Тернопільського національного
педагогічного університету
імені Володимира Гнатюка
Серія: біологія**

Спеціальний випуск:
«Біологічна фіксація азоту»



 **Тернопільський
педуніверситет**
ім. Володимира Гнатюка

Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету
імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. — 2014. — № 3 (60). — 188 с.

*Друкується за рішенням вченої ради
Тернопільського національного педагогічного університету
ім. Володимира Гнатюка
від 23.09.2014 р. (протокол № 2)*

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

М. М. Барна	доктор біологічних наук, професор (<i>головний редактор</i>) (Україна)
К. С. Волков	доктор біологічних наук, професор (Україна)
В. В. Грубінко	доктор біологічних наук, професор (<i>заступник головного редактора</i>) (Україна)
Н. М. Дробик	доктор біологічних наук, професор (Україна)
О.П. Камеліна	доктор біологічних наук, професор (Росія)
В. З. Курант	доктор біологічних наук, професор (<i>заступник головного редактора</i>) (Україна)
О. Б. Мацюк	кандидат біологічних наук, (<i>відповідальний секретар</i>) (Україна)
Н. М. Нємова	член–кореспондент РАН, доктор біологічних наук, професор (Росія)
В. І. Парпан	доктор біологічних наук, професор (Україна)
О. Б. Столяр	доктор біологічних наук, професор (Україна)
В. Р. Челак	доктор біологічних наук, професор (Молдова)
Макаї Шандор	доктор габілітований, професор (Угорщина)
І. В. Шуст	доктор біологічних наук, професор (Україна)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ ВИПУСКУ:

В. В. Волкогон	член–кореспондент НААН України, доктор сільськогосподарських наук, професор (Україна)
Г. А. Іутинська	член–кореспондент НАН України, доктор біологічних наук, професор (Україна)
А. В. Калініченко	доктор сільськогосподарських наук, професор (Україна)
О. Б. Конончук	кандидат біологічних наук, доцент (Україна)
С. Я. Коць	доктор біологічних наук, професор (Україна)
В. П. Патица	академік НААН України, доктор біологічних наук, професор (Україна)
С. В. Пида	доктор сільськогосподарських наук, професор (Україна)
О. В. Шерстобєва	доктор сільськогосподарських наук, професор (Україна)

Літературний редактор: Т.П. Мельник
Комп'ютерна верстка: Г.М. Голіней

*Збірник входить до переліку наукових фахових видань ВАК України
Свідоцтво про держреєстрацію: КВ № 15884-4356Р від 27.10.2009*

ЗМІСТ

ЗАГАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

- А.В. КАЛІНІЧЕНКО, О.Г. МІНЬКОВА
БІОЛОГІЧНИЙ АЗОТ У ЗАКОНОДАВСТВІ ЄС 7
- В.Ф. ПАТЬКА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ АЗОТ И НОВАЯ СТРАТЕГИЯ ПРОИЗВОДСТВА
ПРОДУКЦИИ РАСТЕНИЕВОДСТВА В УКРАИНЕ 10

БОТАНІКА

- М.М. БАРНА, Л.С. БАРНА, Р.Л. ЯВОРІВСЬКИЙ, Н.В. ГЕРЦ,
О.Б. МАЦІЮК
ЧЕРВОНОКНИЖНІ РОСЛИНИ ГОЛИЦЬКОГО БОТАНІЧНОГО
ЗАКАЗНИКА ТА ЇХ ОХОРОНА 16

ГІДРОБІОЛОГІЯ

- В.В. ГРУБІНКО, О.І. БОДНАР, О.В. ВАСИЛЕНКО, А.І. ЛУЦІВ,
Г.Б. ВІНЯРСЬКА
ФУНКЦІОНУВАННЯ ГЛУТУМАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО ШЛЯХУ
ЗВ'ЯЗУВАННЯ АМОНІУ У ПРІСНОВОДНИХ ВОДОРОСТЕЙ 31

ЕКОЛОГІЯ

- Н.І. АДАМЧУК-ЧАЛА
ВПЛИВ ІНОКУЛЯЦІЇ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* УКМ В-6035
НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ЯДЕРЦЕВИХ
СУБКОМПОНЕНТІВ КЛІТИН АПКАЛЬНИХ МЕРИСТЕМ
ПРОРОСТКІВ СОЇ 37
- О.О. АЛЕКСЕЕВ, В.П. ПАТИКА
ФОРМУВАННЯ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ
BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM – СОЯ 40
- Л.П. БАБЕНКО, Л.А. ДАНКЕВИЧ, Н.М. ЖОЛОБАК, В.В. КРУТЬ,
Н.О. ЛЕОНОВА, О.А. ДЕМЧЕНКО, М.Я. СПІВАК, В.П. ПАТИКА
ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ НА РІЗНІ
ФІЗІОЛОГІЧНІ ГРУПИ МІКРООРГАНІЗМІВ 45
- И.С. БРОВКО, Л.В. ТИТОВА, Г.О. ИУТИНСКАЯ, М.В. СУХАЧЕВА,
И.К. КРАВЧЕНКО
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ
ЭНДОФИТНЫХ НЕРИЗОБИАЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ
ИЗ КЛУБЕНЬКОВ СОИ 52
- А.А. БУНАС, Я.В. ЧАБАНЮК, О.М. ДМИТРУК
АЗОТФІКСУВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІЗОЛЯТІВ
РИЗОСФЕРИ РОСЛИН ЗАЛЕЖНО ВІД ЕКОТОПУ ІЗОЛЮВАННЯ 55
- О.І. ВЕЛИЧКО
РОЛЬ БЛІКІВ У АДАПТАЦІЇ РОСЛИН КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ,
ІНОКУЛЬОВАНОЇ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. TRIFOLIИ*,
ДО УМОВ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ 58
- С.В. ВОЗНЮК, Л.В. ТИТОВА, Г.А. ИУТИНСКАЯ
ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНЫХ
СИСТЕМ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ФУНГИЦИДОВ И КОМПЛЕКСНОЙ
ИНОКУЛЯЦИИ 61

О.О. ГРИЩУК, В.І. ГРИЩУК, С.Я. КОЦЬ ВПЛИВ СИМБІОТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ <i>BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM</i> НА ЦИТОКІНІНОВИЙ СТАТУС РОСЛИН СОЇ	65
С.В. ДІДОВИЧ ПІДВИЩЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО АЗОТФІКСУВАЛЬНОГО ПОТЕНЦІАЛУ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ <i>MESORHIZOBIUM CICERI</i> – <i>CICER ARIETINUM</i> L. ШЛЯХОМ КООРДИНОВАНОЇ СЕЛЕКЦІЇ	69
С.Б. ДІМОВА ВПЛИВ ФІТОГОРМОНІВ НА АКТИВНІСТЬ АЗОТФІКСАЦІЇ В КОРЕНЕВІЙ ЗОНІ РОСЛИН ЖИТА ОЗИМОГО	72
М.А. ЖУРБА, В.В. ВОЛКОГОН АКТИВНІСТЬ АЗОТФІКСАЦІЇ ТА ЕМІСІЯ N ₂ O В АГРОЦЕНОЗАХ ГОРОХУ ЗА ДІЇ ДОБРІВ ТА ПЕРЕДПОСІВНОЇ БАКТЕРИЗАЦІЇ.....	75
В.О. ЗАБАЛУЄВ, П.В. БУЧЕК, І.Б. ЗЛЕНКО ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ БІОПРЕПАРАТІВ АЗОТФІКСУВАЛЬНИХ І ФОСФАТМОБІЛІЗУЮЧИХ МІКРООРГАНІЗМІВ НА СУБСТРАТАХ РОЗКРИВНИХ ГІРСЬКИХ ПОРІД НІКОПОЛЬСЬКОГО МАРГАНЦЕВОРУДНОГО БАСЕЙНУ.....	79
В.П. КАРПЕНКО, Р.М. ПРИТУЛЯК, А.О. ЧЕРНЕГА АЗОТФІКСУВАЛЬНІ МІКРООРГАНІЗМИ РОДУ <i>AZOTOBACTER</i> РИЗОСФЕРИ ЯЧМЕНЮ ОЗИМОГО ЗА ОБРОБКИ ПОСІВІВ ГЕРБИЦИДОМ КАЛІБР 75 І РЕГУЛЯТОРОМ РОСТУ РОСЛИН БІОЛАН.....	83
Л.В. КИРИЛЕНКО, Ю.М. ШКАТУЛА ЕФЕКТИВНІСТЬ СИМБІОТИЧНОЇ АЗОТФІКСАЦІЇ В АГРОЦЕНОЗАХ КОЗЛЯТНИКА СХІДНОГО	87
О. В. КИРИЧЕНКО ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ СОЄВО-РИЗОБІАЛЬНИХ СИМБІОЗІВ ЗА ІНТРОДУКЦІЇ РИЗОБАКТЕРІЙ НА НАСІННЯ.....	90
А.М. КЛИМЕНКО, Я.В. ЧАБАНЮК ВИКОРИСТАННЯ ДІАЗОТРОФІВ У СИСТЕМІ ПІДГОТОВКИ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ	94
С. Ф. КОЗАР, О. В. ФІРСОВСЬКИЙ, В. М. НЕСТЕРЕНКО ВПЛИВ ОРГАНІЧНОГО ДОБРІВА, ЗБАГАЧЕНОГО БАКТЕРІЯМИ РОДУ <i>AZOTOBACTER</i> , НА РОЗВИТОК РОСЛИН КАБАЧКА.....	98
М.С. КОМОК, В.В. ВОЛКОГОН, С.Б. ДІМОВА ВПЛИВ ФІТОГОРМОНАЛЬНОГО НАВАНТАЖЕННЯ НА АКТИВНІСТЬ СИМБІОТИЧНОЇ ВЗАЄМОДІЇ ТА АЗОТНИЙ ОБМІН РОСЛИН СОЇ.....	102
Ю.Ю. КОНДРАТЮК, П.М. МАМЕНКО, А.В. ЖЕМОЙДА ПРОТЕЇНОВІ ПРОФІЛІ КОРЕНІВ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ ШТАМАМИ <i>B. JAPONICUM</i> РІЗНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ, ЗА ОПТИМАЛЬНОГО І НЕДОСТАТНЬОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ.....	106
О. Б. КОНОНЧУК, С. В. ПИДА, І. П. ГРИГОРЮК ВПЛИВ РІСТРЕГУЛЯТОРІВ РЕГОПЛАНТ І СТИМПО НА СИМБІОТИЧНУ СИСТЕМУ ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ КВАСОЛІ.....	109
С.Я. КОЦЬ, Л.І. ВЕСЕЛОВСЬКА, Л.М. МИХАЛКІВ НІТРАТРЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ У ЛИСТКАХ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ <i>BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM</i> , НА ФОНІ РІЗНОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ ЛЕКТИНУ	114

А.С. ЛЕВІШКО, П.М. МАМЕНКО, С.Я. КОЦЬ ДИНАМІКА ВМІСТУ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ У КОРЕНЯХ СОЇ ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ РІЗНИМИ ЗА ЕФЕКТИВНІСТЮ ШТАМАМИ <i>BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM</i>	118
Н.О. ЛЕОНОВА, Л.А. ДАНКЕВИЧ, С.Ф. ПАДАЛКО, Л.В. БОБИК, І.В. ДРАГОВОЗ СИНТЕЗ АУКСИНІВ ТА ЦИТОКІНІНІВ РІЗНИМИ ФІЗІОЛОГІЧНИМИ ГРУПАМИ МІКРООРГАНІЗМІВ РИЗОСФЕРИ ТА ФЛІОСФЕРИ СОЇ.....	121
В.М. МЕЛЬНИК, Д.А. КІРІЗІЙ, С.Я. КОЦЬ ФОТОСИНТЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ТА АЗОТФІКСУВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ У РІЗНИХ ЗА ЕФЕКТИВНІСТЮ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМАХ СОЯ – <i>BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM</i>	127
Н.М. МЕЛЬНИКОВА ФОРМУВАННЯ БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНОГО СИМБІОЗУ ЗА ДІЇ ЕКСУДАТИВ НАСІННЯ ЛЮПИНУ	131
Т.М. МЕЛЬНИЧУК, Л.О. ЧАЙКОВСЬКА, І.О. КАМЕНЄВА, А.І. ЯКУБОВСЬКА, О.А. ЛОЛОЙКО ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ВЗАЄМОДІЇ БІОАГЕНТІВ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА РОСЛИН	134
Т.Б. МІЛЮТЕНКО, О.В. ШЕРСТОБОЄВА ВПЛИВ МІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ ПОЛІМІКСОБАКТЕРИНУ ТА СИДЕРАЦІЇ НА ВІНОС БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ З ҐРУНТУ.....	138
Н. В. МОСКАЛЮК «ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН» ЯК НАВЧАЛЬНА ДИСЦИПЛІНА В ПЕДАГОГІЧНИХ УНІВЕРСИТЕТАХ	142
Л.П. ПАНЧЕНКО, К.С. КОРОБКОВА ЗМІНА ВМІСТУ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК В КАЛЮСА ЦУКРОВОГО БУРЯКУ ЯК ВІДПОВІДЬ НА ІНФІКУВАННЯ АХОЛЕПЛАЗМОЮ	145
Т.Ю. ПАРХОМЕНКО, О.Л. ПАРХОМЕНКО, В.А. ЧАЙКОВСЬКИЙ, М.О. ПАРХОМЕНКО ВПЛИВ ЗАСТОСУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ-АНТАГОНІСТІВ ФІТОПАТОГЕНІВ НА БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНИЙ КОМПЛЕКС І ПРОДУКТИВНІСТЬ НУТУ	149
В.П. ПАТИКА, Т.Т. ГНАТЮК, Н.В. ЖИТКЕВИЧ, О.О. АЛЕКСЄЄВ ЧУТЛИВІСТЬ ДО ПЕСТИЦИДІВ НИЗКИ ПРЕДСТАВНИКІВ БАКТЕРІАЛЬНОЇ МІКРОБІОТИ СОЇ	153
С. В. ПИДА, О. В. ТРИГУБА, О. Б. КОНОНЧУК ФОРМУВАННЯ І ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ <i>LUPINUS ALBUS L. -BRADYRHIZOBIUM SP. (LUPINUS)</i> ЗА ВИКОРИСТАННЯ РИЗОБОФІТУ І РІСТРЕГУЛЯТОРІВ.....	156
Г.В. САФРОНОВА, З.М. АЛЕЩЕНКОВА, Н.В. МЕЛЬНИКОВА АЗОТФІКСИРУЮЩІЕ И ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩІЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ РОСТА СЕЯНЦЕВ СОСНЫ И ЕЛИ.....	161
В.І. СІЧКАР, І.І. ХУХЛАСЬ, О.В. БУШУЛЯН, С.В. ДІДОВИЧ, С.В. КОБЛАЙ, Г.Д. ЛАВРОВА, О.І. ГАНЖЕЛО ІНТЕНСИФІКАЦІЯ АЗОТФІКСУВАЛЬНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР ШЛЯХОМ КОМПЛЕМЕНТАРНОГО ДОБОРУ МАКРО- І МІКРОСИМБІОНТІВ.....	165

ЗМІСТ

А.Б. ТАШИРЕВ, О.С. СУСЛОВА, П.В. РОКИТКО, К.М. БОНДАРЬ, В.В. ПОКАЛЮК ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЗОТФИКСАТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ КАРСТОВЫХ ПОЛОСТЕЙ МУШКАРОВА ЯМА И КУЙБЫШЕВСКАЯ.....	169
І.Г. ЧУЧВАГА, К.І. ВОЛКОГОН ПРОЦЕСИ БІОЛОГІЧНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ АЗОТУ ЗА ДІЇ БІОТИЧНИХ ТА АБІОТИЧНИХ ФАКТОРІВ	175
ІСТОРІЯ НАУКИ	
А.В. СТЕПАНЮК ІСТОРІЯ СТАНОВЛЕННЯ ТА РОЗВИТКУ ПОНЯТТЯ «СИСТЕМА ЖИВОЇ ПРИРОДИ».....	180
АВТОРИ НОМЕРА	184

ЗАГАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

УДК 631. 147: 341. 176 (4)

^{1,2}А.В. КАЛІНІЧЕНКО, ¹О.Г. МІНЬКОВА

¹Полтавська державна аграрна академія
вул. Скороди, 1/3, Полтава, 36003

²Опольський університет
вул. Дмовського, 7-9, Ополе, 45-759, Польща

БІОЛОГІЧНИЙ АЗОТ У ЗАКОНОДАВСТВІ ЄС

У статті наведено аналіз законодавчої бази ЄС, в якій здійснено регламентацію чи підтримку використання біологічних форм азоту в аграрному виробництві Європи.

Ключові слова: біологічний азот, директива, законодавство ЄС

Збалансований розвиток сільських територій та законодавча підтримка якнайширшого застосування проекологічних технологій у всіх галузях агропромислового виробництва є одним із найважливіших завдань європейської спільноти. Серед великої кількості різноматних нормативних документів ЄС доцільно виділити кілька актів, що регламентують шляхи використання азоту в тих чи інших технологічних процесах [1, 7].

Загальновідомо, що азот є важливим елементом живлення сільськогосподарських культур, але за необґрунтованих норм його використання стає шкідливим як людини, так і навколишнього середовища. Нітрати, які містяться в органічних добривах та інших хімічних сполуках, що використовуються в сільському господарстві, є сьогодні одним з основних джерел забруднення води та ґрунтів у Європі. В ЄС-15 необхідність заходів з поступового зниження споживання азотних добрив, вперше декларувалася ще на початку 90-х минулого століття, а протягом останніх років, ця тенденція значно активізувалася. В цілому, в країнах - членах ЄС, виявлено, що більше 50% від загальної кількості азоту, знайденого у поверхневих водах, має сільськогосподарське походження [2-8].

Метою нашого дослідження був аналіз законодавчої бази ЄС, що здійснює регламентацію, підтримку чи активізацію використання біологічних форм азоту в аграрному виробництві Європи.

Результати досліджень та їх обговорення

Основним документом політично-правового регулювання динамічного розвитку аграрного виробництва на теренах ЄС є «Спільна аграрна політика» (САП) (*Common Agricultural Policy – CAP*), одна з найважливіших і найвитратніших сфер діяльності ЄС (понад 40 % її бюджету). САП існує у Європі від 1957 року й зазнала кілька варіантів змін з часів прояви та розширення ЄС [7, 3–6]. Ще одним документом, аналіз певних положень якого здійснено у ході дослідження, є Директива Ради ЄС 91/676/ЄЕС від 12 грудня 1991 року стосовно охорони вод від забруднення, спричиненого нітратами з сільськогосподарських джерел [1].

Остані потужні доповнення до САП відбулися 26 червня 2013 року, коли Парламент ЄС та Єврокомісія досягли політичного порозуміння щодо важливості чергової реформи аграрної політики. Ці зміни та доповнення стосуються 4 розпоряджень, які у 2014-2020 рр. повинні регулювати функціонування САП у сфері безпосередніх доплат, підтримки розвитку сільських

територій, організації спільних ринків збуту, а також фінансування, управління та моніторингу. Одним із важливих елементів цих змін є введення у дію поняття *проєкологічних територій*, а саме: з 2015 року сільськогосподарські підприємства, що мають понад 15 га ріллі, зобов'язані від 5 до 7% земель відвести під впровадження проєкологічних технологій. До них віднесено, у першу чергу, посіви азотфіксувальних рослин, а також різного виду тераси, елементи ландшафтного дизайну та ін. (докладний список наведено у багатьох джерелах) [3-6]. Отже, необхідність впровадження технологій землеробства з використанням біологічного азоту закріплено у ЄС на законодавчому рівні. Докладні розрахунки щодо відсотку такого типу посівів здійснюються за спеціальним алгоритмом, що враховує значну кількість чинників, основним з яких є якість чи клас ґрунтів.

Директива 91/676/ЄЕС ставить за мету зменшення або запобігання забрудненню води, спричиненого застосуванням та зберіганням азотних добрив та гною на сільськогосподарських угіддях, як для захисту постачання питної води, так і для запобігання більш широким збиткам навколишньому середовищу у формі евтрофікації прісної та морської води. Країни-члени Співтовариства повинні ідентифікувати водойми, яким завдано реальної чи може бути завдано потенційної шкоди від забруднення нітратами поверхневих прісних вод, ґрунтових вод, прісноводних озер, прибережних та морських вод [1, 2, 5, 8].

Основною нормою, що встановлюється відповідно до цієї Директиви для аграрних виробників, є обмеження щодо використання азотних мінеральних добрив у обсязі, що не перевищує 170 кг на гектар щорічно.

Втілення основних вимог Директиви 91/676/ЄЕС у Європі в 2004-2011 роках принесло помітні екологічні результати. Якість поверхневих вод значно покращилася більше ніж у 70% місць, охоплених моніторингом. У 27 країнах програми з цього напрямку охоплюють 39,6 % територій [5].

Відповідно до даних Європейського Статистичного Бюро, в 2008-2010 рр. використання азотних добрив у порівнянні до 2004-2007 рр. зменшилося на 6 % [8]. Від 2010 року показник залишається практично без змін.

Сьогодні Директива щодо обмеження використання нітратів є частиною цілого комплексу законодавчих актів ЄС з охорони навколишнього середовища [1-8]. Ці акти регламентують політику ЄС щодо якості повітря, води, змін клімату, ведення аграрного виробництва, а її втілення є важливим в таких напрямках:

- зменшення вмісту нітратів є інтегральною частиною Директиви щодо стану поверхневих вод (2000 р.), в якій зазначено, що вміст нітратів не повинен перевищувати 50 мг/л;
- покращення якості повітря й ґрунтів;
- кліматичні зміни;
- зниження емісії CO₂;
- переробка й утилізації відходів та ін.

Висновки

Аналіз змін та доповнень, що відбуваються протягом останніх років у основних законодавчих та нормативних документах ЄС, спрямованих на підтримку впровадження у аграрному виробництві технологій землеробства, що ґрунтуються на використанні біологічного азоту, дозволяє стверджувати наступне: проблема впровадження безпечних шляхів азотного живлення з інформаційно-заохочуючої площини переведена в нормативно-стимулюючу із законодавчим зазначенням доцільних границь використання.

1. Council Directive 91/676/EEC of 12 December 1991, concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources. [Електронний ресурс]. – Офіційний сайт Council of European Union, 1992. — Режим доступу: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1991L0676:20081211:EN:PDF>
2. Dyrektywa azotanowa. [Електронний ресурс]. — Офіційний сайт Krajowy Zarząd Gospodarki Wodnej, styczeń 2010. – Режим доступу: <http://www.kzgw.gov.pl/Dyrektywa-Azotanowa.html>
3. Kompromis polityczny w sprawie poweј WPR. [Електронний ресурс]. — Офіційний сайт Міністерства сільськогосподарства та розвитку села Польщі (Ministerstwo rolnictwa i rozwoju wsi), 17.07.2013. –

- Режим доступу: <http://www.minrol.gov.pl/pol/Informacje-branzowe/WPR-po-2013-roku/Aktualnosci-WPR-po-2013-roku/Kompromis-polityczny-w-sprawie-nowej-WPR>
4. *Ocena oddziaiywania Wspylnej Polityki Rolnej 2004-2006 i 2007-2013 oraz Polityki Spujnoьci 2004-2006 w zakresie przedmiotowym (SPO ROL) na poprawк stanu ьrodowiska obszaryw wiejskich wojewydzstwa pomorskiego.* [Електронний ресурс]. – Офіційний сайт Departamentu Rozwoju Regionalnego i Przestrzennego Urzкdu Marszalkowskiego Wojewydzstwa Pomorskiego w Gdacsку, 2014. – Режим доступу: http://ksow.pl/fileadmin/user_upload/ksow.pl/pliki/ANALIZY_ekspertyzy/OdzialywWPRiPolitykiSpojnosci-woj.pomorskie.pdf
 5. *Pietrzak S. Priorytetowe ьrodki zaradcze w zakresie ograniczania strat azotu i fosforu z rolnictwa w aspekcie ochrony jakoьci wody 2012 / Pietrzak S.* [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://iung.pl/dpr/publikacje/Pietrzak.pdf>
 6. *Przyszioьж Wspylnej Polityki Rolnej do roku 2020.* [Електронний ресурс]. — Zielony Instytut. Portal zielonej polityki, 2012. — Режим доступу: <http://zielonyinstytut.pl/download/wpr.pdf>
 7. *Purgal P. Czym jest Wspylna Polityka Rolna? / Purgal P.* [Електронний ресурс]. – Agencja restrukturyzacji i modernizacji rolnictwa, 2009. – Режим доступу: <http://www.arimr.gov.pl/pomoc-unijna/wspolna-polityka-rolna/czym-jest-wspolna-polityka-rolna.html>
 8. *Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the implementation of Council Directive 91/676/EEC concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources based on Member State reports for the period 2008-2011.* [Електронний ресурс]. – Офіційний сайт European Comission. Environment, 2012. — Режим доступу: http://ec.europa.eu/environment/water/water-nitrates/index_en.html

A.V. Kalinichenko, O.G. Minkowa

Полтавская государственная аграрная академия

Опольский университет, Польша

БИОЛОГИЧЕСКИЙ АЗОТ В ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВЕ ЕС

В статье представлен анализ законодательной базы ЕС, в которой регламентированы или рекомендованы к использованию биологические формы азота в аграрном производстве Европы.

Два основных документа, которые, по нашему мнению, обуславливают сегодня позитивные изменения, происходящие в биологическом земледелии – это «Общая аграрная политика» стран-членов ЕС и Директива 91/676/ЕЕС со всеми ее последними дополнениями.

Анализ изменений, происходящих в последние годы в основных законодательных и нормативных документах ЕС, ориентированных на поддержку внедрения в сельскохозяйственном производстве земледельческих технологий, которые базируются на использовании биологического азота, позволяет утверждать следующее: проблема использования безопасных путей азотного питания из информационно-рекомендуемой плоскости была переведена в нормативно-стимулирующую с законодательным определением приемлимых границ использования.

Ключевые слова: биологический азот, директива, законодательство ЕС

A. Kalinichenko, O. Minkowa

Poltava State Agrarian Academy, Ukraine

Opole University, Poland

BIOLOGICAL NITROGEN IN THE LEGISLATION OF THE EU

This article presents an analysis of the legislative framework of the EU, in which regulation or support for the use of biological forms of nitrogen in agricultural production in Europe is implemented.

Two main documents that in our opinion contribute to positive changes nowadays occurring in biological agriculture include the «Common Agricultural Policy» of EU Member States and the 91/676/EEC Directive with all its modern amendments.

The changes in recent years in the major laws and regulations of the EU, aimed at supporting the implementation of the farming technologies in agricultural production, which are based on the use of biological nitrogen, were analyzed. The results suggest the following: the problem of introduction of secure nitrogen nutrition methods was transferred from the information and encouraging plane into regulatory and catalytic plane with legislative indication of the appropriate boundaries of the use.

Keywords: biological nitrogen, directive, legislation of the EU

Рекомендує до друку
С.Я. Коць

Надійшла 24.04.2014

УДК 631.153.7:631.461.5:663.1+633.85(477)

В.Ф. ПАТЫКА

Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, ГСП, Д03680

БИОЛОГИЧЕСКИЙ АЗОТ И НОВАЯ СТРАТЕГИЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКЦИИ РАСТЕНИЕВОДСТВА В УКРАИНЕ

Обобщены результаты исследований процесса фиксации молекулярного азота микроорганизмами – необходимыми для восстановления и поддержания плодородия почв, получения экологически безопасной и качественной растительной продукции за счет использования биологического азота.

Ключевые слова: биологический азот, симбиотическая азотфиксация, ассоциативная азотфиксация, баланс питательных веществ, удобрения

Создание условий для устойчивого развития агроэкосистем является достаточно сложным процессом, который затрагивает широкий круг вопросов, начиная от физико-химических и биологических процессов в почве, заканчивая созданием современных агротехнологий, усовершенствованием специализации аграрных производственных систем, оптимизации структуры сельскохозяйственных ландшафтов и организации землепользования [12, 15].

В основе интенсификации развития зернового хозяйства и увеличения объемов производства зерна, предусмотренных Программой «Зерно Украины – 2015», лежит повышение урожайности зерновых культур путем оптимизации структуры посевных площадей и соблюдение севооборотов, использование минимизированных влагосберегающих систем обработки почв за счет улучшения минерального питания растений путем оптимального внесения удобрений и проведения химической мелиорации земель, освоение интегрированных систем защиты растений, более полное использование достижений селекции и семеноводства, повышение качества зерна и развитие ультраструктуры рынка [11].

Новая структура посевов до 2015 г. предусматривает следующие изменения: посевные площади зерновых культур будут составлять 16,2 млн га. Посевы пшеницы озимой оптимизируются на уровне 5 млн га. В озимом клине увеличатся площади тритикале до 500 тыс. га, рожь озимая будет высеваться на площади 300 тыс. га преимущественно в Полесской зоне, ячмень озимый будет занимать площадь 1,2 млн.га преимущественно в южном и западном регионах, где благоприятные условия для его зимовки. Благодаря сокращению посевов пшеницы озимой после непаровых предшественников будут существенно расширены посевы кукурузы на зерно до 5 млн га и сорго в южном регионе – до 500 тыс.га [11].

ЗАГАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

В свете изложенного становится понятным дефицит питательных веществ в земледелии, особенно азота и фосфора. Баланс питательных веществ в земледелии Украины, который вычислен по показателям выноса и поступления питательных веществ, является отрицательным. Дефицит основных элементов питания (NPK) составляет 50 кг д.в./га, что обусловлено низким уровнем внесения минеральных удобрений и неэффективным использованием биологического азота и фосфора (табл. 1). Кроме того, в Украине ежегодно смывается 15 т/га почвы, из которой теряется около 100 кг д.в.

Таблица 1

Баланс питательных веществ в земледелии Украины, 2011 г. [11]

Зона	Азот (N)	Фосфор (P ₂ O ₅)	Калий (K ₂ O)	Вместе (NPK)
Полесье	- 17,3	- 7,2	- 21,9	- 46,4
Лесостепь	- 30,2	- 13,0	- 17,1	- 60,3
Степь	- 21,4	- 11,6	- 6,1	- 39,1
Украина	- 24,8	- 11,8	- 13,6	- 50,2

Значение биологической фиксации азота в основном определяется ее вкладом в плодородие почв, разработке энергосохраняющих, экологически безопасных для окружающей среды и потребителей качественной сельскохозяйственной продукции и технологий.

Анализируя основные показатели зернового хозяйства Украины в условиях интенсификации производства (табл. 2) следует отметить, что происходят значительные изменения в приоритетах выращивания зерновых культур. На первое место выходит кукуруза, второе – пшеница, третье – соя, на четвертое – ячмень.

Таблица 2

Изменения приоритетности культур в земледелии Украины [11]

Место	1990 г.	2011 г.	2012 г.
1-е	Пшеница озимая	Пшеница озимая	Кукуруза
2-е	Ячмень ярый	Кукуруза	Пшеница озимая
3-е	Кукуруза	Ячмень ярый	Соя
4-е	Горох	Соя	Ячмень ярый

Структура производства зерна в 2011 и 2012 гг. приведена в табл. 3.

Таблица 3

Производство зерна в Украине в 2012-2013 гг. [3, 4]

Культуры	2011				2012			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Зерновые и зерно-бобовые культуры, всего	15321,3	56746,8	100	2837,3	14792,1	46216,2	100	2310,8
Зерновые и зерно-бобовые культуры (без кукурузы)	11777,6	33909,0	76,9	1695,4	10420,2	25254,9	70,4	1262,7
Пшеница (озимая и ярая)	6657,3	22323,6	43,5	1406,4	5629,7	15762,6	38,1	788,1
Ячмень (озимый и ярый)	3684,2	9097,7	24,0	309,3	3293,0	6936,4	22,3	235,8
Зернобобовые культуры (без сои), всего	336,1	491,1	2,2	34,3	303,4	473,4	2,1	33,1
Соя	1110,0	2264,4	7,2	158,5	1412,4	2410,2	9,5	168,7
Кукуруза на зерно	3543,7	22837,8	23,1	1278,9	4372,0	20961,3	29,6	1173,8

Примечание: 1 – общая убранная площадь, тыс.га; 2 – валовой сбор урожая, тыс.т; 3 – % к общему количеству; 4 – средний вынос азота с урожаем с почвы, тыс. т.

Как видно из табл. 3 в 2011 и 2012 гг. валовые сборы кукурузы на зерно превышали таковые озимой пшеницы, соответственно на 22837,8 - 22323,6 и 20961 -15762,6 тыс.т. Сбор зернобобовых культур без сои составлял 491,1 и 473,4 тыс.т. [3 ,4]. Безусловно, низкий процент насыщения севооборота (2,1%) зернобобовыми культурами сказывается на биологической фиксации азота и потере предшественника под озимые зерновые культуры, которым является горох. Увеличение посевов сои (насыщение 9,5% севооборота) несколько повышает уровень биологической фиксации азота.

На использованную в сельском хозяйстве Украины площадь вносилось определенное количество удобрений (табл. 4). Вместе с тем из данных в табл. 4 видно четко выраженную неравномерность внесения удобрений под разные культуры [1, 2].

Отмеченные в табл. 4 низкие дозы удобрений под зерновые культуры не в состоянии возместить природную утрату плодородия этих почв при средней урожайности 2,8 т/га. Поэтому значительное количество азота берется их урожаем с фонда почвы, что приводит при этом к резкому снижению плодородия почв. Ряд авторов [9, 12, 15] указывают на то, что стабилизация гумуса и повышение плодородия почв наступает при ежегодном внесении вместе с минеральными высокими норм навоза (15 т/га) в зависимости от уровня плодородия и типа почвы. Однако, сопоставляя данные табл. 3 и 4 видим, что и указанные нормы не могут восстановить потери.

Закономерно возникает вопрос о плодородии почв Украины и прежде всего о балансе азота в земледелии государства, а также долевом участии в нем биологического азота.

Главным является микробная азотфиксация, обеспечивающая не только сиюминутную потребность организмов в азоте, но и резервирование его в виде различных азотсодержащих соединений [5-8,13,14]. Азотфиксация, появившаяся у самых первых организмов (бактерий и архей), практически одновременно с возникновением на Земле жизни, приобрела по мере ее распространения на планете глобальные масштабы, а связанный при этом азот стал играть ключевую роль в биосфере. Важным для понимания роли азотфиксирующих бактерий в поддержании продуктивности и устойчивости биосферы стало обнаружение разнообразных по составу симбиозов с эукариотными организмами, причем не только с растениями, но и с животными [18].

Азотфиксирующие симбиозы различны по составу входящих в них организмов, но обладают одним общим свойством – тесным сопряжением биогеохимических циклов азота и углерода [5-7, 13, 15, 16]. Такая интеграция азотного и углеродного метаболизма наиболее характерна для симбиозов бактерий и растений. Симбиотические микроорганизмы растений наиболее активно исследуются в связи с процессами фиксации атмосферного азота клубеньковыми бактериями бобовых растений (ризобиями). К последним относятся граммотрицательные бактерии родов *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium* [5-7,9,13,16].

Для расчета азотфиксации зернобобовыми культурами были использованы статистические данные о площади посева, урожайности этих культур в 2012 г. и справочные данные о содержании в них азота [3, 4]. При расчетах был принят коэффициент азотфиксации 0,55 от валового содержания азота в зерне бобовых растений. Этот обобщающий коэффициент обоснован результатами опытов многочисленных научно-исследовательских учреждений Украины [13]. Что касается злаковых зерновых, то этот коэффициент составляет приблизительно 0,15 [4, 17].

Проведенный анализ показывает, что азотфиксация зерновыми бобовыми культурами, которые занимали площадь в 2012 г 1,7 млн.га, при урожайности 2,3 т/га, достигала 0,09 млн. т азота воздуха и в растительных остатках 0,04 млн. т. При перерасчете на 1 га посева зернобобовых это в среднем составляет 54 кг/га азота в урожае и и 23,5 в растительных остатках. Однако, если учитывать, что посевные площади однолетних и многолетних бобовых на лугах, пастбищах и т.д. приблизительно в 10 раз больше чем посева зерновых бобовых, то азотфиксация бобовых культур составляет 1 и более млн.т ежегодно.

Бобово-ризобияльная система издавна использовалась в практике сельского хозяйства для улучшения азотного баланса почвы. Однако клубеньковые бактерии инфицируют только

ЗАГАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ

бобовые растения, причем избирательность взаимоотношений настолько высока, что предполагает использование конкретных видов бактерий для конкретных культур. Указанная особенность существенно ограничивает сферу эффективного использования клубеньковых бактерий. В частности их влияние на злаковые и другие небобовые растения в севообороте проявляется на следующий год после уборки урожая бобовых [12,13,15].

Таблиця 4

Внесение минеральных и органических удобрений под основные зерновые культуры в Украине в 2011-2012 гг.

Основные сельскохозяйственные культуры	Органические удобрения				Минеральные удобрения			
	тыс/т		т/га		NPK, тыс/ц		N, кг/га	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012
Внесено в питательных веществах – всего	9845,7	9636,9	0,5	0,5	12633,1	13430,0	68/48	72/50
В том числе:								
зерновые и зернобобовые культуры (без кукурузы)	2916,8	2825,3	0,3	0,4	5449,9	5267,2	64/45	71/50
с них:								
под пшеницу	2067,0	2061,9	0,4	0,5	4015,4	3828,7	78/55	88/62
кукурузу на зерно	2618,0	2143,0	0,6	0,6	2618,0	3406,0	93/65	96/67
сою	214,1	236,7	0,2	0,2	489,3	602,7	47/12	46/12

Примечание: числитель – NPK на 1 гектар посевной площади, кг; знаменатель – азотных удобрений на 1 гектар посевной площади, кг

Однако, несмотря на высокую эффективность азотфиксации в симбиозах, в масштабах биосферы их вклад в общий баланс «биологического» азота сравнительно невелик, что обусловлено ограниченностью распространения таких сообществ. Даже в агроэкосистемах доля бобовых культур не превышает 10% общей площади посевов сельскохозяйственных культур, а в природных фитоценозах бобовые растения присутствуют лишь на первых этапах сукцессий и их практически нет в климаксных экосистемах [12].

Наибольшего внимания здесь заслуживают пути управления микроорганизмами, населяющих прикорневую и корневую зону растений. Это направление стало интенсивно развиваться в ведущих странах мира более 40 лет назад и получило название *ассоциативной азотфиксации*. Эти микроорганизмы не образуют специализированных органов (клубеньков) на корнях и стеблях [8-10, 12, 13, 17 и др.].

Выводы

Азот не только основной биогенный элемент, главный компонент живой материи, играющий важнейшую роль в жизни растений и животных, но и ведущий элемент земледелия. Вряд ли в жизни растений найдется другой биохимический процесс, подобный процессу азотфиксации, изучение которого представляло бы столько загадочности и тайн, противоречий и неопределенности, широких горизонтов и перспектив в практике сельскохозяйственного производства.

1. *Державна служба статистики України. Внесення мінеральних та органічних добрив під урожай сільськогосподарських культур у 2011 р. / відп. за випуск О.М. Прокопенко. — К., 2012. — 52 с.*
2. *Державна служба статистики України. Внесення мінеральних та органічних добрив під урожай сільськогосподарських культур у 2011 р. / відп. за випуск О.М. Прокопенко. — К., 2013. — 52 с.*
3. *Державна служба статистики України. Збір урожаю сільськогосподарських культур, плодів, ягід та винограду в регіонах України за 2011 р. / відп. за випуск О.М. Прокопенко. — К., 2012. — 136 с.*
4. *Державна служба статистики України. Збір урожаю сільськогосподарських культур, плодів, ягід та винограду в регіонах України за 2012 р. / відп. за випуск О.М. Прокопенко. — К., 2013. — 136 с.*
5. *Коць С.Я. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобияльный симбиоз / Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф., Даценко В.К., Кругова Е.Д., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н., Михалкив Л.М. [монография: в 4-х т.] / том 1/ . — К.: Логос, 2010. — 508 с.*

6. Коць С.Я. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобийный симбиоз / Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф., Маличенко С.М., Маменко П.Н., Киризий Д.А., Михалкив Л.М., Береговенко С.К., Мельникова Н.Н. [монография: в 4-х т.]. — Т. 2. — К.: Логос, 2011. — 523 с.
7. Коць С.Я. Биологическая фиксация азота: генетика азотфиксации, генетическая инженерия штаммов / Коць С.Я., Моргун В.В., Тихонович И.А., Проворов Н.А., Патыка В.Ф., Петриченко В.Ф., Мельникова Н.Н., Маменко П.Н. : [монография: в 4-х т.]. — Т. 3. — К.: Логос, 2011. — 404 с.
8. Коць С.Я. Биологическая фиксация азота: ассоциативная азотфиксация /Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф., Петриченко В.Ф., Надкерничная Е.В., Кириченко Е.В. [монография: в 4-х т.]. — Т. 4. — К.: Логос, 2011. — 412 с.
9. Мишустин Е.Н. Биологическая фиксация атмосферного азота / Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. — М., 1968. — 530 с.
10. Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями / [отв. ред. В.В. Игнатов]; Ин-т биохимии и физиологии растений и микроорганизмов. — М.: Наука, 2005. — 262 с.
11. Нова стратегія виробництва зернових та олійних культур в Україні /В.Ф. Петриченко, М.Д. Безуглий, В.М. Жук, О.О. Іващенко. — К.: Аграр. Наука, 2012. — 48 с.
12. Патыка В.П. Мікроорганізми і альтернативне землеробство / Патыка В.П., Тихонович І.А., Філіп'єв І.Д., Гамаюнова В.В., Андрусенко І.І. — Київ: Урожай, 1993. — 176 с.
13. Патыка В.П. Біологічний азот /Патыка В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В., Шерстобоева О.В., Мельничук Т.М., Калініченко А.В., Гриник І.В. — Київ: Світ, 2003. — 424 с.
14. Патыка В.П. Биологический азот в земледелии Украины //Міжнародна науково-практична конференція «Іноваційні агротехнології за умов зміни клімату (Мелітополь-Кирилівка, 7-9 червня 2013 р.)/Патыка В.Ф., Коць С.Я.: Матеріали тез. — Мелітополь-Кирилівка, 2013. — Вип. 2. — С.178—181.
15. Петриченко В.Ф. Сільськогосподарська мікробіологія і збалансований розвиток агроєкосистем / Петриченко В.Ф., Тихонович І.А., Коць С.Я., Патыка М.В., Мельничук Т.М., Патыка В.П. - Вісник аграрної науки. — 2012. — № 8. — С. 5—11.
16. Тихонович И.А. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агросистем будущего / Тихонович И.А., Проворов Н.А. — СПб, 2009. — 211 с.
17. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация / Умаров М.М. — М.: Изд-во МГУ, 1986. —132 с.
18. Умаров М.М. Микробиологическая трансформация азота в почве / Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. — М.: ГЕОС, 2007. — 138 с.

В.П. Патыка

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К.Заболотного НАН України

БІОЛОГІЧНИЙ АЗОТ І НОВА СТРАТЕГІЯ ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКЦІЇ РОСЛИННИЦТВА В УКРАЇНІ

Узагальнено результати досліджень процесу фіксації молекулярного азоту мікроорганізмами - природного процесу, необхідного для відновлення і підтримки родючості ґрунтів, одержання екологічно безпечної та якісної рослинної продукції за рахунок використання біологічного азоту.

Показано, що баланс поживних речовин в землеробстві України, який обчислено за показниками виносу і надходження поживних речовин, є негативним. Дефіцит основних елементів живлення (NPK) становить 50 кг д.р./га, що зумовлено низьким рівнем внесення мінеральних добрив і вкрай неефективним використанням біологічного азоту і фосфору.

Акцентується увага на низькому відсотку насичення сівозміни (2,1%) зернобобовими культурами, що позначається на біологічній фіксації азоту і втрати попередника під озимі зернові культури, яким є горох. Збільшення посівів сої (насичення 9,5% сівозміни) дещо підвищує рівень біологічної фіксації азоту.

Азот не тільки основний біогенний елемент - головний компонент живої матерії, який відіграє найважливішу роль в житті рослин і тварин, але і один з головних елементів живлення у землеробстві. Навряд чи в житті рослин знайдеться інший біохімічний процес, подібний процесу азотфіксації, вивчення якого представляло б стільки загадковості і таємниць, протиріч і невизначеності, широких горизонтів і перспектив у практиці сільськогосподарського виробництва.

Ключові слова: біологічний азот, симбіотична азотфіксація, асоціативна азотфіксація, баланс поживних речовин, добрива

V.P. Palyka

D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NASU, Ukraine

**BIOLOGICAL NITROGEN AND A NEW STRATEGY OF CROP PRODUCTION
MANUFACTURE IN UKRAINE**

The summary of research results on the process of molecular nitrogen fixation by microorganisms - a natural process necessary to restore and maintain soil fertility, production of environmentally safe and high quality plant products through the use of biological nitrogen, is presented.

It is shown that the balance of nutrients in agriculture of Ukraine, which is calculated by the indicators of nutrient removal and supply, is negative. Deficiency of major nutrients (NPK) is 50 kg / ha, due to low levels of application of mineral fertilizers and the extremely inefficient use of biological nitrogen and phosphorus.

The attention is paid to the low percentage of crop rotation saturation (2.1%) with leguminous plants, which affects biological nitrogen fixation, and to the loss of precursor for winter crops, such as peas. Increase in soybean seeding (9.5% saturation of crop rotation) somewhat increases the level of biological nitrogen fixation.

The nitrogen is not only the main biogenic element - the main component of living matter, which plays a crucial role in the life of plants and animals, but also the key nutrient in agriculture. It is unlikely that in plant life other biochemical process similar to nitrogen fixation exists, the study of which would be associated with such mystery and a large number of secrets, contradictions and uncertainties, but also with wide horizons and perspectives in the practice of agricultural production.

Keywords: organic nitrogen, symbiotic nitrogen fixation, associative nitrogen fixation, balance of nutrients, fertilizers

Рекомендує до друку

В.В. Грубінко

Надійшла 04.06.2014

БОТАНІКА

УДК 581:502.63 (210)

М.М. БАРНА, Л.С. БАРНА, Р.Л. ЯВОРІВСЬКИЙ, Н.В. ГЕРЦ, О.Б. МАЦЮК

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

ЧЕРВОНОКНИЖНІ РОСЛИНИ ГОЛИЦЬКОГО БОТАНІЧНОГО ЗАКАЗНИКА ТА ЇХ ОХОРОНА

У статті наведені дані трьохрічних (2012–2014 рр.) досліджень рідкісних і ендемічних видів Голицького ботанічного заказника (Бережанський р-н Тернопільської обл.). Встановлено, що на відносно невеликій території заказника (60 га) зростає 337 видів вищих судинних рослин, з яких 25 видів занесені до «Червоної книги України. Рослинний світ» (2009), що належать до 10 родин, зокрема: 11 видів з родини Зозулинцеві (*Orchidaceae* Juss.), по 3 види з родин Айстрові (*Asteraceae* Dumort.) і Жовтецеві (*Ranunculaceae* Juss.), 2 види з родини Бобові (*Fabaceae* Lindl.) і по 1 виду з таких родин як Злакові (*Poaceae* Barnhart), Лілійні (*Liliaceae* Juss.), Молочайні (*Euphorbiaceae* Juss.), Тимелеєві (*Thymelaeaceae* Juss.), Розові (*Rosaceae* Juss.) і Рутові (*Rutaceae* Juss.). Водночас на основі власних досліджень і аналізу літературних даних висловлена необхідність розширення території заказника та включення його до складу регіонального ландшафтної парку «Бережанське Опілля», що дозволить проводити на належному науковому рівні природоохоронну роботу в досліджуваному регіоні.

Ключові слова: Червона книга України, рослинний світ, Голицький ботанічний заказник, ендемічні види, рідкісні рослини, природоохоронний статус

На думку науковців концепція сталого розвитку є однією з найперспективніших сучасних ідеологій, яка передбачає необхідність керованого розвитку для забезпечення балансу між задоволенням сучасних потреб людства та врахуванням інтересів наступних поколінь. Одним із важливих індикаторів сталого розвитку є збереження біорізноманіття. Саме тому вивчення видового складу рослин, які потребують охорони, є надзвичайно важливим [8].

Зусилля всієї ботанічної спільноти України увінчалися підготовкою й публікацією третього видання «Червоної книги України. Рослинний світ» (2009), яке відрізняється від попереднього детальнішою характеристикою структури популяцій, екологічних умов зростання, конкретизацією режимів збереження популяцій та заходів їх охорони. Ця робота є відображенням багаторічних досліджень великого колективу ботаніків різних регіонів України і нині є унікальним прикладом успішної реалізації колективного підходу до вирішення важливих наукових і прикладних завдань ботанічної науки [1-4, 7].

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом для написання статті слугували рідкісні рослини Голицького ботанічного заказника, занесені до «Червоної книги України. Рослинний світ» (2009). Популяції рослин виявлені під час маршрутних досліджень заказника, що охоплює гору Голиця в Бережанському районі Тернопільської області загальною площею понад 60 га. Основний метод, який застосовували у процесі дослідження — метод пробних ділянок, які закладали по горизонталі та вертикалі через 20 м (розмір пробної ділянки становив 1 м²).

Необхідно зазначити, що ступінь поширення або рясність було визначено окомірним методом прямого обліку протягом 2012–2014 рр., тобто за останні три роки. Цей метод застосовують у процесі маршрутних обстежень рослинності для з'ясування окремих питань, коли не потрібні надто точні дані. Такий облік зазвичай проводять за бальною системою або за шкалою чисельності виду у фітоценозі, зокрема, за шкалою, запропонованою О. Друде (1913). У цій системі оцінки рясності виду прийнято таку градацію: *Soc (socialis)* — рослини змикаються надземними частинами; *Cop³ (copiosae)* — рослини дуже рясні; *Cop²* — рослини рясні; *Cop¹* — рослини досить рясні; *Sp (sparsae)* — рослини трапляються рідко; *Sol (solitariae)* — рослини поодинокі; *Un (unicum)* — одна рослина на площі виявлення.

Українські, російські та латинські назви рослин наведені за: [6, 11, 14, 19].

Результати досліджень та їх обговорення

Унікальність флори Голицького ботанічного заказника визначають її червонокнижні, рідкісні та ендемічні види [2, 4]. Протягом 2008–2014 рр. у процесі проведення маршрутно-експедиційних та геоботанічних досліджень у різних типах фітоценозів заказника нами встановлено та підтверджено, що в його межах зростає 337 видів вищих судинних рослин, які належать до 4 відділів, 5 класів, 68 родин і 233 родів. Із досліджених 337 видів 25 (7,4 %) занесені до «Червоної книги України. Рослинний світ» (2009), що належать до 10 родин, зокрема: 11 видів родини **Зозулинцеві (Orchidaceae Juss.)**: билинці – б. довгорогий (*Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br.) та б. найзапашніший (*G. odoratissima* (L.) Rich.), булатка довголиста (*Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch.), гніздівка звичайна (*Neottia nidus-avis* (L.) Rich.), плодоріжка салепова (зозулинець салеповий) (*Anacamptis morio* (L.) R. M. Bateman, Pringleon et M.W.Chase), зозулинець.шоломоносний (*Orchis militaris* L.), зозулині сльози яйцеподібні (*Listera ovata* (L.) R. Br.), коручки – к. темно-червона (*Epipactis atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Besser) та к. болотна (*E. palustris* (L.) Crantz), зозульки бузинові (пальчатокорінник бузиновий) (*Dactylorhiza sambucina* (L.) Soó.), любка дволиста (*Platanthera bifolia* (L.) Rich.), по 3 види з родин **Айстрові (Asteraceae Dumort.)**: відкасники – в. осотоподібний (*Carlina cirsioides* Klokov) і в. татарниколистий, дев'ятисил татарниколистий (*C. onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl.), жовтозілля Бессера (*Senecio besserianus* Minder.) та **Жовтецеві (Ranunculaceae Juss.)**: вітеринка нарцисоквіткова (анемона нарцисоквіткова) (*Anemone narcissiflora* L.), сон великий (*Pulsatilla grandis* Wender.), горицвіт весняний (*Adonis vernalis* L.), 2 види з родини **Бобові (Fabaceae Lindl.)**: підковка чубата (гіпокрепіс чубатий) (*Hippocrepis comosa* L.) та конюшина червонувата (*Trifolium rubens* L.) і по 1 виду з таких родин як **Злакові (Poaceae Barnhart)** — ковила найкрасивіша (*Stipa pulcherrima* C. Koch); **Лілійні (Liliaceae Juss.)** — лілія лісова (*Lilium martagon* L.); **Молочайні (Euphorbiaceae Juss.)** — молочай волинський (*Euphorbia volhynica* Besser ex Racib.); **Тимелеєві (Thymelaeaceae Juss.)** — вовче лико пахуче (боровик) (*Daphne sneorum* L.); **Розові (Rosaceae Juss.)** — шипшина Чацького (*Rosa czackiana* Bess.); **Рутові (Rutaceae Juss.)** — ясенець білий (*Dictamnus albus* L.) [5, 12, 13, 16].

За природоохоронним статусом види, відповідно до ст. 13 Закону України «Про Червону книгу України», розподілені за такими категоріями: *зниклі* (види, щодо яких відсутня будь-яка інформація про наявність їх в Україні у природі чи спеціально створених умовах); *зниклі в природі* (види, які зникли в Україні у природі, але збереглися у спеціально створених умовах або поза межами України); *зникаючі* (види під загрозою зникнення, для яких спостерігається скорочення ареалу або зниження чисельності; їх збереження є малоімовірним без усунення дії негативних факторів); *вразливі* (види, які у найближчому майбутньому можуть бути віднесені до категорії зникаючих, якщо триватиме дія факторів, які негативно впливають на стан їх популяцій); *рідкісні* (види, відомі з небагатьох місцезнаходжень, популяції яких характеризуються відносно стабільними, хоча і низькими показниками); *неоцінені* (види, про які відомо, що вони можуть належати до категорії зникаючих, вразливих чи рідкісних, але ще не віднесені до жодної з цих категорій; у тому числі більш-менш широко розповсюджені у різних регіонах України); *недостатньо відомі* (види, які потребують подальших досліджень і які не можна віднести до жодної із вищезазначених категорій через відсутність необхідної

достовірної інформації; у тому числі таксономічно критичні види). Зазначимо, що прийнята у Червоній книзі України категоризація не співпадає з міжнародною [12, 15, 17].

Нижче наводимо природоохоронний статус видів у районі дослідження, їх наукове значення, умови місцезростання, загальну біоморфологічну характеристику, ступінь поширення, динаміку популяцій та світлини окремих найхарактерніших червонокнижних рослин Голицького ботанічного заказника, зокрема:

1. Родина Зозулинцеві (*Orchidaceae* Juss.).

1) билинець довгорогий (*Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br.).



Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: вид зі складною біологією розвитку.

Умови місцезростання: на луках, галявинах, узліссях.

Загальна біоморфологічна характеристика: мезофіт, геофіт, багаторічна трав'яна рослина до 65 см заввишки. Бульби 4–6-лопатеві, пальчасті, сплюснені. Листки лінійно-ланцетні, жолобчасті. Суцвіття колосоподібне, із численних невеликих рожевих квіток 6–15 см завдовжки. Приквітки яйцеподібно-ланцетні, видовжено-загострені, бічні зовнішні листочки оцвітини еліптичні, відхилені набік, середній зовнішній листочок і бічні внутрішнього кола сходяться шоломом. Губа ромбоподібна, 5–6 мм завдовжки, неглибоко-трилопатева, з тупими лопатями. Шпорка спрямована косо догори, ниткоподібна, в 1,5–2 рази довша від зав'язі. Цвіте у червні–липні. Плононосить у серпні–жовтні. Розмножується переважно насінням, дуже рідко бульбами.

Ступінь поширення та динаміка популяцій:

sp (sparsae), трапляється поодинокими групами по 1–5 рослин.

2) билинець найзапашніший (*Gymnadenia odoratissima* (L.) Rich.).

Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: європейський вид на сх. межі ареалу, має складну біологію розвитку.

Умови місцезростання: на лісових галявинах, серед чагарників.

Загальна біоморфологічна характеристика: геофіт, багаторічна трав'яна рослина до 35 см заввишки. Бульби пальчато–лопатеві. Листки вузько-лінійні або лінійні, гострі. Суцвіття колосоподібне, вузько–циліндричне, щільне. Квітки дрібні, ясно–пурпурові, із сильним запахом ванілі. Шпорка коротша, ніж зав'язь, спрямована донизу. Цвіте в червні–липні, плононосить у серпні–вересні. Ступінь природного поновлення невідомий, насіння проростає лише у симбіозі з певними видами грибів.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sol (solitariae)*, відоме одне місцезростання у кількості до 10 особин.

3) булатка довголиста (*Cephalanthera longifolia* (L.) Fritsch.)

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: вид зі складною біологією розвитку.

Умови місцезростання: тіністі (букові) широколистяні ліси.

Загальна біоморфологічна характеристика: геофіт, багаторічна трав'яна рослина 15–60 см заввишки. Кореневище коротке. Стебло пряме або трохи звивисте. Листки лінійно-ланцетні, загострені, 7–16 см завдовжки. Суцвіття негусте, з 3–10 (20) великих білих квіток. Приквітки короткі, лише нижні довші зав'язі. Зовнішні листочки оцвітини ланцетні (12–16 мм), внутрішні

— довгасто-еліптичні, коротші від зовнішніх. Губа майже вдвоє коротша від зовнішніх листочків оцвітини. Зав'язь скручена, сидяча, до 1 см завдовжки. Цвіте у травні–червні. Плодоносить у липні–серпні. Розмножується насінням і вегетативно.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp (sparsae)*, відомо декілька популяцій, чисельність яких стабільна.

4) гніздівка звичайна (*Neottia nidus-avis* (L.) Rich.).

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: рослина зі складною біологією розвитку та сапротітним (симбіомікотрофним) типом живлення.

Умови місцезростання: тіністі мішані ліси, переважно з розрідженим трав'яним покривом.

Загальна біоморфологічна характеристика: геофіт, багаторічна жовтувато-бура сапротрофна рослина заввишки 20–45 см. Кореневище горизонтальне, з густо розташованими товстими, м'ясистими коренями, скрученими у вигляді пташиного гнізда. Стебло світло-буре, з 3–5 буруватими лусками, розвинені листки відсутні. Квітки жовтувато-бурі, з медовим запахом, досить великі, зібрані у довге китицеподібне суцвіття, приквітки лінійно-ланцетні. Листочки оцвітини обернено-яйцеподібні, 4–6 мм завдовжки, складені широким дзвоником. Зав'язь не скручена. Цвіте у червні–липні. Плодоносить у серпні–вересні. Розмножується насінням, рідше вегетативно. Насіння проростає під землею за участю симбіотичного гриба. Надземний пагін розвивається на 9–10-й рік і через два місяці після цвітіння засихає.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp (sparsae)*, чисельність популяцій та їх кількісний склад стабільні.

5) плодоріжка салепова (зозулинець салеповий) (*Anacamptis morio* (L.) R. M. Bateman, Pringle et M.W.Chase).

Природоохоронний статус виду: зникаючий.

Наукове значення: рідкісний вид на східній межі ареалу, із складним циклом розвитку.

Умови місцезростання: лучно-степові схили, узлісся.

Загальна біоморфологічна характеристика: геофіт, багаторічна трав'яна рослина 10–35 см заввишки. Бульби кулясті. Листки (4–7) скупчені при основі стебла, ланцетні, сизо-зелені, відігнуті, тупі; вище — дрібніші, загострені. Суцвіття коротке, овальне або циліндричне, не густе. Квітки фіолетово-пурпурові зі слабким запахом. Губа розділена на три рівні лопаті, ширші за довжину, середня – тупо обрізана. Цвіте у травні–липні, плодоносить у червні–липні. Розмножується насінням, іноді вегетативно (однорічними коренебульбами).

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sol (solitariae)*, популяція малочисельна, скоротилася до 6 представників.

6) зозулинець шоломоносний (*Orchis militaris* L.).

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: євразійський палеоарктичний вид на пд. межі ареалу.

Умови місцезростання: лучно-степові та степові схили із зрідженим травостоєм.

Загальна біоморфологічна характеристика: геофіт, багаторічна трав'яна рослина 15–40 см заввишки, з яйцеподібними бульбами. Листки довгасто-еліптичні, зібрані у нижній частині стебла. Суцвіття колосоподібне, густе. Квітки рожево-фіолетові. Зовнішні листочки оцвітини зібрані у вигляді шолома. Цвіте у травні–липні. Плодоносить у червні–липні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp (sparsae)*, відомо декілька місцезростань по 3–6 екземплярів.

7) зозулині сльози яйцеподібні (*Listera ovata* (L.) R. Br.).

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: рослина зі складною біологією розвитку.

Умови місцезростання: переважно вологі та затінені місця у лісах, на узліссях, серед чагарників.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина 25–60 см заввишки. Кореневище товсте і коротке. Листки (2) майже супротивні, еліптично-

яйцеподібні, тупі, 5–15 см завдовжки, 3–9 см завширшки. Суцвіття китицеподібне, з численних (до 40 і більше), дрібних, жовтувато-зелених квіток. Приквітки яйцеподібно-ланцетні. Всі листочки оцвітини (окрім губи) однакової довжини, зелені, зовнішні яйцеподібні, внутрішні лінійно-довгасті. Губа в 2–3 рази довша, жовтувато-зелена, вузько-клиноподібна, майже до середини надрізана на 2 тупі лопаті. Зав'язь не скручена. Цвіте у червні–липні, плодоносить в липні–серпні. Розмножується вегетативно та насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp (sparsae)*, відомо 4 місцезростання з досить високою та стабільною чисельністю.

8) коручка темно-червона (*Epipactis atrorubens* (Hoffm. ex Bernh.) Besser).

Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: рідкісна рослина.

Умови місцезростання: ліси, серед чагарників.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина, 25–70 см заввишки. Кореневище коротке, товсте, горизонтальне. Стебло у верхній частині коротко-густо-опушене, буро-фіолетове. Листків 5–9, довші за міжвузля, нижні — довгасто-яйцеподібні або еліптичні, 4–8 см завдовжки, верхні — ланцетні, загострені. Суцвіття — довга, пряма негуста майже однобічна китиця, вісь суцвіття густо опушена. Приквітки ланцетні. Квітки пурпурові, із запахом ванілі. Листочки оцвітини до 6–7 мм завдовжки, яйцеподібні, загострені, складені широким дзвоником, внутрішні трохи коротші за зовнішні. Губа 5,5–6,5 см завдовжки, її гіпохілій чашоподібно увігнутий, з широким переднім входом, епіхілій серцеподібний, загострений, при основі з двома зморщеними горбочками. Зав'язь пряма, не скручена, густо опушена. Цвіте у червні–липні. Плодоносить у серпні–вересні. Розмножується насінням, дуже рідко — кореневищем.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sol (solitariae)*, відоме єдине місцезростання чисельністю до 20 рослин.

9) коручка болотна (*Epipactis palustris* (L.) Crantz).

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: рідкісна рослина.

Умови місцезростання: у межах верхового болота, яке утворилося на території заказника внаслідок виходу на поверхню підземних джерельних вод.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина 20–70 см заввишки. Кореневище довге, повзуче. Стебел декілька, прямостоячих. Листки (4–8) довгасто-яйцеподібні, ланцетні. Суцвіття – багатоквіткова китиця, не щільне. Приквітки ланцетні. Квітки до 2,5 см завдовжки, звислі, зовнішні листочки оцвітини ланцетні, 9–11,5 мм завдовжки, зеленкуваті, зсередини зеленкувато-білі або червонуваті, внутрішні – довгасто-яйцеподібні, білуваті, з рожевими смужками; губа довша за зовнішні листочки оцвітини. Зав'язь веретеноподібна, коротко опушена. Цвіте у червні–липні. Плодоносить у липні–серпні. Розмножується насінням та вегетативно.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp (sparsae)*, досить чисельна популяція у структурі болотного фітоценозу.

10) зозульки бузинові (пальчатокорінник бузиновий) (*Dactylorhiza sambucina* (L.) Sob.).

Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: європейсько-середземноморський зникаючий вид на сх. межі диз'юнктивного ареалу.

Умови місцезростання: лучні ділянки на ґрунтах, що мають кислу реакцію.

Загальна біоморфологічна характеристика: геофіт, багаторічна трав'яна рослина 10–30 см заввишки, з циліндричними роздвоєними бульбами. Стебло порожнисте, улишене майже до суцвіття. Листки довгасто-ланцетні, тупі. Суцвіття колосоподібне, щільне, до 6 см завдовжки. Квітки жовті, з губою, рідко засіяною пурпуровими цятками, або рожеві чи пурпурові, із слабким запахом бузини. Цвіте у квітні–травні, в гірських регіонах — у червні. Плодоносить у травні–липні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sol (solitaries)*, відомий з 2 місцезростань, з одного можливо зник.

11) любка дволиста (*Platanthera bifolia* (L.) Rich.).



Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: європейсько-середземноморський неморальний вид, що має складну біологію розвитку.

Умови місцезростання: у розріджених букових лісах, на луках, серед чагарників.

Загальна біоморфологічна характеристика: геофіт, багаторічна трав'яна рослина 20–60 см заввишки. Бульби цілісні, овальні. Стебло високе, струнке, при основі обгорнуте 2–3 бурими піхвами, листків 4–6, нижні 2–3 великі, еліптичні, зближені при основі стебла. Суцвіття китицеподібне, циліндричне, негусте, 10–25 см завдовжки. Квітки великі, білі, пахучі. Губа довга, лінійна, спрямована донизу, значно довша за інші листочки оцвітини. Шпорець зігнутий, в 1,5–2 рази довший за зав'язь. Цвіте у червні–липні, плодоносить у серпні–вересні. Розмножується насінням. Рослина зацвітає на 11-му році життя. Тривалість життя до 27 років.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp (sparsae)*, розсіяно трапляється поблизу лісових масивів заказника.

2. Родина Айстрові (*Asteraceae* Dumort.).

12) відкасинок осотоподібний (*Carlina cirsioides* Klokov).

Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: ендемічний вид з вузькою еколого-ценотичною амплітудою.

Умови місцезростання: степові та лучно-степові схили.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт. Корінь стрижневий. Стебла поодинокі або по два, 15–50 см заввишки, прямостоячі, прості, клочкувато-павутинисті, брудно-пурпурові, густо улиснені, з одним кошиком. Листки від пірчасто-розсічених до пірчасто-роздільних, деякі пірчасто-надрізані, в обрисі довгасто-еліптичні, 11–45 см завдовжки і 7–15 см завширшки, світло-зелені, черешкові, з коричнювато-пурпуровим черешком, павутинисті з обох боків; їхні бокові сегменти в кількості 4–10 пар, пальчасто-надрізані, з довгасто-ланцетними лопатями, по краях колючо-зубчасті. Кошик 9–13 см діаметром; верхівкові листочки підпирають кошик, з широкими черешками й розгалуженими колючками; зовнішні листочки обгортки сидячі, колючо загострені, довгасті, темно-бурі; середні яйцеподібно- або вузько-ланцетні, тонко загострені, зовні бурувато-коричневі, павутинисті; внутрішні лінійні або вузько-лінійні, жовтуваті, з зовнішнього боку бурувато-пурпурові; віночки 11–13 мм завдовжки, жовтуваті. Сім'янки довгасті, темно-сірі, густо-волосисті, на верхівці по краю з кільцем волосків, чубок 14–17 мм завдовжки. Цвіте у серпні–вересні, плодоносить у лютому–березні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sol (solitaries)*, відоме одне місцезростання чисельністю до 10 екземплярів.

13) відкаси́к татарниколистий, дев'ятисил татарниколистий (*Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl.).



Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: південний малопольсько-подільський ендемік в ізольованих локалітетах.

Умови місцезростання: лучно-степові угруповання на схилах заказника.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічний трав'яний монокарпік з тривалим, (3) 5–10 (15) років, вегетативним розвитком. Має потужний стрижневий корінь. Стебло

нерозвинене, рослина виглядає як розпростерта розетка листків з великим кошиком у центрі. Листки еліптичні або довгасто-еліптичні, 6–35 см завдовжки, жорсткі, пірчасто-надрізані, густопавутинисті; їхні бічні лопаті, на верхівці з колючкою, по краях нерівно-колючо-зубчасті. Кошик 15–20 (25) см діаметром; листочки обгортки колючо-зубчасті. Віночки 17–20 мм завдовжки, жовтуваті. Сім'янки довгасті, темно-сірі, густо-волосисті. Цвіте у липні–серпні, плодоносить у вересні–жовтні. Розмножується насінням, але воно часто висипається взимку.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *cop*¹, наявна одна корінна чисельна популяція із якої вид поширюється на інші ділянки заказника.

14) жовтозілля Бессера (*Senecio besserianus* Minder.).

Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: волино-подільський ендемік.

Умови місцезростання: лучно-степові ділянки.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина з укороченим кореневищем. Стебла прямі, 40–65 см заввишки, прості, борозенчасті, з червонувато-фіолетовими смугами, злегка павутинисто-волосисті або майже голі. Прикореневі та найнижчі стеблові листки овальні або видовжено-овальні, з добре розвиненими черешками; по краю неглибоко-нерівно-городчасті або майже цілокраї, голі, рідше злегка павутинисті; середні листки сидячі або з короткими черешками, обернено-ланцетні або видовжені, верхні сидячі, майже лінійні, дрібні. Кошиків 3–6 (10), 10–15 мм завширшки, зібрані в зонтикоподібні щитки; обгортка при основі павутинисто-шерстиста, однорядна; її листочки лінійні або лінійно-довгасті, червонувато-буруваті, на верхівці темно забарвлені, торочкуваті; язичкові квітки слабо розвинені, інколи відсутні; трубчасті квітки численні, 7–10 мм завдовжки, червонувато-помаранчові. Сім'янки видовжені, звужені на кінцях, коричнюваті, густо опушені; чубок у два–три рази довший за сім'янку. Цвіте у червні, плодоносить у липні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sol (solitaries)*, трапляється поодинокі (по декілька рослин).

3. Родина Жовтецеві (*Ranunculaceae* Juss.).15) вітеринка нарцисоквіткова (анемона нарцисоквіткова) (*Anemone narcissiflora* L.).

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: високогірний вид з диз'юнктивним ареалом.

Умови місцезростання: стрімкий, слабо задернований схил.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина з мичкуватою кореневою системою, короткими кореневищами та напіврозетковими моноподіальними надземними пагонами. Стебла 10–50 см заввишки, з прикореневою розеткою й приквітковим покривалом. Прикореневі листки з трійчасто-розсіченими пластинками п'ятикутної чи майже округлої форми. Суцвіття зонтикоподібні, іноді квітки поодинокі. Листків приквіткового покривала три чи більше, вони сидячі, тринадрізні чи роздільні, ромбічно-овальні. Оцвітина біла. Плоди багатогорішки. Цвіте у червні–липні, плодоносить у липні–серпні. Розмноження виключно насіннєве.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp* (*sparsae*), відоме одне місцезростання, проте популяція є досить чисельною і стабільною.

16) сон великий (*Pulsatilla grandis* Wender.).

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: центральноевропейський вид, що має дифузне поширення близько східної межі ареалу.

Умови місцезростання: схили з лучно-степовою і степовою рослинністю.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина з вкороченим каудексом. Прикореневі листки з'являються після цвітіння, молоді густо й відстовбурчено жовтувато-пухнасті, пізніше розсіяно-опушені; пластинки їх яйцеподібні, трійчасто-п'ярко-розсічені, з лінійно-ланцетними сегментами. Квіткове стебло 10–40 см заввишки, прямостояче, разом зі стебловими листками густо вкрите м'якими жовтуватими волосками, одноквіткове; стеблові листки утворюють дзвоникувате покривало. Квітка прямостояча, широко-дзвоникувата, пізніше розкрита; листочків оцвітини 6, довгасто-яйцеподібних, лілових або фіолетових, зовні густо-волохатих. Плодики довгасті, волосисті. Цвіте у квітні–травні, плодоносить у червні–липні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *cop*², поширений по всій обезлісненій території заказника.

17) горицвіт весняний (*Adonis vernalis* L.).



Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: євросибірський лісостеповий вид.

Умови місцезростання: лучно-степові ділянки.

Загальна біоморфологічна характеристика: криптофіт, багаторічна трав'яна рослина 15–50 см заввишки з товстим косо-горизонтальним коротким кореневищем і прямими надземними пагонами. Листки пальчасто-розсічені на вузькі ниткоподібні долі. Квітки поодинокі, 2–3 см в діаметрі, золотисто-жовті з 12–20 жовтими і 15 зеленуватими листочками оцвітини. Плід багатогорішок. Цвіте у березні–квітні. Плодоносить у травні. Розмножується насінням та вегетативно.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: cop^2 , поширений по всій обезлісненій території заказника.

4. Родина Бобові (*Fabaceae* Lindl.).

18) підковка чубата (гіпокреніс чубатий) (*Hippocrepis comosa* L.).

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: західноєвропейський вид з диз'юнктивним ареалом. В Україні на пн.-сх. межі поширення.

Умови місцезростання: лучно-степові ділянки.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина 10–20 см заввишки. Стебла численні, лежачі або висхідні. Корінь стрижневий. Листки до 5–7 см завдовжки, непарно-пірчасті, з яйцеподібними чи овальними частками, довго-черешкові. Квітки жовті, у зонтикоподібних суцвіттях, квітконоси довші за листки. Біб дуже характерний — підковоподібно зігнутий з виїмками, голий. Цвіте у травні–липні. Плодоносить у липні–серпні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: cop^1 , поширений спорадично по всій території заказника.

19) конюшина червонувата (*Trifolium rubens* L.).



Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: центральноєвропейський вид, що знаходиться на східній межі поширення і трапляється рідко.

Умови місцезростання: суходільні луки, лучні степи, узлісся, чагарники.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина до 20–90 см заввишки. Стебла прямостоячі чи висхідні. Листки в обрисі яйцеподібні, листочки ланцетні 4–8 см завдовжки та 1–1,5 см завширшки, по краю нерівномірно-зубчасті, зісподу із сіткою жилок. Суцвіття досить велика, видовжена яйцеподібна або циліндрична голівка 4–10 см завдовжки та

2–3,5 см завширшки. Квітки червоні, 1,3–1,6 см завдовжки. Боби яйцеподібно-кулясті, плівчасті, однонасінні. Цвіте у червні–липні, плодоносить у липні–серпні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *cop*², спорадично, досить чисельними пуляціями поширений на більшій території заказника.

5. Родина Злакові (*Poaceae* Varnhart).

20) ковила найкрасивіша (*Stipa pulcherrima* C. Koch).



Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: євразійський степовий вид.

Умови місцезростання: степові та лучно-степові схили.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина. Стебла 40–90 см завдовжки, голі. Листки до 3 мм завширшки, нещільно вздовж складені, зовні голі, гладенькі або шорсткі від густих шипиків і сосочків,

зсередини — щетинисто-волосисті. Волоть 15–20 см завдовжки, вузька, стиснута. Остюк завдовжки 50 см, пірчастий, його гола частина коричнево-бура. Цвіте у травні–липні. Плодоносить у червні–липні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *cop*¹, популяції досить чисельні й стабільні у кількісному відношенні.

6. Родина Лілійні (*Liliaceae* Juss.).

21) лілія лісова (*Lilium martagon* L.).

Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: вид з диз'юнктивним ареалом, єдиний дикорослий вид роду *Lilium* L. в Україні, який скорочує своє поширення.

Умови місцезростання: лісові галявини, узлісся.

Загальна біоморфологічна характеристика: геофіт, багаторічна трав'яна рослина 50–150 см заввишки. Цибулина яйцеподібної форми, черепитчаста, жовта. Стебло зелене, під суцвіттям безлисте, середні листки по 5–6 в кільцях. Суцвіття китцеподібне, квітки повислі, на довгих квітконіжках, ясно-пурпурові з темно-фіолетовими плямочками, ароматні, зібрані у негусту китицю. Трапляються рослини із іншим забарвленням квітів — жовто-оранжевим, червоним та ін. При розквітанні листочки-оцвітини закручуються угору, між ними звисають довгий зігнутий стовпчик та шість довгих тичинок. Плід шестигранна коробочка, яка при дозріванні розтріскується на три частини. Цвіте в червні–липні. Плодоносить у серпні. Розмножується насінням та вегетативно, утворюючи дочірні цибулини.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sol* (*solitaries*), відомо 2 місцезростання, популяції малочисельні, мають тенденцію до скорочення.

7. Родина Молочайні (*Euphorbiaceae* Juss.).**22) молочай волинський (*Euphorbia volhynica* Besser ex Racib.).**

Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: Волино-подільський ендемік.

Умови місцезростання: схили, лучні степи, узлісся.

Загальна біоморфологічна характеристика: гемікриптофіт, багаторічна трав'яна рослина з сильно розгалуженим здерев'янілим кореневищем. Стебло дуже розгалужене від основи, прямостояче, з пазушними квітконосами й численними неплідними гілочками під ними, 30–60 см заввишки, густо опушене. Листки довгасто-еліптичні,

1–7 см завдовжки й до 2 см завширшки. Квітки світло-жовті, забрані в густі щиткоподібні суцвіття. Плід стиснено-яйцеподібний тригоришок, густо опушений довгими волосками. Насінини 2,5–2,75 мм завдовжки. Цвіте в травні–липні, плодоносить у липні–серпні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp* (*sparsae*), відомо декілька популяцій чисельністю 3–7 рослин.

8. Родина Тимелеєві (*Thymelaeaceae* Juss.).**23) вовче лико пахуче (боровик) (*Daphne sneorum* L.).**

Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: рідкісний диз'юнктивно поширений вид.

Умови місцезростання: узлісся, травяні схили.

Загальна біоморфологічна характеристика: хамефіт, кущик до 30 см заввишки, стебло лежаче, висхідне, часто укорінюється, кора сіро-коричнева. Листки зимово-зелені, шкірясті, почергові, лопатчасті або довгасто-обернено-яйцеподібні, дрібні, 8–16 мм завдовжки. Квітки рожеві, ароматні, по 6–20 зібрані у пучки на кінці стебла. Плід кістянка. Цвіте у квітні–травні, плодоносить у липні–серпні. Розмножується насінням та вегетативно.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sol* (*solitariae*), відомий із 2-3 місцезростань, популяції малочисельні.

9. Родина Розові (*Rosaceae* Juss.).**24) шипшина Чацького (*Rosa czackiana* Bess.).**

Природоохоронний статус виду: вразливий.

Наукове значення: ендемік зі складного поліморфного комплексу *Rosa gallica* L. s.l.

Умови місцезростання: лучно-степові угруповання та ксерофітні чагарникові зарості.

Загальна біоморфологічна характеристика: нанофанерофіт, невеличкий кущ до 45 (60) см заввишки, з міцними столонами; стебла тонкі, вкриті прямими різновеликими шипиками. Листки 10–11 см завдовжки, вісь листка вкрита сидячими залозками з домішкою шипиків; прилистки вузькі, до 2 мм завширшки, зверху голі, зісподу по краю усіяні сидячими залозками; листочки дрібні, вузько-еліптичні або вузько-ланцетні, зверху голі, зісподу волосисті, інколи з домішкою залозок. Квітки поодинокі, 3–4 см діаметром; чашолистки коротші або дорівнюють пелюсткам, з обох боків голі, після цвітіння розхилені в боки, зберігаються до початку почервоніння гіпантіїв; диск дуже товстий, конусоподібний, з вузьким зівом, до 1 мм діаметром; стовпчики маточок виступають із зіву, утворюючи нещільну колонку.

Гіпантії кулясті або овально-кулясті, достиглі — яскраво-червоні, зрідка вкриті стеблистими залозками. Цвіте в червні–липні, плодоносить у серпні–вересні.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *sp (sparsae)*, відомий з одного місцезростання, де популяція нараховує декілька десятків рослин.

10. Родина Рутові (*Rutaceae* Juss.).
25) ясенець білий (*Dictamnus albus* L.).



Природоохоронний статус виду: рідкісний.

Наукове значення: пд.-ср. європейський вид на пн. та сх. межах поширення.

Умови місцезростання: у лучно-степових угрупованнях.

Загальна біоморфологічна характеристика: криптофіт, багаторічна трав'яна рослина з коротким кореневищем. Стебла прямі, поодинокі, або розгалужені, 50–120 см заввишки, розсіяно й коротко опушені, у нижній частині голі, з почерговими непарно-пірчастими листками. Листочків 7–9, шкірястих, довгасто-еліптичних, по краю дрібно хрящувато-пилчастих, 3–4 см завдовжки й 1–3 см завширшки. Суцвіття китицеподібне. Квітки зигоморфні, поодинокі або по 2–3. Чашечка 5-роздільна, залозиста, неопадна. Пелюсток 5, пурпурових, дуже рідко білих, з темними фіолетовими прожилками, 2,6–2,8 см завдовжки. Плід 5-лопатева коробочка. Насінини грушоподібні, чорні, блискучі. Цвіте у травні–липні,

плодоносить у липні–серпні. Розмножується насінням.

Ступінь поширення та динаміка популяцій: *cop¹*, популяція досить чисельна й має тенденцію до розширення й збільшення кількості особин [11, 15–18].

Окрім того, на території Голицького ботанічного заказника зростає понад 50 регіонально-рідкісних видів рослин, зокрема: молочай мигдалеподібний — *Euphorbia amygdaloides* L., перстач білий — *Potentilla alba* L., в'язіль увінчаний — *Coronilla coronata* L., стародуб широколистий — *Laserpitium latifolium* L., підмаренник забутий — *Galium exoletum* Klok., воловик Баррельє — *Anchusa barrelieri* (All.) Vitm., наперстянка великоцвіта — *Digitalis grandiflora* Mill., кадило сарматське — *Melittis sarmatica* Klok., ахірофорус плямистий — *Achyrophorus maculatus* (L.) Scop., волошка тернопільська — *Centaurea ternopoliensis* Dobrocz., скорзонера пурпурова — *Scorzonera purpurea* L., юринея вапнякова — *Jurinea calcarea* Klok., чемериця чорна — *Veratrum nigrum* L., півники угорські — *Iris hungarica* Waldst. et Kit., сизюринхій гірський — *Sisyrinchium montanum* Greene, осока низька — *Carex humilis* Leys. та ін.

Із прийняттям Закону України «Про загальнодержавну програму формування національної екологічної мережі на період 2000–2015 років» наступив новий етап у розбудові заказника. Статус Голицького ботанічного заказника та його роль у перспективній екомережі повинні бути особливими. Поки що Голицький заказник – ізольований природно-заповідний

об'єкт невеликий за площею, недостатньо сприятливий для повноцінного збереження та відтворення унікального генофонду. Тому завданням найближчого майбутнього є істотне збільшення території заповідних ландшафтів навколо Голиці як шляхом розширення меж наявного заказника, так і приєднання нових ділянок екомережі. Зокрема, передбачається створення геолого-спелеологічного Підвисоцького заказника на площі 200 га для збереження унікальних геолого-геоморфологічних форм карстового рельєфу і пов'язаних з ними специфічної рослинності та тваринного світу. Науковцями Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка обґрунтовувалась можливість входження території заказника до перспективного Опільського природного національного парку, розташованого у прилеглих районах Тернопільської, Івано-Франківської та Львівської областей та створення Голицького заповідника. Найбільш вірогідною є пропозиція входження Голицького заказника до складу регіонального ландшафтного парку «Бережанське Опілля» загальною площею близько 1500 га. Це дасть можливість включити Голицький ботанічний заказник як один із біоцентрів перспективного природного ядра, яке б репрезентувало у майбутній регіональній екологічній мережі Бережансько-Опільський ландшафт. Згідно з науковими підходами площа ландшафту природного ядра не повинна бути меншою за 500 га, а разом з буферною зоною сягати 1000 і більше га [9, 10].

Отже, Голицькому природному ядру потрібні додаткові заповідні площі для належної біотичної і ландшафтної репрезентації Бережанського горбогірного району. Голиця має всі передумови бути одним із найунікальніших біологічних центрів у системі природних ядер перспективних регіональної та національної екомережі.

Висновки

Досліджені популяції рідкісних і ендемічних видів рослин (всього 25 видів) Голицького ботанічного заказника, занесених до третього видання «Червона книга України. Рослинний світ» (2009). Водночас проведені дослідження дають підставу вважати за необхідне розширення території заказника та включення його до складу регіонального ландшафтного парку «Бережанське Опілля», що дозволить у майбутньому проводити на належному науковому рівні природоохоронну роботу в районі дослідження.

1. Барна М. М. Голицький біостаніонар Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка: історія, наукова та навчальна діяльність / М. М. Барна // Наук. запис. Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біол. — 2008. — № 2 (36). — С. 3–10.
2. Голицький ботаніко-ентомологічний заказник загальнодержавного значення: монографія / Барна М. М., Царик Л. П., Зелінка С. В. та ін.; за заг. ред. М. М. Барни. — Тернопіль: Лілея, 1997. — 164 с.
3. Голубець М. А. Біотична різноманітність і наукові підходи до її збереження / М. А. Голубець. — Львів: Ліга-Прес, 2003. — 33 с.
4. Кобів Ю. Й. Популяції рідкісних видів Українських Карпат: структура, динаміка, збереження: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора біол. наук: спец. 03.00.05 «Ботаніка» / Ю. Й. Кобів. — К., 2014. — 40 с.
5. Онтогенез та вікова структура популяції *Dictamnus albus* L. в умовах Голицького ботаніко-ентомологічного заказника / Н. Д. Шанайда, М. М. Барна, С. В. Зелінка [та ін.] // Наук. запис. Терноп. держ. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Сер. Біол. — 1998. — № 2 (4). — С. 26–30.
6. *Определитель* высших растений Украины / Доброчаева Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др. — Киев: Наук. думка, 1987. — 548 с.
7. Охорона генофонду флори і рослинності Голицького державного ботаніко-ентомологічного заказника на Тернопільщині / С. В. Зелінка, М. М. Барна, Н. Д. Шанайда [та ін.] // Наук. запис. Терноп. держ. пед. ун-ту. Сер. біол., хім., пед. — 1994. — Вип. 1. — С. 35–38.
8. *Природно-ресурсний потенціал сталого розвитку України* / [Данилишин Б. М., Дорогунцов С. І., Міщенко В. С. та ін.]. — К.: РВПС України, 1999. — 716 с.
9. Свинко Й. М. Про створення Голицького державного заповідника / Й. М. Свинко, В. М. Черняк, П. М. Дем'янчук // Матеріали міжнар. наук. конф. «Еколого-географічні дослідження в сучасній географічній науці» (Тернопіль, 6–7 жовт. 1999 р.). — Тернопіль: ТДПУ, 1999. — С. 86–88.
10. Царик Л. П. Природні заповідні території / Л. П. Царик. — Тернопіль, 1998. — 60 с.
11. *Червона книга України. Рослинний світ* / за ред. Я. П. Дідуха. — К.: Глобалконсалтинг, 2009. — 912 с.: іл.

12. *Червона книга України. Рослинний світ (2009) та охорона рідкісних рослин Голицького ботанічного заказника загальнодержавного значення / Барна М. М., Барна Л. С., Яворівський Р. Л. та ін. // Дослідження флори і фауни Західного Поділля: регіон. наук.-практ. конф. (24–25 травня 2013 р., с. Гутисько Бережанського р-ну Тернопільської обл.): матеріали конф. — Тернопіль, 2013. — С. 72–76.*
13. *Червоні книги України. Рослинний світ (1980, 1996, 2009): таксономічні, географічні та соціологічні аспекти / [М. М. Барна, Р. Л. Яворівський, Н. В. Герц та ін.] // Освіта та наука на хім.-біол. ф-ті Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка (1940–2010): регіон. наук.-практ. конф., (с. Гутисько Бережанського р-ну Тернопільської обл., 20–21 трав. 2010 р.): матеріали конф. — Тернопіль: Вид-во ТНПУ ім. Володимира Гнатюка, 2010. — С. 12–15.*
14. *Черепанов С. К. Сосудистые растения СССР / С. К. Черепанов. — Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1981. — 510 с.*
15. *Яворівський Р. Л. Систематична структура флори Голицького ботаніко-ентомологічного заказника / Р. Л. Яворівський // Матеріали регіон. наук.-практ. конф., присвяченої 10-річчю створення Голицького біостаніонару ТНПУ ім. Володимира Гнатюка (с. Гутисько Бережанського р-ну Тернопільської обл., 6–7 трав. 2008 р.). — Тернопіль: Вид-во ТНПУ ім. Володимира Гнатюка, 2008. — С. 23–25.*
16. *Яворівський Р. Л. Червонокнижні рослини Бережанського району Тернопільської області, їх видовий склад та стан охорони / Р. Л. Яворівський, І. В. Відзівашець // Пробл. та перспект. наук в умовах глобал.: матеріали ІУ Всеукраїнської наукової конференції. — Тернопіль: ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2008. — С. 61–64.*
17. *Яворівський Р. Л. Еколого-ценотична структура флори Голицького ботанічного заказника / Р. Л. Яворівський, М. М. Барна, Н. Й. Созанська // Освіта та наука на хім.-біол. ф-ті Терноп. нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка (1940–2010): регіон. наук.-практ. конф., (с. Гутисько Бережанського р-ну Тернопільської обл., 20–21 трав. 2010 р.): матеріали конф. — Тернопіль: Вид-во ТНПУ ім. Володимира Гнатюка, 2010. — С. 29–31.*
18. *Яворівський Р. Л. Аналіз географічної структури флори Голицького ботанічного заказника / Р. Л. Яворівський, Н. Й. Созанська // Дослідження флори і фауни Західного Поділля: регіон. наук.-практ. конф., (24–25 трав. 2013 р., с. Гутисько Бережанського р-ну Тернопільської обл.): матеріали конф. — Тернопіль, 2013. — С. 21–24.*
19. *Czerepanov S. K. Vascular plants of Russia and adjacent states (the former USSR) / S. K. Czerepanov. — Cambridge: Univ. Press, 1995. — 516 p.*

Н.Н. Барна, Л.С. Барна, Р.Л. Яворивский, Н.В. Герц, О.Б. Мацюк

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

КРАСНОКНИЖНЫЕ РАСТЕНИЯ ГОЛИЦКОГО БОТАНИЧЕСКОГО ЗАКАЗНИКА И ИХ ОХРАНА

В статье приведены данные трехлетних (2012–2014 гг.) исследований редких и эндемических видов Голицкого ботанического заказника (Бережанский р-н Тернопольской обл.). Установлено, что на относительно небольшой территории заказника (60 га) произрастает 337 видов высших сосудистых растений, из которых 25 видов занесены в «Красную книгу Украины. Растительный мир» (2009), которые относятся к 10 семействам, в частности: 11 видов к семейству Ятрышниковые (*Orchidaceae* Juss.), по 3 вида к семействам Астровые (*Asteraceae* Dumort.) и Лютиковые (*Ranunculaceae* Juss.), 2 вида к семейству Бобовые (*Fabaceae* Lindl.) и по 1 виду к таким семействам как Злаки (*Poaceae* Barnhart), Лилейные (*Liliaceae* Juss.), Молочайные (*Euphorbiaceae* Juss.), Волчниковые (*Thymelaeaceae* Juss.), Розовые (*Rosaceae* Juss.) и Рутовые (*Rutaceae* Juss.). На основании собственных исследований и анализа литературных данных высловлена необходимость расширения территории заказника и включения его в состав регионального ландшафтного парка «Бережанское Ополе», что позволит проводить на глубоком научном уровне природоохранную работу в исследуемом регионе.

Ключевые слова: Красная книга Украины, растительный мир, Голицкий ботанический заказник, эндемические виды, редкостные растения, природоохранный статус

N. N. Barna, L. S. Barna, R. L. Yavorivski, N. V. Gerts, O. B. Matsuk

Ternopil national teachers' training university named after Vladimir Gnatuk

M. Kryvonos Str. 2, Ternopil city, 46027

PLANTS OF GOLITSYI BOTANIC RESERVE RECORDED INTO RED BOOK AND THEIR PROTECTION

Data of three years research (2012-2014 years) of rare and endemic kinds of Golitskiy botanic reserve is given in the article. It is ascertained that 337 kinds of higher vascular plants grow on a rather small territory of the reserve (60 ha). 25 kinds of these plants are recorded into "Red book of Ukraine, Vegetable kingdom" (2009), which are related to 10 families, particularly: 11 kinds to the family Orchidaceae Juss, 3 kinds to the family Asteraceae Dumort and family Ranunculaceae Juss, 2 kinds to the family Fabaceae Lindl. and 1 kind to such families as Poaceae Juss., Liliaceae Juss., Euphorbiaceae Juss., Thymelaeaceae Juss., Rosaceae Juss. and Rutaceae Juss. On the basis of own research and analysis of literature data there is a necessity of expansion of the territory of the reserve and its including into the structure of regional landscape park "Berezhanskoe Opol'e". This fact will give an opportunity to hold nature conservation work in the explored region on the profound and scientific level.

Keywords: Red book of Ukraine, The vegetable kingdom, Golitskiy botanic reserve, endemic kinds, rare plants, nature conservation status

Рекомендує до друку

Н.М. Дробик

Надійшла 29.05.2014

ГІДРОБІОЛОГІЯ

УДК (577.152.1:577.112.384)582.26

В.В. ГРУБІНКО, О.І. БОДНАР, О.В. ВАСИЛЕНКО, А.І. ЛУЦІВ, Г.Б. ВІНЯРСЬКА

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

ФУНКЦІОНУВАННЯ ГЛУТУМАТДЕГІДРОГЕНАЗНОГО ШЛЯХУ ЗВ'ЯЗУВАННЯ АМОНІЮ У ПРІСНОВОДНИХ ВОДОРОСТЕЙ

Показано, що адаптаційний потенціал прісноводних водоростей (*Anabaena cylindrica* Lemm. HPDP-1, *Navicula atomus* (Näg.) Grun. АСКУ 12-02, *Desmodesmus communis* (Hegew.) Hegew. IBASU-A 371, *Chlorella vulgaris* Beijer.) до аміаку в фізіологічних умовах характеризується загальними принципами – глутаматдегідрогеназа здійснює зв'язування чи виведення аміаку з клітин залежно від екологічних умов існування водоростей та їх потреб у азоті, а глутамінсинтетаза є спряженим ферментом у разі активації глутаматдегідрогеназного шляху фіксації аміаку рослинами. Однак адаптаційні перебудови азотного метаболізму за участю глутаматдегідрогенази та глутамінсинтетази виявляється у зміні активності залежно від виду водоростей, бо цей процес спрямований на реалізацію стратегій адаптації синьозелених, діатомових і зелених водоростей до умов існування.

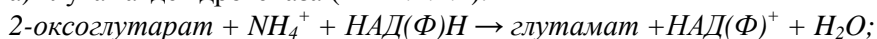
Ключові слова: прісноводні одноклітинні водорості, амоній, глутаматдегідрогеназа, глутамінсинтетаза

Відомо, що одними з визначальних чинників формування продуктивності водних екосистем та якості поверхневих вод є неорганічні сполуки Нітрогену (NO_3^- , NO_2^- та NH_4^+). Екологічний гомеостаз сполук Нітрогену у водних екосистемах визначається швидкістю їх утворення за рахунок біогеохімічних процесів, метаболізму гідробіонтів, а також надходженням з антропогенних джерел та перетворенням і зв'язуванням у мікробіологічних та біохімічних процесах, що сукупно формує малий колообіг Нітрогену [16, 19]. Його швидкість і ефективність визначається як неорганічними реакціями, так і метаболічною активністю біоти.

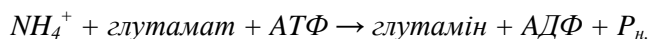
В аеробних та анаеробних умовах в результаті амоніфікації і автолізу білкових сполук утворюється аміачний азот (NH_4^+), який в аеробних умовах окиснюється до нітритного азоту (NO_2^-), а далі до нітратного азоту (NO_3^-). Нітрат-іон (NO_3^-) надалі поглинається водоростями та вищими водяними рослинами, бо він становить основу їх азотного живлення. При окисненні різноманітних органічних субстратів і молекулярного азоту в результаті здійснюється процес денітрифікації $[\text{CH}_2\text{O}] + \text{NO}_3^- = \text{N}_2 + \text{CO}_2$. Цьому перешкоджає розчинений кисень (якщо його є достатня кількість), що є акцептором електронів замість нітрат-іона (NO_3^-). Нестача розчиненого кисню викликає зниження вмісту нітратів (NO_3^-) та накопичення нітритного (NO_2^-) і аміачного (NH_4^+) азоту [3, 19].

Зелені водорості здатні засвоювати нітрити, нітрати та солі амонію, а останній становить собою субстрат для амонійзв'язуючих ферментів рослин [6]. Серед них найефективнішими є:

а) глутаматдегідрогеназа (КФ 1.4.1.2):



б) глутамінсинтетаза (КФ 6.3.1.2):



Глутаматдегідрогеназа каталізує взаємоперетворення α -кетоглутарату і глутамату, при якому одночасно відбувається взаємотрансформація неорганічного азоту амонію і органічного α -амінного азоту. Роль відновника може відігравати НАДН або НАДФН [14]. Далі за дії трансаміназ азот глутамінової кислоти перерозподіляється, включаючись до складу інших амінокислот [10].

Необхідно зазначити, що амонійний та нітратний азот за певних умов – рівноцінні джерела живлення для рослин. Переважне поглинання амонійного азоту відбувається тоді, коли NH_4^+ є єдиним джерелом азоту [1, 6, 8]. Використання рослинами амонійного або нітратного азоту залежить від ряду факторів, найважливішими з яких є: біологічні особливості виду рослин, забезпеченість її вуглеводами, реакція середовища, наявність кальцію, калію та інших елементів живлення, в тому числі мікроелементів. При нейтральній реакції амонійний азот засвоюється рослинами краще, а при кислій – гірше, ніж нітратний [5].

Поглинання NH_4^+ може відбуватись пасивно з допомогою полегшеної дифузії через NH_4^+ специфічний канал, що веде до різкої деполаризації клітинної мембрани. При поглинанні іону амонію викинутий з клітини протон в основному залишається поза нею, тому рН зовнішнього середовища знижується [8]. Газоподібний NH_3 може адсорбуватись через продири, він більш токсичний, ніж NH_4^+ , бо викликає різке підвищення рН у цитозолі, що пригнічує фермент глутамінсинтетазу і блокує весь метаболізм азоту. Головна різниця між поглинанням NO_3^- і NH_4^+ в їх чутливості до рН зовнішнього середовища: NH_4^+ краще поглинається при нейтральному рН 7, а в кислому середовищі його поглинання знижується. NO_3^- , навпаки, краще поглинається при кислому рН 5,5, бо потрібно багато протонів для котранспорту нітратів [8].

Нітрати, перш ніж будуть використані для синтезу азотовмісних органічних речовин, мають бути відновлені до NH_4^+ . Амоній у великих концентраціях токсичний для рослин, бо він руйнує протонний градієнт на мембранах, який використовується при транспорті електронів у процесах фотосинтезу, дихання, а також при транспорті метаболітів у вакуолі. Клітини рослин здатні швидко знижувати токсичний ефект амонію, утвореного як при відновленні нітратів, так і при інших процесах, шляхом його швидкої асиміляції з утворенням глутаміну і глутамінової кислоти або швидкого перекидання у вакуолі [8].

Аміак бере участь у біосинтезі азотовмісних речовин у рослинній клітині, бо є єдиною і універсальною вихідною формою неорганічного азоту для біосинтезу амінокислот, амідів і білків, є не тільки кінцевим продуктом їх деградації, але й ефективним регулятором клітинної активності [1].

Метою дослідження було вивчення особливостей зв'язування аміаку водоростями в культурі.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами лабораторних досліджень були альгологічно чисті культури зелених (*Desmodesmus communis* (Hegew.) Hegew. IBASU-A 371 (= *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. та *Chlorella vulgaris* Beijer.), синьозелених (*Anabaena cylindrica* Lemm. HPDP-1) та діатомових (*Navicula atomus* (Näg.) Grun. АСКУ 12-02) водоростей, отриманих із колекцій Інституту ботаніки НАН України та Інституту гідробіології НАН України.

Зелені та синьозелені водорості культивували у середовищі Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горхема №11 при температурі 22–25°C та освітленні лампами денного світла (інтенсивність 2500 лк) протягом 16 годин на добу [9]. Діатомею *N. atomus* вирощували на середовищі Болда за температури 18±1°C в умовах природного світла (північна експозиція) [15].

Для визначення активності ферментів, що зв'язують амонійний азот, готували гомогенати біомаси водоростей. При цьому їх клітини відділяли від середовища за допомогою мембранних фільтрів Синпор № 4 (діаметр пор 0,85 мкм). Під час приготування гомогенатів використовували 5 мМ трис-НСІ буфер (рН = 7,6), який містив 0,5 М сахарози, 0,005 ЕДТА, 0,01 М КСІ та 0,001 М MgCl_2 у співвідношенні 1:5 (сира маса : об'єм буферу) і розтирали у механічному гомогенізаторі при 7000 об./хв. Потім гомогенати центрифугували при 5000

об./хв. протягом 15 хв. для осадження уламків клітинних стінок. Одержану надосадову суспензію використовували для подальших експериментальних досліджень. Всі процедури здійснювали за температури +4°C.

Активність глутаматдегідрогенази (КФ 1.4.1.2) визначали спектрофотометричним методом на СФ-46 за швидкістю окиснення НАДН або НАДФН в реакційній суміші, що складалася із ферментної суспензії, 50 мМ трис-НСІ буфера (рН = 7,2 та рН = 8,3); 10 мМ α-кетоглутарату; 0,025 мМ НАДН (НАДФН) і 20 мМ (NH₄)₂НРО₄. Ферментну активність виражали в мкмоль НАДН (НАДФН)/мг білку·хв [12].

Активність глутамінсинтетази (КФ 6.3.1.2) досліджували в синтетазній реакції [2]. Реакційна суміш при визначенні активності ГС фосфатним методом містила 25 мМ трис-НСІ буфер (рН = 7,2), 16 мМ глутамату натрію, 6 мМ NH₄СІ, 6 мМ MgSO₄, 15 мМ АТФ та буферний екстракт в кількості, необхідній для утворення 1–10 мкмоль глутаміну протягом 45 хв. при 35 – 37°C. Реакцію зупиняли додаванням 4,0 мл 1,8% FeSO₄ у 0,3 М Н₂SO₄ та 0,4 мл 6,6 % (NH₄)₆Мо₇О₂₄ у 7,5 М Н₂SO₄, і фотометрували на спектрофотометрі СФ-46 при 700 нм проти контрольного розчину. Ферментну активність виражали в мкмоль Р_н/мг білку·хв.

Вміст білків в усіх варіантах досліджень визначали згідно методики, наведеної у роботі [17].

Вміст амонійного азоту встановлювали, використовуючи колориметричний метод [7].

Активну реакцію середовища (рН) встановлювали за допомогою іономіру ЭВ-74.

Одержані дані опрацьовані методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті досліджень встановлені такі показники ферментної активності (табл.).

Таблиця

Активність ферментів азотного обміну у водоростей та вміст іонів NH₄⁺ у середовищі їх культивування, (M±m, n=6)

Активність фермента	Вид водоростей			
	<i>A. cylindrica</i>	<i>D. communis</i>	<i>Ch. vulgaris</i>	<i>N. atomus</i>
НАДН-глутаматдегідрогеназа, мкмоль НАДН / мг білку·хв.	(2,57±0,21) 10 ⁻³	(10,25±0,23) ·10 ⁻³	(51,28±2,05) 10 ⁻³	—
НАДФН-глутаматдегідрогеназа, мкмоль НАДФН / мг білку·хв.	(2,23±0,28) ·10 ⁻³	(14,51±0,53) 10 ⁻³	(80,44±3,10) 10 ⁻³	—
Глутамінсинтетаза, мкмоль Р _н / мг білку·хв.	(32,20±2,87) 10 ⁻³	(8,87±0,15) 10 ⁻¹	(36,78±2,87) 10 ⁻¹	(2,50±0,04) 10 ²
NH ₄ ⁺ , мг N/дм ³	0,283±0,014	0,134±0,012	0,344±0,025	0,029±0,001
рН	9,45 – 9,50	9,35 – 9,45	9,30 – 9,50	7,25 – 7,30

Примітка: “—” – активність ферменту не визначали.

Глутаматдегідрогеназа (ГДГ) є одним з найпоширеніших ферментів [13]. Тому, очевидно, відсутність результатів щодо активності ГДГ у діатомової водорості *N. atomus* зумовлена її низькою активністю або, як зазначено у [6], за нормальних умов ГДГ може бути репресованою або неактивною, а ефективно брати участь в асиміляції амонію лише при високій його концентрації. Це у нашому випадку підтверджується мінімальним вмістом аміаку у середовищі. Для синьозелених і зелених водоростей виявлена досить низька активність обох глутаматдегідрогеназ, що, скоріш за все, обумовлено її низькою спорідненістю до іону амонію [20] та невисоким вмістом аміаку у середовищі. Активності цих ферментів у зелених

водоростей були суттєво вищими порівняно із синьозеленими, що обумовлене їх вищою фізіологічною активністю [4].

Відомо [6], що НАДН-ГДГ є катаболічним ферментом і здійснює, переважно, дезамінування, а НАДФН-ГДГ – анаболічним і здійснює амінування. Разом з тим, глутаматдегідрогеназа має, очевидно, структурне та функціональне розмежування, тому одна з форм міститься у цитоплазмі, а інша зв'язана з мембранами. Встановлено, що у деяких зелених одноклітинних водоростей неспецифічна до коферменту ГДГ знаходиться у мітохондріях, де вона здійснює дезамінування глутамату, постачаючи на дихальний ланцюг відновлений НАДН і частково регулює енергетичний баланс мітохондрій [18].

Для одноклітинних водоростей встановлено [3], що максимальна активність глутамінсинтетази (ГЗ) (в межах фізіологічної норми) спостерігається при тій мінімальній концентрації амонію, яка забезпечує нормальний ріст і розвиток культури. Відповідно і активність НАДФН-глутаматдегідрогенази буде збільшуватися з метою забезпечення необхідної кількості субстрату для ГС. У рослин існує певне співвідношення вказаних реакцій: при концентрації аміаку в клітині до 50 мкмоль [14] першою протікає глутамінсинтетазна реакція, а при вищих значеннях вмісту аміаку активується глутаматдегідрогеназа. Тобто при високих концентраціях амонійного азоту механізми регуляції здійснюються таким чином, що у клітині відбувається мобілізація всіх резервів для його зв'язування, що запобігає інтоксикації клітини. Отже, амоній є не тільки єдиною та універсальною вихідною формою неорганічного азоту для біосинтезу білків і кінцевим продуктом їх розпаду, але і ефективним регулятором клітинної активності [14]. Поряд з цим глутамінсинтетазна активність в синтетазній реакції, як первинна і визначальна детоксикуюча гілка через синтез глутаміну, є значно вищою у всіх досліджуваних нами видів водоростей.

Desmodesmus communis характеризувалася найвищою активністю глутамінсинтетази, що обумовлено активними метаболічними процесами, які притаманні для зелених водоростей. Серед досліджуваних водоростей, ціанобактерія мала найнижчу активність ГС, але вищу, ніж ГДГ, що визначає її первинність у процесах асиміляції аміаку.

На клітинах *Chlorella* та на багатьох інших організмах доведено, що основним фактором, який регулює активність глутамінсинтетази, є амоній. Оскільки фермент характеризується високою спорідненістю до амонію, тому при його значних концентраціях швидко втрачається функціональна активність ферменту [6]. Як було зазначено вище, при підвищених рівнях аміаку глутаматдегідрогеназа інактивується, а глутамінсинтетаза починає виконувати провідну роль у зв'язуванні амонію. Це, ймовірно, є еволюційно сформованим механізмом регуляції асиміляції амонію, який допомагає зберегти клітині необхідне співвідношення концентрацій АТФ/АДФ+АМФ, що порушується при інтенсивному синтезі глутаміну [14].

Наявність у середовищі амонійного азоту сприяє амідуванню, насамперед, глутамінової та аспарагінової кислот. Ці амідні в клітинах водоростей виконують роль транспортної та резервної форм азоту [11]. Доведено, що включення аміаку до глутаміну протікає набагато інтенсивніше, ніж до складу інших амінокислот [6]. Отже, у водоростей саме глутамін є сполукою, за допомогою якої відбувається швидке і легке зв'язування та резервування в органічну форму екзогенного та ендogenous аміаку [11]. У середовищі культивування, у результаті фізіологічної або патологічної екскреції, може накопичуватися глутамат. При цьому концентрація клітинних і позаклітинних амінокислот у синьозелених водоростей є вищою порівняно з зеленими, що підтверджується більшим вмістом аміаку у середовищі *A. cylindrica*, порівняно з *D. communis*. На противагу, у середовищі діатомової водорості амонійного азоту практично не виявлено, а активність глутамінсинтетази *N. atomus*, скоріш за все, зумовлена наявністю та утилізацією метаболічно обумовленого ендogenous аміаку.

За рахунок активного функціонування системи зворотньої глутаматдегідрогенази у клітинах водоростей може здійснюватися первинна детоксикація надлишкового аміаку, який інтенсивно утворюється за дії важких металів, а також забезпечуватися необхідними субстратом ферментна система синтезу амідів. Крім того, певну роль глутаматдегідрогеназа відіграє у підтриманні гомеостазу метаболітів та регуляції швидкості аеробної системи окиснення у циклі трикарбонових кислот, де важливе місце займає α -кетоглутарат, що є

субстратом цієї реакції. Це більшою мірою стосується НАД-ГДГ, яка перетворює глутамат в α -кетоглутарат та відновлює НАД⁺.

Активність глутамінсинтетази піддається дуже складній регуляції, що не дозволяє зробити однозначного висновку щодо зміни та регуляції активності ферменту у клітинах водоростей. Можемо лише підтвердити основну роль глутамінсинтетази в асиміляції амонію та його амідуванні для всіх видів водоростей, відмітити досить високу активність та стабільність функціонування ферменту.

Висновки

Адаптаційний потенціал прісноводних водоростей в нормальних фізіологічних умовах характеризується загальними принципами – глутаматдегідрогеназа здійснює зв'язування чи виведення аміаку з клітин залежно від екологічних умов існування водоростей та їх потреб у азоті, а глутамінсинтетаза є допоміжним ферментом у разі активації глутаматдегідрогеназного шляху фіксації аміаку рослинами. Однак адаптаційні перебудови азотного метаболізму за участю глутаматдегідрогенази та глутамінсинтетази проявляється у зміні активності залежно від виду водоростей, бо цей процес спрямований на реалізацію стратегій адаптації до умов існування синьозелених, діатомових і зелених водоростей.

1. Брей С. Азотный обмен в растениях / С. Брей. — М.: Агропромиздат, 1986. — 200 с.
2. Евстигнеева З.Г. Определение активности глутаминсинтетазы / З.Г. Евстигнеева, Е.А. Громыко, К.Б. Асеева // Биохимические методы. — М.: Наука, 1980. — С. 84—86.
3. Ключенко П.Д. Метаболізм азоту у прісноводних водоростей та його роль у формуванні їх угруповань і якості води : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук : спец. 03.00.17 "Гідробіологія" / П.Д. Ключенко. — К., 2002. — 42 с.
4. Ключенко П.Д. Особенности ассимиляции аммонийного азота зелеными и синезелеными водорослями / П.Д. Ключенко, В.В. Грубинко, Г.Б. Гуменюк [и др.] // Гидробиол. журн. — 2002. — Т. 38, № 2. — С. 88—93.
5. Кореньков Д.А. Справочник агрохимика / Д.А. Кореньков, К.А. Гаврилов, К.А. Гаврилов, И.А. Шильников [и др.]. — М.: Россельхозиздат, 1980. — 286 с.
6. Кретович В.Л. Усвоение и метаболизм азота в растениях / В.Л. Кретович. — М.: Наука, 1987. — 486 с.
7. Лурье Ю.Ю. Химический анализ производственных сточных вод / Ю.Ю. Лурье, А.И. Рыбникова. — М.: Химия, 1974. — 336 с.
8. Макрушин М. М. Фізіологія рослин. / За ред. М.М. Макрушина. — Вінниця: Нова Книга, 2006. — 416 с.
9. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л.А. Сирено, А.И. Сакевич, Л.Ф. Осипов [и др.]; под ред. А.В. Топачевского. — Киев: Наукова думка, 1975. — 247 с.
10. Мецлер Д. Биохимия. В 3-х т./ Д. Мецлер. — М.: Мир, 1990. — Т. 2. — 608 с.
11. Сакевич А.И. Метаболизм водорослей как фактор детоксикации аммонийного азота водной среды / А.И. Сакевич // Альгология. — 1997. — Т. 7, № 1. — С. 3—9.
12. Софьин А.В. Глутаматдегидрогеназы одноклеточной зеленой водоросли *Ankistrodesmus braunii*. Кинетические свойства / А.В. Софьин, В.Р. Шатилов, В.Л. Кретович // Биохимия. — 1984. — Т. 49, № 2. — С. 334—343.
13. Шатилов В.Р. Энзимология ассимиляции аммония в одноклеточных зеленых водоростях : автореф. дис. на соискание науч. степени докт. биол. наук : спец. 03.00.04 "Биохимия" / В.Р. Шатилов. — М., 1986. — 46 с.
14. Шатилов В.Р. Глутаматдегидрогеназы // Энзимология ассимиляция аммония у растений : сб. науч. трудов / В.Р. Шатилов. — М.: ВИНТИ, 1987. — (Итоги науки и техники. Серия "Биологическая химия" ; Т. 24). — С. 4—104.
15. Beakes G., Canter H.M., Jaworski G.H.M. Zoospores ultrastructure of *Zygorhizidium affluences* Canter and *Z. planktonicum* Canter, two chytrids parasitizing the diatom *Asterionella formosa* Hassall. // Can. J. Bot. — 1988. — Vol. 66, № 6. — P. 1054—1067.
16. Camargo J.A., Alonso A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. — 2006. — Retrieved December 10, 2010, from <http://www.aseanenvironment.info/Abstract/41013039.pdf>.

17. Lowry O. H., Rosenbroug N. I., Farr A. L., Randall R. I. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193, № 1. — P. 265—275.
18. Mifflin B.J., Habash D.Z. The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in nitrogen utilization of crops // J. Exp. Bot. — 2002. — Vol. 53, № 370. — P. 979—987.
19. Nitrogen Cycles: Past, Present, and Future / Galloway J. N., Dentener F. J., Capone D. G. [et al] // Biogeochemistry. — 2004. — Vol. 70, № 2. — P. 153—226.
20. Wootton J.C. Re-assessment of ammonium-ion affinities of NADP-specific glutamate dehydrogenases. Activation of the *Neurospora crassa* enzyme by ammonium and rubidium ions // Biochem J. — 1983. — Vol 209, № 2. — P. 527—531.

В.В. Грубинко, О.И. Боднар, О.В. Василенко, А.И. Луцив, Г.Б. Винярская

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЛУТУМАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО ПУТИ СВЯЗЫВАНИЯ АММОНИЯ У ПРЕСНОВОДНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Показано, что адаптационный потенциал пресноводных водорослей (*Anabaena cylindrica* Lemm. HPDP-1, *Navicula atomus* (Näg.) Grun. ACKU 12-02, *Desmodesmus communis* (Hegew.) Hegew. IBASU-A 371, *Chlorella vulgaris* Beijer.) к аммонии в физиологических условиях характеризуется общими принципами – глутаматдегидрогеназа осуществляет связывание или выведение аммиака из клеток в зависимости от экологических условий существования водорослей и их потребности в азоте, а глутаминсинтетаза является сопряженным ферментом в процессе активации глутаматдегидрогеназного пути фиксации аммиака. Однако адаптационные перестройки азотного метаболизма при участии глутаматдегидрогеназы и глутаминсинтетазы проявляются в изменении активности в зависимости от вида водорослей, поскольку этот процесс направлен на реализацию стратегии адаптации синезеленых, диатомовых и зеленых водорослей к условиям существования.

Ключевые слова: пресноводные одноклеточные водоросли, аммоний, глутаматдегидрогеназа, глутаминсинтетаза

V.V. Grubinko, O.I. Bodnar, O.V. Vasilenko, A.I. Luziv, G.B. Vinyarska

Ternopil National Pedagogical University named after Volodymyr Hnatiuk, Ukraine

FUNCTION OF GLUTAMATE DEHYDROGENASE PATWAY ASSIMILATION OF AMMONIUM IN FRESHWATER ALGAE

It is shown that the adaptive capacity of freshwater algae (*Anabaena cylindrica* Lemm. HPDP- 1, *Navicula atomus* (Näg.) Grun. ACKU 12-02, *Desmodesmus communis* (Hegew.) Hegew. IBASU-A 371, *Chlorella vulgaris* Beijer.) To ammonium in physiological conditions characterize the general principles – carries glutamate binding or elimination of ammonia from the cells depending on the environmental conditions of the existence of algae and their nitrogen requirements and glutamine synthetase is dual enzyme activation process glutamate dehydrogenase patway of assimilation of ammonia. However, the adaptive adjustment of the nitrogen metabolism involving glutamate and glutamine synthetase activity appear to change depending on the type of algae , since this process is aimed at implementing adaptation strategies of cyanobacteria, diatoms and green algae to the conditions of existence.

Keywords: freshwater algae, ammonia, glutamate dehydrogenase, glutamine synthetase

Рекомендує до друку

В.З. Курант

Надійшла 04.06.2014

ЕКОЛОГІЯ

УДК 579.64:573.4

Н.І. АДАМЧУК-ЧАЛА

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680

ВПЛИВ ІНОКУЛЯЦІЇ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* УКМ В-6035 НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ЯДЕРЦЕВИХ СУБКОМПОНЕНТІВ КЛІТИН АПІКАЛЬНИХ МЕРИСТЕМ ПРОРОСТКІВ СОЇ

Досліджено вплив інокуляції *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035 на структурно-функціональну організацію ядерцевих субкомпонентів клітин апікальних меристем проростків сої, культивованих в асептичних умовах.

Використано метод трансмісійної електронної мікроскопії та імуноцитохімічного аналізу з використанням мічених золотом антитіл до ДНК. За даними імуноцитохімічного аналізу показано, що за інокуляції збільшується щільність мітки в 3,7 разів у фібрилярних центрах ядерця в у 2,8 рази у щільному гранулярному компоненті. Встановлено підвищення функціональної активності ядерцевих рослинних клітин під впливом інокуляції, що свідчить про зростання рівня транскрипції ДНК та процесингу РНК в них.

Ключові слова: меристеми, ДНК, ядерце, фібрилярний центр, щільний фібрилярний компонент, інокуляція

За останні 20-25 років у провідних лабораторіях США, Канади, України було показано, що за умов інокуляції відбуваються суттєві зміни у функціонуванні та проходженні найважливіших процесів життєдіяльності рослинних клітин, у тому числі накопичення білка [2, 3].

Згідно загальноприйнятої точки зору, рівень клітинного метаболізму, ступінь експресії рибосомних генів пов'язаний з ультраструктурними змінами ядерця [1, 4]. Але існує дуже мало даних щодо впливу інокуляції на ядерце, як первинну ланку формування білоксинтезуючого апарату макросимбіонта.

Мета роботи – дослідити вплив інокуляції *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035 на структурно-функціональну організацію ядерцевих субкомпонентів клітин апікальних меристем проростків сої, що тісно пов'язаний з синтезом РНК і накопиченням білку у клітинах рослин.

Матеріал і методи досліджень

Для інокуляції стерилізованого за методом [2] насіння сої сорту Анжеліка використовували бульбочкові бактерії *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035 – вискоелективний симбіонт сої з колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ.

Штам вирощували на рідкому манітно-дріжджовому середовищі [2]. Бактеріальне інокуляційне навантаження складало 10^6 бактерій на насінину. Проростки сої із інокульованих насінин та контрольних без інокуляції культивували 10 діб в асептичних умовах. З апексів проростків сої готували препарати за стандартною методикою для електронно-мікроскопічних досліджень з використанням імуноцитохімічної реакції [1]. Препарати досліджували у

трансмисійному електронному мікроскопі JEOL JSM 1400-EX при 80 кВ. Щільність мічення над цитоплазматичними компартментами, ядерними структурами та субядерцевими компонентами вираховували, використовуючи програму «QWin Standard» (Leica) для автоматичного аналізу зображень. Контроль мічення проводили, випускаючи інкубацію в первинних антитілах.

Результати досліджень та їх обговорення

Із інокульованих і не інокульованих насінин сої на десяту добу експерименту розвивались проростки, що мали зародковий корінь, гіпокотиль, сім'ядолі та зачатки першої пари справжніх листків. Порівняльний структурно-функціональний аналіз виявив, що меристематичні клітини інокульованих проростків різних шарів мали більший об'єм – $493 \pm 72,0$ мкм³, порівняно з клітинами контрольного варіанту – $216,2 \pm 52,0$ мкм³. Нуклеоплазма та ядерця клітин експериментального варіанту на електронограмах мали гетерогенну гранулярну компоненту.

У контрольних проростків ультраструктурна організація меристематичних клітин апексу сої була характерною для клітин твірного типу. Проксимальну частину клітин посідало ядро хроманемно-хроматинового типу з ядерцем. Ядро було оточене цитоплазмою і органелами, переважну частку яких складали мітохондрії. В цитоплазмі формувалися невеликі вакуолі. Грудки конденсованого хроматину спостерігалися біля ядерної оболонки або в каріоплазмі. Поодинокі велике ядерце круглої або злегка овальної форми було розташовано в центрі ядра. Фібрилярні центри (ФЦ) розміщувалися по всьому ядерцевому об'єму. Щільний фібрилярний компонент (ЩФК) розміщувався навколо фібрилярних центрів або між ними. Гранулярний компонент (ГК) був розташований на периферії ядерця та навколо вакуолей. Широкий пухкий шар гранулярного компоненту на ядерцевій периферії може бути непрямим показником інтенсивного транспорту рибосомних субодиниць з ядерця в каріоплазму і потім в цитоплазму. Деякі кластери ГК виявлялися всередині ядерця.

За умов зв'язування ДНК з антитілами до ДНК, міченими колоїдним золотом, в ядрі клітин контрольних проростків найбільш міченими виявились блоки гетерохроматину, значно менша кількість часток золота була виявлена над дифузним хроматином. В ядерці мітка антитіл до ДНК була локалізована над ФЦ та ЩФК. У ФЦ частки золота виявлені над кластерами конденсованого хроматину, над внутрішніми фібрилами неконденсованої ДНК та на межі ФЦ-ЩФК. ГК та ядерцеві вакуолі були позбавлені мітки.

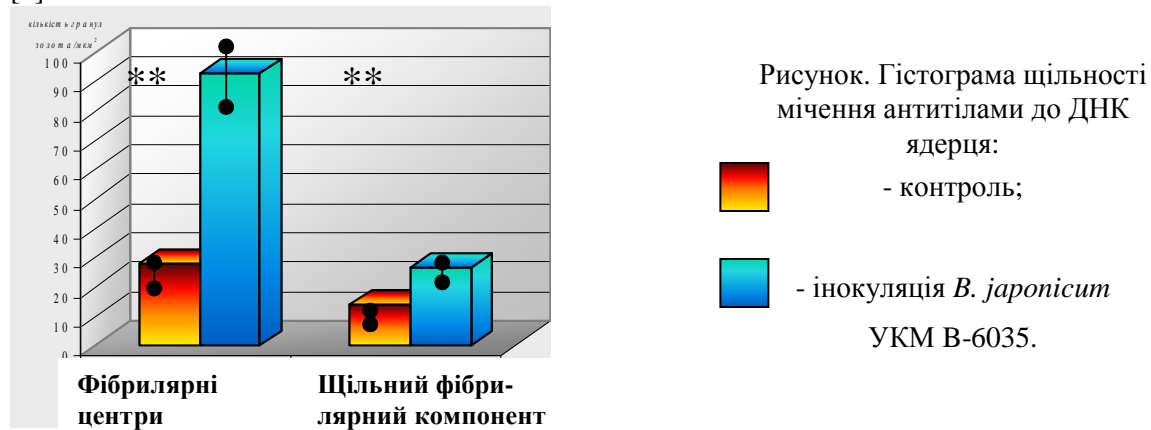
У інокульованих проростків сої ядра та ядерця не відрізнялися від контролю за формою та положенням. Ядерця характеризувалися щільним пакуванням компонентів. Шар гранулярного компоненту розташовувався по периферії ядерця.

В ядерці меристематичних клітин інокульованих проростків сої мітка антитіл до ДНК у значно більшій кількості була локалізована над ФЦ та ЩФК. ФЦ вирізнялися наявністю в них мітки антитіл до ДНК. За кількісним розподілом мітки антитіл до ДНК в ядерці, найбільш міченими виявились ФЦ. Кількість гранул золота становила $97,05$ на мкм² (рис). ЩФК містив меншу кількість мітки гранул золота – $28,67$ на мкм². Так, у контрольних клітин щільність мітки становила: $26,02$ на мкм² – у ФЦ, та $10,17$ – у ЩФК.

Зважаючи на важливу функціональну роль ядерця у наших дослідженнях ми вивчали зміни саме в цій субструктурі ядерного компартменту клітини. Згідно прийнятої морфо-функціональної класифікації [4] ядерця можуть бути віднесені до компактного типу, для якого характерний високий рівень функціональної активності. Найбільш важливу роль у синтезі білку відіграють ФЦ і ЩФК, що складається із транскрипційно активних ділянок ДНК, зв'язаних з фібрилами новосинтезованої пре-РНК.

Нами продемонстровано, що за міченням антитіл до ДНК в фібрилярних центрах локалізовані кластери конденсованого хроматину, внутрішні фібрили деконденсованої ДНК, а також перехідна зона ФЦ-ЩФК. Кластери конденсованого хроматину в фібрилярних центрах утворені нуклеосомними фібрилами ДНК, тимчасово виведеної зі стану активації, та міжгенними нетранскрибованими спейсерними районами ДНК [5]. При підвищенні ядерцевої активності гетерохроматин фібрилярних центрів поступово деконденсується з утворенням тонких фібрил ДНК. Навпаки, при зниженні рівня функціонування ядерця ДНК всередині фібрилярних центрів поступово конденсується до утворення кластерів гетерохроматину [3]. Це приводить до висновку,

що конформаційні зміни фібрилярних центрів тісно пов'язані з транскрипційною активністю ДНК [5].



Показано зміну локалізації ДНК та збільшення її кількості в 2,8 рази в щільному фібрилярному компоненті та в 3,7 рази в фібрилярних центрах у інокульованих проростків сої. Можемо припустити, що в інокульованих проростків сої біляядерцевий хроматин, який містить локуси активованих генів, входить в ядро, готуючись до активації, водночас, ДНК з щільного фібрилярного компоненту входить до фібрилярних центрів, переходячи у потенційно-активний стан.

Таким чином, проведене нами комплексне дослідження дозволило виявити суттєві конформаційні зміни ФЦ і ЩФК ядерець порівняно з контролем і, таким чином, вперше встановити підвищення рівня їх функціональної активності під впливом інокуляції.

Висновки

З використанням імуноцитохімічного аналізу показано збільшення щільності мітки в 3,7 разів в ФЦ ядерець та у 2,8 рази у ЩФК за інокуляції, що свідчить про підвищення функціональної активності ядерець рослинних клітин під впливом інокуляції і зростання рівня транскрипції ДНК та процесингу РНК в них.

1. Адамчук-Чала Н.І. Вплив кліностатування на ультраструктурну організацію і функціонування меристематичних клітин проростків гороху / Н.І. Адамчук-Чала, М.А. Соболев // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. — 2007. — 768. — С. 166—173.
2. Експериментальна ґрунтова мікробіологія / [Волкогон В.В., Наджернична О.В., Токмакова Л.М. та ін.]; за наук. ред. В.В. Волкогона. — К.: Аграр. Наука. — 2010. — 464 с.
3. Фізіолого-біохімічні особливості живлення рослин біологічним азотом / [Коць С.Я., Маліченко С.М., Кругова О.Д. та ін.]. — К.: Логос. — 2001. — 271 с.
4. Челідзе П.В. Морфофункціональна класифікація ядрышек / П.В. Челідзе, О.В. Зацепина // Успехи сучасної біології. — 1988. — 105. — С. 252—268.
5. Yano H. Ultrastructural localization of transcription sites, DNA, and RNA reveals a concentric arrangement of structural and functional domains in plant nucleonema / H. Yano, S. Sato // Protoplasma. — 2000. — 214. — P. 129—140.

Н.І. Адамчук-Чала

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України

ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* УКМ В-6035 НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ЯДЕРНЫХ СУБКОМПОНЕНТОВ КЛЕТОК АПИКАЛЬНЫХ МЕРИСТЕМ ПРОРОСТКОВ СОИ

Исследовали влияние инокуляции *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035 на структурно-функциональную организацию ядерных субкомпонентов клеток апикальных меристем проростков сои, культивируемых в асептических условиях. Использовали методы трансмиссионной электронной микроскопии и иммуноцитохимический анализ с использованием меченых золотом антител к ДНК. По данным иммуноцитохимического анализа показано, что при инокуляции

увеличивается плотность метки в 3,7 раз в фибриллярных центрах ядрышка и в 2,8 раз в плотном гранулярном компоненте. Установлено повышение функциональной активности ядрышек растительных клеток под влиянием инокуляции, что свидетельствует о возрастании уровня транскрипции ДНК и процессинга РНК в них.

Ключевые слова: меристемы, ДНК, ядрышко, фибриллярный центр, плотный фибриллярный компонент, инокуляция

N.I. Adamchuk-Chala

Institute of Microbiology and Virology DC Zabolotnogo NAS Ukraine

EFFECT INOCULATION *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* UCM B- 6035 ON THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL ORGANIZATION OF NUCLEOLAR SUBCOMPONENTS CELL APICAL MERISTEM OF SEEDLINGS SOYBEAN

Aim of investigation was to discover effect of inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* UCM B-6035 on the structural and functional organization of nucleolar subcomponents apical meristem cells of soybean seedlings cultured under aseptic conditions. Using methods were transmission electron microscopy and immunocytochemical analysis with gold-labeled antibodies to DNA. Immunocytochemical analysis shows that density increasing of 3.7 times the label in the fibrillar centers of the nucleoid and 2.8 times in dense granular component under inoculation. The functional activity of the nucleoid of plant cells under the influence of inoculation indicating that the increase in DNA transcription and RNA processing them.

Keywords: meristem DNA nucleoid, fibrillar cente, dense fibrillar component inoculation

Рекомендує до друку

Надійшла 07.05.2014

Н.М. Дробик

УДК 579.64:631.461.5: 633.31/37

¹О.О. АЛЕКСЕЕВ, ²В.П. ПАТИКА

¹Вінницький національний аграрний університет

вул. Сонячна, 3, Вінниця, Україна

²Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України

вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680

ФОРМУВАННЯ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* – СОЯ

Досліджено взаємодію активних штамів *Bradyrhizobium japonicum* M8 та 6346 з вірусостійким сортом сої Горлиця та більш толерантним сортом КиВін у поєднанні з пестицидами та гербіцидами. На основі результатів вегетаційних і польових експериментів доведено, що досліджувані штами формують ефективний симбіоз із сортами сої. Встановлено, що передпосівна обробка насіння даними штамми активізує засвоєння молекулярного азоту і забезпечує підвищення врожайності та якості зеленої маси, зерна, збільшує вихід білка, що свідчить про наявність у досліджуваних ризобій комплементарності до вірусостійких сортів. Пестициди, які застосовувались при дослідженнях зокрема: протруювач Максим XL, ґрунтовий гербіцид Харнес та вегетаційний гербіцид Базагран показали досить високу ефективність відносно шкідників, хвороб та бур'янів, причому взаємодія з штамми *Bradyrhizobium japonicum* M8 та 6346 виявилась сумісною протягом усіх фаз вегетації рослин.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum* M8 та 6346, соя, симбіотична система, азотфіксація, штам, пестициди, гербіциди

Екологічно орієнтоване сільське господарство – це сучасна парадигма, яка повинна прийти на зміну хіміко-технологічній. Стратегічною культурою для розвитку цього напрямку є соя (*Glycine hispida Maxim.*) [1, 8].

Соя – унікальна рослина, її можна назвати природною фабрикою, завдяки успішному поєднанню двох важливих процесів: фотосинтезу та біологічної фіксації азоту, вона покращує азотний баланс ґрунту, є добрим попередником для інших культур, забезпечує одержання чистої продукції. Феномен сої полягає у високому вмісті в насінні білка та жиру, рідкісному і різноманітному поєднанні ферментативного та вітамінного складу [1, 8, 9].

Фіксація атмосферного азоту – це унікальний біологічний процес збагачення азотом ґрунту. Тому велике значення в азотному балансі ґрунту має «біологічний азот», одержаний завдяки бобовим рослинам, які існують у симбіозі з азотфіксувальними бактеріями. Цей шлях одержання зв'язаного азоту не потребує матеріальних витрат і в період енергетичної кризи привертає дедалі більшу увагу землеробів у всіх країнах [2, 3, 9].

Ще однією актуальною проблемою на сьогоднішній день постає питання забур'яненості посівів сої та пошук способів боротьби з ними в умовах мінімальної хімізації зернобобових культур, тобто зменшення застосування пестицидів і в першу чергу гербіцидів [4, 7].

Посіви сої значною мірою потерпають від бур'янів. Це пов'язано як з рівнем культури землеробства в господарствах, засміченістю полів бур'янами, так із особливостями росту й розвитку рослин сої та технології її вирощування [4].

Мета дослідження – вивчити вплив інокулянту бактеріальних штамів *Bradyrhizobium japonicum* М8 і 6346 на насінневий матеріал вірусостійкого сорту Горлиця та більш толерантного сорту КиВін у поєднанні з пестицидами та гербіцидами, для встановлення існування залежності між цими компонентами.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили у 2012-2014 роках в умовах дослідної ділянки Вінницького національного аграрного університету (с. Агрономічне, Вінницький район, Вінницька область) та на базі Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, Київ.

У ґрунтового покриві переважають чорноземи опідзолені. За даними агрохімічного обстеження, характеристика ґрунту дослідної ділянки така: вміст гумусу в орному шарі 3,3. Гідролітична кислотність – 1,23 м.екв. на 100 г ґрунту, рН сольової витяжки 5,7. Вміст легкогідролізованого азоту (за Корнфілдом) -7,0, рухомий фосфор та обмінний калій (за Чіркоковим) - 6,6 та 6,5 мг /100 г ґрунту. Технологія вирощування культури відповідала рекомендованій для зони Лісостепу, без урахування факторів, які досліджували. Спосіб сівби широкорядний з міжряддям 45см. Облікова площа ділянки 10 сотих, повторення досліду чотириразове. Попередник – соняшник.

Об'єктами досліджень слугували вірусостійкий сорт сої Горлиця та більш толерантний сорт КиВін. У роботі використовували штами *Bradyrhizobium japonicum* М8 з колекції Інституту сільськогосподарської мікробіології НАН України і 6346 з Національної колекції ГНУ Всеросійського науково-дослідного Інституту сільськогосподарської мікробіології (С.-Петербург, Росія). У якості протруйників і гербіцидів використовували протруйник Максим ХЛ, т.к.с. (флудіоксоніл, 25 г/ л + металаксил- М, 10 г/ л), ґрунтові гербіциди Харнес, к.е. (ацетохлор, 900 г/ л), та вегетаційний гербіцид Базагран, 48% в.р. (д.р. бентазон) Симбіотичні властивості штамів вивчали в умовах вегетаційного досліду в посудинах із 3 кг нестерильного сірого лісового середньосуглинкового ґрунту (агрохімічні показники наведені вище) та польових дослідах. Облікова площа ділянки 10 м², повторність досліду 4-х кратна [6, 10].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою дисперсійного аналізу за Б.О. Доспеховим [7].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати вивчення азотфіксувальної активності та ефективності симбіотичних систем сої, утворених із використанням двох штамів бульбочкових бактерій, наведені в табл. 1.

При визначенні активності відновлення ацетилену кореневими бульбочками сої вірусостійкого сорту сої Горлиця та більш толерантного сорту КиВін показано, що використані у

ЕКОЛОГІЯ

досліді штами М8 і 6346 *Bradyrhizobium japonicum* є ефективними і характеризувались високою азотфіксувальною активністю. Проте штам М8 відрізнявся більш широкою комплементарністю, що забезпечувало найвищу азотфіксувальну активність симбіотичних систем *Gycine hispida Maxim.*– *Bradyrhizobium japonicum* на обох досліджуваних сортах. Варто також зауважити, що рівень азотфіксувальної активності штаму в значній мірі залежав від сорту сої. Найвищою вона була у сорту Горлиця.

Ефективність фіксації азоту також впливала на формування вегетативної маси рослинами сої. Як видно з (табл.1), рослини сої сорту КиВін, симбіотична система якого мала нижчу ефективність відновлення ацетилену, порівняно із сортом Горлиця, за інокуляції штамами М8 і 6346 мали приріст зеленої маси від 40,4 до 46,5 г/посудину. У той же час інокуляція цими ж штамами рослин сої сорту Горлиця забезпечувала достовірну прибавку урожаю від 45,3 до 52,7 г/посудину.

Таблиця 1

Азотфіксувальна активність та ефективність штамів *Bradyrhizobium japonicum* у симбіозі з *Gycine hispida Maxim.* (вегетаційний дослід)

Варіант	Сорт сої			
	Горлиця		КиВін	
	А	ΔМ	А	ΔМ
Без інокуляції	0	0	0	0
Штам				
М8	5,23	+52,7	4,09	+46,5
6346	4,35	+45,3	3,91	+40,4

Примітка: А – ацетиленредуктазна активність, мкМоль С₂Н₄/(рослину х год), ΔМ – прибавка врожаю зеленої маси, г/посудину.

Разом із тим, ефективність симбіотичних систем можна достовірно оцінити лише в природних неконтрольованих умовах. Із цією метою було проведено 3-х річні польові випробування із тими ж сортами і штамами. Продуктивність симбіозу *Bradyrhizobium japonicum* – *Gycine hispida Maxim.* наведена в табл. 2.

Як видно з результатів даної (табл.2), використання у якості мікросимбіонтів для обох сортів сої штамів *Bradyrhizobium japonicum* М8 і 6346 призводило до суттєвого достовірного збільшення врожаю зерна рослин, поживності, а також вмісту у ньому білка. Ефективнішою виявилась інокуляція насіння сої сорту Горлиця штамом М8. Обробка зазначеними штамами забезпечила урожай зерна у межах 2,76–3,31 т/га, вихід білка – 401,0–635,2 кг/га і поживності – 1879,3–2253,0 к.од.

Таблиця 2

Вихід білка зерна сої та вміст протеїну

Варіант	Сорт					
	Горлиця			КиВін		
	Врожай, т/га	Вихід білка, кг/га	Пожив- ність, к. од	Врожай, т/га	Вихід білка, кг/га	Пожив-ність, к. од
Без інокуляції	2,09	495,0	1553,0	1,80	364,0	1232,0
Штам						
М8	3,31	635,2	2253,0	2,83	476,0	1987,0
6346	3,02	590,4	2021,0	2,76	401,0	1879,3
НІР ₀₅	1,11			1,29		

Соя - це культура, що на початкових етапах вегетації розвивається повільно, а, отже, є низько конкурентною з хворобами, шкідниками, бур'янами за споживання вологи, поживних речовин та світла. Тому інтегрована боротьба з цими процесами є першочерговим завданням для успішного вирощування культури. Комплекс заходів з захисту сої від збудників хвороб, що передаються через насіння, належать протруйникам. Використання у дослідженні препарату

Максим XL 035 FS, т.к.с. (1,0 л/т), що належить до найбільш сумісних препаратів із бульбочковими бактеріями, дає можливість знищити інфекцію на насінні та захистити його під час проростання від ґрунтових патогенів. Але найбільш ефективним та дієвим шляхом боротьби з бур'янами при вирощування сої є застосування ґрунтових та страхових гербіцидів. Так внесення ґрунтових гербіцидів дає можливість на 30-40 днів відтермінувати появу бур'янів. На посівах сої ефективними є гербіциди на основі таких діючих речовин: S-метолахлору, ацетохлору, метрибузину, імазетапіру, прометрину і т.д. Тому в даному випадку для дослідження вибрано препарат проти однорічних злакових культур та деяких дводольних бур'янів ацетохлору – Харнес, 90% к.е., який протягом дослідження проявив себе досить високоефективно у боротьбі з бур'янами, що дало можливість якісно розвиватись культурі та формуванню бульбочок.

Застосування гербіцидів під час вегетації є менш не безпечнішим, ніж використання ґрунтових гербіцидів, оскільки найбільш вразливі до впливу хімікатів є перші етапи взаємодії мікроорганізмів з рослинами та росту і розвитку рослин сої. Для боротьби із злаковими бур'янами застосовують препарати на основі таких діючих речовин як хізалофоп-п-етил, клетодим, флузіафоп-п-бутил, пропаквізафоп, сетоксидим, імазетапір, імазамокс, а проти дводольних: бентазон, тифенсульфуронметил, бентазон + ацифлуорфен, імазетапір + хлоримурон-етил, імазетапір, імазамокс.

Під час дослідження, особливу увагу приділено препарату Базагран, 48% в.р. (д.р. бентазон) – це контактний післясходовий гербіцид, що використовується для знищення широколистяних бур'янів, і характеризується високою ефективністю при боротьбі з бур'янами. На відміну від ґрунтового гербіциду, вищезазначений гербіцид не впливає на фіксації атмосферного азоту.

Висновки

1. У результаті дослідження встановлено, що високоефективні штами *Bradyrhizobium japonicum* М8 і 6346, завдяки відсутності вузької комплементарності до рослини-живителя, характеризувалися високою азотфіксуючою активністю та сприяли формуванню рослинами сої сортів Горлиця і КиВін високих урожаїв зерна та вмісту у ньому білка.
2. Застосування Максим XL 035 FS, ґрунтового гербіциду Харнес 90% к.е., та вегетативного гербіциду Базагран 48% в.р. у боротьбі із хворобами, шкідниками та з бур'янами, не знижувало активності симбіотичних систем сої з бульбочковими бактеріями.
3. *Bradyrhizobium japonicum* штаму М8 відрізняється більш широкою комплементарністю, що забезпечувало найвищу азотфіксуючу активність симбіотичних систем *Gucine hispida Maxim.*– *Bradyrhizobium japonicum* на обох досліджуваних сортах. На рівень азотфіксуючої активності штаму в значній мірі впливають сортові особливості сої. Симбіотичні системи сої сорту Горлиця з бульбочковими бактеріями характеризувалися вищою азотфіксуючою активністю, порівняно з аналогічними сорту КиВін.

1. *Бабич А.О.* Соя і соєвий шрот в годівлі тварин, птиці і риби / Бабич А.О., Омер Р., Побережна А.А. — К., 2000. — 87 с.
2. *Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз* / [Коць С.Я., Моргун В.В., Патька В.Ф., Даценко В.К., Кругова Е.Д., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н., Михалкив Л.М.] - [монографія: в 4-х т.] / том 1/. — К.: Логос, 2010. — 508 с.
3. *Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз* / [Коць С.Я., Моргун В.В., Патька В.Ф., Маличенко С.М., Маменко П.Н., Киричий Д.А., Михалкив Л.М., Береговенко С.К., Мельникова Н.Н.] — [монографія: в 4-х т.]. — / том 2/. — К.: Логос, 2011. — 523 с.
4. *Галиш Ф.С.* Агротехніка – проти бур'янів (соя) / Ф.С. Галиш. — Карантин та захист. — 2007. — № 10. — С. 13—14.
5. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов — М.: Колос, 1985. — 351 с.
6. *Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія* / [Волкогон В.В., Надкернична О.Н., Токмакова Л.М., Менльничук Т.М., Чайковська Л.О., Надкерничний С.П., Шерстобоев М.К., Козар С.Ф., Копилов Є.П., Крутило Д.В., Пархоменко Т.Ю., Каменєва І.О., Адамчук-Чала Н.А., Ковалевська Т.М., Дідович С.В., Волкогон К.І., Пищур І.М., Волкогон М.В., Дімова С.Б., Комок М.С.]; за наук.ред. В.В.Волкогона. — К.: Аграр.наука, 2010. — 464 с.
7. *Жеребко В.* Технології вирощування та інтегрований захист посівів сої / В. Жеребко. — Пропозиція, 2008. № 5. — С. 68—76.

8. *Зінченко О.І.* Рослинництво: / Салатенко В.Н., Білоножко М.А. Підручник /за ред. О.І.Зінченка. — К.: Аграрна освіта, 2001. — 591 с.
9. *Мікроорганізми і альтернативне землеробство* / [Патика В.П., Тихонович І.А., Філіп'єв І.Д., Гамаюнова В.В., Андрусенко І.І.] — під ред. В.П. Патики. — К.: Урожай, 1993. — С. 64—99.
10. *Шерстобоева Е.В.*, Биопрепараты азотфиксирующих бактерий: проблемы и перспективы применения / Шерстобоева Е.В., Дудинова И.А., Шерстобоев Н.К. // Микробиол. журн. — 1997. — 58, № 4. — С. 109—117 с.

О.О. Алексеев, В.П. Патыка

Винницький національний аграрний університет

Институт микробиологии та вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины

**ФОРМИРОВАНИЕ ВЫСОКОЭФЕКТИВНОЙ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ
BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM - СОЯ**

В статье отражены данные исследований по взаимодействию активных штаммов клубеньковых бактерий штамма *Bradyrhizobium japonicum* M8 и 634b с вирусостойким сортом сои Горлица и более толерантным сортом Кивин в сочетании с пестицидами и гербицидами. На основании результатов вегетационных и полевых экспериментов было доказано, что исследуемые штаммы формируют эффективный симбиоз с сортами сои. Установлено, что предпосевная обработка семян данными штаммами активизирует усвоение молекулярного азота и обеспечивает повышение урожайности и качества зеленой массы, зерна, увеличивают выход белка, что свидетельствует о наличии в исследуемых ризобий комплементарности к вирусостойким сортам. Ряд пестицидов, применявшихся при исследованиях, в частности: протравитель Максим XL, почвенный гербицид Харнес и вегетационный гербицид Базагран, показали достаточно высокую эффективность в отношении вредителей, болезней и сорняков, причем взаимодействие со штаммом *Bradyrhizobium japonicum* M8 и 634b оказалось совместимым на протяжении всех этапов вегетационного цикла растений .

Ключевые слова: *Bradyrhizobium japonicum* M8 и 634b, соя, симбиотическая система, азотфиксация, штамм, пестициды, гербициды

O. O. Aliksieiev, V. Patuka

Vinnytsya National Agrarian University, Ukraine

Institute of microbiology and virology named by D. K. Zabolotnyy National Academy of Sciences of Ukraine

**FORMING OF THE POWERFUL SYMBIOTIC SYSTEM *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* -
SOYBEAN**

This article shows the research data on the interaction of active strains of nodule bacterium strain of *Bradyrhizobium japonicum* M8 and 634b with virus resistance soybean variety Horlytsya and more tolerant variety KyVin combined with pesticides and herbicides. On the basis of vegetation and field experiments investigated strains form effective symbiosis with soybean varieties. Established that presowing seed treatment with these strains activates consumption of molecular nitrogen and insures the enhance of crop-producing and quality of green mass, seed, increases the output of protein, which indicates the presence of complementarity to virus resistance in studied nodule bacteria. A number of pesticides that were used in research such as: treater Maxim XL, soil herbicide Harnes and vegetation herbicide Bazahran showed relatively high efficiency in regard to pests, diseases and weedages, and interaction with *Bradyrhizobium japonicum* strain M8 and 634b appeared to be compatible for all stages of the growing cycle of plants .

Keywords: *Bradyrhizobium japonicum* M8 and 634b, soybean, symbiotic system, nitrogen fixation, strain, pesticides, herbicides

Рекомендує до друку

Надійшла 14.05.2014

С. Я. Коць

Л.П. БАБЕНКО, Л.А. ДАНКЕВИЧ, Н.М. ЖОЛОБАК, В.В. КРУТЬ, Н.О. ЛЕОНОВА,
О.А. ДЕМЧЕНКО, М.Я. СПИВАК, В.П. ПАТИКА

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ НА РІЗНІ ФІЗІОЛОГІЧНІ ГРУПИ МІКРООРГАНІЗМІВ

Досліджено вплив різних концентрацій наночастинок діоксиду церію (НДЦ) та комплексів на їх основі на ріст окремих штамів фітопатогенних та повільнорослих симбіотичних бактерій. Показано, що проти окремих штамів фітопатогенних бактерій найбільш ефективними є НДЦ в концентрації 1 мМ і 10 мМ або композиції НДЦ та екзометаболітів *Bacillus thuringiensis*. Виявлено, що жодна з досліджених концентрацій НДЦ майже не впливає на ріст симбіотичних азотфіксувальних бактерій *Bradyrhizobium japonicum*.

Ключові слова: наночастинок діоксиду церію, фітопатогенні бактерії, екзометаболіти *Bacillus thuringiensis*, *Bradyrhizobium japonicum*

На думку багатьох експертів у XXI столітті нанотехнології будуть активно розвиватися. Нанобіоматеріали в цілому і наночастинок зокрема можуть використовуватися в медицині для діагностики та лікування захворювань. Наночастинок багатьох металів проявляють антисептичну, антивірусну та антибактеріальну дію відносно збудників ряду захворювань [1, 3, 6].

В останні роки все більшої популярності набуває використання наночастинок у сільському господарстві [5]. Зокрема, наночастинок, беручи участь у процесах перенесення електронів, посилюють дію ферментів, що перетворюють нітрати в амонійний азот, інтенсифікують дихання клітин, фотосинтез, синтез ферментів і амінокислот, вуглеводний і азотний обмін, і, як наслідок, безпосередньо впливають на мінеральне живлення рослин. Так, наночастинок міді, заліза, цинку і срібла характеризуються бактерицидними властивостями, доповнюють і посилюють дію традиційних засобів захисту рослин [5].

Необхідно зазначити, що до нанокристалічних матеріалів з широким спектром дії відносяться і нанобіоматеріали на основі діоксиду церію. Незважаючи на значний інтерес, біологічна активність діоксиду церію вивчена недостатньо. До недавнього часу, даній сполуці практично не приділяли уваги, оскільки діоксид церію нерозчинний у воді та біологічних рідинах. У зв'язку з цим, особливий інтерес викликають повідомлення про перспективи застосування діоксиду церію в нанокристалічному стані, що з'явилися в останні 5 років. Завдяки кисневій нестехіометрії і низькій токсичності наночастинок діоксиду церію (НДЦ) є надзвичайно перспективним об'єктом для біологічних досліджень [1, 4].

Метою наших досліджень було вивчення впливу золю НДЦ та його композицій з екзометаболітами штаму *B. thuringiensis* на ріст фітопатогенних і повільнорослих симбіотичних азотфіксувальних бактерій.

Матеріал і методи досліджень

Синтезовані, як описано [6], наночастинок діоксиду церію, стабілізовані цитратом (НДЦ) були досліджені щодо їх здатності впливати на ріст тест-культур фітопатогенних бактерій: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027^T, *Pseudomonas fluorescens* 8573, *Pectobacterium carotovum* subsp. *carotovum* УКМ В-1075^T, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂ і *Agrobacterium tumefaciens* УКМ В-1000. Також вивчено дію НДЦ на колекційний штам *Bacillus thuringiensis* 0293 та еталонний штам *B. thuringiensis* 98, що складає основу препарату Бітоксикацилін. Крім того, вивчено вплив даних наночастинок на повільнорослі симбіотичні азотфіксувальні бактерії *Bradyrhizobium japonicum* з різною активністю: високоефективний колекційний штам *B. japonicum* УКМ В-6018, що входить до складу інокулянтів для обробки насіння сої (Ризобін, Ековітал) та неефективний штам *B. japonicum* 604к.

Для визначення антагоністичної дії НДЦ на фітопатогенні бактерії та ризобії сої, мікроорганізми культивували на поживних середовищах з подальшим відмиванням і ресуспендуванням у фізіологічному розчині. Концентрацію мікроорганізмів доводили до $1 \cdot 10^4$ клітин/мл і додавали до пробірок з мікробною суспензією необхідний обсяг золю для отримання кінцевої концентрації НДЦ в пробірці 10, 1, 0,1 мМ. У якості контролю використовували суспензію мікроорганізмів аналогічної концентрації у фізіологічному розчині без додавання одного з препаратів. Всі пробірки витримували в термостаті за температури 28°C з наступним висівом на чашки Петрі через 1, 3, 6, 12 і 24 години та наступним підрахунком колоній. Для проведення даних досліджень штами *B. japonicum* культивували на колбах об'ємом 750 мл на качалці (220 об/хв.) при $26-28^{\circ}\text{C}$ та рН 6,6-7,0 протягом 72-96 год. у рідкому поживному манітно-дріжджовому середовищі. Фітопатогенні бактерії вирощували протягом 24-48 годин на картопляному агарі. Штами *B. thuringiensis* культивували за аналогічних умов у рідкому синтетичному середовищі Омелянського з додаванням 2,5% глюкози протягом 72 год. Для отримання фільтратів культуральних рідин штамів *B. thuringiensis* суспензії центрифугували за 6-8 тис./об. протягом 15 хв. Для забезпечення стерильності надосадову рідину пропускали через фільтри (діаметр пор 0,45 мкм).

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті проведених досліджень показано, що введення НДЦ в середовище росту фітопатогенних бактерій може викликати як пригнічення, так і симуляцію їх росту. Зокрема, нами показано, що всі досліджені концентрації НДЦ стимулювали ріст *P. syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027^T і *P. fluorescens* 8573 (рис. 1а і 1б).

Імовірно, даний ефект може бути обумовлений здатністю патогенних для рослин представників роду *Pseudomonas* засвоювати цитрат, що є стабілізатором НДЦ, в якості додаткового джерела живлення [1]. У той же час, різні концентрації НДЦ пригнічували ріст штамів *P. carotovum* subsp. *carotovum* УКМ В-1075^T, *X. campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂ і *A. tumefaciens* УКМ В-1000 (рис. 2а, 2б, рис. 3а, 3б).

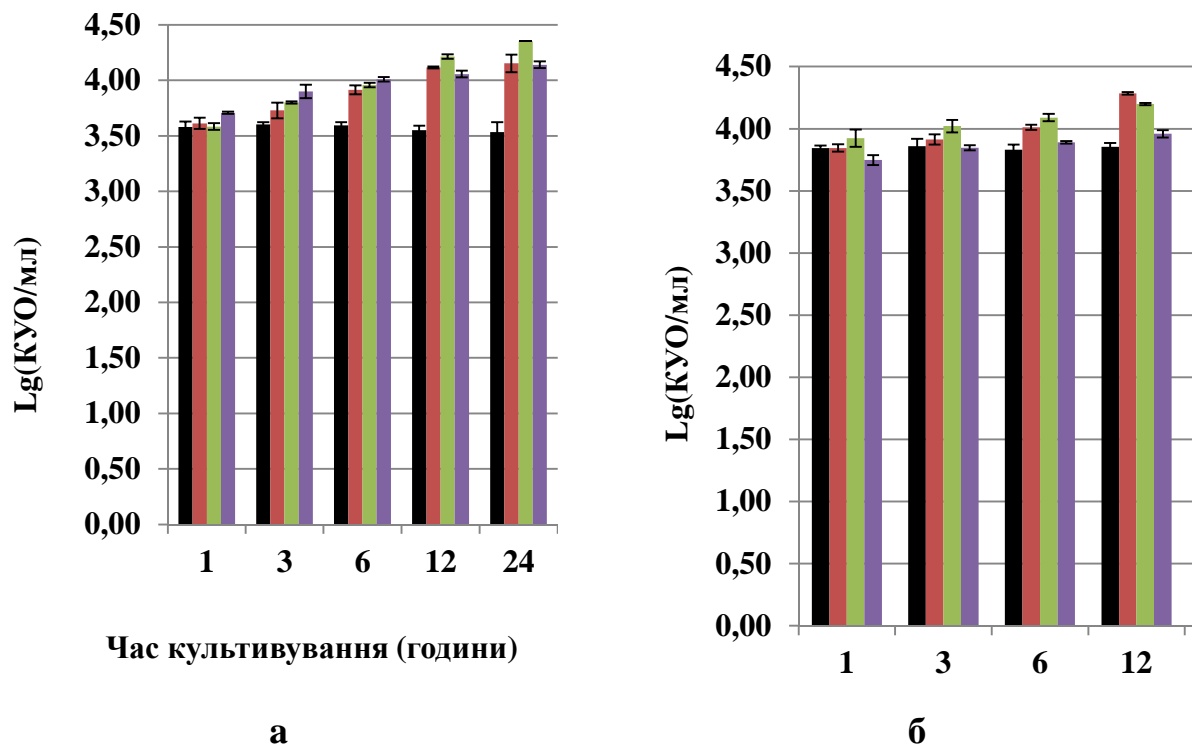


Рис. 1. Вплив різних концентрацій НДЦ на ріст патогенних для рослин бактерій роду *Pseudomonas*. (а – *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027^T, б – *Pseudomonas fluorescens* 8573).

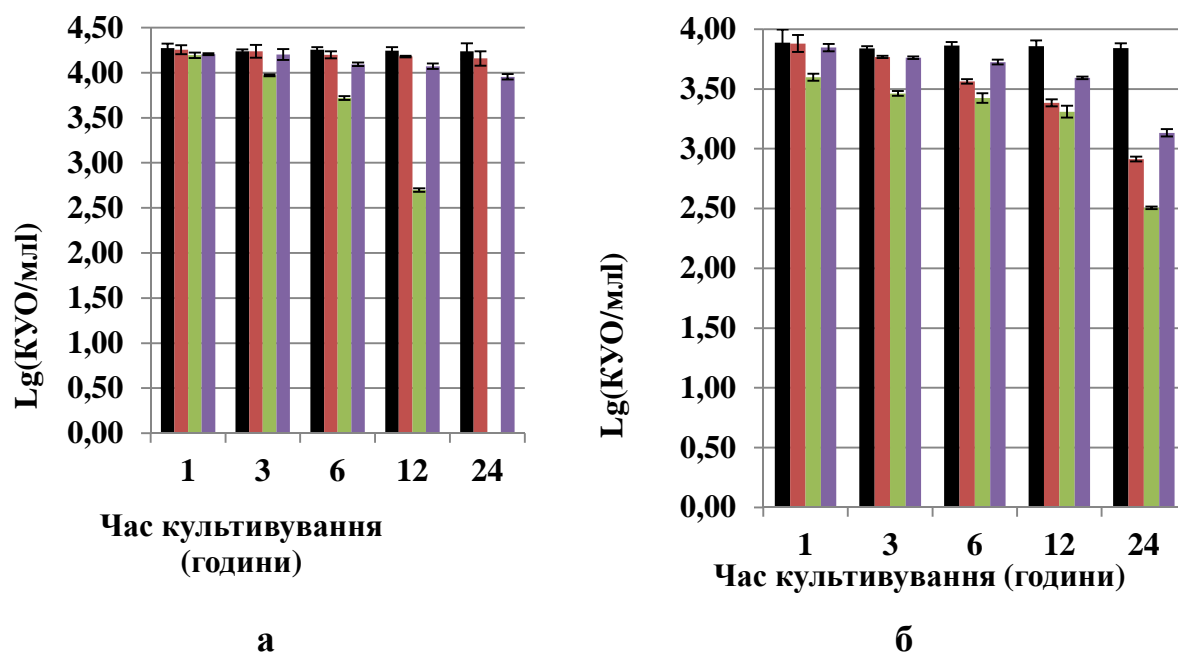


Рис. 2. Вплив різних концентрацій НДЦ на ріст фітопатогенних бактерій. (а – *Pectobacterium carotovum* subsp. *carotovum* УКМ В-1075^Т, б – *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049).

Так, 1 мМ концентрація НДЦ пригнічувала ріст збудника м'яких гнилей рослин [1] – *P. carotovum* subsp. *carotovum* УКМ В-1075^Т вже на 3 год. культивування з подальшим збільшенням ефекту на 6 і 12 год. та повною зупинкою росту на 24 год. культивування (рис. 2а). Дана концентрація також негативно впливала на ріст збудника судинного бактеріозу широкого кола рослин – *X. campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049. Причому, пригнічення росту цього фітопатогена під впливом 1 мМ НДЦ спостерігалось вже на першу годину культивування, з подальшим наростанням ефекту і повною зупинкою росту на 24 год. культивування. Крім того, встановлена бактерицидна дія 10 мМ золю НДЦ на *X. campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049 вже на 6 год. культивування (рис. 2б).

Але, найбільш дієво концентрації (10 мМ, 1 мМ і 0,1 мМ) НДЦ пригнічували ріст і розвиток збудника бактеріального раку томатів – *S. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂. Так, статистично достовірне інгібування росту даного патогена під впливом 1 мМ і 10 мМ НДЦ спостерігалось вже на 3 год. культивування, а повна зупинка росту на 12 год. (1 мМ НДЦ) (рис. 3а). Ефективною в даному випадку виявилася 0,1 мМ концентрація НДЦ, яка повністю зупиняла ріст даного збудника на 24 годину культивування. 1 мМ і 10 мМ золі НДЦ також виявилися ефективними і проти збудника кореневого раку плодівих дерев – *A. tumefaciens* УКМ В-1000. Зокрема, додавання до культуральної рідини 10 мМ золю НДЦ повністю зупиняло ріст даного патогена на 24 год. культивування (рис. 3б). Тобто, в ряду досліджених фітопатогенних бактерій найбільш чутливим до дії синтезованих наночастинок діоксиду церію виявився збудник бактеріального раку томатів *S. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂. Отримані результати відкривають перспективи для застосування НДЦ з метою захисту рослин від дії фітопатогенних бактерій та ставлять завдання подальшого дослідження даного явища.

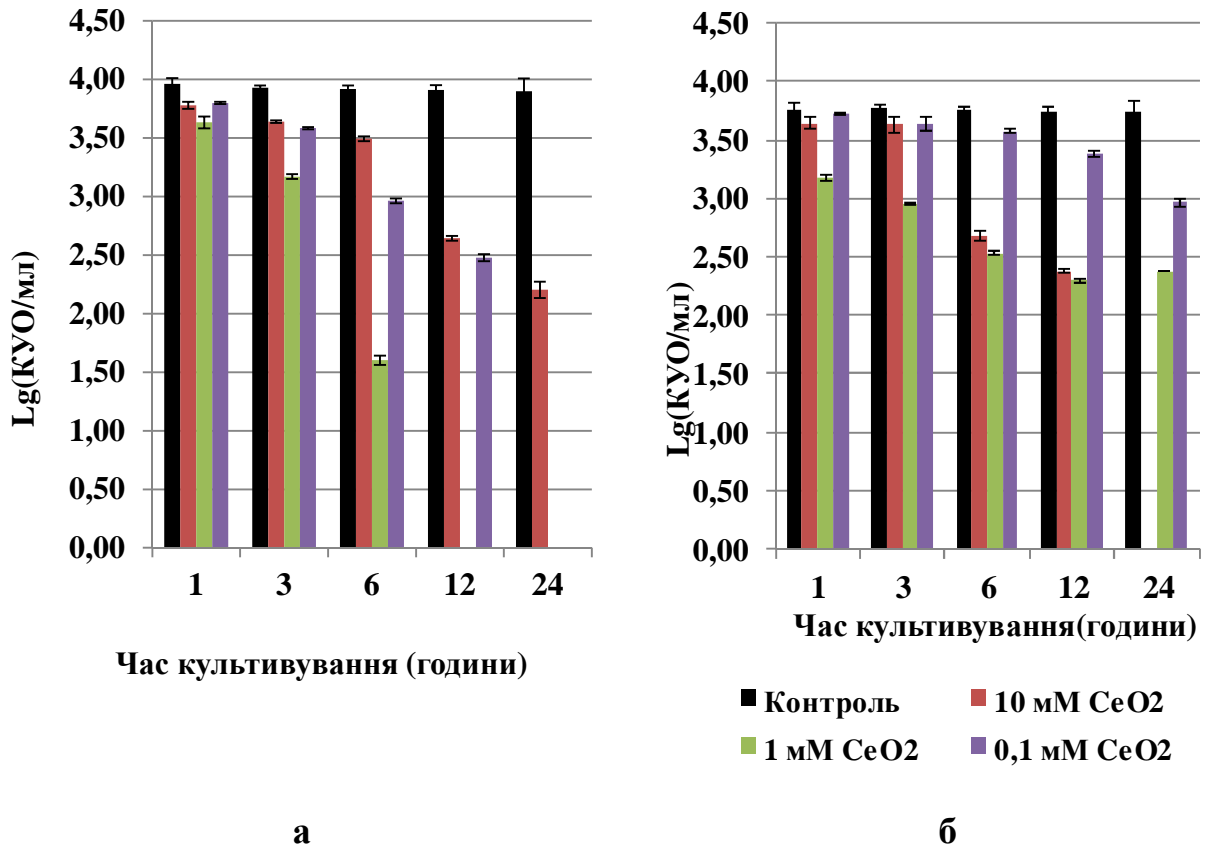


Рис. 3. Вплив різних концентрацій НДЦ на ріст фітопатогенних бактерій. (а – *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂, б – *Agrobacterium tumefaciens* УКМ В-1000).

Закономірним було вивчення можливого впливу НДЦ і на штамми симбіотичних діазотрофів сої, а також комплексний вплив екзометаболітів ефективних штамів *B. thuringiensis* та золь НДЦ різних концентрацій на ріст і розвиток *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂. Попередньо нами показано, що досліджувані штамми *B. thuringiensis* 98 та *B. thuringiensis* 0293 мають слабку бактериостатичну дію на *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂ та *C. michiganensis* subsp. *sepedonicum* Ас-1995 [2]. В ході попередніх лабораторних досліджень виявлено, що ризобії сої, в тому числі включені у дослідження штамми, не мають антагоністичної активності до ряду фітопатогенних бактерій. Вказане обґрунтувало адекватність вивчення впливу НДЦ на штамми бульбочкових бактерій сої з різним рівнем активності і високоактивні штамми *B. thuringiensis* з інсектицидними властивостями. В ході досліджень встановлено, що комплексне застосування 1 мМ чи 10 мМ НДЦ та екзометаболітів високоактивних штамів *B. thuringiensis* викликало максимальне пригнічення росту збудника бактеріального раку томатів (рис. 4). Так, у випадку *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂ статистично достовірний бактерицидний ефект спостерігався за синергентної дії 1 мМ, 10 мМ НДЦ та екзометаболітів штаму *B. thuringiensis* 0293 вже на 6 год. культивування. Крім того, 1 мМ золь НДЦ повністю призупинив ріст *B. thuringiensis* 0293 на 12 год. культивування, а додавання 10 мМ золь НДЦ справляло такий ефект на 24 год. культивування.

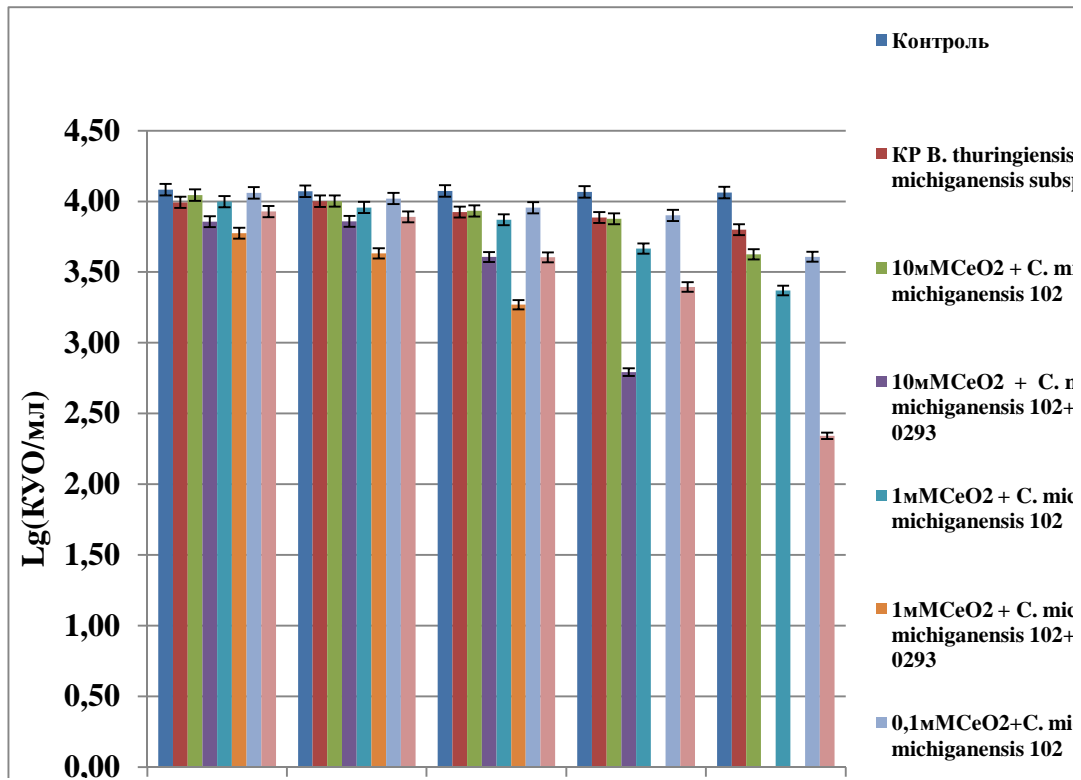


Рис. 4. Вплив різних концентрацій НДЦ та культуральної рідини штаму *Bacillus thuringiensis* 0293 на ріст *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂.

Аналогічна закономірність спостерігалася і за одночасної дії НДЦ та штаму *B. thuringiensis* 98. Найбільш ефективною в даному випадку виявилася композиція екзометаболітів *B. thuringiensis* 98 та 1 мМ концентрації нанокристалічного діоксиду церію (рис. 5).

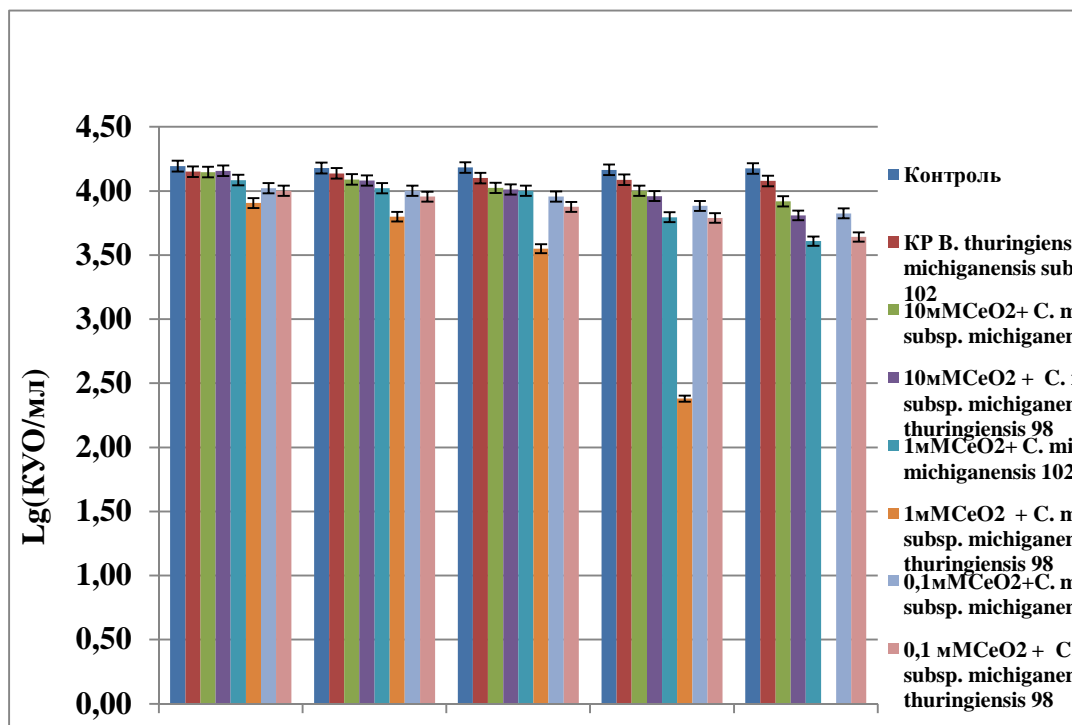


Рис. 5. Вплив різних концентрацій НДЦ та культуральної рідини штаму *Bacillus thuringiensis* 98 на ріст *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂.

Крім того, жодна із протестованих концентрацій НДЦ практично не впливала на ріст і розвиток високоактивного і неактивного штамів *B. japonicum* (рис. 5а, 5б). Ці дані відкривають перспективу подальших досліджень в розробці комплексних поліфункціональних препаратів з широким спектром дії на основі симбіотичних азотфіксувальних бактерій та наночастинок.

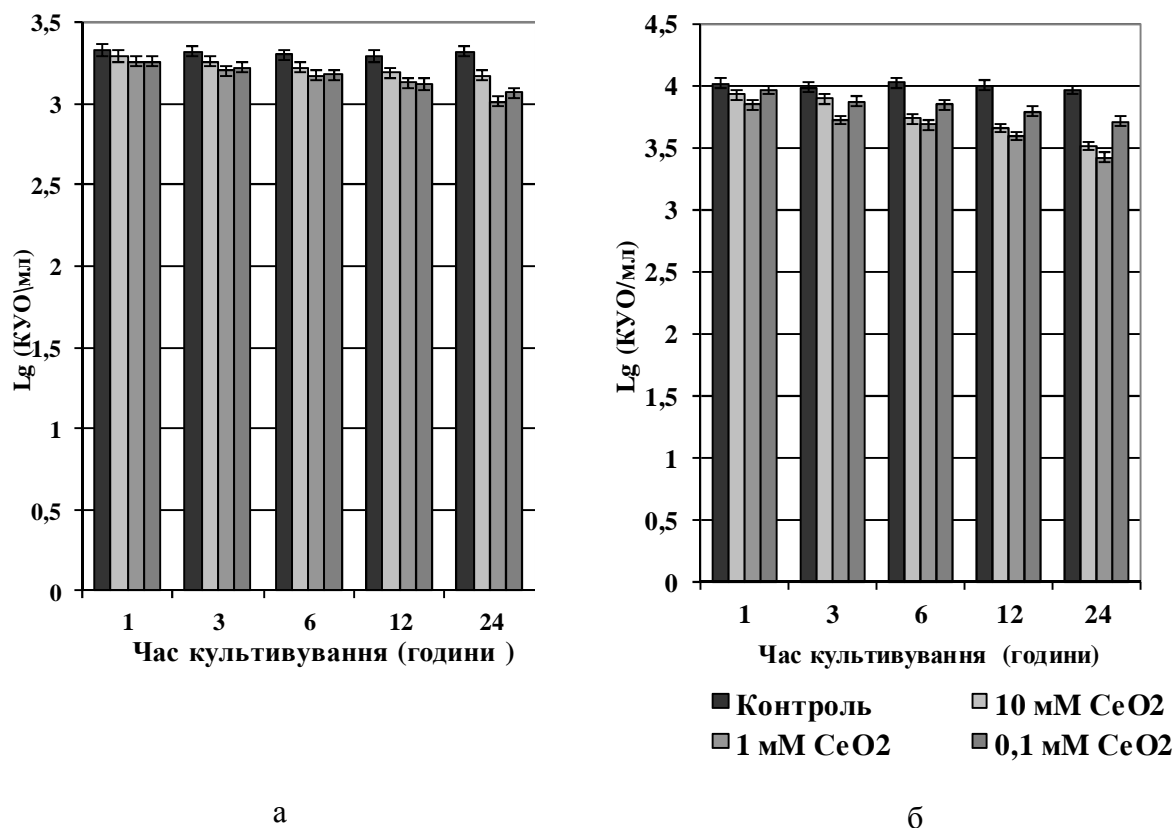


Рис. 5. Вплив різних концентрацій НДЦ на ріст *Bradyrhizobium japonicum*. (а – *Bradyrhizobium japonicum* UKM B-6018, б – *Bradyrhizobium japonicum* 604 к).

Висновки

Вперше встановлено, що найбільшу антимікробну активність проти окремих фітопатогенних бактерій мають НДЦ в концентрації 1 мМ і 10 мМ або комплекси НДЦ та екзометаболітів штаму *B. thuringiensis*. Натомість, жодна з концентрацій НДЦ не впливає на штами *B. japonicum* різної ефективності. Встановлені нами факти відкривають перспективи для подальшого всебічного дослідження та можливого застосування даних наноматеріалів як окремо, так і в комплексах з мікроорганізмами у складі поліфункціональних препаратів для потреб екологічно безпечного рослинництва.

Автори висловлюють щире вдячність к.б.н. Н.М. Жолобак за побажання та зауваження в процесі планування експерименту та написання статті.

1. Дмитриева Е.Г. Наночастицы в медицине и фармацевтике / Е.Г. Дмитриева // *Фундаментальные науки и практика*. — 2010. — Т. 1, № 4. — С. 34—44.
2. Круть В.В. Антагоністичні властивості колекційних штамів *B. thuringiensis* до фітопатогенних бактерій / Круть В.В., Данкевич Л.А., Патика В.Ф. // *Матеріали XIII з'їзду Товариства мікробіологів України ім. С.М.Виноградського (01-06 жовтня 2013 р.)* — Ялта — 2013. С. 174.
3. *Наноструктури в біомедицині* / [Гонсалвес К.Е., Хальберштадт К.Р., Лоренсин К.Т., Наир Л.С.] — БИНОМ. Лабораторія знань. — 2012. — 536 с.
4. Полежаева О.С. Синтез нанокристаллического диоксида церия методами «мягкой химии» и изучение его структурно-чувствительных свойств: автореф. дис. канд. хим. наук: 26.11.08 / Ольга Сергеевна Полежаева. — М., 2008. — 26 с.

5. *Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин* / [Гвоздяк Р.І., Пасічник Л.А., Яковлева Л.М. та ін. / За ред. В.П.Патики. — Київ: ТОВ "НВП "Інтерсервіс", 2011. — 444 с.
6. *Babenko L.P., Zholobak N.M., Shcherbakov A.B., Voychuk S.I., Lazarenko L.M., Spivak M. Ya. Antibacterium activity of cerium colloids against opportunistic microorganism in vitro // Microbiologichny zhurnal. — 2012. — Vol. 74, N 3. — P. 78—85.*

Л.П. Бабенко, Л.А. Данкевич, Н.М. Жолобак, В.В. Круть, Н.О. Леонова, О.А. Демченко, Н.Я. Спивак, В.П. Патыка

Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ НА РАЗНЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ГРУППЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

Исследовано влияние различных концентраций наночастиц диоксида церия и комплексов на их основании на рост отдельных штаммов фитопатогенных и медленно растущих симбиотических бактерий. Показано, что против отдельных штаммов фитопатогенных бактерий наиболее эффективны наночастицы церия в концентрации 1 мМ и 10 мМ или комплексы CeO₂ и экзометаболизмов *Bacillus thuringiensis*. Выявлено, что ни одна из исследованных концентраций наночастиц диоксида церия практически не влияет на рост симбиотических азотфиксирующих бактерий *Bradyrhizobium japonicum*.

Ключевые слова: наночастицы диоксида церия, фитопатогенные бактерии, экзометаболизмы Bacillus thuringiensis, Bradyrhizobium japonicum

L. P. Babenko, L.A. Dankevich, N.M. Zholobak, V. V. Krout, N. O. Leonova, O. A. Demchenko, M. Ja. Spivak, V.P. Patyka

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine

EFFECT OF VARIOUS CONCENTRATIONS OF CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES ON DIFFERENT PHYSIOLOGICAL GROUP OF MICROORGANISMS

The effect of various concentrations of cerium dioxide nanoparticles and complexes on its basis on the growth of certain strains of phytopathogenic and symbiotic bacteria has been investigated. It is shown that the 1 mM and 10 mM concentration of cerium dioxide nanoparticles or complexes of CeO₂ and exometabolites of *Bacillus thuringiensis* are the most effective against certain strains of phytopathogenic bacteria. It has been found that none of the investigated concentrations of cerium dioxide nanoparticles practically no effect on the growth of highly effective and ineffective strains of *Bradyrhizobium japonicum*.

Keywords: cerium dioxide nanoparticles, phytopathogenic bacteria, exometabolites of Bacillus thuringiensis, Bradyrhizobium japonicum

Рекомендує до друку

О.В. Шерстобоева

Надійшла 13.05.2014

¹И.С. БРОВКО, ¹Л.В. ТИТОВА, ¹Г.О. ИУТИНСКАЯ, ²М.В. СУХАЧЕВА,
³И.К. КРАВЧЕНКО

¹Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАНУ
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, ГСП, Д03680

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки, Центр «Биоинженерия» РАН
пр. 60-летия Октября, д. 7, корпус 1, Москва, 117312, Россия

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт микробиологии имени
С.Н. Виноградского РАН
пр. 60-летия Октября, д. 7, корпус 2, Москва, 117312, Россия

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНЫХ НЕРИЗОБИАЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ КЛУБЕНЬКОВ СОИ

Из клубеньков сои трех генотипов (сортов Черемош, Сузирья, и глифосат-толерантной линии 40-3-2) выделены эндофитные бактерии, не относящиеся к ризобиям. По результатам сиквенс-анализа нуклеотидных последовательностей 16S рРНК изоляты были идентифицированы, как представители родов *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Acinetobacter*. Установлено, что два изолята, филогенетически близкие к *Paenibacillus* и *Acinetobacter*, обладают высокой азотфиксирующей (ацетилен-редуктазной) активностью.

Ключевые слова: соево-ризобияльный симбиоз, эндофитные бактерии клубеньков, таксономия, азотфиксация

Среди микроорганизмов, тесно контактирующих с растениями, особое место занимают эндофиты, колонизирующие растительные ткани. Они защищены от неблагоприятных факторов внешней среды и микробной конкуренции за растение, а также, обладая определенной компетентностью к растению-хозяину, помогают ему приспособиться к стрессовым факторам внешней среды.

Наряду с ризобиями, формирующими на корнях бобовых растений специфический симбиотический аппарат в виде клубеньков, известны эндофитные бактерии, изолированные из клубеньков и других тканей бобовых (люцерны, клевера, гороха и сои), относящиеся к таким родам микроорганизмов: *Aerobacter*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Chryseomonas*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavimonas*, *Pseudomonas* и *Sphingomonas* [6].

Исследования последних лет показали, что бактерии-эндофиты бобовых являются широко распространенными компонентами симбиотических сообществ и способны влиять на формирование бобово-ризобияльного симбиоза, стимулировать рост и продуктивность растений, а также обеспечивать их защиту от патогенов [3, 6]. Такими свойствами обладают как отдельные штаммы, так и ассоциации бактерий, населяющие корневые клубеньки и другие органы растений [6].

Не исключено, что совместное действие эндофитных микроорганизмов с клубеньковыми бактериями может в большей мере повышать экологическую пластичность микробно-растительных систем, чем моноинкуляция.

Взаимоотношения эндофитных бактерий с бобово-ризобияльной симбиотической системой практически не изучены. Выяснение фундаментальных вопросов межпопуляционных и микробно-растительных взаимоотношений позволит установить механизмы формирования высокоэффективных комбинаций макро- и микросимбионтов для повышения продуктивности культурных растений.

Целью исследований было выделить из клубеньков сои эндофитные неризобияльные бактерии, провести их молекулярный анализ и исследовать азотфиксирующую активность.

Материал и методы исследований

Клубеньки сои (*Glucine max* (L.) Merr.) сортов Черемош, Сузирья и глифосат-толерантной линии 40-3-2 отбирали в фазу бутонизации-начала цветения (период активной азотфиксации), обрабатывали дезинфицирующим средством Микробак Форте («Боде ХемигмбХ и Ко»,
52 ISSN 2078-2357. Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол., 2014, № 3 (60)

Германия) и многократно отмывали стерильной водой. Из поверхностно стерилизованных клубеньков выделяли эндофитные бактерии, выращивая их на агаризованной маннитно-дрожжевой среде при температуре 28°C в течение 2 суток. Для определения таксономической принадлежности быстрорастущих эндофитных изолятов проводили их молекулярный анализ. ДНК получали с помощью модифицированного щелочного метода Бирнбойма-Доли и Wizard-технологии фирмы Promega (США) [1]. Амплификацию фрагмента гена 16S рРНК выделенных изолятов проводили с использованием универсальных праймеров 27F и 1492R [5] на ДНК-амплификаторе Gradient MasterCycler (Eppendorf, Германия). Очищенные по технологии Wizard (“Promega”, США) ПЦР-фрагменты секвенировали с теми же праймерами, что и для ПЦР-анализа, с использованием набора реактивов BigDye v.3.0 согласно рекомендации производителя на автоматическом секвенаторе ABI-PRISM 3730-Avant Genetic Analyzer (“Applied Biosystems”, США). Редактирование последовательностей проводили с помощью программного пакета BioEdit. Первичный сравнительный анализ последовательностей, полученных *de novo*, с последовательностями, представленными в базе данных GenBank, проводили с использованием сервера BLAST на сайте <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast> [2].

Азотфиксирующую активность эндофитных штаммов сои определяли в жидкой культуре ацетилен-редуктазным методом [2] на среде Эшби.

Результаты исследований и их обсуждение

С помощью молекулярного анализа изучены шесть характерных быстрорастущих изолятов, выделенных из клубеньков сои разных генотипов: из клубеньков сои сорта Черемош – изоляты 1 и 2, трансгенной сои – изоляты 3 и 4, сои сорта Сузирья – изоляты 5 и 6. По результатам сиквенс-анализа последовательности амплифицированного фрагмента гена 16S рРНК изоляты 1 и 6 были идентифицированы как *Paenibacillus polymyxa* и *Pseudomonas brassicacearum* с вероятностью сходства 100% (табл. 1). При молекулярной идентификации изолята 2 с меньшей вероятностью (80% сходства) установлено, что выделенный изолят наиболее близок к представителям рода *Ochrobactrum*. Изоляты 3 и 4 по морфологии колоний и клеток были идентичны изоляту 1 и проявили сходство последовательности фрагмента гена 16S рРНК с микроорганизмами рода *Paenibacillus* на уровне 80%. Изолят 5 оказался наиболее близким к представителям рода *Acinetobacter* (80% сходства).

Таблица 1

Результаты сиквенс-анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК эндофитных бактерий, изолированных из клубеньков сои.

Изолят	Ближайший известный организм (номер в GenBank)	Сходство нуклеотидных последовательностей, %
1	<i>Paenibacillus polymyxa</i> E681 (CP000154.1)	100
	<i>Paenibacillus polymyxa</i> SC2 (CP002213.1)	100
6	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> subs. <i>brassicacearum</i> NFM421 (NR074834.1)	100
	<i>Pseudomonas brassicacearum</i> MA250 (DQ886486.1)	100

При исследовании нитрогеназной активности эндофитных бактерий из клубеньков сои установлено, что среди шести изученных изолятов такую активность на жидкой среде Эшби проявили только изоляты 4 и 5.

Таблица 2

Азотфиксирующая активность эталонного штамма азотобактера и изолированных из клубеньков сои неризобияльных бактерий.

Вариант	Активность азотфиксации, нмоль C ₂ H ₄ /мл.кл. Ч 2 часа
<i>Azotobacter chroococcum</i> УКМ В-6003	110
Изолят 4	192
Изолят 5	210

Активність даних ізолятів перевищала активність еталонного штамма *Azotobacter chroococcum* УКМ В-6003 в 1,7 і 1,9 рази відповідно (табл. 2), що дозволяє зробити припущення про їх участь в забезпеченні рослин сої зв'язаним азотом.

Висновки

Из клубеньков сои разных генотипов выделены эндофитные неризобийные бактерии, филогенетически близкие к представителям родов *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Acinetobacter*. Два изолята принадлежали к видам *Paenibacillus polymyxa* и *Pseudomonas brassicacearum*. Изоляты 4 и 5, согласно молекулярному анализу родственные *Paenibacillus* и *Acinetobacter*, проявляли азотфиксирующую активность, почти в 2 раза превосходящую показатель эталонного штамма азотобактера.

1. *Выделение ДНК из различных пищевых продуктов с помощью модифицированного щелочного метода* / [Булыгина Е.С., Колганова Т.В., Сухачева М.В. и др.] // Биотехнология. — 2009, № 2. — С. 83—90.
2. Режим доступу : URL : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>. — [Електронний ресурс]. — Назва з екрана.
3. *Шавалеева Д.В.* Ростстимулирующая и антагонистическая активность эндофитов, выделенных из разных тканей гороха / Д.В. Шавалеева // Экология и научно-технический прогресс: Вторая Всероссийская конференция с международным участием конгресса студентов и аспирантов-биологов. Пермь, 2009. — С. 85—86.
4. *Hardy R.W. F.* Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation / Hardy R.W. F., Burns R.C., Holsten R.D // Soil. Biol. Biochem. — 1973. — 5, № 1. — P. 41—83.
5. *Lane D.J.* 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt E., Goodfellow M. (eds) Nucleic acid techniques in bacterial systematic. Wiley, New York, 1991. — P.115—175.
6. *Microbes for Legume Improvement* / Khan M.S., Zaidi A., Musarat J. (Eds.). Wien: Springer-Verlag, 2010. — 554 p.

I.S. Brovko, L.V. Tytova, G.O. Iutynska M.V. Sukhacheva, I.K. Kravchenko

Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України

Федеральна державна бюджетна установа науки Центр «Біоінженерія» РАН

Федеральна державна бюджетна установа науки Інститут мікробіології імені С. М. Виноградського РАН

ІДЕНТИФІКАЦІЯ І АЗОТФІКСУВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЕНДОФІТНИХ НЕРИЗОБІАЛЬНИХ БАКТЕРІЙ ІЗ БУЛЬБОЧОК СОІ

Дослідження останніх років показали, що бактерії-ендофіти – широко розповсюджені компоненти мікробно-рослинних угруповань і здатні впливати на формування симбіотичних систем, а також на ріст і продуктивність рослин.

З бульбочок сої трьох генотипів (сортів Черемош, Сузір'я і гліфосат-толерантної лінії 40-3-2) виділені ендоситні неризобіальні бактерії. За результатами сиквенс-аналізу нуклеотидних послідовностей фрагменту гена 16S рРНК ізоляти близькі до представників родів *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Acinetobacter*. Дослідження ацетилен-редуктазної активності виділених ендоситів у чистій культурі показало, що два ізоляти, філогенетично близькі до родів *Paenibacillus* і *Acinetobacter*, мають високу азотфіксувальну активність.

Ключові слова: соєво-ризобіальний симбіоз, ендоситні бактерії бульбочок, таксономія, азотфіксація

I.S. Brovko, L.V. Tytova, G.O. Iutynska, M.V. Sukhacheva, I.K. Kravchenko

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NASU, Ukraine

Federal State Institution of Science Centre "Bioengineering" RAS, Russia

Federal State Institution of Science Winogradsky Institute of Microbiology RAS, Russia

IDENTIFICATION AND NITROGEN-FIXING ACTIVITY OF ENDOPHYTIC RHIZOBIAL BACTERIA FROM SOYA TUBERS

Recent studies showed that the endophytic bacteria are common components of microbe-plant communities and are able to influence on the symbiotic systems formation, as well as on growth and productivity of plants.

Non-rhizobial endophytic bacteria were isolated from soybean nodules of three genotypes (cultivars Cheremosh, Suzirya and glyphosate-tolerant line 40-3-2). According to the results of sequence-

analysis of nucleotide sequences of the 16S rRNA gene fragment isolates are close to the representatives of the *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Acinetobacter*. Study of the endophytic bacteria acetylene-reductase activity in pure culture showed that two isolates, phylogenetically close to the *Paenibacillus* and *Acinetobacter*, are able to fix the atmospheric nitrogen. Their nitrogen-fixing activity was larger than the *Azotobacter* reference strain rate.

Keywords: soybean-rhizobial symbiosis, endophytic bacteria of nodules, taxonomy, nitrogen fixation

Рекомендує до друку

Надійшла 10.04.2014

В.П. Патика

УДК 579.266.2:574.38

А.А. БУНАС, Я.В. ЧАБАНЮК, О.М. ДМИТРУК

Інститут агроекології і природокористування НААН України
вул. Метрологічна, 12, Київ, 03143

АЗОТФІКСУВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІЗОЛЯТІВ РИЗОСФЕРИ РОСЛИН ЗАЛЕЖНО ВІД ЕКОТОПУ ІЗОЛЮВАННЯ

Вивчено вплив різних доз азотного добрива на структуру та функціонування мікробіоценозу ризосфери рослин ріпаку. Виявлено, що 78% бактеріальних ізолятів, виділених з рослин ризосфери ріпаку, можуть використовувати в своїх трофічних ланцюгах мінеральний і органічний азот або за відсутності зв'язаних форм цього елемента, фіксувати інертний молекулярний азот атмосфери з різною активністю. Встановлено, що бактеріальні ізоляти А-29 та К-11, виділені з контрольного варіанту, володіли найвищим рівнем азотфіксації.

Ключові слова: ріпак, ризосферні мікроорганізми, нітрогеназна активність

Високородючі ґрунти України еволюційно сформувались здебільшого під степовими фітоценозами, в яких найважливішу роль азотонакопичувачів виконують бактерії, які фіксують азот атмосфери в умовах вільного існування, або в асоціативній взаємодії з рослинами [3, 5]. Основна частина мікроорганізмів ризосфери рослин представлена гетеротрофами, що використовують у своїх трофічних шляхах кореневі виділення рослин. Таким чином, взаємодії мікроорганізмів у ризосфері рослин базуються на фоні міжвидової конкуренції за трофічні ресурси [1]. В умовах конкурентних взаємовідносин у ґрунті домінуюча роль належить популяціям, що володіють високим рівнем адаптивності до чинників середовища існування.

З метою вивчення особливостей функціонування трофічних взаємодій в угрупованні мікроорганізмів основних еколого-трофічних та таксономічних груп ризосфери рослин ріпаку залежно від доз внесеного азоту мінеральних добрив проведено скринінг та дослідження азотфіксувальних властивостей діазотрофних ізолятів, виділених із ризосферного ґрунту досліджуваних агроценозів.

Матеріал і методи досліджень

Ґрунтові зразки ризосфери рослин ріпаку відбирали впродовж вегетації в тимчасовому польовому досліді Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН: у II декаді травня (фаза цвітіння); II декаді червня (фаза дозрівання врожаю); II декаді липня (після збору врожаю). Культура – ріпак озимий сорту Чорний велетень. Облікова площа ділянок – 25 м². Розміщення варіантів досліді – систематичне послідовне. Повторність – чотирикратна.

Схема досліді: 1. Контроль (без внесення добрив); 2. N₁₂₀P₈₀K₁₄₀; 3. N₁₅₀P₈₀K₁₄₀; 4. N₁₈₀P₈₀K₁₄₀.

Використовували мінеральні добрива: аміачну селітру, суперфосфат простий та калій хлористий. На дослідній ділянці перед посівом ріпаку озимого створювали фон фосфорних та калійних добрив у концентрації 80 кг/га та 140 кг/га відповідно. Підживлення рослин ріпаку

азотними добривами в усіх дослідних варіантах здійснювали навесні наступного року в три етапи залежно від варіанта досліджу.

Виділення домінуючих ізолятів мікроорганізмів, їх морфологічні, культуральні, фізіолого-біохімічні властивості визначали загальноприйнятими у мікробіології методами [4]. Домінантними вважались мікроорганізми, які на чашці Петрі склали більше 10%.

Азотфіксувальну активність домінуючих ізолятів визначали методом Харді в модифікації Умарова [4].

Результати досліджень та їх обговорення

Рослини ріпаку для формування оптимальної вегетативної маси, високого і якісного урожаю потребують внесення великої кількості мінеральних добрив, особливо азотних. За таких умов, найбільший інтерес при дослідженні мікроорганізмів-домінантів основних еколого-трофічних та таксономічних груп ризосфери рослин ріпаку викликають амоніфікуючі бактерії та бактерій, що здатні асимілювати мінеральні форми азоту. В лабораторних умовах виділено 82 бактеріальні ізоляти, з яких 40 ізолятів віднесено до амоніфікаторів та 42 ізоляти – до групи бактерій, що використовують мінеральні форми азоту.

Спираючись на принцип дублювання функцій мікроорганізмів [2] у мікробіоценозі намагались встановити діапазон трофності виділених домінуючих ізолятів амоніфікаторів і бактерій, що асимілюють мінеральний азот мають здатність рости на середовищах зі змінним джерелом азоту (органічний ↔ мінеральний, тобто МПА ↔ КАА) або за відсутністю цього елемента, фіксувати його з атмосфери (седовище Ешбі розведене в 100 разів).

Проаналізувавши отримані дані, виявили, що 78% з виділених бактеріальних ізолятів проявили широкоспецифічні властивості (рис. 1), тобто бактерії володіють здатністю використовувати в своїх трофічних ланцюгах мінеральний, органічний азот або за відсутності цього елемента, фіксувати його з різною активністю. Оскільки переважна частка мікроорганізмів є широко специфічними, то саме вона більш повно відображає властивості мікробіоценозу [1, 2]. Перспективність ізолятів діазотрофів оцінюють за конкурентоздатністю до ніш існування, спроможністю колонізувати корені рослин, невимогливістю до умов існування, швидкістю росту і використанням поживних речовин, продукції біологічно активних речовин тощо [6].

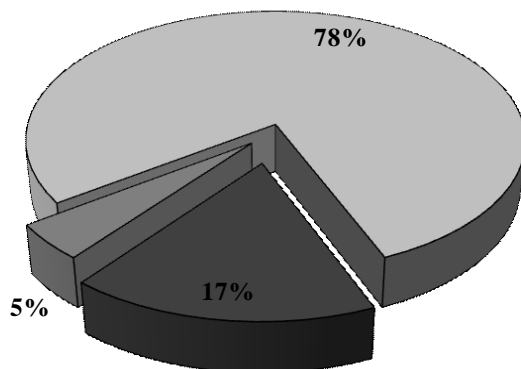


Рис. 1. Частка широкоспецифічних бактеріальних ізолятів серед виділених домінуючих ізолятів ризосфери ріпаку:

■ широкоспецифічні, ■ середньоспецифічні, ■ вужькоспецифічні

Тому, визначення азотфіксувальних властивостей бактеріальних ізолятів виділених з ризосфери рослин ріпаку, проводили на тих ізолятах, що володіли широким діапазоном трофності та за всіма ознаками були діазотрофами.

Виявлено, що всі 10 ізолятів, виділені з ризосфери рослин ріпаку контрольного варіанту володіють здатністю синтезувати фермент нітрогеназу. Рівень відновлювання ацетилену коливався в межах 2,22 до 18 нМ С₂Н₂/мл/год. Найвищий рівень нітрогеназної активності виявлено у ізоляту А-29, найнижчий – для ізоляту А-27.

Дослідження нітрогеназної активності ізолятів, виділених з кореневої зони рослин ріпаку екотопів, де вносили азот у кількості 120 і 150 кг/га, показує, що рівень активності азотфіксувального ферменту більшості ізолятів, а саме 11, коливався в межах 6–8 нМ С₂Н₂/мл/год. Виключенням став ізолят К-17 та А-2 з рівнем активності нітрогенази 15,0 та 11 нМ С₂Н₂/мл/год, відповідно.

Бактеріальні ізоляти, виділені з ґрунту ризосфери рослин ріпаку де вносили 180 кг/га азоту, проявили нітрогеназну активність у межах 5–6 нМ С₂Н₂/мл/год, що вказує на вибірковість середовища існування.

Висновки

Результати дослідження нітрогеназної активності, діазотрофних ізолятів, виділених з ризосфери рослин ріпаку, свідчать, що рівень синтезу азотфіксувального ферменту залежить від концентрації азоту в середовищі зі збільшенням його вмісту в ґрунтовому розчині активність знижується, тобто поліфункціональна мікробіота блокує процес азотфіксації і споживає доступний елемент. Але необхідно зауважити, що у контрольному варіанті різноманіття діазотрофів і діапазон їх азотфіксувальної властивості набагато більший порівняно з іншими екотопами дослідження.

1. *Белимов А.А.* Взаимодействие ассоциативных бактерий и растений в зависимости от биотических и абиотических факторов: автореф. дис. на соискание уч. степени доктора б. наук: спец. 03.00.07 «Микробиология» / А. А. Белимов. — С.-Петербург, 2008. — 46 с.
2. *Белимов А.А.* Приживаемость и эффективность корневых диазотрофов при инокуляции ячменя в зависимости от температуры и влажности почвы / А.А. Белимов, С.М. Поставская, А.П. Кожемяков и др. // Микробиология. — 1994. — Т. 63. — С. 900—908.
3. *Біологічний азот: [монографія]* / [Патика В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В., Шерстобоева О.В., Мельничук Т.М., та інші]; за ред. В.П. Патики — К.: Світ, 2003. — 424 с.
4. *Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія* / [Волкогон В.В., Надкернична О.В., Токмакова Л.М., Мельничук Т.М., Чайковська Л.О та інші]; за ред. В.В. Волкогона. — К.: Аграрна наука. — 2010. — 464 с.
5. *Кожемяков А.П.* Эффективность препаратов корневых диазотрофов при бактериализации ярового рапса / А.П. Кожемяков, А.А. Белимов // Агрехимия. — 1994. № 7 — 8. — С. 62—67.
6. *Smil V.* Biofixation and nitrogen in biosphere and in global food production / V. Smil // Nitrogen Fixation: Global Perspectives (eds. T. Finan, M. O'Brian, D. Layzell, K. Vessey, W. Newton). — 2000. — P. 7—11.

А.А. Бунас, Я.В. Чабанюк, А.М. Дмитрук

АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭКОТОПОВ ИЗОЛИРОВАНИЯ

Проведено исследование по изучению влияния различных доз азотного удобрения на структуру и функционирование микробиоценоза ризосферы растений рапса. Выявлено, что 78% бактериальных изолятов, выделенных из растений ризосферы рапса, могут использовать в своих трофических цепях минеральный и органический азот или при отсутствии связанных форм этого элемента фиксировать инертный молекулярный азот атмосферы с разной активностью. Установлено, что бактериальные изоляты А-29 и К-11 выделенные из контрольного варианта, обладали высоким уровнем азотфиксации.

Ключевые слова: рапс, ризосферные микроорганизмы, нитрогеназная активность

A. Bunas, Y. Chabanuyk, A. Dmitruk

NITROGEN FIXATION ACTIVITY OF BACTERIAL ISOLATES RHIZOSPHERE OF PLANTS DEPENDING ON ECOTOPES ISOLATION.

A study on the effect of study different quantity fertilizers of nitrogen on the structure and functioning microorganism rhizosphera rape plants. Been identified, that 78% bakteria isolates selected of plants rhizosphera rape, able the use of the food chain, mineral, organic or the absence nitrogen forms, can be fix nitrogen from the atmosphere with different activity. It is established, that bakteria isolates A-29 and K-11 isolated from the control variant, has a high level of nitrogen fixation.

Keywords: rape, nitrogenase activity

Рекомендує до друку

Надійшла 29.04.2014

С.В. Пίδα

РОЛЬ БІЛКІВ У АДАПТАЦІЇ РОСЛИН КОНЮШИНИ ЛУЧНОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. TRIFOLII*, ДО УМОВ НАФТОЗАБРУДНЕНОГО ҐРУНТУ

Встановлено, що можливими елементами адаптивної відповіді рослин конюшини лучної на умови нафтозабрудненого ґрунту є зниження інтенсивності білкового синтезу та деградація білкових молекул, а також – посилення синтезу захисних білків. Виявлено існування альтернативних шляхів адаптації до умов нафтозабрудненого ґрунту у рослин, інокульованих різними штамми *Rh. leguminosarum bv. trifolii*.

Ключові слова: білковий спектр, *Trifolii pratense L.*, нафтозабруднений ґрунт, інокуляція, *Rhizobium leguminosarum bv. trifolii*

Вирощування бобових рослин у нафтозабрудненому ґрунті – ефективний спосіб його відновлення. Деструкторами нафти є, зазвичай, бактерії. Проте окремі вуглеводні важко засвоюються мікроорганізмами і тому затримуються у ґрунті надовго. Наявність вуглеводнів спричинює склеювання ґрунтових часток та закупорення пор ґрунту. У наслідок цього, в ґрунті виникає дефіцит вологи й кисню [5, 6]. Анаеробність є причиною кардинальних змін мікробіологічних процесів у забрудненому ґрунті, насамперед, це – пригнічення життєдіяльності аеробних амоніфікаторів й нітрифікаторів та активування анаеробних денітрифікаторів [3]. Водночас у ґрунті інтенсивно розмножуються мікроорганізми, які використовують вуглеводні як джерело живлення, а вони, крім С потребують також N [2, 5]. У наслідок цього, в ґрунті виникає винятковий дефіцит нітрогену. У цих умовах покращити азотний режим забрудненого ґрунту можна шляхом вирощування рослин, здатних нагромаджувати нітроген (завдяки фіксації N атмосфери у симбіозах з бульбочковими бактеріями). Попередніми дослідженнями встановлено, що толерантними до умов нафтозабрудненого ґрунту є бобові рослини – соя, люцерна й конюшина. Проте, нафтове забруднення ґрунту спричиняє негативний вплив на процеси формування бобово-ризобіальних симбіозів. З метою покращити нодуляційну здатність у забрудненому ґрунті здійснювали інокуляцію насіння конюшини лучної активними штамми *R. leguminosarum bv. trifolii*. Досліджували особливості білкового спектру інокульованих рослин за умов нафтозабрудненого ґрунту.

Матеріал і методи досліджень

Насіння конюшини лучної (*T. pratense L.*) сорту Передкарпатська 6 знезаражували 70% спиртом та відмивали водопровідною водою. Для інокуляції використали штам-стандарт 348а та активні штамми BN9 та A91 *Rh. leguminosarum bv. trifolii* з колекції *Rhizobium* Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Особливістю цих штамів є менша чутливість до несприятливих екологічних чинників, зокрема – нестачі вологи [4]. Інокуляцію насіння здійснювали упродовж 1 год. безпосередньо перед посівом у ґрунт. Використовували дерново-підзолистий ґрунт з околиць м. Борислава Львівської обл. Повітряно-сухий ґрунт вимішували з нафтою та наповнювали ним горщики. Кількість нафти у ґрунті становила 5% (така концентрація нафти має виражену інгібувальну дію на ріст багатьох рослин). Контролем вважали ґрунт без нафти. Перед посівом насіння ґрунт зволожували. Рослини вирощували у лабораторних умовах. Вміст білкового і небілкового нітрогену визначали хлораміновим методом [7]. Спектр білків визначали методом електрофорезу [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Утворення необхідних для захисту рослинної клітини сполук, зокрема – білків, є однією з первинних неспецифічних відповідей на стрес. Встановлено, що за нафтозабрудненого ґрунту

ЕКОЛОГІЯ

кількість білкових сполук у коренях та пагонах конюшини лучної практично не змінювалися, водночас у пагонах збільшувався вміст небілкового нітрогену (таблиця).

Таблиця

Вплив нафтозабрудненого ґрунту на вміст білкового і небілкового нітрогену в органах конюшини лучної на стадії 1-го трійчастого листка

Досліджуваний показник	Незабруднений ґрунт		Ґрунт з вмістом нафти (5%)	
	корінь	пагін	корінь	пагін
Довжина / висота, см	7,3±0,8	8,5±0,7	5,8±0,9	3,6±0,4
Вміст білкового нітрогену, % маси сухої речовини	2,4±0,1	3,8±0,5	2,5±0,2	3,5±0,2
Вміст небілкового нітрогену, % маси сухої речовини	0,4±0,01	0,5±0,01	0,6±0,02	1,1±0,02

Збільшення кількості низькомолекулярних нітрогеновмісних сполук свідчить або про гальмування синтезу білків, або про активацію процесів протеолізу у рослинах конюшини за дії нафтового забруднення ґрунту. У наступних дослідженнях встановлено, що під впливом нафтового забруднення відбувалося підвищення вмісту білків. Проте на тлі деградації окремих білкових молекул цього збільшення не було помітно.

Так, аналіз білкового спектру листків конюшини лучної на стадії 1-го трійчастого листка показав, що за впливу нафтозабрудненого ґрунту з'являлося більше (у 2–4 рази) білків з приблизними молекулярними масами 110, 75 і 50 кД та з'являвся високомолекулярний білок з Мг 120 кД; водночас, утричі зменшувалася кількість білка з молекулярною масою біля 56 кД (рисунок). Кількість цього білка у листках у нормі була більшою від вмісту інших білків на 2 порядки. Зважаючи на це, а також на відомості, згідно з якими до 50% усіх водорозчинних білків й до 30% загального нітрогену листків рослин з С-3 шляхом фотосинтезу припадає на фермент РУБІСКО, можна припустити, що білком з молекулярною масою 56 кД є великі субодиниці цього ферменту. Зменшення кількості білка з молекулярною масою 56 кД під впливом нафтозабрудненого ґрунту може бути наслідком його деградації, спрямованої на поповнення азотного пулу рослин. Вивільнені унаслідок деградації амінокислоти можуть транспортуватися флоемою до кореня для синтезу у ньому нових функціональних білків, тому що, у коренях рослин із забрудненого ґрунту виявлено істотне зростання (приблизно утричі) кількості білків з Мг 90 і 37 кД (мінорних) і білків з молекулярними масами 50 й 39 кД.

Отже, унаслідок впливу нафтозабрудненого ґрунту білковий склад рослин конюшини зазнавав таких змін: у листках збільшувалася кількість характерних для норми білків з Мг 50, 75 і 110 кД, з'являвся високомолекулярний білок (~120 кД) та зменшувалася кількість білка з Мг 56 кД; у коренях істотно зростає вміст білків з Мг 90, 37, 50 і 39 кД. Крім цього, вираженою ознакою впливу нафтозабрудненого ґрунту було зменшення у коренях рослин (удвічі) кількості білків з Мг 40 і 32 кД.

Існування різних стратегій адаптації до нафтозабрудненого ґрунту виявлено у результаті дослідження білкового складу рослин конюшини лучної, інокульованих різними штамми *Rh. leguminosarum* *bv. trifolii*. Так, дія нафтового забруднення індукувала збільшення кількості у листках характерних для норми білків з Мг 50, 75 і 110 кД, інокуляція ж штамом 348а викликала додаткове зростання (приблизно на 30%) вмісту двох з них (110 і 50 кД), а інокуляція штамом BN9 – лише білка з Мг 50 кД. У листках рослин із забрудненого ґрунту та інокульованих штамом A91 кількість білків з Мг 50 і 110 кД була взагалі нижчою від кількості, синтезованої під впливом нафтового забруднення (хоча й зростала відносно норми).

Отже, серед інокульованих рослин найбільшим вмістом білків у листках вирізнялися рослини, інокульовані штамом 348а. Водночас, у цих рослин спостерігався найнижчий рівень деградації білка 56 кД у листках та найменші кількості білків у коренях (білків з Мг 90, 39 та 37 кД). Обернено пропорційна залежність між вмістом у листках білка 56 кД та кількістю білків у коренях виявлена і для рослин, інокульованих штамми BN9 та A91, проте у цих випадках спостерігалася максимальна деградація білка 56 кД та максимальне збільшення кількості білків у

коренях (приблизно у 2,5 рази відносно контролю у коренях зростала кількість білків з Мг 50 і 39 кД та в 3,3 рази – білків з Мг 90 і 37 кД).

Збільшення кількості білків у коренях на тлі максимальної деградації у листках білка з Мг 56 кД і навпаки – найменші кількості білків у коренях за найнижчого рівня деградації у листках білка 56 кД свідчать, що синтез білків у коренях міг відбуватися за рахунок транспортованих з листків вивільнених амінокислот.

Загалом, зміни білкового спектру конюшини лучної, інокульованої різними штамми *Rh. leguminosarum* *bv. trifolii*, свідчать про адаптацію до умов нафтозабрудненого ґрунту, що може відбуватися або за рахунок посиленого синтезу білків у листках на тлі низького рівня деградації білка 56 кД й обмеження синтезу білків у коренях (як це відбувалося у рослин, інокульованих штамом 348а), або – шляхом деградації білків у листках, транспортування вивільнених амінокислот до коренів й посиленого синтезу у них нових потрібних білків (як це відбувалося у рослин, інокульованих штамми VN9 та A91).

Висновки

Адаптивна відповідь рослин конюшини лучної на нафтозабруднений ґрунт включає як зниження загальної інтенсивності білкового синтезу та деградацію білкових молекул, так і посилення синтезу захисних білків. Рослини конюшини лучної, інокульовані різними штамми *Rh. leguminosarum* *bv. Trifolii*, володіють альтернативними шляхами адаптації до нафтозабрудненого ґрунту.

Висловлюю щире подяку проф. Коцю С.Я. за надані для роботи штамми *Rh. leguminosarum* *bv. trifolii*.

1. *Биохимические* методы в физиологии растений / под. ред. О.А. Павлиновой. — М.: Наука, 1971. — С. 113—136.
2. Зеленько Ю.В., Плахотник В.Н. Изучение процессов проникновения тяжелых нефтепродуктов сквозь почву при транспортных авариях с целью прогнозирования их экологических последствий / Ю.В. Зеленько // Межрегиональные проблемы экологической безопасности: Сб. тр. симпозиума. — Сумы: СНАУ. — 2003. — С. 507—510.
3. Исмаилов Н.М. Влияние нефтезагрязнения на круговорот азота в почве / Н.М. Исмаилов // Микробиология. — 1983. — Т. 52. — Вып. 6. — С. 1003—1007.
4. Коць С.Я. Сучасний стан досліджень біологічної фіксації азоту / С.Я. Коць // Физиология и биохимия культ. растений. — 2011. — Т. 43, № 3. — С. 212—225.
5. Мірошніченко М.М. Вплив забруднення нафтою на властивості ґрунтів різного гранулометричного складу / М.М. Мірошніченко // Агрохімія і ґрунтознавство. — Вип. 60 — Київ: Аграрна наука, 2000 — С. 91—96.
6. Пиковский Ю.И. Трансформация техногенных потоков нефти в почвенных экосистемах / Ю.И. Пиковский // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. — М.: Наука, 1988. — С.7—22.
7. Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений / Х.Н. Починок. — К.: Наук. думка. — 1976. — С. 72—95.

О.И. Величко

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

РОЛЬ БЕЛКОВ В АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО, ИНОКУЛИРОВАННОГО *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. TRIFOLII*, К УСЛОВИЯМ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ

Исследование изменение общего содержания и состава белков растений клевера лугового на стадии 1-го тройчатого листа, индуцированные загрязнением почвы нефтью. Установлено, что под влиянием нефтезагрязненной почвы в листьях растений увеличивалось количество характерных для нормы белков с Мг 50, 75 і 110 кД, возникал высокомолекулярный белок (~120 кД), однако уменьшалось количество белка с Мг 56 кД; в корнях существенно возрастало содержание белков с Мг 90, 37, 50 и 39 кД, но уменьшалось количество белков с Мг 40 и 32 кД.

Обнаружено обратнопропорциональную зависимость между содержанием в листьях белка ~56 кД и количеством белков в корнях растений из нефтезагрязненной почвы и инокулированных разными штаммами *Rh. leguminosarum* *bv. trifolii*.

Адаптация к условиям нефтезагрязненной почвы растений, инокулированных штаммом 348a, происходила за счет усиленного синтеза белков в листьях на фоне низкого уровня деградации белка ~56 кД и ограниченного синтеза белков в корнях, а растений, инокулированных штаммами BN9 и A91 – путем существенной деградации белка ~56 кД в листьях и появления новых белков у корней.

Ключевые слова: белковый спектр, *Trifolii pratense L.*, нефтезагрязненная почва, инокуляция, *Rhizobium leguminosarum bv. trifolii*

O.I. Velychko

Ivan Franko National University of Lviv, Ukraine

ROLE OF PROTEINS IN THE ADAPTATION OF RED CLOVER PLANTS INOCULATED WITH *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. TRIFOLII* TO THE CONDITION OF OIL POLLUTED SOIL

It was investigated the changes in general content and composition of proteins in the red clover plants on the point of first trifoliate leaf under the influence of oil polluted soil. In these conditions the amount of typical for the norm proteins with Mr 50, 75 and 110 kDa was increasing and a high molecular protein (~120 kDa) had appeared, however the amount of protein with Mr 56 kDa was decreasing in the leaves; the content of proteins with Mr 90, 37, 50 and 39 kDa was increasing in the roots while the amount of proteins with Mr 40 and 32 kDa was decreasing.

It was detected the inverse proportion of the amounts of protein ~56 kDa in leaves and content of proteins in plants' roots inoculated with different stains *Rh. leguminosarum bv. trifolii* in the oil polluted soil.

The adaptation to the conditions of oil polluted soil of the plants inoculated with stain 348a was conducted by the intensified protein synthesis in the leaves on the background of low level of the protein with Mr 56 kDa degradation and the limited protein synthesis in the roots while the plants inoculated with stains BN9 and A 91 were adopted by protein degradation in leaves and reinforced synthesis of new proteins in the roots.

Keywords: protein spectrum, *Trifolii pratense L.*, oil polluted soil, inoculation, *Rhizobium leguminosarum bv. trifolii*

Рекомендує до друку

В.В. Грубінко

Надійшла 29.04.2014

УДК 579.262:579.64

С.В. ВОЗНЮК, Л.В. ТИТОВА, Г.А. ИУТИНСКАЯ

Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, ГСП, Д03680

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНЫХ СИСТЕМ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ФУНГИЦИДОВ И КОМПЛЕКСНОЙ ИНОКУЛЯЦИИ

В условиях полевых экспериментов показано, что обработка семян комплексным инокулянтom Эковитал на основе ризобий и *Bacillus megaterium* стимулировала формирование и функционирование соево-ризобияльных систем. Предварительное протравливание семян фунгицидом Витавакс 200 ФФ не приводило к угнетению симбиоза. При использовании Максим Стар 025 FS наблюдали тенденцию к снижению, а при применении Кинто дуо зафиксировано достоверное уменьшение фактической нитрогеназной активности в 1,8 раза. Установлено положительное влияние сочетанного применения исследованных фунгицидов с комплексной

инокуляцией на формирование фотосинтетического аппарата сои: содержание хлорофиллов в листьях возрастало в 1,2-2,1 раза.

Ключевые слова: соево-ризобильный симбиоз, комплексная инокуляция, фунгициды, нодуляционный аппарат, нитрогеназная активность, хлорофиллы, каротиноиды

Влияние пестицидов на сельскохозяйственные угодья, которое с годами все более возрастает, приводит к загрязнению почв и окружающей среды, снижению урожайности культурных растений и качества сельскохозяйственной продукции. На решение этих проблем направлено использование нетоксичных для человека и окружающей среды биопрепаратов, в том числе на основе микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности. Особый интерес вызывают симбиотические азотфиксирующие бактерии, которые, вступая в симбиоз с растением-хозяином, способствуют вовлечению связанного биологического азота в процесс формирования урожая, повышают продуктивность бобовых и плодородие почв [1, 4, 8].

Важная роль в онтогенезе растений принадлежит фосфатмобилизирующим бактериям. Они улучшают фосфорное питание растений благодаря синтезу фосфатаз и органических кислот, превращающих нерастворимые органические и неорганические соединения фосфора в доступные для растений формы. Кроме того, эти микроорганизмы часто проявляют фитостимулирующие свойства и антагонизм к фитопатогенам [3, 10, 11] что повышает эффективность симбиотических систем при коинокуляции [7].

В отделе общей и почвенной микробиологии Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины на основе ризобий сои и фосфатмобилизирующих бактерий *Bacillus megaterium* разработан комплексный микробный препарат Эковитал [6]. Входящие в состав препарата азотфиксирующие и фосфатмобилизирующие микроорганизмы не только улучшают азотное и фосфорное питание растений, но и синтезируют широкий спектр биологически активных метаболитов, в том числе фитогормонов (ауксины, цитокинины и гиббереллины), повышая стрессоустойчивость и продуктивность симбиоза [2, 5].

Целью работы было изучить влияние комплексного инокулянта Эковитал на формирование соево-ризобильных систем при применении современных средств защиты растений от грибных патогенов.

Материал и методы исследований

Исследования проводили в условиях микростационарных полевых опытов на ультраскороспелом сорте сои Аннушка (вегетационный период 75-85 дней). Растения выращивали на темно-серой оподзоленной почве. Семена сои вначале обрабатывали фунгицидами системного действия (согласно схеме эксперимента), а через 12 часов инокулировали комплексным микробным препаратом Эковитал. В состав Эковитала входили штаммы *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6018 и *B. japonicum* УКМ В-6035 (1:1), а также *B. megaterium* УКМ В-5724.

Опыты проводили по следующей схеме: 1. Без инокуляции (обработка семян водой); 2. Инокуляция Эковиталом (100 мл/га); 3. Максим Стар 025 FS (1 л/т семян) + Эковитал (100 мл/га); 4. Кинто дуо (1 л/т семян) + Эковитал (100 мл/га); 5. Витавакс 200 ФФ (3 л/т семян) + Эковитал (100 мл/га).

Азотфиксирующую активность нодуляционного аппарата сои определяли в фазу цветения ацетиленовым методом по Харди с соавт. [9], содержание хлорофиллов и каротиноидов – по Вельбурну [12].

Результаты исследований и их обсуждение

В полевых опытах показано, что инокуляция Эковиталом стимулировала развитие нодуляционного аппарата сои (табл. 1): количество клубеньков на растении увеличивалось в 3,0 раза (относительно контрольного варианта). Фактическая нитрогеназная активность при этом возрастала в 1,2 раза. В варианте с предварительной обработкой семян фунгицидом Витавакс 200 ФФ не происходило угнетения формирования и функционирования симбиотических систем. При использовании протравителя Максим Стар 025 FS наблюдали тенденцию к снижению фактической нитрогеназной активности клубеньков, а при применении Кинто дуо зафиксировано достоверное уменьшение этого показателя в 1,8 раза по сравнению с вариантом бактериализации Эковиталом. Одновременно во всех опытных вариантах активизировался нодуляционный процесс, что выражалось в увеличении количества клубеньков на корнях растений в 2,8-3,8 раза.

Формирование и функционирование нодуляционного аппарата сои сорта Аннушка при применении фунгицидов и комплексной инокуляции Эковиталом

Вариант обработки	Нитрогеназная активность		Клубеньки (на 1 растение)	
	Удельная, мкмоль C ₂ H ₄ /г клуб.· час	Фактическая, мкмоль C ₂ H ₄ /раст.· час	Количество, шт.	%
Контроль	2,5±0,6	1,3±0,5	6±1	100
Эковитал	3,4±0,7	1,6±0,3	18±3	300
Витавакс + Эковитал	3,8±0,5	1,6±0,2	17±4	283
Максим Стар + Эковитал	2,0±0,6	1,1±0,3	20±5	333
Кинто Дуо + Эковитал	3,0±0,8	0,9±0,05	23±3	383

Установлено положительное влияние сочетанного применения исследованных фунгицидов с последующей инокуляцией семян Эковиталом на формирование фотосинтетического аппарата сои (табл. 2). Наблюдали значительное увеличение количества хлорофиллов *a* и *b* в 1,1-1,4 и 1,4-2,1 раза соответственно относительно контрольного показателя во всех исследуемых вариантах. Содержание каротиноидов оставалось практически на уровне варианта без обработки.

Таблица 2

Содержание пигментов в листьях сои сорта Аннушка при применении фунгицидов и комплексной инокуляции Эковиталом

Вариант обработки	Содержание хлорофилла <i>a</i> , мг/г	Содержание хлорофилла <i>b</i> , мг/г	Содержание каротиноидов, мг/г
Контроль	0,68±0,02	0,08±0,01	0,33±0,02
Эковитал	0,74±0,01	0,11±0,01	0,35±0,01
Витавакс + Эковитал	0,79±0,02	0,17±0,01	0,35±0,01
Максим Стар + Эковитал	0,97±0,1	0,13±0,01	0,37±0,01
Кинто Дуо + Эковитал	0,87±0,02	0,12±0,01	0,37±0,02

Выводы

Предварительное протравливание семян сои препаратами Витавакс 200 ФФ, Максим Стар 025 FS и Кинто дуо перед комплексной инокуляцией Эковиталом не ингибировало вирулентность ризобий. Нитрогеназная активность симбиотического аппарата в варианте с Витаваксом 200 ФФ была на уровне показателей варианта с Эковиталом, что свидетельствует об устойчивости бактерий-биоагентов к этому фунгициду. При использовании Максим Стар 025 FS наблюдали тенденцию к снижению, а при применении Кинто дуо зафиксировано достоверное уменьшение фактической нитрогеназной активности в 1,8 раза. При этом установлено положительное влияние сочетанного применения исследованных фунгицидов с комплексной инокуляцией на формирование фотосинтетического аппарата сои.

1. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобияльный симбиоз (монография в 4-х т.) / Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. и др. — К.: Логос, 2011. — Т. 2. — 523 с.
2. Драговоз И.В. Синтез фитогормонов штаммами *Bradyrhizobium japonicum* различной симбиотической эффективности / Драговоз И.В., Леонова Н.О., Иутинская Г.О. // Микробиол. журнал. — 2011. — Т. 73, № 4. — С. 29—35.
3. Михайлова Н.А. Бактерии рода *Bacillus* – продуценты биологически активных веществ антимикробного действия / Михайлова Н.А., Гринько О.М. // Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2010. — № 3. — С. 85—89.
4. Титова Л.В. Азотфиксирующие микроорганизмы в микробно-растительных системах / Титова Л.В., Леонова Н.О., Антипчук А.Ф. // Биорегуляция микробно-растительных систем / Ред. Иутинская Г.А., Пономаренко С.П. Киев: Ничлава. — 2010. — С. 99—105.

5. *Титова Л.В.* Застосування комплексних мікробних препаратів – основа сталих високопродуктивних агрофітоценозів / Титова Л.В., Леонова Н.О., Бровко І.С. // Тези доповідей ІХ з'їзду Українського товариства ґрунтознавців та агрохіміків. — Миколаїв, 30 червня – 4 липня 2014 р. — С. 321—322.
6. Патент № 101388, (Україна), МПК (51) (2013.01) C05F 11/00, C12P 39/00. *Титова Л.В., Леонова Н.О., Бровко І.С., Іутинська Г.О.* Комплексний мікробний препарат Ековітал для інокуляції насіння бобових культур. — Опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6.
7. *Argaw A.* Evaluation of Co-inoculation of *Bradyrhizobium japonicum* and Phosphate Solubilizing *Pseudomonas spp.* Effect on Soybean (*Glycine max* L. (Merr.)) in Assossa Area / A. Argaw // J. Agr. Sci. Tech. — 2012. — V. 14. — P. 213—224.
8. *Bashan Y.* Inoculants of plant growth promoting bacteria for use in agriculture / Y. Bashan // Biotechnol. Adv. — 1998. — V.16. — P. 729—770.
9. *Hardy R.W. F.* Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation / Hardy R.W. F., Burns R.C., Holsten R.D. // Soil. Biol. Biochem. — 1973. — V. 5, № 1. — P. 41—83.
10. *Kloepper J.W.* Systemic resistance and promotion of plant growth of *Bacillus sp.* / Kloepper J.W., Ryn C.M. and Zhang S.A. // Phytopathology. — 2004. — V.94. — P. 1259—1266.
11. *Kristek S.* Inoculation of Sugar Beet Seed with Bacteria *P. fluorescens*, *B. subtilis* and *B. megaterium* – Chemical Fungicides Alternative / Kristek S., Kristek A., Kocevski D. // Fungicides - Beneficial and Harmful Aspects / Edited by Dr. Nooruddin Thajuddin. inTech — 2011. — P. 99—116.
12. *Wellburn A.R.* The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids using solvents with spectrophotometers of different resolution / A.R. Wellburn // J. Plant Physiol. — 1994. — V. 144, № 3. — P. 307—313.

С.В. Вознюк, Л.В. Титова, Г.О. Іутинська

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ СОЄВО-РИЗОБІАЛЬНИХ СИСТЕМ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ФУНГІЦИДІВ ТА КОМПЛЕКСНОЇ ІНОКУЛЯЦІЇ

За умови польових експериментів показано, що обробка насіння комплексним інокулянтном Ековітал на основі ризобій і *Bacillus megaterium* стимулювала формування та функціонування соєво-ризобіальних систем. Попереднє протруювання насіння фунгіцидом Вітавакс 200 ФФ не призводило до пригнічення симбіозу. При застосуванні Максим Стар 025 FS спостерігали тенденцію до зниження, а при використанні Кінто дуо виявлено достовірне зменшення фактичної нітрогеназної активності в 1,8 рази. Встановлено позитивний вплив сумісного застосування досліджуваних фунгіцидів з комплексною інокуляцією на формування фотосинтетичного апарату сої: вміст хлорофілів у листках збільшувався в 1,2-2,1 рази.

Ключові слова: соєво-ризобіальний симбіоз, комплексна інокуляція, фунгіциди, нодуляційний апарат, нітрогеназна активність, хлорофіли, каротиноїди

S.V. Vozniuk, L.V. Tytova, G.O. Iutynska

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Science of Ukraine

FEATURES OF THE FORMATION OF RHIZOBIUM-SOYBEAN SYSTEMS IN THE USE OF FUNGICIDES AND COMPLEX INOCULATION

Complex seeds inoculation by Ekovital based on rhizobia and *Bacillus megaterium* stimulated the formation and functioning of soybean rhizobium systems under field experiments conditions. The preliminary seeds treatment by fungicide Vitavaks 200 FF did not lead to inhibition of symbiosis. After Maxim Star 025 FS using we observed the tendency to decrease of actual nitrogenase activity. The application of Kinto duo affected significant decrease of the actual nitrogenase activity by 1.8 times. The positive effect of tested fungicides with complex inoculation on the formation of soybean photosynthetic apparatus has been found. The content of chlorophyll in soybean's leaves increased to 1.2-2.1 times.

Keywords: rhizobium-soybean symbiosis, complex inoculation, fungicides, nodulation apparatus nitrogenase activity, chlorophylls, carotenoids

Рекомендує до друку

Надійшла 15.04.2014

С.Я. Коць

ВПЛИВ СИМБІОТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* НА ЦИТОКІНІНОВИЙ СТАТУС РОСЛИН СОЇ

В умовах вегетаційного дослідження вивчали вплив штамів та Tn5-мутантів *Bradyrhizobium japonicum* із різними симбіотичними характеристиками на рівень фітогормонів цитокінінової природи у коренях та бульбочках сої *Glycine max* L. (Merr.) сорту Мар'яна. Встановлено прямий зв'язок між вмістом зеатину в кореневих бульбочках сої та ефективністю інокулянта в фазі першого трійчастого листка та бутонізації. Висунуто припущення, що вміст зеатину та зеатинрибозиду в бульбочках на початкових етапах формування симбіотичного апарату може бути пов'язаний із вірулентністю ризобій.

Ключові слова: *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, Tn5-мутанти, цитокініни, зеатин, зеатинрибозид

В останні роки інтерес дослідників спрямований на поглиблене вивчення ролі фітогормонів у динамічних симбіотичних системах рослина-господар-мікроорганізми та з'ясування природи і характеру взаємодії макро- і мікроорганізмів. Серед усіх відомих на сьогодні класів гормонів рослин важливе місце у встановленні і функціонуванні симбіотичних взаємовідносин посідають гормони цитокінінової природи [1, 2, 7].

У коренях бобових цитокінінам належить основна роль у реактивації клітинного циклу та генів, асоційованих із ним, а також низки генів ранньої нодуляції, зокрема *ENOD2*, *ENOD12A*, *ENOD40*, що в подальшому ініціює утворення корневих бульбочок [5–7]. Поряд із рослинними фітогормонами не виключена участь і ризобіальних цитокінінів у регуляції даного процесу, що також сприяє формуванню симбіотичного апарату [6].

Розумінню специфіки гормональної реакції рослин на інокуляцію сприяє використання у дослідженнях різних за ефективністю ризобій зі зміненими симбіотичними ознаками, отриманих сучасними методами генетичної інженерії [4].

Метою наших досліджень було вивчення зв'язку між симбіотичними властивостями штамів-інокулянтів і вмістом фітогормонів цитокінінової природи у коренях та корневих бульбочках сої.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили з рослинами сої (*Glycine max* L. (Merr.) сорту Мар'яна, інокульованої різними за ефективністю штамми *Bradyrhizobium japonicum*: 646 (вихідний штам, високоактивний, високовірулентний), 604к (неактивний, високовірулентний) і T21-2 (високоактивний, високовірулентний) та Tn5-мутантами штаму 646: 9-1 (високоактивний, середньовірулентний), 113 (малоактивний, високовірулентний) із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. У контрольному варіанті використовувалися рослини без інокуляції.

Рослини вирощували у посудинах Вагнера в піщаній культурі з внесенням поживної суміші Гельрігеля з 0,25 норми азоту за умов природного освітлення та оптимального (60% повної вологості) водозабезпечення. Перед посівом простерилізоване 70% етанолом і промите під проточною водою насіння інокулювали протягом 1 год. суспензіями бульбочкових бактерій, концентрація яких становила 10^7 клітин/мл.

Вміст цитокінінів (зеатин та зеатинрибозид) у коренях та бульбочках сої в одній рослинній пробі визначали методом кількісної спектроденситометричної тонкошарової хроматографії [3].

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали з використанням ПЕОМ і з залученням пакетів програм Microsoft Excel'10.

Результати досліджень та їх обговорення

Відомо, що ризобії індукують зміни балансу цитокінінів як у коренях, так і у бульбочках. Рівень бульбочкових цитокінінів порівняно з кореневими, може підвищуватись у численних видів рослин – *Pisum sativum*, *Phaseolus mungo*, *Myrica gale*, *Vicia faba* [6].

У ході наших досліджень було відмічено, що інокуляція насіння сої штамми та Tn5-мутантами *B. japonicum* різної ефективності приводить до незначного збільшення пулу зеатину в коренях порівняно з контролем на початкових стадіях становлення симбіотичних взаємовідносин (рис. 1).

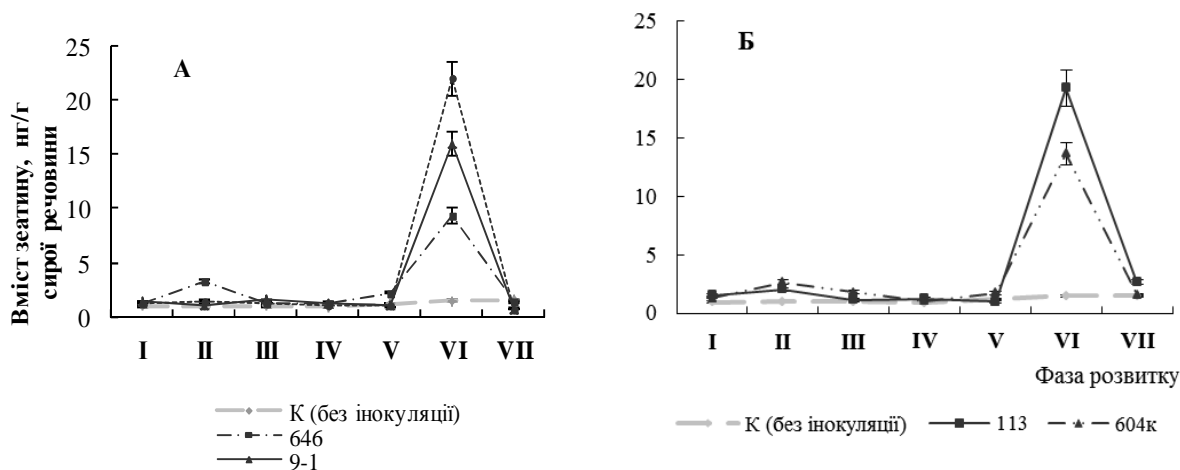


Рис. 1. Вміст зеатину в коренях рослин сої за використання активних (А) та малоактивного й неактивного (Б) штамів і Tn5-мутантів *B. japonicum*. *Тут і надалі фази розвитку сої: I – поява сім'ядольних листків, II – сім'ядольних листків, III – першого трійчастого листка, IV – двох трійчастих листків, V – трьох трійчастих листків, VI – бутонізації, VII – цвітіння

У той же час у фазу бутонізації показник вмісту зеатину в коренях контрольного варіанту кардинально відрізнявся від дослідних, внаслідок чого можна припустити, що функціонування симбіотичної системи та синтез зеатину тісно пов'язані між собою, при цьому вплив бактеризації на вміст даного гормону в коренях є визначальним, незалежно від ефективності штамів-інокулянтів.

При визначенні вмісту зеатину в кореневих бульбочках відзначено два періоди в онтогенезі сої, коли суттєво підвищується вміст даного гормону: під час формування симбіотичного апарату (фаза першого трійчастого листка) та його активного функціонування (фаза бутонізації та цвітіння) (рис. 2).

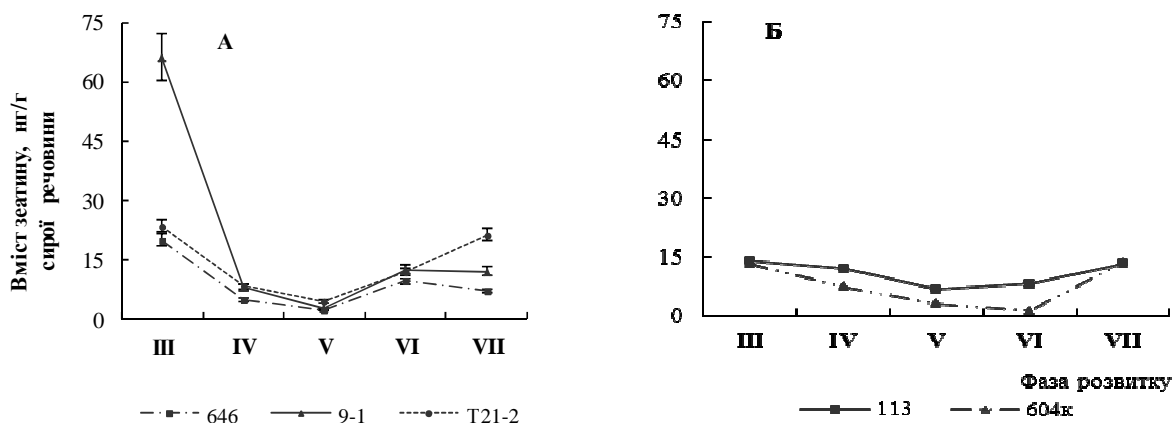


Рис. 2. Рівень зеатину в кореневих бульбочках сої, бактеризованої активними (А), малоактивним і неактивним (Б) штамми та транспозоновими мутантами *B. japonicum*

У фазу першого трійчастого листка високий вміст зеатину в бульбочках пояснюється активною участю цитокінінів у ранніх процесах нодуляції. Необхідно виділити варіант за використання високоактивного середньовірулентного Tn5-мутанту 9-1, який характеризується найбільшим вмістом зеатину.

Знову ж таки, у фазу бутонізації рослини, бактеризовані високоефективними штамми та мутантами *B. japonicum*, відзначалися найвищими показниками вмісту зеатину в бульбочках (рис. 2).

Окрім рівня зеатину в корневих бульбочках було визначено пул іншого гормону цитокінінової природи – зеатинрибозиду. У ході досліджень було показано, що у всіх рослин, бактеризованих високовірулентними штамми, як активними, так і неактивними, показник вмісту цитокінінів у бульбочках коливався приблизно в однакових межах, тоді як у варіантах із застосуванням середньовірулентного високоактивного транспозонового мутанту 9-1 цей показник більш, ніж у два рази вищий порівняно з іншими варіантами (рис. 3).

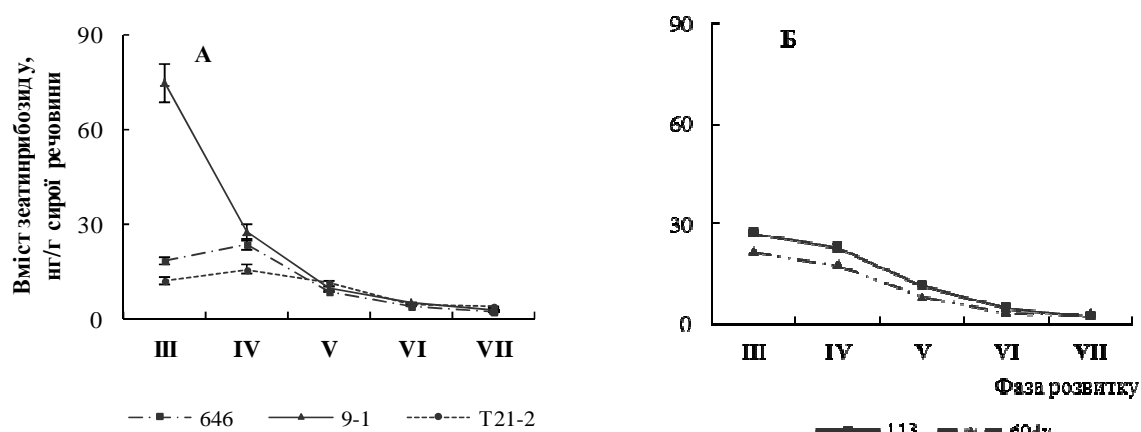


Рис. 3. Вміст зеатинрибозиду в коренях рослин сої за інокуляції активними (А) та малоактивним і неактивним (Б) штамми та Tn5-мутантами *B. japonicum*

Таке суттєве підвищення показників вмісту зеатину та зеатинрибозиду в бульбочках сої, інокульованої 9-1, на нашу думку, можна пояснити характерним для цього варіанту пізнім формуванням бульбочок.

Очевидно, подальші дослідження з вивчення вмісту зеатину та зеатинрибозиду в корневих бульбочках на початкових етапах формування симбіотичного апарату за умови істотного збільшення спектру штамів із різною вірулентністю зможуть підтвердити зв'язок між вмістом цитокінінів у бульбочках і вірулентністю ризобій.

Висновки

Виявлено прямий зв'язок між вмістом зеатину в корневих бульбочках сої та ефективністю штам-інокулянта в фазі першого трійчастого листка та бутонізації.

1. *Биологическая* фиксация азота: бобово-ризобияльный симбиоз / [Коць С. Я., Моргун В. В., Патыка В. Ф. и др.]. — [монография : в 4-х т.]. — К.: Логос, 2011. — Т. 2. — 523 с.
2. *Гришук О. О.* Динаміка вмісту фітогормонів цитокінінової природи у коренях і бульбочках сої на ранніх етапах формування бобово-ризобіального симбіозу / О. О. Гришук, С. Я. Коць, М. В. Волкогон // *Физиология и биохимия культ. растений.* — 2013. — 45, № 1. — С. 20—28.
3. *Савинский С. В.* Определение зеатина, индолил-3-уксусной и абсцизовой кислот из одной растительной пробы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / С. В. Савинский, И. В. Драгозов, В. К. Педченко // *Физиология и биохимия культ. растений.* — 1991. — 23, № 6. — С. 611—619.
4. *Транспозоновий* мутагенез штамів *Bradyrhizobium japonicum* / [С. М. Маліченко, В. К. Даценко, В. М. Василюк, С. Я. Коць] // *Физиология и биохимия культ. растений.* — 2007. — 39, № 5. — С. 409—418.

5. Dehio C. The early nodulin gene SrEnod2 from *Sesbania rostrata* is 10 inducible by cytokinin / C. Dehio, F. J. de Bruijn // Plant J. — 1992. — 2. — P. 117—128.
6. Ferguson B. J. Signaling interactions during nodule development / B. J. Ferguson, U. Mathesius // J. Plant Growth Reg. — 2003. — 22, N 1. — P. 47—72.
7. Nagata M. Effects of phytohormones on nodulation and nitrogen fixation in leguminous plants / M. Nagata, A. Suzuki // Advances in biology and ecology of nitrogen fixation. — 2014. — P. 111—128.

Е.А. Грищук, В.И. Грищук, С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

ВЛИЯНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* НА ЦИТОКИНИНОВЫЙ СТАТУС РАСТЕНИЙ СОИ

В условиях вегетационного опыта исследовали влияние штаммов и Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* с различными симбиотическими характеристиками на уровень фитогормонов цитокининовой природы в корнях и клубеньках сои *Glycine max* L. (Merr.) сорта Марьяна. Показано резкое увеличение содержания зеатина в корнях в фазу бутонизации во всех исследуемых вариантах, кроме контрольного, что указывает на тесную связь функционирования симбиотической системы и синтеза зеатина, при этом влияние бактериализации на содержание данного гормона в корнях является определяющим, независимо от эффективности инокулянта. Установлена прямая зависимость между содержанием зеатина в корневых клубеньках растений сои и эффективностью штамма-инокулянта в фазы первого тройчатого листа и бутонизации. Выдвинуто предположение, что содержание зеатина и зеатинрибозидов в клубеньках на начальных этапах формирования симбиотического аппарата может быть связано с вирулентностью штаммов *B. japonicum*.

Ключевые слова: *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, Tn5-мутанты, цитокинины, зеатин, зеатинрибозид

O.O. Gryshchuk, V.I. Gryshchuk, S.Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics, NAS of Ukraine

EFFECT OF SYMBIOTIC CHARACTERISTICS OF *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* ON CYTOKININ STATUS OF SOYBEAN PLANTS

The effect of strains and Tn5-mutants of *Bradyrhizobium japonicum* possessing various symbiotic characteristics on the level of phytohormones of cytokinin nature in roots and nodules of soybean plants *Glycine max* L. (Merr.) cult. Mariana was studied in plant-house experiment. The sharp increase in zeatin content in plant roots at budding stage was observed in all studied variants, except for the control one, that indicates the close relationship between functioning of symbiotic system and zeatin synthesis. Herewith the bacterization influence on zeatin content in the roots is determining regardless of the effectiveness of inoculum. The direct relationship between zeatin content in nodules of soybean plants and efficiency of strain-inoculum at first ternate leaf and budding stages was revealed. It is suggested that the zeatin and zeatin riboside content in the nodules at the initial stages of symbiotic apparatus formation might be closely associated with the virulence of the *B. japonicum* strains.

Key words: *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, Tn5-mutants, cytokinins, zeatin, zeatin riboside

Рекомендує до друку

С.В. Пида

Надійшла 03.06.2014

С.В. ДІДОВИЧ

Інститут сільського господарства Криму НААН України
вул. Київська, 150, Сімферополь, 95453, АР Крим

ПІДВИЩЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО АЗОТФІКСУВАЛЬНОГО ПОТЕНЦІАЛУ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ *MESORHIZOBIUM CICERI* – *CICER ARIETINUM* L. ШЛЯХОМ КООРДИНОВАНОЇ СЕЛЕКЦІЇ

Представлені трьохрічні експериментальні дані координованої селекції *Mesorhizobium ciceri* – *Cicer arietinum* на підвищення генетичного азотфіксувального потенціалу бобово-ризобіальної системи. Проведена оцінка п'яти нових вітчизняних сортотразків нуту на ефективність симбіотичної азотфіксації з колекційними штамми *M. ciceri*. Всі сортотразки виявилися чутливими до інокуляції бульбочковими бактеріями, але відрізнялися за шириною реакції і ефективністю бобово-ризобіальної взаємодії.

За результатами комплексної статистичної оцінки різних характеристик розподілу змінних за симбіотичними показниками, морфо-біологічними ознаками та елементами продуктивності двох перспективних сортотразків визначені кореляційні зв'язки між даними ознаками, виділені генетичні джерела високої ефективності азотфіксації, відібрано лінії нуту, які істотно перевищували батьківські генотипи рослин за генетичним потенціалом симбіотичної азотфіксації для клонування і подальшого використання у селекційній програмі.

Ключові слова: селекція, штамп, сортотразок, *Mesorhizobium ciceri*, *Cicer arietinum* L., азотфіксувальний потенціал, ефективність

Сучасне сільськогосподарське виробництво вимагає нової методології ведення господарства, що передбачає раціональне використання поновлюваних природних ресурсів, потенціалу рослинно-мікробної взаємодії і агроресурсу екосистем. Одним з альтернативних підходів щодо реалізації вищепідкресленого напрямку є використання симбіотичної взаємодії бобових рослин та бульбочкових бактерій, вивчення генетичного контролю, молекулярно-біологічних і еколого-фізіологічних механізмів цієї взаємодії та розробки конкретних селекційних програм для фіто- і ризобіосимбіонтів, здатних забезпечити високий вихід повноцінної і екологічно безпечної рослинної продукції [1].

Прогресивно зростаючий з кожним роком попит на виробництво нуту (*Cicer arietinum* L.) – цінну високобілкову продовольчу і кормову культуру, адаптовану до посушливих і спекотних природно-кліматичних умов півдня і сходу України, обумовлює необхідність створення нових вітчизняних сортів, технологій їх вирощування та переробки насіння. Важливими є дослідження з інтенсифікації симбіотичної азотфіксації нуту, які останнім часом проводилися переважно мікробіологами і були спрямовані головним чином на селекцію високоєфективних штамів *Mesorhizobium ciceri* та їх підбір до районованих і перспективних сортів, а селекції фітосимбіонта приділяли мало уваги. Тому актуальним питанням виступає генетичне удосконалення саме макросимбіонту на підвищення азотфіксувального потенціалу з перших етапів селекції.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили в 2011-2013 роках за наступними етапами селекційної програми: в 2011 році визначали ефективні штамми ризобій, генетично комплементарні новим сортотразкам (с/з); у 2012-2013 роках виділяли генетичні джерела високої ефективності симбіотичної азотфіксації всередині популяції с/з нуту в симбіозі з генетично комплементарним штамом *M. ciceri*.

У досліджах застосовували штамми *M. ciceri* колекції мікроорганізмів ІСГ Криму і нові с/з нуту *Cicer arietinum* L. селекції СГІ НЦНС НААН.

Визначення ефективності симбіотичної азотфіксації *M. ciceri* з рослинами нуту проводили загальноприйнятими методами у вегетаційних дослідях [2]. Визначення азотфіксувального потенціалу с/з нуту проводили у дрібно-ділянковому досліді. Рослини вирощували в дренажному

бетонному резервуарі (довжиною – 7,0 м, шириною – 2,5 м, глибиною – 0,6 м), заповненому річковим піском і удобреному порошкоподібним суперфосфатом 0,5 г/кг і сульфатом калію 0,2 г/кг. Насіння обробляли перед висівом суспензією п'ятидодової культури *M. ciceri* штаму 068 із розрахунку 10^6 бактерій/насінину. Периметр резервуару з крайніх рослин слугував захисною межею.

Генетичний азотфіксувальний потенціал визначали за статистичною оцінкою морфо-біологічних, симбіотичних показників і елементів продуктивності кожної рослини з вибірки 150-400 рослин. Нітрогеназну активність аналізували ацетиленовим методом на газовому хроматографі „Chrom” 5 [3]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили, використовуючи комп'ютерні програми Statistica 6,0, Excel 2003.

Результати досліджень та їх обговорення

У 2011 році були визначені комплементарні штами *M. ciceri* до генотипів п'яти с/з нуту № 28, 39, 49, 64, 83. С/з № 49 показав високу симбіотичну ефективність з чотирма штамми ризобій, яка була більше на 22,5-40,0% порівняно з контролем із бактеризацією насіння виробничим штамом Н-12. С/з № 28, № 39 і № 83 – з двома штамми ризобій з ефективністю симбіозу на 19,5-37,1% більше за контроль. С/з № 64 – з одним колекційним штамом ризобій з ефективністю на 21,1% більше.

У 2012-2013 роках в умовах дрібно-ділянкового досліду проводилась комплексна оцінка двох с/з нуту №28 і 49 у симбіозі з генетично комплементарним їм штамом *M. ciceri* 068 за симбіотичними показниками (кількістю, біомасою і нітрогеназною активністю бульбочок), морфо-біологічними ознаками (висотою, фітомасою рослин) та елементами продуктивності (кількістю бобів, насіння і його біомаси).

Нами виявлено по с/з №49 високий рівень лівосторонньої асиметрії розподілу за біомасою і нітрогеназною активністю азотфіксувальних бульбочок, кількістю бобів і насіння на рослину, по с/з №28 – за кількістю азотфіксувальних бульбочок, зеленою фітомасою і кількістю насіння на рослину, що свідчить про необхідність проведення селекції за умов нітрагінізації для підвищення потенціалу бобово-ризобіального симбіозу.

Важливим етапом наукового аналізу в селекції є пошук зв'язків (залежностей) між змінними (кількісними і якісними). У зв'язку з цим було проаналізовано кореляційні зв'язки між досліджуваними ознаками. По с/з №49 встановлено кореляції між кількістю і біомасою бульбочок ($r=0,46$), біомасою бульбочок та зеленою фітомасою рослин ($r=0,19$), висотою і зеленою масою рослин ($r=0,79$), кількістю бобів, насіння і його масою ($r=0,79-0,89$). По с/з 28 виявлені кореляції між кількістю і біомасою бульбочок ($r=0,47$), біомасою бульбочок та зеленою фітомасою рослин ($r=0,66$), висотою і зеленою масою рослин ($r=0,74$), кількістю бобів, насіння і його масою ($r=0,94-0,95$). Незважаючи на високий рівень лівосторонньої асиметрії і високу варіабельність нітрогеназної активності всередині популяції у даних с/з не виявлено її кореляції з іншими ознаками, що виключає можливість використання нітрогеназної активності для селекції на підвищення генетичного азотфіксувального потенціалу досліджуваних сортозразків.

Висновки

За три роки проведення координованої селекції *M. ciceri* – *Cicer arietinum* було оцінено п'ять сортозразків нуту (№28, 39, 49, 64, 83) на ефективність симбіотичної азотфіксації з колекційними штамми *M. ciceri*. Показано, що всі зразки виявилися чутливими до інокуляції бульбочковими бактеріями, але відрізнялися за шириною реакції і ефективністю бобово-ризобіальної взаємодії.

За результатами комплексної статистичної оцінки різних характеристик розподілу змінних за симбіотичними показниками (кількістю, біомасою і нітрогеназною активністю бульбочок нуту), морфо-біологічними ознаками (висотою і фітомасою рослин) та елементами продуктивності (кількістю бобів, насіння і його біомаси) визначені кореляційні зв'язки між даними ознаками, виділено генетичні джерела високої ефективності азотфіксації, відібрано лінії нуту, істотно перевищуючі батьківські генотипи рослин сортозразків №28 і 49 за генетичним потенціалом симбіотичної азотфіксації для клонування і подальшого використання у селекційній програмі.

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. Методы исследований клубеньковых бактерий /Методические рекомендации для курсов повышения квалификации научных сотрудников по сельскохозяйственной микробиологии: [под ред. Л. Доросинского]. — Л., 1981. — 48 с.

3. *Rhizobiaceae*: Молекулярная биология взаимодействующих бактерий с растениями: [под ред. Спайк Г., Кондороши А., Хукас П., пер. с англ. Тихоновича И., Проворова Н.]. — Санкт-Петербург: ООО „ИПК Бионт“, 2002. — 568 с.

С.В. Дидович

Институт сельского хозяйства Крыма НААН Украины

ПОВЫШЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АЗОТФИКСИРУЮЩЕГО ПОТЕНЦИАЛА СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ *MESORHIZOBIUM CICERI* – *CICER ARIETINUM* L. ПУТЕМ КООРДИНИРОВАННОЙ СЕЛЕКЦИИ

Представлены трехлетние экспериментальные данные координированной селекции *Mesorhizobium ciceri* - *Cicer arietinum* на повышение генетического азотфиксирующего потенциала бобово-ризобияльной системы. Проведена оценка пяти новых сортообразцов нута украинской селекции на эффективность симбиотической азотфиксации с коллекционными штаммами *M. ciceri*. Все сортообразцы оказались чувствительными к инокуляции клубеньковыми бактериями *M. ciceri*, но отличались по ширине реакции и эффективности бобово-ризобияльного взаимодействия. Получены высокоэффективные сочетания «сортообразец – штамм».

По результатам комплексной статистической оценки различных характеристик распределения переменных по симбиотическим показателям (количеству, биомассе, нитрогеназной активности клубеньков), морфо-биологическим признакам (высоте и фитомассе растений) и элементам продуктивности (количеству бобов, семян и их биомассе) двух перспективных сортообразцов № 28 и № 49 определены корреляционные связи между данными признаками. Выделены генетические источники высокой эффективности азотфиксации, отобраны линии нута внутри популяции исследуемых сортообразцов, которые существенным образом превышали родительские генотипы растений по генетическому потенциалу симбиотической азотфиксации для клонирования и дальнейшего использования в селекционной программе.

Ключевые слова: селекция, штамм, сортообразец, *Mesorhizobium ciceri*, *Cicer arietinum* L., азотфиксирующий потенциал, эффективность

S.V. Didovych

Institute of Agriculture of Crimea of NAAS of Ukraine

THE RIZE OF GENETIC NITROGEN FIXING POTENTIAL OF SYMBIOTIC SYSTEM *MESORHIZOBIUM CICERI* – *CICER ARIETINUM* L. BY COORDINATE SELECTION

Three-year experimental data of coordinate selection of *Mesorhizobium ciceri* - *Cicer arietinum* on increase of genetic nitrogen fixing potential of bean-rhizobial system are presented. The assessment of five new chickpea cultivar-samples of the Ukrainian selection on efficiency of a symbiotic nitrogen fixation with collection strains of *M. ciceri* is made. All chickpea cultivar-samples were sensitive to an inoculation of nodule bacteria of *M. ciceri*, but differed on width of reaction and efficiency of bean-rhizobial interactions. Highly effective combinations «cultivar-samples – a strain» are received.

By results of a complex statistical assessment of various characteristics of distribution of variables on symbiotic factor (to quantity, biomass, nitrogen activity of nodule), morphological and biological signs (to height and phytomass of plants) and to efficiency elements (to quantity of beans, seeds and their biomass) of two perspective cultivar-samples №28 and 49 are defined correlation connections between these signs. Genetic sources of high efficiency of a nitrogen fixation are allocated. Chickpea lines in population of cultivar-samples, which significantly exceeded as compared with parental genotypes of plants on the genetic potential of a symbiotic nitrogen fixation for cloning and further use in the selection program, are selected.

Keywords: selection, strain, cultivar-samples, *Mesorhizobium ciceri*, *Cicer arietinum* L., nitrogen fixing potential, efficiency

Рекомендує до друку

Надійшла 05.06.2014

Н.М. Дробик

ВПЛИВ ФІТОГОРМОНІВ НА АКТИВНІСТЬ АЗОТФІКСАЦІЇ В КОРЕНЕВІЙ ЗОНІ РОСЛИН ЖИТА ОЗИМОГО

Встановлено оптимальний вміст екзогенних фітогормонів у кореневій зоні рослин озимого жита на початкових етапах органогенезу. Показано, що для підсилення рістстимулювальної активності *Azospirillum brasilense* 18-2 можна використовувати розчин індолілоцтової кислоти, за умови оптимізації поєднання мікробного та фітогормонального компонентів. При інокуляції цей фітогормон є додатковим чинником позитивного впливу на рослини.

Ключові слова: активність азотфіксації, фітогормони, індолілоцтова кислота (ІОК), зеатинрибозид (ЗР), біопрепарат Діазобактерин, жито озиме

Розвиток рослин на початкових етапах органогенезу часто лімітується відсутністю необхідної кількості фізіологічно активних сполук, у т.ч. фітогормонів. Частково потребу рослин у фітогормонах можуть забезпечити мікробні препарати, що використовуються для покращення кореневого живлення рослин, оскільки, крім бактеріальних клітин, містять також і низку біологічно активних речовин. У зв'язку з тим, що дія фітогормонів на ріст і розвиток рослин залежить від їх концентрації, актуальним є визначення оптимального забезпечення рослин цими речовинами і регулювання їх вмісту в мікробних препаратах.

Матеріал і методи досліджень

Вегетаційний дослід з житом озимим проводили у вегетаційному будиночку в посудинах ємністю 1 дм³ на дерново-підзолистому пілувато-супіщаному ґрунті (рН_{сол.} 7,2; вміст гумусу -1,02 %; P₂O₅ - 330 мг/кг; K₂O – 148 мг/кг). Насіння перед посівом обробляли розчином фітогормонів або інокулювали мікробним препаратом Діазобактерином [4] на основі асоціативної азотфіксувальної бактерії *Azospirillum brasilense* 18-2 у рекомендованій дозі (150 см³ на посівну гектарну норму при титрі 2×10⁹ КУО/см³), змішаним з розчином фітогормонів згідно схеми досліді:

1)Контроль (без бактеризації та фітогормонів)	<u>Обробка ЗР</u> 6) 0,03 нг ЗР	<u>Обробка ІОК +ЗР</u> 10) 0,01 нг ІОК + 0,03 нг ЗР	14) Діазобактерин (Д) <u>Д + фітогормони</u>
	7) 1,5 нг ЗР		15) Д + 0,01 нг ІОК
<u>Обробка ІОК</u> 2) 0,01 нг ІОК	8) 15 нг ЗР	11) 0,5 нг ІОК + 1,5 нг ЗР	16) Д + 0,03 нг ЗР
3) 0,5 нг ІОК	9) 150 нг ЗР	12) 5 нг ІОК + 15 нг ЗР	17) Д + 0,01 нг ІОК + 0,03 нг ЗР
4) 5 нг ІОК		13) 50 нг ІОК + 150 нг ЗР	18) Д + 0,5 нг ІОК
5) 50 нг ІОК			19) Д + 1,5 нг ЗР
			20) Д + 0,5 нг ІОК + 1,5 нг ЗР

Примітки: 1. У схемі вказано фітогормональне навантаження на 1 насінину 2. ІОК – β-індолілоцтова кислота 3. ЗР – зеатинрибозид

Масу коренів визначали методом відмивання їх з монолітів з подальшим висушуванням до постійної маси. Вміст хлорофілів у листках - спектрофотометрично [2], білка – за методом Лоурі [3]. Потенційну активність азотфіксації вивчали у ризосферному ґрунті з додаванням розчину глюкози [5], на відмитих коренях - у напіврідкому живильному середовищі Доберейнер [1]. При

цьому редукцію ацетилену визначали на хроматографі «Chrom-4» з полум'яно-іонізаційним детектором на колонці з β - β -оксидіпропіонітрилом.

Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження показали, що залежність маси рослин (рис.1) від фітогормонального навантаження за окремої обробки ІОК або ЗР носила параболічний характер, що закономірно для фізіологічно активних речовин. Інокуляція біопрепаратом забезпечила стійке, протягом трьох досліджуваних фенологічних фаз, підвищене порівняно з абсолютним контролем накопичення надземної маси. При поєднанні інокуляції з фітогормонами в різних концентраціях протягом усього ювенільного періоду варіант із додаванням до Діазобактерину 0,5 нг ІОК/насінину переважав позитивний контроль – варіант з бактеризацією без фітогормонів.

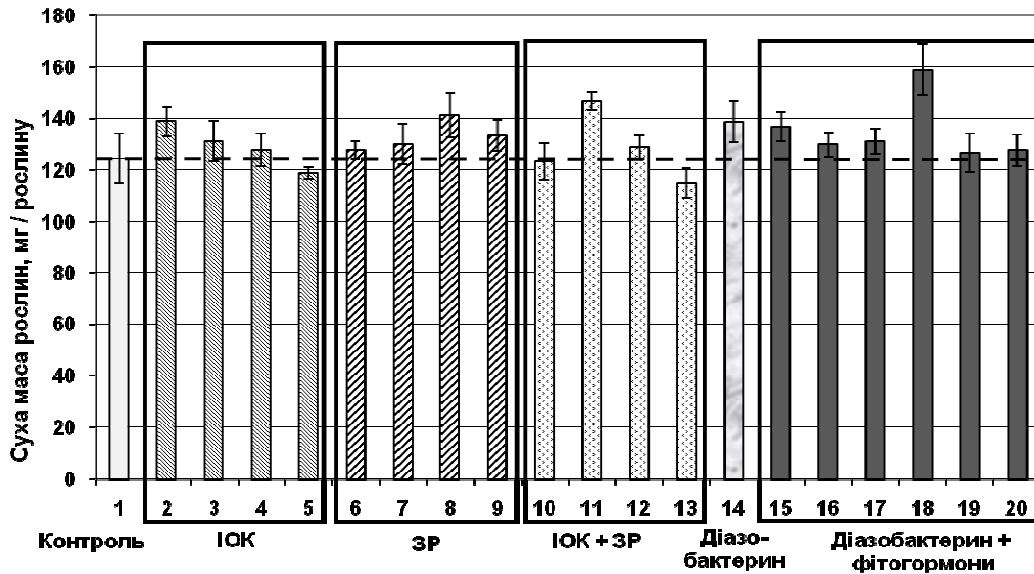


Рис. 1. Вплив діазобактерину та фітогормонів на формування маси рослин озимого жита, початок фази кущіння

Застосування ІОК позитивно впливало на розміри кореневої системи, що цілком логічно, адже відомо, що ауксини ініціюють ризогенез. Проте у надмірній кількості (50 нг/насінину) ІОК інгібувала ріст коренів рослин жита озимого. Невеликі прирости маси кореневої системи отримано при обробці насіння зеатинрибозидом, більші – за використання ІОК та ІОК+ЗР. Утім, оптимальним виявилось фітогормональне навантаження у блоці з одночасною обробкою фітогормонами та мікробним препаратом, причому найбільшими розміри кореневої системи були у варіанті з обробкою жита Діазобактерином з 0,5 нг ІОК/насінину, що узгоджується з сучасними уявленнями щодо участі фітогормонів ауксинової природи у диференціюванні кореневої системи. Внаслідок збільшення вмісту вуглецю в корневих виділеннях ініційованих рослин у досліді слід було очікувати підвищення загальної біологічної активності в системі «грунт – мікроорганізми – рослина». При цьому одним із найпоказовіших аналізів могло бути визначення в динаміці потенційної активності азотфіксації, як відображення чисельності азотфіксувальних бактерій та прояву їх функціональності. Крім того, нітрогеназна активність є одним із тих показників біологічної активності ґрунту, які певним чином можуть корелювати з фітогормональним навантаженням на рослину.

У ризосфері рослин жита озимого протягом всього ювенільного періоду спостерігали підвищену нітрогеназну активність у варіанті із застосуванням Діазобактерину порівняно з абсолютним контролем (без бактеризації) (рис. 2). При додаванні до Діазобактерину ІОК у дозі 0,5 нг/насінину потенційна активність азотфіксації значно перевищувала показники і позитивного контролю (варіант з бактеризацією). На початку вегетації у варіантах із максимальним навантаженням ІОК (50 нг/насінину), ЗР (150 нг/насінину) та деякими комбінаціями фітогормонів спостерігали інгібувальний вплив фітогормонів на активність процесу азотфіксації, хоча в

наступні фенологічні фази негативний вплив навіть завідомо завищених доз фітогормонів нівелювався.

Такий результат пов'язаний з опосередкованим впливом фітогормонів на розвиток асоціативних діазотрофів – через збільшення в кореневій зоні рослин корневих виділень. Це підтверджується і результатами визначення вмісту хлорофілів *a* і *b* в листках жита озимого, що свідчать про можливу інтенсифікацію процесу фотосинтезу. Найвищим у досліді вмістом хлорофілів у листках характеризувався варіант Діазобактерин + 0,5 нг ІОК. Інгібувальний вплив фітогормонів спостерігали у варіанті з завідомо високими фітогормональними навантаженнями.

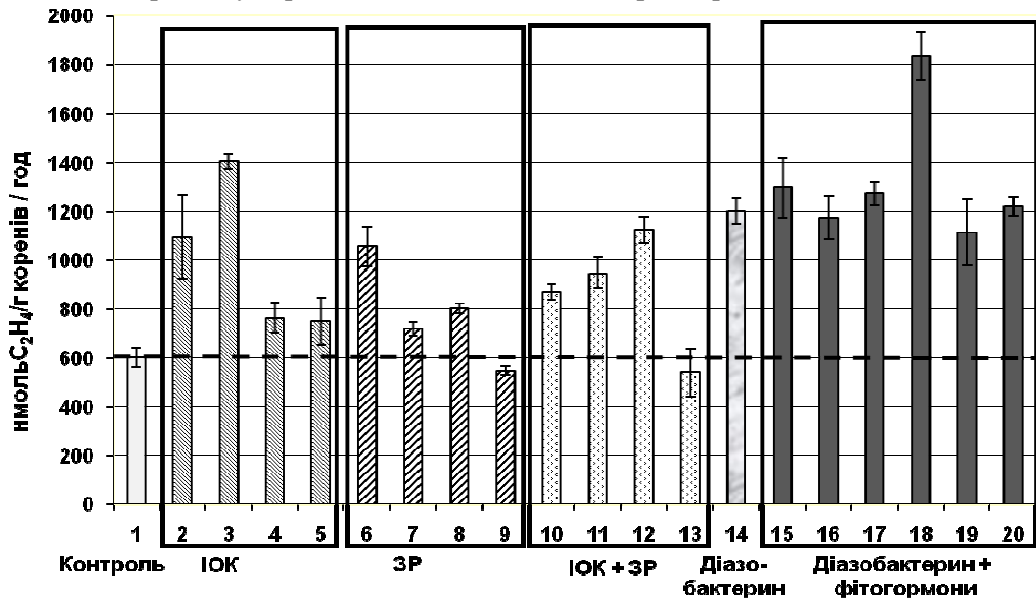


Рис. 2. Потенційна активність азотфіксації на коренях рослин жита озимого за впливу фітогормонів та Діазобактерину, фаза появи третього листа

Зазначені особливості перебігу процесу азотфіксації в корневих сферах рослин жита, а також зміни у формуванні фотосинтетичного апарату позначаються не лише на накопиченні надземної та кореневої маси, а й впливають на вміст білка в листках. Оптимальність застосованого фітогормонального навантаження вище зазначеного варіанту підтверджено при визначенні вмісту білка в рослинах жита. Виявлені особливості можуть бути обумовлені двома причинами: по-перше, впливом фітогормональних речовин ауксинової природи, які в комплексі з відповідними рецепторами транспортуються в ядро рослинної клітини і активують синтез РНК, що в свою чергу сприяє інтенсифікації синтезу білків; по-друге, збільшенням надходження азоту (як елемента, необхідного для синтезу білків) у рослини внаслідок підвищення активності процесу азотфіксації в ризосфері.

Висновки

Поєднання розчину ІОК із суспензією *Azospirillum brasilense* 18-2 в оптимальному співвідношенні дозволяє отримати інокулюм із чітко вираженим синергічним стимулювальним впливом на формування рослинно-бактеріальних асоціацій, що характеризуються підвищеною біологічною активністю. При цьому відбувається активізація процесу біологічної фіксації азоту в кореневій зоні рослин, що може забезпечити додаткове азотне живлення та позитивно позначитися на рості й розвитку рослин жита озимого.

1. Волкогон В.В. Методичні рекомендації по визначенню активності азотфіксації в ґрунті та кореневій зоні рослин ацетиленовим методом / Волкогон В. В. — Чернігів: ЦНТИ, 1997. — 12 с.
2. Гродзинский А.М. Краткий справочник по физиологии растений / А.М. Гродзинский, Д.М. Гродзинский. — К.: Наукова думка, 1973. — 592 с.
3. Методы биохимического исследования растений / [А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, М.И. Смирнова-Иконникова и др.]; под. ред. А.И. Ермакова. — Л., «Колос», 1972. — 456 с.
4. Перелік пест. і агрохімікатів дозволених до використання в Україні 2012 р. [Електронний ресурс]. — Режим доступу : URL : <http://www.agroscience.com.ua/views/perelik-pest-2012>. — Назва з екрана.
5. Умаров М.М. Ацетиленовый метод изучения азотфиксации в почвенно-микробиологических исследованиях / М.М. Умаров // Почвоведение. — 1971. — № 11. — С. 119—123.

С.Б. Димова

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України

ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА АКТИВНОСТЬ АЗОТФИКСАЦИИ В КОРНЕВОЙ ЗОНЕ РЖИ ОЗИМОЙ

В вегетационном опыте установлено оптимальное содержание экзогенных фитогормонов в корневой зоне растений озимой ржи на начальных этапах органогенеза. Показано, что для усиления ростстимулирующей активности Диазобактерина (биоагент препарата - *Azospirillum brasilense* 18-2) можно использовать раствор β -индолилуксусной кислоты, при условии оптимизации сочетания микробного и фитогормонального компонентов.

Результаты исследования особенностей процесса азотфиксации свидетельствуют о повышении его активности от применения биопрепарата в сочетании с ИУК в дозе 0,5 нг/семя, и подтверждают данные по интенсивности прироста надземной массы растений ржи озимой, массы их корневой системы, содержания хлорофиллов *a* и *b* в листьях и белка в растениях.

Ключевые слова: активность азотфиксации, фитогормоны, индолилуксусная кислота (ИУК), зеатинрибозид (ЗР), биопрепарат Диазобактерин, рожь озимая

S.B. Dimova

Institute of agricultural microbiology and agroindustrial manufacture NAAS, Ukraine

PHYTOHORMONES INFLUENCE ON THE ACTIVITY OF NITROGEN FIXATION IN THE ROOT ZONE OF WINTER RYE

It was found optimal exogenous phytohormones contents in the root zone of plants of winter rye in the initial stages of organogenesis during the growing experiment. It is shown that for increasing that stimulate growth of the Diazobakteryn (bio-agents of the preparation - *Azospirillum brasilense* 18-2), we can use a solution of β -indoleacetic acid (IAA), on condition of optimizing of the combination of microbial and phytohormonal components.

The results of the research characteristics of the process of nitrogen fixation indicates an increase in its activity as a result of using of the biopreparation in combination with IAA at a dose of 0,5 ng / seed, and confirmed by the data on the intensity of growth of aboveground plant mass of winter rye, the mass of the root system, the contents of chlorophyll *a* and *b* in leaves and protein in plants.

Keywords: activity of nitrogen fixation, phytohormones, indoleacetic acid (IAA), zeatin riboside (ZR), biopreparation Diazobakterin, winter rye

Рекомендує до друку

Надійшла 06.06.2014

В.В. Грубінко

УДК579.64/631.461

М.А. ЖУРБА, В.В. ВОЛКОГОН

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України
вул. Шевченка, 97, Чернігів, 14027

АКТИВНІСТЬ АЗОТФІКСАЦІЇ ТА ЕМІСІЯ N₂O В АГРОЦЕНОЗАХ ГОРОХУ ЗА ДІЇ ДОБРИВ ТА ПЕРЕДПОСІВНОЇ БАКТЕРИЗАЦІЇ

У польовому стаціонарному досліді на чорноземі вилугуваному досліджено перебіг процесів азотфіксації та емісії N₂O в агроценозах гороху за впливу різних систем удобрення та передпосівної бактеризації насіння. Процес симбіотичної азотфіксації активізується за післядії 40 т/га гною ВРХ, застосування сидератів та внесення невисокої (N₃₀P₃₀K₃₀) і середньої (N₆₀P₆₀K₆₀) в досліді доз мінеральних добрив. Біопрепарат сприяє суттєвій активізації процесу азотфіксації за

виключенням варіанту з гноєм. Емісія N_2O зростає по мірі збільшення доз мінеральних добрив. Передпосівна бактеризація забезпечує зменшення втрат газоподібних сполук азоту за рахунок ініціювання розвитку рослин.

Ключові слова: горох, симбіотична азотфіксація, емісія закису азоту

Необхідність врахування активності окремих біологічних процесів у ґрунтах агроценозів диктується сучасними уявленнями про вплив технологічних чинників не лише на продукційний процес сільськогосподарських культур, але й на стан довкілля. Одними з найточніших тестів щодо реакції системи ґрунт-мікроорганізми-рослина на рівень агрохімічного навантаження є процеси біологічної трансформації азоту [3, 4].

У зв'язку з вище зазначеним, метою наших досліджень було визначення активності процесів симбіотичної фіксації атмосферного азоту та емісії N_2O при вирощуванні гороху за різних агрофонів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили протягом 2012-2013 рр. в умовах стаціонарного польового досліді Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН на чорноземі вилугуваному ($pH_{\text{сол.}}$ – 5,2; вміст гумусу – 3,01%).

Сівозміна у досліді - картопля-ячмінь ярий-горох-пшениця озима. Повторність – чотирикратна. Розміщення ділянок – рендомізоване. Площа облікової ділянки 50 м².

Досліджували вплив другого року післядії 40 т/га гною (внесеного під картоплю). Мінеральні добрива вносили у дозах $N_{30}P_{30}K_{30}$, $N_{60}P_{60}K_{60}$ і $N_{90}P_{90}K_{90}$. Органо-мінеральна система удобрення культури передбачала вплив другого року післядії гною в поєднанні з прямою дією мінеральних добрив, застосованих у невисокій дозі ($N_{30}P_{30}K_{30}$). Для сидерального удобрення як проміжну культуру вирощували редьку олійну. Загортання рослинної маси в ґрунт проводили весною, ляхом неглибокої оранки.

Горох сорту Девіз вирощували у двох блоках досліді – без інокуляції і з передпосівною обробкою насіння біологічним препаратом комплексної дії Ризогуміном (ТУ У 24.1-00497360-003:2007).

Активність симбіотичної азотфіксації досліджували в динаміці камерним методом за використання ацетиленового тесту [2]. Вміст етилену в зразках визначали на газовому хроматографі "Chrom-4" з полум'яно-іонізаційним детектором. Для оцінки емісії закису азоту в системі «ґрунт – рослина» також використовували метод закритих камер [5]. Пряму емісію N_2O досліджували на газовому хроматографі «Цвет – 500 М» з детектором електронного захвату.

Облік урожайності насіння гороху та статистичну обробку одержаних результатів здійснювали згідно існуючих методик [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Визначення в динаміці активності азотфіксації демонструє суттєве стимулювання процесу у фазу бутонізації у варіантах з невисокою і середньою дозами мінеральних добрив за використання Ризогуміну для передпосівної інокуляції насіння (табл. 1). Надалі у цих варіантах спостерігалися такі ж особливості.

Висока доза мінеральних добрив протягом значного відрізка часу пригнічує функціональний прояв симбіотичного апарату гороху і починає стимулювати активність азотфіксації лише наприкінці вегетаційного періоду. Другого року післядії гною загалом інтенсифікує перебіг досліджуваного процесу, проте нівелює позитивний вплив передпосівної інокуляції. Органо-мінеральне удобрення тривалий час знижує азотфіксувальну активність. Сидеральне добриво позитивно впливає на активність симбіотичної азотфіксації, починаючи з фази цвітіння гороху, у т.ч. за поєднання з Ризогуміном.

Визначення в динаміці особливостей емісії закису азоту свідчить про значні втрати газоподібних сполук азоту у варіантах з другого року післядії гною та по органо-мінеральному фону (табл. 2). Ризогумін у цих варіантах практично не впливає на перебіг процесу. У варіантах з мінеральним удобренням культури емісія N_2O зростає по мірі збільшення доз добрив. Найменші втрати при цьому спостерігаються за внесення $N_{30}P_{30}K_{30}$. Необхідно відмітити, що і при затосуванні найвищої дози мінеральних добрив $N_{90}P_{90}K_{90}$ спостерігається зменшення втрат газоподібних сполук за дії препарату. На нашу думку, вплив мікробного препарату на обмеження

ЕКОЛОГІЯ

газоподібних втрат азоту обумовлений покращенням симбіотичних властивостей бобово-ризобіальної системи (див. табл. 1) та формуванням додаткової продукції. Включення до технології вирощування гороху зеленого добрива не призводило до підвищення емісії закису азоту порівняно з контрольним варіантом.

Таблиця 1

Динаміка азотфіксувальної активності в системі ґрунт-рослини гороху за дії добрив та Ризогуміну, 2013 р. (г N/ га за добу)

Варіант досліджу	Фаза - початок бутонізації	Фаза цвітіння	Фаза утворення бобів
<i>Без інокуляції</i>			
Без добрив (контроль)	71,4±6,2	108,9±6,08	106,58±7,68
Гній, 40 т/га (післядія)	118,3±5,1	168,6±4,05	148,74±7,12
N ₃₀ P ₃₀ K ₃₀	117,1±8,4	145,2±7,12	171,00±5,10
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	126,4±8,8	141,7±8,19	172,17±7,31
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	81,9±4,2	121,8±9,58	120,63±9,58
Гній, 40 т/га (післядія)+ N ₃₀ P ₃₀ K ₃₀	124,1±8,1	107,7±5,10	132,35±5,10
Сидерати	104,2±3,0	158,1±6,08	127,66±7,12
<i>Інокуляція Ризогуміном</i>			
Без добрив	132,3±7,1	131,1±6,19	127,66±7,12
Гній, 40 т/га (післядія)	120,6±5,1	162,80±4,22	134,69±5,10
N ₃₀ P ₃₀ K ₃₀	161,6±8,1	169,83±4,22	188,57±6,19
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	159,2±7,6	183,88±4,22	151,09±10,14
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	103,0±6,1	111,26±4,22	192,08±9,58
Гній, 40 т/га (післядія)+ N ₃₀ P ₃₀ K ₃₀	114,7±5,1	93,69±4,68	178,02±4,22
Сидерати	126,4±5,3	165,14±9,29	190,91±6,52

Найбільші сумарні втрати азоту внаслідок емісії N₂O спостерігаються за післядії 40 т/га гною та у варіанті з органо-мінеральним удобренням. Найменші показники відмічено по сидеральному агрофону. Використання Ризогуміну сприяє зменшенню сумарних втрат у варіанті без застосування добрив, за внесення мінеральних добрив, а також по сидеральному агрофону.

Відмічені особливості перебігу процесів азотфіксації та емісії N₂O загалом подібні за обома роками проведених досліджень, хоча і відрізняються за абсолютними показниками.

Таблиця 2

Емісія N₂O з ґрунту під горохом за дії добрив і Ризогуміну, 2013 р. (г N-N₂O/га за добу)

Варіант досліджу	Фаза - початок бутонізації	Фаза цвітіння	Фаза утворення бобів
<i>Без інокуляції</i>			
Без добрив (контроль)	52,0±1,0	43,6±1,0	36,1±2,1
Гній, 40 т/га (післядія)	172,0±1,1	152,65±3,9	133,4±3,6
N ₃₀ P ₃₀ K ₃₀	79,2±1,1	70,3±2,3	53,1±0,4
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	91,4±1,8	82,72±2,2	72,2±2,5
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	125,3±4,6	110,5±3,0	85,63±1,1
Гній, 40 т/га (післядія) + N ₃₀ P ₃₀ K ₃₀	158,1±2,5	161, 5±2,4	129,4±1,6
Сидерати	47,2±2,2	40,1±1,7	34,5±2,2
<i>Інокуляція Ризогуміном</i>			
Без добрив	51,4±1,1	36,2±2,1	31,6±0,9
Гній, 40 т/га (післядія)	175,3±2,2	145,4±2,0	125,9±4,9
N ₃₀ P ₃₀ K ₃₀	73,5±2,0	62,3±0,6	42,5±2,1
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	85,3±2,6	76,5±1,3	52,0±1,5
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	114,1±6,19	104,3±1,6	70,1±2,7
Гній, 40 т/га (післядія) + N ₃₀ P ₃₀ K ₃₀	174,2±3,1	157,1±2,8	118,0±2,2
Сидерати	42,5±1,1	35,4±0,6	33,1±0,4

Облік урожаю гороху в 2012 і 2013 рр. свідчить, що по мірі збільшення дози мінеральних добрив продуктивність культури зростає, хоча віддача урожаєм кожної наступної в досліді дози добрив знижується. Другого року післядія гною забезпечує один із найнижчих у досліді приріст урожайності, проте статистично достовірний. Застосування сидерату також сприяє зростанню продуктивності культури, але показники є найнижчими у досліді.

Ефективність біопрепарату відмічено у всіх варіантах, проте найбільше урожайність від інокуляції зростає від застосування по фоні найменшої і середньої доз мінеральних добрив. Дія Ризогуміну за цих агрофонів є еквівалентною впливу добрив у дозі, не меншій за $N_{30}P_{30}K_{30}$. Необхідно відмітити, що саме по цих варіантах спостерігається найістотніше обмеження втрат закису азоту, що підтверджує версію про залучення додаткової кількості азоту до конструктивного метаболізму інокульованих рослин.

Висновки

Передпосівна бактеризація при вирощуванні гороху на чорноземі вилугуваному по невисоких мінеральних агрофонах забезпечує підвищення активності азотфіксації і обмеження емісії закису азоту. Післядія гною стимулює активність азотфіксації, проте нівелює ефективність передпосівної бактеризації. При цьому спостерігаються значні втрати газоподібних сполук азоту. Сидерати сприяють зростанню активності азотфіксації і обмеженню емісії N_2O .

1. Доспехов В.А. Методика полевого опыта с основами статистической обработки результатов исследований / В. А. Доспехов. — [5-е изд. доп. и перер.]. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
2. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии / И.В. Асеева, И.П. Бабьева, Б.А. Бызов и др.; [Под. ред. Д.Г. Звягинцева]. — М.: МГУ, 1991. — 304с.
3. Макаров Б.Н. Газообразные потери азота удобрений и их формы. Агрохимия. — 1969. — № 12. — С. 3—9.
4. Умаров М.М. Микробиологическая трансформация азота в почве / М.М. Умаров. — М.: ГЕОС, 2007. — 138 с.
5. Hutchinson GL, Livingston GP, Healy RW, Striegl RG Chamber measurement of surface-atmosphere trace gas exchange: numerical evaluation of dependence on soil, interfacial layer, and source/sink properties. Journal of Geophysical Research. — 2000. — Vol105, №7-P.8865-8875.

М.А. Журба, В.В. Волкогон

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН Украины

АКТИВНОСТЬ АЗОТФИКСАЦИИ И ЭМИССИЯ N_2O В АГРОЦЕНОЗАХ ГОРОХА ПОД ВЛИЯНИЕМ УДОБРЕНИЙ И ПРЕДПОСЕВНОЙ БАКТЕРИЗАЦИИ

В полевом стационарном опыте на черноземе выщелоченном исследована динамика процессов азотфиксации и эмиссии N_2O в агроценозах гороха под влиянием различных систем удобрения и предпосевной бактеризации семян. Процесс симбиотической азотфиксации активизируется по фону второго года последствий 40 т/га навоза КРС, применения сидератов, внесения невысокой ($N_{30}P_{30}K_{30}$) и средней ($N_{60}P_{60}K_{60}$) в опыте доз минеральных удобрений. Биопрепарат способствует существенной активизации процесса азотфиксации за исключением варианта с навозом. Эмиссия N_2O возрастает по мере увеличения доз минеральных удобрений. Предпосевная бактеризация обеспечивает уменьшение потерь газообразных соединений азота за счет инициирования развития растений.

Ключевые слова: горох, симбиотическая азотфиксация, эмиссия закиси азота

M.A. Zhurba, V.V. Volkohon

Institute of Agricultural Microbiology and Agricultural Production NAAS, Ukraine

NITROGEN FIXATION ACTIVITY AND N_2O EMISSION IN PEAS AGROCENOSIS UNDER THE INFLUENCE OF FERTILIZERS AND PRESOWING BACTERIZATION

The course of nitrogen fixation processes and N_2O emission in peas agrocenosis under the influence of various fertilizing systems and seed presowing bacterization in the field stationary experiment on the leached mould humus is examined. The process of symbiotic nitrogen fixation activates in 40 t/ha cattle

manure aftereffect, under the use of green manure and adding low ($N_{30}P_{30}K_{30}$) and middle ($N_{60}P_{60}K_{60}$) in the experiment doses of mineral fertilizers. The use of biological preparation favours considerable activation of nitrogen fixation process except for the case with manure. N_2O emission increases as doses of mineral fertilizers increase. Presowing bacterization provides the lessening of gaseous nitrogen compounds at the expense of plant development initiation.

Keywords: peas, symbiotic nitrogen fixation, N_2O emission

Рекомендує до друку

Надійшла 10.04.2014

В.П. Патика

УДК 631.87:631.461:631.416

¹В.О. ЗАБАЛУЄВ, ¹П.В. БУЧЕК, ²І.Б. ЗЛЕНКО

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв оборони, 15, Київ, 03041

²Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет
вул. Ворошилова, 25, Дніпропетровськ, 49600

ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ БІОПРЕПАРАТІВ АЗОТФІКСУВАЛЬНИХ І ФОСФАТМОБІЛІЗУЮЧИХ МІКРООРГАНІЗМІВ НА СУБСТРАТАХ РОЗКРИВНИХ ГІРСЬКИХ ПОРІД НІКОПОЛЬСЬКОГО МАРГАНЦЕВОРУДНОГО БАСЕЙНУ

Встановлено, що застосування біологічних препаратів на основі арбускулярної мікоризи, а також препарату Ризобіфіт покращує умови для розкриття біологічного потенціалу люцерни посівної, що збільшує її фітомеліоративний вплив на техноземи, сформовані розкритими гірськими породами.

Ключові слова: фітомеліорація, арбускулярна мікориза, техноземи, люцерна посівна

Техногенне порушення ґрунтового покриву потребує нових пошуків екологічно обґрунтованих і економічно ефективних прийомів рекультивациі. Попередніми дослідженнями доведена можливість формування і господарського застосування моделей рекультивованих земель без використання родючого гумусованого шару ґрунту [2, 5]. Однак такі специфічні едафічні системи (моделі техноземів) потребують наукового обґрунтування прийомів підвищення їх родючості, адже вони на перших стадіях біологічного освоєння характеризуються дуже низькими запасами доступного рослинам азоту і фосфору.

З метою підвищення рівня родючості рекультивованих земель, крім традиційних методів використання мінеральних і органічних добрив, все більшої актуальності набуває застосування біологічних препаратів на основі азотфіксувальних і фосфатмобілізувальних мікроорганізмів. Такий напрям інтенсивно розвивається на зональних непорушених ґрунтах [4, 6, 7], однак недостатньо досліджений на рекультивованих землях, насамперед на техноземах, сформованих розкритими потенційно родючими гірськими породами. Нашими попередніми дослідженнями визначено склад мікроорганізмів порід надрудної товщі марганцю, визначені тенденції формування мікробних угруповань у техноземах, встановлено низьку чисельність природної популяції азотфіксувальних і фосфатмобілізувальних мікроорганізмів [3]. Тому актуальним завданням є дослідження можливості підвищення рівня забезпеченості рослин доступним фосфором шляхом комплексного застосування на основі біопрепаратів азотфіксувальних і фосфатмобілізувальних мікроорганізмів.

Матеріал і методи досліджень

Ефективність комплексної дії мікробіологічних фосфатмобілізуєчих та азотфіксувальних препаратів досліджували у вегетаційному досліді на субстратах гірських порід різного геологічного віку (лесоподібні суглинки, сіро-зелені глини, червоно-бура глина), відібраних з борта діючого марганцевого кар'єра Орджонікідзевського ГЗК (Дніпропетровська область). Дослідження проводили згідно загальноприйнятої методики [1]. Контролем був субстрат ґрунтової маси, відібраний з верхнього шару (0-20 см) чорнозему південного. Детальна характеристика едафічних властивостей досліджуваних гірських порід наведена у попередніх публікаціях [2, 5].

Маса субстрату у посудині – 1 кг, повторення – 5-разове. Рослиною-фітоіндикатором була люцерна посівна (сорт Полтавчанка) – основний фітомеліорант на біологічному етапі рекультивативі порушених земель у Степовій зоні України.

У досліді використовували такі біологічні препарати: Ризобіфіт (*Sinorhizobium meliloti*, штам 404б); ФМБ 32-3 (*Enterobacter nimipressuralis*, штам 32–3); АМГ S₅ та АМГ P₃ (субстратно-кореневий інокулюм на основі спор та гіфів арбускулярно-мікоризних грибів родини *Glomus*). Їх дію досліджували на неодобреному фоні та за застосування мінерального фосфору. Біопрепарати на основі арбускулярних грибів вносили перед сівбою люцерни у нормі 3 г/посудину, мінеральний фосфор (суперфосфат простий) – 150 мг P₂O₅ на 1 кг субстрату при заповненні вегетаційних посудин. Вологість субстратів протягом усього періоду досліді підтримували на рівні 70–80% НВ. Освітленість на рівні рослин — у межах 9–10 тис. люкс протягом 14 год./добу. Фенологічні спостереження та біометричні виміри і обліки проводили за загальноприйнятими методиками.

Схема досліді: 1 – без внесення біопрепаратів і суперфосфату (Контроль); 2 – інокуляція насіння Ризобіфітом (R); 3 – внесення у субстрати біопрепаратів R і ФМБ; 4 – внесення біопрепаратів R та АМГ S₅; 5 – внесення біопрепаратів R та АМГ P₃; 6 – внесення суперфосфату P₁₅₀(P); 7 – P + R; 8 – P + R + ФМБ; 9 – P + R + АМГ S₅; 10 – P + R + АМГ P₃.

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені дослідження засвідчили можливість управління рівнем родючості субстратів потенційно-родючих гірських порід шляхом застосування біологічних препаратів і мінерального фосфору. Так, моно інокуляція насіння люцерни Ризобіфітом здатна підвищити продуктивність надземної фітомаси люцерни у середньому на 8–15% (табл.).

Таблиця

Ефективність комплексного застосування біопрепаратів на субстратах гірських порід за продуктивністю надземної фітомаси люцерни посівної

Варіант	Субстрат					
	лесоподібний суглинок		червоно-бура глина		сіро-зелена глина	
	1	2	1	2	1	2
1.Контроль (без добрив)	100,0	36,5	100,0	41,5	100,0	44,0
2.Ризобіфіт (R)	115,0	40,0	108,4	45,0	108,0	47,5
3.R + ФМБ	119,8	41,5	111,9	46,5	119,3	52,5
4.R + АМГ S ₅	135,1	43,5	116,9	48,5	115,9	51,0
5.R + АМГ P ₃	131,5	44,0	118,1	49,0	125,0	55,0
6.Суперфосфат P ₁₅₀ (P)	115,0	39,5	107,2	44,5	106,8	47,0
7.P + R	119,5	40,5	109,6	45,5	109,1	48,0
8.P + R + ФМБ	133,0	45,0	120,5	50,0	119,3	52,5
9.P + R + АМГ S ₅	135,0	45,5	130,1	54,0	120,5	53,0
10.P + R + АМГ P ₃	137,5	47,5	126,5	52,5	133,4	58,5

Примітка: 1 – % від неодобреного варіанта (варіант 1); 2 – % від неодобреної гумусованої ґрунтової маси

Сумісне застосування інокуляції насіння люцерни Ризобіфітом і передпосівне внесення у субстрати препаратів з арбускулярною мікоризою (як АМГ S₅, так і АМГ P₃) дозволяє підвищити її продуктивність від 16,9–18,1% (на червоно-бурих глинах) до 31,5–35,1% (на лесоподібних суглинках).

Найвищі показники продуктивності виявлено у варіантах з інокуляцією насіння препаратом Ризобіфітом та сумісним внесенням мінерального фосфору і препаратів з фосфатмобілізуючими мікроорганізмами: залежно від субстрату прирост продуктивності склали від 20,5–33,4% (на сіро-зелених глинах) до 35,0–37,5% (на лесоподібних суглинках).

На неудобреному фоні ефективність застосування препаратів на основі фосфатмобілізуючих бактерій (ФМБ 32-3) виявилась суттєво нижчою порівняно з препаратами на основі арбускулярної мікоризи. Разом з тим, на фоні мінерального фосфору такої суттєвої різниці не виявлено, що свідчить про перспективність сумісного використання суперфосфату і препарату ФМБ 32-3.

Висновки

Застосування біопрепаратів на основі фосфатмобілізуючих мікроорганізмів (бактерій і арбускулярних мікоризних грибів) у поєднанні з інокуляцією препаратом Ризобіфіт, на основі азот фіксуючих бактерій сприяє підвищенню продуктивності люцерни посівної за вирощування на субстратах гірських порід. Найбільшу продуктивність люцерни першого року вегетації виявлено у варіанті за комплексного застосування біопрепаратів АМГ і Ризобіфіт на фоні мінерального фосфору.

1. Журбицкий З. И. Теория и практика вегетационного опыта / З. И. Журбицкий. — М.: Наука, 1968. — 260 с.
2. Забалуев В.А. Формирование агроэкосистем рекультивированных земель в Степи Украины: эдафическое обоснование / В.А. Забалуев. — Киев, 2010. — 261 с.
3. Зленко І.Б. Агроекологічні чинники формування мікробіоценозів на початкових етапах біологічного освоєння рекультивованих земель (на прикладі Нікопольського марганцево-рудного басейну): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук : спец. 03.00.16 „Екологія” / І.Б. Зленко. — Дніпропетровськ, 2012. — 27 с.
4. Іутинська Г.О. Шляхи регулювання функцій мікробних угруповань ґрунту в аспекті біологізації землеробства і стійкого розвитку агроекосистем / Г.О. Іутинська // Ґрунтознавство. — 2006. — № 3. — С. 7–18.
5. Масюк Н.Т. Вскрышные горные породы как объект исследования, создание высокопродуктивных агробиоценозов в техногенном ландшафте / Н. Т. Масюк // Вестник ДСХИ. — 1975. — Т. 31. — С. 3—54.
6. *Методологія і практика використання мікробних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур* / [Волкогон В.В., Заришняк А.С., Гриник І.В. [та ін.]. — К.: Аграр. наука, 2011. — 156 с.
7. Чайковська Л.О. Штам фосформобілізуючих бактерій як основа біопрепарату для покращення фосфорного живлення сільськогосподарських рослин / Л.О. Чайковська, Т.М. Мельничук, О.В. Шерстобоева // Вісник аграрної науки. — 2001. — № 6. — С. 44—52.

В.А. Забалуєв, П.В. Бучек, І.Б. Зленко

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет

ЕФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ІСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ И ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ БИОПРЕПАРАТОВ НА СУБСТРАТАХ ВСКРЫШНЫХ ГОРНЫХ ПОРОД НИКОПОЛЬСКОГО МАРГАНЦЕВОРУДНОГО БАССЕЙНА

С целью повышения уровня плодородия рекультивированных земель, кроме традиционных методов использования минеральных и органических удобрений, всё большую актуальность приобретает использование биологических препаратов на основе азотфиксирующих и фосфатмобилизующих микроорганизмов. Такое направление интенсивно развивается на зональных ненарушенных почвах, однако недостаточно исследовано на рекультивированных землях, прежде всего на технозёмах, сформированных вскрышными потенциально

плодородными горными породами. Нашими первоначальными исследованиями определён состав микроорганизмов пород надрудной толщи марганца, определены тенденции формирования микробных сообществ в технозёмах, установлена низкая численность природной азотфиксирующей и фосфатмобилизующей микробиоты.

Проведенные исследования указывают на возможность управления уровнем плодородия субстратов потенциально-плодородных горных пород путём использования биологических препаратов и минерального фосфора. Так, только инокуляция семян люцерны Ризобифитом может повысить продуктивность надземной фитомассы люцерны в среднем на 8–15%. Максимальные показатели продуктивности отмечены в вариантах с инокуляцией семян препаратом Ризобифитом и совместным внесением минерального фосфора и препаратов с фосфатмобилизующей микоризой: в зависимости от вида субстрата прибавки продуктивности составляли от 20,5–33,4% (на серо-зелёных глинах) до 35,0–37,5% (на лессовидных суглинках).

На неудобренном фоне эффективность использования препаратов на основе фосфатмобилизующих бактерий (ФМБ 32-3) оказалось существенно ниже в сравнении с препаратами на основе арбускулярной микоризы. Вместе с тем, на фоне минерального фосфора такой существенной разницы не выявлено, это указывает на перспективность совместного использования суперфосфата и препарата ФМБ 32-3.

Использование биопрепаратов на основе фосфатмобилизующих микроорганизмов (бактерий и арбускулярных микоризных грибов) совместно с инокуляцией препаратом Ризобифит способствует повышению продуктивности люцерны посевной при выращивании на субстратах горных пород. Наибольшую продуктивность люцерны первого года вегетации выявлено в вариантах с комплексным использованием фосфатмобилизующих биопрепаратов АМГ и азотфиксирующего препарата Ризобифит на фоне внесения минерального фосфора.

Ключевые слова: фитомелиорация, арбускулярная микориза, техноземы, люцерна посевная

V. Zabaluev P. Buchek, I. Zlenko

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

Dnipropetrovsk state agrarian-economics university, Ukraine

EFFECTIVENESS OF THE COMPLEX NITROGEN FIXING AND PHOSPHATE MOBILIZATING BIOPREPARATIONS IN THE SUBSTRATA OF THE ROCKS OF NIKOPOL MANGANESE ORE BASINE

The biological preparations application, instead of chemical and organic fertilizers, became actually with purpose to increase fertility level of reclaimed lands taking nitrogen fixing and phosphorus mobilization microorganisms.

This direction was developed intensively in zonal non disturbed soils. However it was not enough investigated in reclaimed lands, first of all in technozems formed with potentially fertility rocks. The microorganisms list was established for rocks which are over manganese ore deposit with our previous investigations. The tendencies of the microbe groups in technozems were determined. Low number of nitrogen fixing and phosphorus mobilization microorganisms was established.

Fulfilled investigations gave the possibility to control the level of potentially fertile substrata by the way of biological preparations and chemical phosphorus using.

Meantime, alfalfa seeds inoculation with Rizofobite can increase the alfalfa productivity in average up to 8–15%. Highest indexes of productivity were fixed in the trials with seeds inoculations nitrogen fixation preparation Rizofobite and joint incorporation chemical phosphorus together with preparations of phosphates mobilization micorize: additional yields were from 20,5–33,4% (in grey-green clays) to 35,0–37,5% (in loamy like loess) depending on substrata.

The effectiveness of the preparations made on the base of phosphate mobilized bacteria (PhMB 32-3) in the background without fertilizers was much lower comparative to preparations based on arbuscular micorize. At the same time, any distinction with chemical phosphorus application have not been fixed. It approve the prospect for joint superphosphate and PhMB 32-3 using.

Application of the biopreparations based on phosphates mobilization microorganism (bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi) in combination with inoculation with nitrogen fixation preparation Rizofobite, assist increasing alfalfa productivity for growing in rocks substrata. Highest alfalfa first year of life was fixed in the trial with complex using phosphate mobilizing biopreparations AMG and nitrogen fixation preparation Rizofobite in background of chemical phosphorus

Keywords: phytomelioration, arbuscular mycorrhizal fungi, technozems, alfalfa

Рекомендує до друку
С.Я. Коць

Надійшла 17.04.2014

УДК 579.22:633.16:362.954:631.811.98

В.П. КАРПЕНКО, Р.М. ПРИТУЛЯК, А.О. ЧЕРНЕГА

Уманський національний університет садівництва
вул. Інститутська 1, Умань, Черкаська обл, 20305

АЗОТФІКСУВАЛЬНІ МІКРООРГАНІЗМИ РОДУ *AZOTOBACTER* РИЗОСФЕРИ ЯЧМЕНЮ ОЗИМОГО ЗА ОБРОБКИ ПОСІВІВ ГЕРБІЦИДОМ КАЛІБР 75 І РЕГУЛЯТОРОМ РОСТУ РОСЛИН БІОЛАН

Наведено результати досліджень з вивчення чисельності азотфіксувальних бактерій роду *Azotobacter* ризосфери ячменю озимого за обробки посівів гербіцидом Калібр 75 та регулятором росту рослин Біолан. Встановлено, що дані мікроорганізми виявляють чутливість до дії підвищених норм гербіциду, особливо в початковій період застосування. Проте на 25-ту добу після внесення препаратів чисельність бактерій роду *Azotobacter* у ризосфері ячменю озимого зростає, особливо за використання бакових сумішей гербіциду Калібр 75 у нормах 30 та 40 г/га з регулятором росту рослин Біолан.

Ключові слова: Azotobacter, гербіцид, регулятор росту рослин, ячмінь озимий

Коренева система рослин і ґрунт утворюють складну екологічну систему, заселену різними видами мікробіоти [6]. У ризосфері та ризоплані коренів рослин у значній кількості зосереджуються бактерії, актиноміцети, гриби, водорості й інші мікроорганізми, які істотно збагачують ґрунт продуктами своєї життєдіяльності. Мікроорганізми, що здатні поповнювати азотний баланс ґрунту за рахунок фіксації атмосферного азоту, поліпшують азотне живлення сільськогосподарських культур [1, 3]. Встановлено, що продуктивність асоціативної азотфіксації в агроценозах, у залежності від культури та кліматичних умов, може сягати 20–60 кг/га азоту за вегетаційний період [7]. Водночас асоціативні мікроорганізми здатні синтезувати речовини фітогормональної природи [5], а також екзополіцукри, які забезпечують бактеріям здатність агрегуватися з іншими ґрунтовими мікроорганізмами та захищати рослинні клітини від дії несприятливих чинників навколишнього природного середовища [9].

Сучасні технології вирощування сільськогосподарських культур напряду впливають на життєдіяльність мікроорганізмів, особливо це простежується на прикладі застосування хімічних сполук гербіцидної дії [2], які можуть мати відносно мікробіоти негативне значення [8]. Тому, при виборі захисних заходів хімічного спрямування важливо знати їх вплив на життєдіяльність агрономічно цінних мікроорганізмів, у тому числі й азотфіксувальних. Зважаючи на це, важливим було вивчити розрізнену і сумісну дію гербіциду і регулятора росту рослин на ріст і розвиток асоціативних фіксаторів молекулярного азоту роду *Azotobacter*.

Матеріал і методи досліджень

Досліди з вивчення дії гербіциду Калібр 75 і регулятора росту рослин Біолан у посівах ячменю озимого сорту Достойний на ріст бактерій роду *Azotobacter* виконували упродовж 2010–2012 рр. у польових умовах навчально-науково-виробничого відділу та лабораторних – кафедри біології Уманського національного університету садівництва.

Схема досліду включала варіанти: без застосування препаратів (контроль); внесення гербіциду Калібр 75 у нормах 30; 40; 50 і 60 г/га як окремо, так і в сумішах з регулятором росту рослин Біолан у нормі 50 мл/га. Площа дослідних ділянок становила 100 м², повторність досліду – триразова. Ріст та розвиток бактерій роду *Azotobacter* оцінювали на безазотистому живильному середовищі Ешбі за обростанням колоніями ґрунтових грудочок [4].

Результати досліджень та їх обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що чисельність бактерій роду *Azotobacter* у ризосфері ячменю озимого залежала від норм застосування у посівах гербіциду Калібр 75 (табл. 1). Так, за обробки посівів ячменю озимого гербіцидом Калібр 75 у нормах 30, 40, 50 і 60 г/га на десяту добу після застосування у 2010 році спостерігалось зниження чисельності даних бактерій на 25, 34, 47 і 56% відповідно до норм препарату у порівнянні із контрольним варіантом.

Таблиця 1

Чисельність азотфіксувальних бактерій роду *Azotobacter* ризосфери ячменю озимого за дії різних норм гербіциду Калібр 75 і регулятора росту рослин Біолан (10 доба після застосування препаратів)

Варіант досліду	Рік			Середнє	% до контролю
	2010	2011	2012		
	Кількість оброслих колоніями грудочок ґрунту, шт.				
Без застосування препаратів (контроль)	32	30	36	33	100
Калібр 75 30 г/га	24	20	21	22	66
Калібр 75 40 г/га	21	19	19	20	60
Калібр 75 50 г/га	17	16	17	17	51
Калібр 75 60 г/га	14	15	15	15	45
Біолан 50 мл/га	35	33	38	35	108
Калібр 75 30 г/га + Біолан 50 мл/га	27	24	22	24	74
Калібр 75 40 г/га + Біолан 50 мл/га	24	22	21	22	68
Калібр 75 50 г/га + Біолан 50 мл/га	20	17	19	19	57
Калібр 75 60 г/га + Біолан 50 мл/га	15	17	16	16	49
<i>HIP</i> ₀₅	4,2	3,8	4,5		

За сумісного внесення у посівах ячменю озимого досліджуваних норм гербіциду з регулятором росту рослин кількість оброслих колоніями грудочок ґрунту відносно варіантів із самостійним внесенням Калібру 75 зростала, однак при цьому була нижчою за показник у контролі на 16, 25, 37 і 53% відповідно до норм гербіциду.

Застосування у посівах ячменю озимого регулятора росту рослин Біолан у нормі 50 мл/га стимулювало ріст азотфіксувальних бактерій ризосфери та забезпечувало відносно контролю збільшення їх росту на 8 %.

ЕКОЛОГІЯ

Аналогічна закономірність з впливу різних норм гербіциду Калібр 75, внесених окремо і в сумішах з регулятором росту рослин Біолан, на ріст і розвиток бактерій роду *Azotobacter* у ризосфері ячменю озимого через 10 діб після застосування препаратів простежувалась і в 2011 та 2012 роках. Зокрема, не дивлячись на те, що ріст азотфіксувальних бактерій за дії гербіцидного агента, внесеного окремо та в сумішах з регулятором росту рослин зазнавав пригнічення, менш відчутна негативна дія була відмічена у варіанті з внесенням 30 г/га Калібру у суміші з Біоланом 50 мл/га, де ріст азотобактера був нижчим контрольного показника на 20 і 39% відповідно.

На 25-ту добу обліку бактерій роду *Azotobacter* ризосфери ячменю озимого встановлено збільшення їх кількості порівняно з обліком на десятю добу після застосування препаратів (табл. 2). Так, у 2010 році за внесення гербіциду Калібр 75 у нормах 30, 40 і 50 г/га кількість оброслих колоніями грудочок ґрунту перевищувала контроль на 18, 12 і 6% відповідно. Проте найбільш активний ріст бактерій роду *Azotobacter* було відмічено за використання Калібру 75 у тих же нормах сумісно з Біоланом, що на 30, 21 і 12% відповідно перевищувало контроль.

Подібну закономірність було відмічено і в 2011 та 2012 роках. Так, найбільш істотне збільшення кількості оброслих колоніями азотобактера грудочок ґрунту відносно контролю було відмічено за сумісної дії Калібру 75 у нормах 30 і 40 г/га з Біоланом, що становило, відповідно, 42 і 39 шт. при 31 шт. у контролю у 2011 році та 45 і 42 шт. при 34 шт. у контролі – у 2012 році.

Таблиця 2

Чисельність азотфіксувальних бактерій роду *Azotobacter* ризосфери ячменю озимого за дії різних норм гербіциду Калібр 75 і регулятора росту рослин Біолан (25 доба після застосування препаратів)

Варіант досліджу	Рік			Середнє	% до контролю
	2010	2011	2012		
	Кількість оброслих колоніями грудочок ґрунту, шт.				
Без застосування препаратів (контроль)	33	31	34	33	100
Калібр 75 30 г/га	39	38	41	39	120
Калібр 75 40 г/га	37	37	38	37	114
Калібр 75 50 г/га	35	33	35	34	105
Калібр 75 60 г/га	31	29	30	30	92
Біолан 50 мл/га	38	36	39	38	115
Калібр 75 30 г/га + Біолан 50 мл/га	43	42	45	43	133
Калібр 75 40 г/га + Біолан 50 мл/га	40	39	42	40	123
Калібр 75 50 г/га + Біолан 50 мл/га	37	36	40	38	115
Калібр 75 60 г/га + Біолан 50 мл/га	36	34	37	36	109
<i>HIP</i> ₀₅	3,9	3,6	4,2		

У середньому за три роки дослідження азотфіксувальних бактерій роду *Azotobacter* найбільшу їх кількість було відмічено за використання в посівах ячменю озимого гербіциду Калібр 75 у нормі 30 г/га сумісно з Біоланом у нормі 50 мл/га, що перевищувало контроль на 33%. Очевидно, це пов'язано з тим, що за мінімальної норми гербіциду у суміші з регулятором росту

рослин процес детоксикації ксенобіотика в рослинах ячменю озимого відбувається значно швидше. У подальшому це стимулює нагромадження рослинами біомаси та сприяє збільшенню у ризосфері ексудатів, які є джерелом живлення для азотфіксувальних бактерій.

Висновки

Бактерії роду *Azotobacter* виявляють чутливість до дії в посівах ячменю озимого різних норм гербіциду Калібр 75, однак за внесення гербіциду сумісно з регулятором росту рослин Біолан негативна дія ксенобіотика на дані мікроорганізми послаблюється.

Найбільш позитивний вплив на ріст азотфіксувальних бактерій роду *Azotobacter*, особливо на 25-ту добу обліку, виявляє композиція препаратів 30 г/га Калібру 75 сумісно з регулятором росту рослин Біолан 50 мл/га що, очевидно, є наслідком зниження негативної дії ксенобіотика на рослини і ґрунт за активізації під впливом рістрегулятора у рослинах фізіолого-біохімічних процесів.

1. Дем'янюк О. С. Оцінка дерново-підзолистого ґрунту за мікробіологічними та біохімічними показниками / О. С. Дем'янюк // Агроєкологічний журнал. — 2002. — № 3. — С. 32—35.
2. Карпенко В. П. Біологічна активність ґрунту в посівах ячменю озимого за дії гербіциду і рістрегуляторів / В. П. Карпенко // Вісник аграрної науки Причорномор'я. — 2012. — Вип. 1. — С. 126—131.
3. Козар С. Ф. Антагонізм азотобактера щодо ґрунтових діазофітів та вплив комплексів бактерій на ріст рослин / С. Ф. Козар, М. А. Ушакова // Агроєкологічний журнал. — 2004. — № 2. — С. 31—34.
4. Методы почвенной микробиологии и биохимии / [Алиева И. В., Бабьева И. П., Бызов Б. А. и др.]; под ред. Д. Г. Звягинцева. — М.: Изд-во Московского университета, 1991. — 304 с.
5. Патица В. П. Стан і перспективи досліджень мікробної азотфіксації / В. П. Патица // Онтогенез рослин, біологічна фіксація молекулярного азоту та азотний метаболізм. — Тернопіль, 2001. — С. 111—115.
6. Симочко Л. Ю. Екологія мікробного ценозу ґрунту при вирощуванні озимої пшениці на чорноземі глибокому / Л. Ю. Симочко, О. С. Демянюк // Агроєкологічний журнал. — 2003. — № 3. — С. 27—31.
7. Цавкелова Е. А. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов / Е. А. Цавкелова, С.Ю. Климова, Т. А. Чердынцев, А. И. Нетрусов // Прикл. биохимия и микробиология. — 2006. — № 3. — С. 261—268.
8. Шерстобоева О. В. Реакція мікробного угруповання кореневої зони озимої пшениці на інтродукцію діазофітів / О. В. Шерстобоева // Агроєкологічний журнал. — 2003. — № 3. — С. 42—46.
9. Vargas-Garsia M. C. Properties of polysaccharide produced by *Azotobacter vinelandii* cultured on 4-hydroxybenzoic acid / M. C. Vargas-Garsia, M. J. Lopez, M. A. Elorrieta et al. // J. Appl. Microbiol. — 2003. — 94. — № 3. — P. 388—395.

В.П. Карпенко, Р.Н. Притуляк, А.А. Чернега
Уманский национальный университет садоводства
ул. Институтская 1, Умань, Черкасская обл, 20305

АЗОТФИКСИРУЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ РОДА *AZOTOBACTER* РИЗОСФЕРЫ ЯЧМЕНЯ ОЗИМОГО ПРИ ОБРАБОТКЕ ПОСЕВОВ ГЕРБИЦИДОМ КАЛИБР 75 И РЕГУЛЯТОРОМ РОСТА РАСТЕНИЙ БИОЛАН

Приведены результаты исследований по изучению количества азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter* ризосферы ячменя озимого при обработке посевов гербицидом Калибр 75 и регулятором роста растений Биолан. Установлено, что эти микроорганизмы выявляют чувствительность к действию повышенных норм гербицида, особенно в начальный период прорастания. Однако на 25-тые сутки после внесения препаратов количество бактерий рода *Azotobacter* в ризосфере ячменя озимого повышается, особенно при использовании баковых смесей гербицида Калибр 75 у нормах 30 и 40 г/га с регулятором роста растений Биолан.

Ключевые слова: Azotobacter, гербицид, регулятор роста растений, ячмень озимый

V. P. Karpenko, R. N. Prytulyak, A. A. Chernega

Uman national university of gardening

NITROGEN-FIXING MICROORGANISMS OF AZOTOBACTER KIND RHIZOSPHERE OF WINTER BARLEY WITH PROCESSING OF CROPS BY HERBICIDE KALIBR 75 AND GROWTH REGULATOR OF PLANTS BIOLAN

There are given results of research concerning study of quantity of nitrogen-fixing bacteria of *Azotobacter* kind of rhizosphere of winter barley with processing of crops by herbicide Kalibr 75 and growth regulator of plants Biolan. It is ascertained that these microorganisms show sensitivity to the action of heightened norms of herbicide, especially in the initial period of using. But on the 25th day after using of preparations number of bacteria of *Azotobacter* kind in rhizosphere of winter barley increases, especially during using of tank mixtures of herbicide Kalibr 75 in the norms of 30 and 40 g/ha with growth regulator of plants Biolan.

Keywords: Azotobacter, herbicide, growth regulator of plants, winter barley

Рекомендує до друку

Надійшла 18.04.2014

С.В. Пида

УДК 579.64:631.461.5:633.31/37

Л.В. КИРИЛЕНКО, Ю.М. ШКАТУЛА

Вінницький національний аграрний університет
вул. Сонячна, 3, Вінниця, 21008

ЕФЕКТИВНІСТЬ СИМБІОТИЧНОЇ АЗОТФІКСАЦІЇ В АГРОЦЕНОЗАХ КОЗЛЯТНИКА СХІДНОГО

У статті узагальнюються дані досліджень щодо взаємодії активних штамів бульбочкових бактерій *Rhizobium galegae* з різними сортами козлятника. На основі результатів польових експериментів з десяти досліджуваних штамів *Rhizobium galegae* відібрано чотири – 0703, 0721, 159 і Л2, які формують найефективніший симбіоз із усіма досліджуваними сортами козлятника. Встановлено, що передпосівна обробка насіння даними штамми активізує засвоєння молекулярного азоту та забезпечує підвищення врожайності зеленої маси рослин козлятника.

Ключові слова: Rhizobium galegae, козлятник, симбіотична система, азотфіксація, штам

Багаторічні бобові трави є важливими культурами у вирішенні проблеми білкового дефіциту у польовому і лучному кормовиробництві. У сухій речовині бобових багаторічних трав міститься близько 20% протеїну, що в два рази більше, ніж у злакових трав. Це забезпечує одну кормову одиницю 150-200 г протеїну при нормі 110-115 г. У 100 кг сіна бобових багаторічних трав міститься близько 50 кормових одиниць і 8,5 кг перетравного протеїну, у 100 кг зеленої маси – до 20 кормових одиниць і 4 кг протеїну [4].

Іншою позитивною особливістю багаторічних бобових трав є їх агроекологічність, що визначається азотфіксуючою здатністю та збагаченням ґрунту органічною речовиною, яка утворюється з кореневим та стебловим опадом. Бобові багаторічні трави в симбіозі з бульбочковими бактеріями фіксують і накопичують у ґрунті 100-300 кг/га азоту з повітря, що дає змогу суттєво зменшити внесення дорогих азотних мінеральних добрив. У результаті надходження в ґрунт рослинних решток цих трав, ґрунт збагачується поживними речовинами, що рівноцінно внесенню 30-40 т/га гною [5].

Тому, в сучасних умовах економічної та екологічної кризи, бобові багаторічні трави відіграють вирішальну роль, як у забезпеченні потреб кормового білка, так і у відновленні родючості ґрунту.

Серед багаторічних бобових трав, особливе місце займає вирощування козлятника східного (*Galega orientalis* L.). Порівняно з іншими багаторічними бобовими травами, даний вид має ряд переваг, які характеризуються довговічністю використання травостою, раннім досягненням укісної стиглості, сталою насінневою продуктивністю та вегетативним розмноженням, значним накопиченням біологічного азоту у ґрунті. Поряд з цим, козлятник східний за рахунок добре розвиненої кореневої системи покращує фізико-механічні властивості та структуру ґрунту, при цьому зменшується об'ємна маса та зростає його польова вологоємність. Забезпечуючи підвищення родючості ґрунту, козлятник є одним із кращих попередників для сільськогосподарських культур [3].

При формуванні урожаю листостеблової маси і кореневої системи козлятник східний використовує головним чином атмосферний азот завдяки симбіотичній діяльності бульбочкових бактерій (*Rhizobium meliloti*), і здатні фіксувати упродовж вегетації рослин 150-200 кг/га азоту з повітря, забезпечуючи при цьому 30-70% їх потреб. Інтенсивне засвоєння азоту відбувається лише за умови наявності на коренях великої кількості бульбочок з активними бактеріями. Нерідко в ґрунті відсутні специфічні для даної культури бульбочкові бактерії або їх взагалі недостатньо. Тому за сівби козлятнику східного на новій ділянці для підсилення розвитку бульбочкових бактерій проводять інокуляцію насіння препаратами, що містять активні штами бульбочкових бактерій, здатних у процесі симбіозу проникати у ризосферу козлятнику і сприяти утворенню ефективних бульбочок. При мінімальних затратах на застосування цих препаратів урожайність зеленої маси збільшується на 15-20% [1].

Для підвищення продуктивності симбіотичної азотфіксації в агроценозах проводиться селекція сортів для багатьох бобових культур і штамів бульбочкових бактерій, враховуючи конкретні ґрунтово-кліматичні і агротехнічні умови, а також створюються сприятливі умови для ефективного функціонування бобово-ризобіального симбіозу [6]. Проте, для малопоширеної культури України – козлятнику східного, яка є найперспективнішою нетрадиційною кормовою культурою Лісостепу, подібних досліджень практично не проводилось.

Мета досліджень - селекція виробничо-цінних штамів бульбочкових бактерій, оцінка ефективності у системі *Rhizobium galegae* – козлятник.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводились впродовж 2011-2013 років на спільному дослідному полі Вінницького національного аграрного університету і Вінницької державної сільськогосподарської дослідної станції Інституту кормів та сільського господарства НААНУ у селі Агрономічне Вінницького району за 7 км на південь від обласного центру міста Вінниці.

За агроґрунтовим районуванням дослідна ділянка належить до Вінницько-Немирівського підрайону Центрального агроґрунтового району, майже на межі з Хмільницько-Погребищенським агроґрунтовим районом, північної підпровінції Лісостепу правобережного.

Ґрунт на дослідній ділянці – сірий лісовий середньосуглинковий. За даними агрохімічного обстеження вміст гумусу в орному шарі низький – 3%. Вміст легкогідролізованого азоту (за Корнфілдом) низький – 7,0-8,0, рухомого фосфору (за Чіріковим) високий – 16,0-19,4, обмінного калію (за Чіріковим) підвищений – 9,5 мг/100г ґрунту.

Гідролітична кислотність висока і становить 4,32 мг-екв./100г ґрунту. За обмінною кислотністю рН_{сол.} 5,0-5,4 ґрунт середньокислий.

Отже, ґрунт дослідної ділянки та його агрохімічні показники є типовими для даної зони і придатні для вирощування козлятника східного на зелену масу.

Об'єктами досліджень слугували сорти козлятника східного Кавказький бранець і Салют. У роботі використовували 7 штамів *Rhizobium galegae* (0702, 0703, 0706, 0719, 0720, 0721, 0722) з Національної колекції ГНУ Всеросійського науково-дослідного Інституту сільськогосподарської мікробіології (С.-Петербург, Росія), 1 штам за номером 159 з колекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України і 2 за номерами Л1 і Л2 – виділені нами з бульбочок козлятнику вирощеного в Оратівському районі Вінницької області.

Облікова площа ділянки 10 м², повторність досліду 4-х кратна. Статистичну обробку даних проводили за допомогою дисперсійного аналізу за Б.О.Доспеховим [2].

Результати досліджень та їх обговорення

Створення високоефективних азотфіксувальних систем рослина-мікроорганізм досягається інтродукцією в ризосферу рослин козлятнику східного активних, конкурентноспроможних, комплементарних до даної культури та сорту штамів мікроорганізмів - азотфіксаторів. Інтродукція штамів мікроорганізмів з агрономічно-корисними властивостями дає можливість замінити менш активні за потрібною ознакою штамів місцевих бактерій на споріднені, які більш активно взаємодіють з рослинами козлятнику.

Ефективність передпосівної обробки насіння двох сучасних сортів козлятнику Салют і Кавказький бранець штамми досліджували протягом трьох років. При застосуванні штамів мікроорганізмів виявлено тенденцію до збільшення врожайності зеленої маси досліджуваної культури.

Таблиця

Врожай зеленої маси козлятника східного та вміст у ній сирого протеїну і азоту

Варіант	Сорт козлятника східного					
	Салют			Кавказький бранець		
	Врожай, т/га	Вміст сирого протеїну, %	Вміст азоту, %	Врожай, т/га	Вміст сирого протеїну, %	Вміст азоту, %
Без інокуляції	3,79	19,52	1,62	4,10	20,32	1,95
Штам						
0702	3,97	20,00	1,75	4,23	21,02	2,05
0703	5,35	27,31	2,95	6,56	29,45	3,08
0706	3,85	19,89	1,80	4,44	22,03	2,12
0719	4,02	22,00	1,87	4,34	23,0	1,99
0720	5,12	24,56	2,35	5,25	24,05	2,00
0721	5,90	26,80	2,75	6,34	27,21	2,97
0722	4,02	19,85	1,78	4,69	21,45	2,11
159	6,03	28,05	2,98	6,49	28,00	2,87
Л1	4,23	21,32	2,07	5,56	23,03	2,13
Л2	5,89	27,35	2,79	6,87	28,79	2,54
НІР ₀₅	1,14			1,25		

Як видно з результатів таблиці, використання у якості мікросимбіонтів для обох сортів козлятника східного штамів *Rhizobium galegae* 0703, 0721, 159 і Л2 призводило до суттєвого достовірного збільшення врожаю зеленої маси рослин, а також вмісту у ній сирого протеїну і азоту. Так, врожай зеленої маси козлятника східного сорту Салют становив 5,35-6,03 т/га, вміст сирого протеїну відповідно 26,80-28,06 %. Серед досліджуваних штамів найкраще проявив себе штам 159. Ефективнішою виявилась інокуляція насіння козлятника сорту Кавказький бранець. Обробка зазначеними штамми забезпечила урожай зеленої маси у межах 6,34-6,87 т/га, вміст сирого протеїну – 27,21-29,45% і азоту – 2,54-3,08%.

Висновки

У результаті проведених досліджень визначено штамми бульбочкових бактерій, комплементарні до сучасних сортів козлятнику східного, які за ефективністю симбіотичної азотфіксації переважають виробничі штамми на 15-30%, і можуть бути застосовані у виробництві.

1. Бутвина О.Ю. Высококонкурентные штаммы клубеньковых бактерий – основа эффективности биопрепаратов / О.Ю. Бутвина, Н.З. Толкачев, А.В. Князев // Мікробіологічний журнал. — 1997. — Т. 59, №4. — С. 123—131.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. — М.:Колос, 1985. — 351 с.
3. Квітко Г.П. Багаторічні бобові трави – основа природної інтенсифікації кормовиробництва та поліпшення родючості ґрунту в Лісостепу України / Г. П. Квітко, О. П. Ткачук, Н. Я. Гетман // Корми і кормовиробництво. — 2012. — Вип. 73. — С. 118—122.
4. Петриченко В. Ф. Наукові основи інтенсифікації польового кормовиробництва в Україні / В.Ф. Петриченко, Г. П. Квітко, М. К. Царенко. — Вінниця: ФОП Данилюк В. Г., 2008. — 240 с.

5. *Протопіш І. Г.* Багаторічнібобові трави – безальтернативний попередник пшеницю зимої в умовах правобережного Лісостепу / Протопіш І. Г., Квітко Г. П., Гетман Н. Я. // Корми і кормовиробництво. — 2012. — Вип. 72. — С. 34—39.
6. *Толкачев Н.З.* Биотехнологические аспекты координированной селекции клубеньковых бактерий и бобовых растений / Н.З. Толкачев // Междунар. конф. «Микробиология и биотехнология XXI столетия» (Минск, 22-24 мая 2002 г.). — Минск, 2002. — С. 152—153.

Л.В. Кириленко, Ю.Н. Шкатула

Винницький національний аграрний університет, Україна

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ АЗОТФИКСАЦИИ В АГРОЦЕНОЗАХ КОЗЛЯТНИКА ВОСТОЧНОГО

В статье обобщаются данные исследований по взаимодействию активных штаммов клубеньковых бактерий *Rhizobium galegae* с различными сортами козлятника. На основе результатов полевых экспериментов с десятью исследуемыми штаммами *Rhizobium galegae* отобрано четыре - 0703, 0721, 159 и Л2, которые формируют эффективный симбиоз со всеми исследуемыми сортами козлятника. Установлено, что предпосевная обработка семян данными штаммами активизирует усвоение молекулярного азота и обеспечивает повышение урожайности зеленой массы растений козлятника.

Ключевые слова: *Rhizobiumgalegae*, козлятник, симбиотическая система, азотфиксация, штамм

L.V. Kirilenko, J.M. Shkatula

Vinnitsia National Agrarian University, Ukraine

THE EFFICIENCY OF SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION IN THE AGROCENOSIS GALEGAE ORIENTALIS

The article summarized data from studies on the interaction of active strains of nodule bacteria *Rhizobium galegae* with different varieties of *Galegaeorientalis*. On the basis of field experiments with ten strains of *Rhizobiumgalegae* researched selected four - 0703, 0721, 159 and A2, which form an effective symbiosis with all the studied varieties *Galegaeorientalis*. Found, that pre-sowing seed these strains activates the absorption of molecular nitrogen and increase the of green plants of *Galegaeorientalis*.

Keywords: *Rhizobium galegae*, *Galegaeorientalis*, a symbiotic system, nitrogen fixation, the strain

Рекомендує до друку

В.П. Патика

Надійшла 17.04.2014

УДК 631.461.5

О. В. КИРИЧЕНКО

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ СОЄВО-РИЗОБІАЛЬНИХ СИМБІОЗІВ ЗА ІНТРОДУКЦІЇ РИЗОБАКТЕРІЙ НА НАСІННЯ

У вегетаційних умовах досліджували нітрогеназну активність корневих бульбочок сої протягом вегетації рослин за умов комплексної бактеризації насіння композиціями специфічних рослині-хазяїну ризобій та діазотрофів родів *Azotobacter* і *Enterobacter*. Виявлено переваги у ефективності дії комплексної інокуляції щодо функціональної здатності корневих бульбочок і формування вегетативної маси рослинами порівняно з традиційною бактеризацією насіння ризобіями.

Ключові слова: соя, бульбочкові бактерії, азотобактер, ентеробактер, комплексна бактеризація, нітрогеназна активність

Бактеріальні препарати на основі азотфіксувальних (діазотрофних) мікроорганізмів складають суттєву частину сучасних мікробних біотехнологій у рослинництві [3, 7, 10]. Завдяки їх застосуванню поліпшуються показники якості ґрунтів і підвищується продуктивність культурних рослин. Високим азотфіксувальним потенціалом характеризуються бобово-ризобіальні симбіози [2]. Важливою складовою агрофітоценозів і ефективним елементом мікробних біотехнологій є так звані ризобактерії (роди *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Bacillus* та ін.), які здатні до синтезу рістрегулювальних і антибіотичних сполук, азотфіксації, мобілізації недоступних рослинам сполук фосфору, біоремедіації [6, 7, 9, 12]. Азотфіксувальний потенціал ґрунтових вільноіснуючих та асоціативних діазотрофів становить від 2-5 до 60 кг азоту на гектар за вегетаційний період [10] і є значно нижчим за азотфіксувальну активність бобово-ризобіальних симбіозів [2]. Розробка прийомів активації ферментів азотного метаболізму і, в першу чергу, нітрогенази, дозволить поліпшити умови зв'язування та засвоєння азоту мікросимбіонтами та підвищити інтенсивність азотного обміну в агроценозах. Одним із таких прийомів є комплексна бактеризація насіння бобових культур специфічними бульбочковими бактеріями і агрономічно корисними ризобактеріями. Встановлено, що ризобактерії здатні посилювати утворення корневих бульбочок, активізувати ферменти асиміляції азоту – нітрогеназу, глутаматсинтазу, глутаматдегідрогеназу, а також підвищувати вміст білка у вегетативних органах і насінні рослин [3, 4, 7, 14, 15].

Метою даної роботи було дослідження нітрогеназної активності корневих бульбочок сої, утворених *Bradyrhizobium japonicum* 6346 за інтродукції діазотрофів родів *Azotobacter* і *Enterobacter* на насіння.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами дослідження були рослини сої (*Glycine max* L. Merr.) сорту Аннушка (ранньостиглий, «Соевий вік», Кіровоград), бульбочкові бактерії *B. japonicum* 6346 і ризосферні діазотрофи *Azotobacter chroococcum* T79 [11] та *Enterobacter* (бактеріальна композиція коктейль [8]). Дослідження проводили у вегетаційних умовах за схемою: варіант №1 – насіння сої неінокульоване; №2 – інокульоване *B. japonicum* 6346; №3 – насіння оброблене *B. japonicum* 6346 + *Azotobacter chroococcum* T79; №4 – насіння оброблене *B. japonicum* + *Enterobacter*. Культури *B. japonicum*, *Enterobacter*, *A. chroococcum* (ІФРГ НАНУ, Київ) вирощували протягом 10 і 3 діб при 28°C на середовищах манітно-дріжджовому агарі та Ешбі [1]. Титр клітин бульбочкових бактерій становив 10^9 кл/мл, ризобактерій 10^8 кл/мл. У композиціях культури змішували (v:v, 1:1) та інкубували протягом доби, отже, комплексні інокулянти містили ризобіальних клітин вдвічі менше, ніж моноінокулянт. Інокуляцію насіння здійснювали протягом 1 год до висіву. Неінокульоване насіння обробляли водою (абсолютний контроль, а. к.). Аналізували по 10-30 рослин кожного варіанту при кожному відборі (табл.). Нітрогеназну активність корневих бульбочок тестували ацетиленовим методом за Харді зі снівав. [13] на приладі Chromatograf 504 (Польща, «MeraElwgo»). Нітрогеназну активність симбіотичного апарату виражали у мкмоль C_2H_4 / (рослину • год) – загальна активність, мкмоль C_2H_4 / (г бульбочок • год) – питома активність.

Результати досліджень та їх обговорення

Показано, що на ранньому етапі розвитку сої (18-денні рослини) процес фіксації азоту симбіотичними системами всіх варіантів був відсутнім. Початок перетворення азоту в корневих бульбочках сої виявлено у фазу розвитку трьох справжніх листків (табл.), що підтверджує існуюче уявлення щодо прямого зв'язку між початком інтенсивної фіксації азоту й активним розвитком фотосинтетичного листового апарату рослин [2]. Однак, лише у рослин, насіння яких інокулювали бульбочковими бактеріями (№ 2) відмічено наявність функціональних бульбочок. Відсутність азотфіксації у варіантах № 3, 4 на даному етапі розвитку сої може бути пов'язана з меншим ризобіальним навантаженням суспензії, оскільки комплексні інокулянти містили вдвічі меншу кількість клітин бульбочкових бактерій.

Азотфіксувальна здатність корневих бульбочок варіанту з ризобіями за рахунок поліпшення азотного живлення забезпечила й активне формування рослинами вегетативної маси (табл.). Абсолютно суха (а. с.) маса рослин даного варіанту перевищувала а. к. вдвічі, інші дослідні варіанти – в 1,4 і 1,5 рази відповідно. Отже, перевага в азотному живленні рослин

ЕКОЛОГІЯ

варіанту № 2 за наявності процесу біологічного перетворення азоту в симбіотичних структурах – корневих бульбочках є очевидною. Рослини варіантів № 3, 4 за вегетативною масою відрізнялися від рослин а. к. на 46 і 36%, що свідчить про наявність рістрегуляторної дії біологічно активних речовин мікробного походження [3, 6, 9, 12] на рослину за відсутності процесу фіксації азоту соєво-ризобіальними симбіозами.

Таблиця

Нітрогеназна активність корневих бульбочок і формування вегетативної маси рослинами сої заінтродукції ризобактерій на насіння

№	Варіант	Нітрогеназна активність, мкмоль C ₂ H ₄ на				Абсолютно суха маса рослини	
		(рослину • год)	%	(г бульбочок • год)	%	г	%
Примордiальний листок, 18-денні рослини							
1	Вода (а. к.)	-		-		0,21±0,02	100
2	Ризобії (штам-контроль)	0		0		0,20±0,01	95/100
3	Ризобії + азотобактер	0		0		0,25±0,01**	119/125
4	Ризобії + ентеробактер	0		0		0,24±0,01**	114/120
Три справжніх листки, 34-денні рослини							
1	Вода (а. к.)	-		-		0,44±0,03	100
2	Ризобії (штам-контроль)	0,096±0,012	100	8,463±1,435	100	0,90±0,07*	205/100
3	Ризобії + азотобактер	0		0		0,64±0,05**	146/71
4	Ризобії + ентеробактер	0		0		0,60±0,05**	136/67
Бутонізація-початок цвітіння, 40-денні рослини							
1	Вода (а. к.)	-		-		1,09±0,09	100
2	Ризобії (штам-контроль)	0,420±0,179	100	7,010±1,541	100	1,32±0,12*	121/100
3	Ризобії + азотобактер	0,541±0,141	129	18,745±6,233**	267	1,24±0,07*	114/94
4	Ризобії + ентеробактер	2,247±0,429**	535	24,576±3,365**	351	1,44±0,11*	132/109
Активне утворення бобів, 55-денні рослини							
1	Вода (а. к.)	-		-		1,66±0,12	100
2	Ризобії (штам-контроль)	1,821±0,252	100	9,084±1,397	100	2,06±0,18*	124/100
3	Ризобії + азотобактер	3,409±1,537**	187	21,677±0,361**	239	2,23±0,22*	134/108
4	Ризобії + ентеробактер	2,276±0,549	125	18,306±3,328**	202	1,48±0,03**	89/72

Примітка. * - достовірно ($p \leq 0,05$) до абсолютного контролю (№ 1), ** - достовірно до штам-контролю (№ 2). Відсоток (%) перед рискою – відносно варіанту № 1, за рискою – варіанту № 2. «-» - відсутність корневих бульбочок у варіанті № 1.

Рістрегуляторна дія мікробних екзометаболітів, одними з основних активуючих компонентів яких є гормони цитокинінової й ауксинової природи [6, 12] бактерій родів *Azotobacter* і *Enterobacter*, як додаткових компонентів комплексних інокулянтів, більш виражена на ранньому етапі онтогенезу сої (18-денні рослини). Вегетативна маса рослин варіантів № 3 і 4 на 14-19% і 20-25% перевищувала значення а. к. і штам-контролю відповідно. Значення а. с. маси рослин за інокуляції ризобіями знаходилося на рівні а. к., поясненням чого може бути однаковий вихідний рівень азотного живлення рослин (0,25 норми мінерального азоту за Гельригелем у субстраті росту). Перевага ж у накопиченні вегетативної маси рослинами варіантів із комплексною

бактеризацією насіння може бути пояснена активуючим впливом додаткових компонентів інокулянтів – агрономічно корисних бактерій, екзометаболіти яких містять низку біологічно активних речовин [6, 9] і здійснюють пряму гормональну регуляцію росту і розвитку рослин [5]. Так, азотобактер і ентеробактер, поряд із псевдомонадами, бацилами, азоспірилами вважають найбільш активними продуцентами фітогормонів серед ризосферних і епіфітних бактерій [6, 12].

У фазу бутонізації—початку цвітіння рослин сої за нітрогеназною активністю корневих бульбочок встановлена суттєва різниця між варіантами (табл.). Композиція ризобії + азотобактер сприяла зростанню загальної та питомої активності симбіотичного апарату сої в 1,3 і 2,3 рази. Композиція ризобії + ентеробактер максимально підвищувала рівень фіксації азоту: загальна нітрогеназна активність симбіотичного апарату сої зросла в 5,4 рази, питома – в 3,5 рази. Інтенсивна фіксація азоту симбіозом варіанту № 4 забезпечила активне накопичення рослинами вегетативної маси порівняно до інших варіантів досліду, яка на 32 і 9% перевищувала показники а. к. і штам-контролю відповідно (табл.).

У фазу активного утворення бобів рослини варіантів із інтродукцією на насіння бактерій родів *Azotobacter* і *Enterobacter* мали достатньо високий рівень функціональної активності симбіозів: в 1,9-2,4 рази (№ 3) та в 1,3-2,0 рази (№ 4) вище за активність симбіозу варіанту № 2. Отже, передпосівна бактеризація насіння сої композицією ризобії + ентеробактер максимальну ефективність проявила під час бутонізації-початку цвітіння рослин, ризобії + азотобактер – у фазу активного утворення бобів.

Висновки

Переваги інтродукції ризобактерій родів *Azotobacter* і *Enterobacter* на насіння сої у складі комплексних інокулянтів з ризобіями порівняно до бактеризації *B. japonicum* 634б проявлялися у утворенні корневих бульбочок із високою функціональною здатністю до фіксації молекулярного азоту та активному формуванні рослинами вегетативної маси, особливо у першу половину вегетації сої за рахунок як мікробних метаболітів рістрегуляторної дії, так і підвищеного за азотом режиму живлення рослин.

1. Антипчук А.Ф. Практикум з мікробіології. Навчальний посібник / Антипчук А.Ф., Піляшенко-Новохатній А.І., Євдокименко Т.М. — К.: Університет «Україна», 2011. — 156 с.
2. Биологическая фиксация азота. Бобово-ризобияльный симбиоз / [Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. и др.]. — Т. 1. — К.: Логос, 2010. — 506 с.
3. Биорегуляция микробно-растительных систем / [Иутинская Г.А., Пономаренко С.П., Андреюк Е.И. и др.]. — К.: Ничлава, 2010. — 464 с.
4. Влияние штаммов *Bacillus subtilis* на продуктивность растений гороха при автономной и совместной инокуляции со штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 1078 / [Иванчина Н.В., Гарипова С.Р., Шавалеева Д.В. и др.] // Агрохимия. — 2008. — № 10. — С. 34—39.
5. Волобуева О.Г. Изменение содержания эндогенного уровня фитогормонов бобовых растений под влиянием ризобий и ризобактерий и эффективность симбиоза / Волобуева О.Г., Скоробогатова И.В., Мирошникова М.П. // Доклады ТСХА. — 2009. — № 281. — С. 165—167.
6. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов / [Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И.] // Прикл. биохимия и микробиология. — 2006. — Т. 42, № 3. — С. 261—268.
7. Кириченко Е.В. Биотехнологии в растениеводстве / Е.В. Кириченко. — Николаев: Илион, 2014. — 436 с.
8. Кириченко О.В. Морфолого-культуральні і фізіолого-біохімічні властивості ізолятів ризосферних діазотрофів пшениці / Кириченко О.В., Жемойда А.В., Капралова Ю.О. // XII з'їзд ТМУ, 24-30 травня 2009 р., Ужгород: Патент, 2009. — С. 378.
9. Микроорганизмы – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение / [Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И.] // Прикл. биохимия и микробиология. — 2006. — Т. 42, № 2. — С. 133—143.
10. Мікробні препарати у землеробстві : теорія і практика / [Волкогон В.В., Надкернична О.В., Ковалевська Т.М. та ін.]. — К.: Аграрна наука, 2006. — 312 с.
11. Патент України № 62820А6 МПК7 C05F11/08, C12N1/20, Штам бактерій *Azotobacter chroococcum* T79 для одержання бактеріального добрива під сою / Коць С.Я., Титова Л.В., Кириченко О.В. та ін. — Заявл. 19.06.2003, опубл. 15.12.2003. — Бюл. № 12.
12. Продуктування фітогормонів деякими вільно існуючими та симбіотичними ґрунтовими мікроорганізмами / [Драговоз І.В., Леонова Н.О., Білявська Л.О. та ін.] // Доповіді НАН України. — 2010. — № 12. — С. 154—159.

13. Hardy R.W.F. Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation / Hardy R.W.F., Burns R.C., Holsten R.D. // Soil. Biol. Biochem. — 1973. — V. 5, N 1. — P. 41—83.
14. Influence of rhizobium and free-living nitrogen-fixing bacteria on nitrogen assimilation enzymes of soybean plants / [Kuprava N., Betsiashvili M., Dzamukashvili N., Sadunishvili T.] // Bull. Georg. Acad. Sci. — 2006. — V. 173, N 2. — P. 348—351.
15. Nogueira S.V., de Souza F., Martinez C.R. et al. Estipes de *Paenibacillus* promotoras de nodulacao especifica na simbiose *Bradyrhizobium* – caupi / Acta Sci. Agron. — 2007. — V. 29, N 3. — P. 331—338.

Е. В. Кириченко

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СОЕВО-РИЗОБИАЛЬНЫХ СИМБИОЗОВ ПРИ ИНТРОДУКЦИИ РИЗОБАКТЕРИЙ НА СЕМЕНА

В вегетационных условиях исследовали нитрогеназную активность корневых клубеньков сои на протяжении вегетации растений при комплексной бактеризации семян композициями специфичных растению-хозяину ризобий и diaзотрофов родов *Azotobacter* и *Enterobacter*. Выявлены преимущества в эффективности действия комплексной инокуляции относительно функциональной способности корневых клубеньков и формирования вегетативной массы растениями по сравнению с традиционной бактеризацией семян ризобиями.

Ключевые слова: соя, клубеньковые бактерии, азотобактер, энтеробактер, комплексная бактеризация, нитрогеназная активность

О. V. Kyrychenko

Institute of Plant Physiology and Genetics NAS of Ukraine

FEATURES OF SOYBEAN-RHIZOBIUM SYMBIOSES FUNCTIONING AT THE INTRODUCTION OF RHIZOBACTERIUM ON SEED

The soybean root nodule nitrogen fixing activity during of plants vegetation at the seed complex bacterization of the compositions based of specific for host-plant rhizobium and diazotrophic bacteria of *Azotobacter* and *Enterobacter* was investigated in the greenhouse experiment. It was shown the advantages on the effect of complex inoculations in relation to the root nodules functional ability and forming of vegetative mass plants as compared to traditional rhizobium seed bacterization.

Keywords: soybean, nodule bacteria, azotobacter, enterobacter, complex bacterization, nitrogen fixing activity

Рекомендує до друку

Надійшла 24.04.2014

С.В. Пида

УДК 579.64:632.937.3

А.М. КЛИМЕНКО, Я.В. ЧАБАНЮК

Институт агроекології і природокористування НААН України
вул. Метрологічна, 12, Київ, 03143

ВИКОРИСТАННЯ ДІАЗОТРОФІВ У СИСТЕМІ ПІДГОТОВКИ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ

Проаналізовано деякі особливості штаму *Paenibacillus polumуха* 6М і можливості його сумісного використання з іншими мікробними препаратами та хімічними засобами захисту рослин для передпосівної підготовки насіння. Штам *P. polumуха* 6М поряд з вираженими антифунгальними властивостями демонструє достатньо високий рівень активності засвоєння молекулярного азоту та нерозчинних фосфорних сполук завдяки здатності штаму утворювати спори високий титр культури зберігався до 3 місяців на поверхні інокульованого насіння ячменю.

Показано можливість використання *Paenibacillus polymyxa* бМ у складі полікомпонентних мікробних препаратів завдяки відсутності бактерицидної або бактеріостатичної дії щодо виробничих штамів азотфіксуючих і фосформобілізуєчих бактерій.

Встановлено, що використання суспензій біопрепарату з імідаклопридом та тіаметоксамом не призводить до втрати життєдіяльності клітин біологічного агенту у поєднанні з тебуконазолом суміш, окрім більш ефективного захисту від корневих гнилей, виявляє рїстрегулюючі властивості.

Ключові слова: діазотроф, асоціативна азотфіксація, спорові бактерії, ризоплана, *Paenibacillus polymyxa* бМ, біополіцид, хїмічний протруйник

Біологічна азотфіксація є найбільш яскравим і добре вивченим прикладом використання мікробно-рослинної взаємодії; її значення навряд чи можна переоцінити. Грунтова мікрофлора має великий потенціал для забезпечення небобових рослин доступним азотом. Переваги біологічного азоту порівняно з азотом мінеральних добрив загальновідомі. Вагомий внесок у накопичення біологічного азоту в ґрунті забезпечують діазотрофи, які розвиваються в ризосфері рослин. Ці мікроорганізми покращують азотне живлення рослин, сприяють нагромадженню в ризосфері фізіологічно активних речовин, стійкості рослин до збудників хвороб, зокрема, корневих гнилей. Рослини, у свою чергу, стимулюють їх діяльність та визначають добову і сезонну динаміку азотфіксації за рахунок фотосинтетатів, корневих ексудатів.

Матеріал і методи досліджень

На сьогодні виявлено більше 200 видів бактерій, що мають різний рівень активності несимбіотичної азотфіксації. Найбільш поширені азотофіксуючі бактерії, що живуть в ризосфері, ризоплані і гітосфері та належать до родів: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* та інші. Анаеробні гетеротрофи представлені видами роду *Clostridium*. Ці мікроорганізми, розвиваючись на коренях злакових рослин і в кореневій зоні, можуть засвоювати з повітря значну кількість азоту і таким чином підвищувати урожай зерна і зеленої маси.

Результати досліджень та їх обговорення

Різноманїтність природних форм ґрунтових мікроорганїзмів дозволяє відібрати з них ті, що мають комплекс агрономїчно корисних властивостей. Як правило, виділені штами мікроорганїзмів мають домінуючу функцію і відбираються за цією ознакою [3]. З азотофіксуючих консорціумів ризосфери гороху виділено штаму *Paenibacillus polymyxa* бМ, який поряд з вираженими антифунгальними властивостями демонстрував достатньо високий рівень активності засвоєння молекулярного азоту [5]. Крім азотфіксації, виділений штаму здатен до засвоєння нерозчинних фосфорних сполук і трансформації їх у доступну рослинам та іншим мікроорганїзмам форму.

Найбільшу активність штаму *P. polymyxa* бМ проявляє в ґрунті від 0 до 1,5 мм від кореневої поверхні. У ризоплані та едафосфері його кількість у 2–5 разів менше, ніж у безпосередньо прилеглому до коренів ґрунті. Розподїлення його в інших шарах ризосферного ґрунту майже рівномірне, тільки на відстані 6–7,5 мм за рахунок поживних речовин ґрунту може спостерїгатися деяка активізація штаму [5]. Така просторова локалізація забезпечує ефективну взаємодію бактерій з рослиною та більшу стійкість до несприятливих умов навколишнього середовища. Успїшна інтродукція діазотрофу в кореневу зону рослин досягається за рахунок великої швидкості росту, а також антагонїзму щодо фітопатогенних мікромїцетів.

Ефективність застосування мікробних препаратів у великій мїрі залежить від кількості життєздатних клітин мікроорганїзмів, які збереглися на поверхні насіння до потрапляння в ґрунт. Завдяки здатності утворювати спори штаму *P. polymyxa* бМ є стїким до дії зовнішніх чинників при зберїганні насіння. Дослідження динаміки титру діазофіту на поверхні насіння ячменю і пшениці показало, що після різкого зниження чисельності спор штаму в перші 3 години до $3 \cdot 10^3$ КУО/насїнину титру упродовж 12 годин до 3 мїсяців зберїгання стабілізувався на рівні $0,8\text{--}1,1 \cdot 10^3$ спор на 1 насїнині (рисунок) [2].

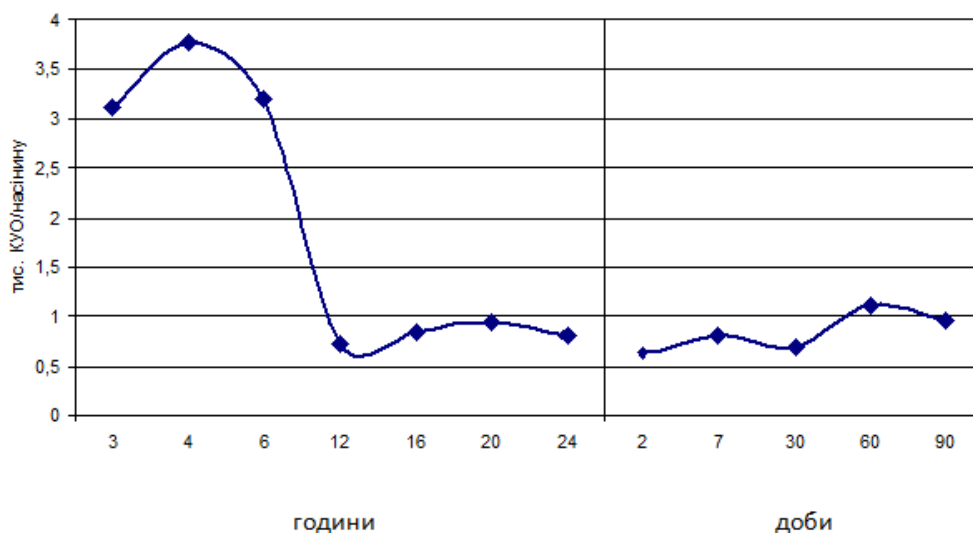


Рис. Динаміка чисельності *P. polymyxa* 6М на поверхні насіння ярого ячменю при моноінокуляції

Вище наведене обумовлює доцільність використання поліфункціональних штамів діазотрофів у системі підготовки посівного матеріалу, адже на сьогодні протруєння насіння сільськогосподарських культур є обов'язковим агрозаходом, що забезпечує захист проростків і сходів від хвороб та шкідників. У зв'язку з цим, в останні роки створено низку екологічно безпечних препаратів, застосування яких дозволяє регулювати чисельність та активність корисних мікроорганізмів у ризосфері рослин, підвищувати коефіцієнт засвоєння поживних речовин ґрунту та забезпечувати сільськогосподарські культури доступним азотом і за рахунок цього збільшувати продуктивність агроценозів та якість сільськогосподарської продукції. Серед них в Україні широко застосовуються такі, як Азотобактерин, Біоплант-К, Діазофіт, Діазобактерин, Клепс, Ризоентерин, Флавобактерин.

На сьогодні у сільськогосподарському виробництві застосовуються, як правило, монофункціональні препарати, які мають труднощі інтродукції їх до ґрунту. Тому дослідження сумісності основних компонентів поліфункціональних препаратів, вивчення параметрів, що забезпечують їх високу технологічність, можливість інтродукції в кореневу зону рослин, поєднання з хімічними протруйниками та добривами, вплив на біологічні властивості ґрунту та ріст і розвиток рослин, дозволить забезпечити ефективне функціонування рослинно-мікробних систем.

Важливою особливістю досліджуваного штаму діазотрофу є відсутність бактерицидної або бактериостатичної дії щодо виробничих штамів азотфіксуєючих і фосформобілізуєючих бактерій – біоагентів різних препаратів для поліпшення кореневого живлення рослин. Результати експериментів Шерстобоевої О.В. свідчать про те, що *P. Polymyxa* 6М не інгібує ріст симбіотичних азотфіксуєючих бактерій родів *Rhizobium* і *Bradyrhizobium*, які утворюють бульбочки на коренях бобових культур (препарат ризобофіт); діазотрофів: агробактерій, ентеробактерій і азотобактеру (ризозагрин, ризоентерин і азотобактерин); не заважають функціонуванню фосформобілізуєючих штамів бактерій *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 і *Agrobacterium radiobacter* 10 (препарати ФМБ 32-3 і агрофіл) [4].

Нами підібрано поліфункціональний комплекс біопрепаратів КБП-1 для допосівної обробки насіння ярого ячменю, до складу комплексу якого увійшли штаму *Agrobacterium radiobacter* 204, *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 та *Paenibacillus polymyxa* 6М. Встановлено, що обробка насіння ячменю ярого КБП-1 збільшує термін збереження життєздатності клітин кожного компоненту на поверхні інокульованого насіння на 2-3 години. Це можна пояснити захисною дією шорсткої пористої структури поверхні насіння ячменю ярого та в'язкого полісахаридного слизу *P. polymyxa* 6М, завдяки якому зменшується втрата вологи та забезпечується утримання клітин на

поверхні насіння. Слід відзначити, що при інокуляції *P. polymyxa* бМ в складі КБП-1 в перші три години титр знижувався до $1,3 \cdot 10^3$ КУО/насінину і практично не змінювався до кінця експерименту [1].

Повністю вирішити проблему якісної підготовки посівного матеріалу використанням тільки біопрепаратів неможливо. Перспективними використання комплексів хімічних протруйників з біологічними інокулянтами, що забезпечують більш точну і економічну обробку насіння сільськогосподарських культур. Але недостатня вивченість впливу протруйників на ефективність мікробних препаратів є стримуючим чинником для ефективного їх використання в сільськогосподарському виробництві.

Наші дослідження спрямовані на підбір комплексів біопрепаратів, які б у своєму складі містили хімічні протруйники. Виходячи з цього, було перевірено вплив деяких інсектицидних речовин на біопрепарат. Встановлено, що імідаклопрід та тіаметоксам не призводять до втрати життєдіяльності клітин досліджуваного штаму або їх корисних функцій.

Нами було перевірено вплив тебуконазолу – хімічного фунгіциду, що часто використовується для боротьби з корневими гнилями, на біопрепарат та встановлено його нейтральний вплив на клітини досліджуваного штаму. При цьому кожен препарат в розчині діяв повноцінно, знищуючи чутливу до препаратів інфекцію, виявляв рістрегулюючі властивості, сприяв покращеному формуванню кореневої системи та збільшенню маси рослин.

Висновки

Вивчення особливостей штаму *Paenibacillus polymyxa* бМ, що, поряд з вираженими антифунгальними властивостями, має достатньо високий рівень активності засвоєння молекулярного азоту та нерозчинних фосфорних сполук, вказує на можливість використання його у практиці сільськогосподарства у комплексі з іншими біологічними та хімічними компонентами.

1. Утримання мікроорганізмів-агентів поліфункціональних комплексів біопрепаратів на поверхні насіння / [Я. В. Чабанюк, А. М. Клименко, Р. І. Дзюба та ін.] // Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України: електрон. наук. фах. вид. — 2013. — № 42.
2. Чабанюк Я.В. Формування та активність мікробного угруповання ризосфери злакових культур за дії комплексу мікробних препаратів та органо-мінеральних добрив: дис. канд с.-г. наук: 03.00.07 / Ярослав Васильович Чабанюк. — К. — 2006. — 134 с.
3. Шерстобоева Е.В. Современные микробные препараты для сельского хозяйства / Е.В. Шерстобоева // Оптимізація структури агроландшафтів і раціональне використання ґрунтових ресурсів: наук.-практ. конф., 4–7 липня 2000 р.: тези доп. — К., 2000. — С. 92–94.
4. Шерстобоева О.В. Азотфіксуючі штами *Vacillus polymyxa* як основа препарату для захисту рослин від грибних хвороб / О.В. Шерстобоева // Агроекологічний журнал. — 2001. — № 2. — С. 55–58.
5. Шерстобоева О.В. Оптимізація структури мікробних угруповань кореневої зони озимої пшениці: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра с.-г. наук: 03.00.16. «Екологія» / О.В. Шерстобоева. — Київ, 2004. — 38 с.

А.Н. Клименко, Я.В. Чабанюк

Институт агроэкологии и природопользования НААН Украины

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИАЗОТРОФОВ В СИСТЕМЕ ПОДГОТОВКИ ПОСЕВНОГО МАТЕРИАЛА

Проанализированы некоторые особенности штамма *Paenibacillus polymyxa* бМ и возможности его совместного использования с другими микробными препаратами и химическими средствами защиты растений для предпосевной подготовки семян. Штамм *P. polymyxa* бМ наряду с выраженными антифунгальными свойствами демонстрирует достаточно высокий уровень активности усвоения молекулярного азота и нерастворимых фосфорных соединений. Благодаря способности штамма образовывать споры титр культуры сохранялся на уровне $0,8-1,1 \cdot 10^3$ спор на 1 на семени на протяжении до 3 месяцев хранения инокулированного зерна ячменя.

Установлена возможность использования *Paenibacillus polymyxa* бМ в составе поликомпонентных микробных препаратов благодаря отсутствию бактерицидного или бактериостатического действия в отношении производственных штаммов азотфиксирующих и фосфатмобилизирующих бактерий. Присутствие *P. polymyxa* бМ в комплексе КБП-1 увеличивает

срок сохранения жизнедеятельности клеток каждого компонента на поверхности инокулированных семян на 2–3 часа, так как вязкая полисахаридная слизь diazотрофа уменьшает потерю влаги и обеспечивает удержание клеток на поверхности семян.

Установлено, что использование суспензий биопрепарата с имидаклопридом и тиаметоксамом не приводит к потере жизнедеятельности клеток биологического агента. А в сочетании с тебуконазолом смесь, кроме более эффективной защиты от корневых гнилей, проявляет рострегулирующие свойства.

Ключевые слова: diazотроф, ассоциативная азотфиксация, споровые бактерии, ризоплана, *Paenibacillus polymyxa* 6M, биополицид, химический протравитель

A. Klimenko, Y. Chabanyuk

Institute of Agroecology and Environmental Management NAAS, Ukraine

THE USE OF DIAZOTROPH IN THE SYSTEM OF SEED PREPARATION

Some of the features of the strain *Paenibacillus polymyxa* 6M and the possibility of compatibility with other microbial agents and plant protection chemicals for seed preparation was analyzed. Strain of *P. polymyxa* 6M demonstrates a high enough level of activity assimilation of molecular nitrogen and insoluble phosphorus compounds alongside with pronounced antifungal properties. Strain is able to form spores so titer culture remains at 0,8–1,1 • 10³ spores per 1 seed for up to 3 months of storage inoculated barley grain.

The possibility of using *Paenibacillus polymyxa* 6M as part of multicomponent microbial products was found because of the absence of bactericidal or bacteriostatic action against industrial strains of nitrogen-fixing bacteria and phosphate-fixing.

The presence of *P. polymyxa* 6M in CBP-1 increases the retention period of cell activity of each component on the surface of the inoculated seeds for 2–3 hours, because the viscous polysaccharide slime of diazotroph reduces moisture loss and ensures retention of cells on the surface of seeds.

It was found that the use of suspensions of biopreparation with imidacloprid and thiamethoxam does not lead to a loss of cellular activity of a biological agent. In combined with a mixture of tebuconazole besides a more effective protection against root rots exhibits a growth-regulatory properties.

Keywords: diazotroph, associative nitrogen fixation, spore-forming bacteria, rhizoplane, *Paenibacillus polymyxa* 6M, biopolisid, plant protection chemicals

Рекомендує до друку
В.В. Волкогон

Надійшла 18.04.2014

УДК 579.64:631.559:631.847.21:631.89:635.62

С. Ф. КОЗАР, О. В. ФІРСОВСЬКИЙ, В. М. НЕСТЕРЕНКО

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України
вул. Шевченка, 97, Чернігів, 14027

ВПЛИВ ОРГАНІЧНОГО ДОБРИВА, ЗБАГАЧЕНОГО БАКТЕРІЯМИ РОДУ AZOTOBACTER, НА РОЗВИТОК РОСЛИН КАБАЧКА

Представлено результати досліджень впливу органічного добрива Біопроферм, збагаченого азотобактером, на розвиток рослин кабачка сорту Грибовський 37. Встановлено, що використання дози 400 кг/га Біопроферма з азотобактером сприяє підвищенню потенційної азотфіксувальної активності в ґрунті, покращенню розвитку асиміляційного апарату рослин порівняно з контрольним варіантом.

Ключові слова: органічне добриво, азотобактер, кабачок, бактеризація, асиміляційний апарат, потенційна азотфіксувальна активність

У зв'язку із загальним погіршенням екологічної ситуації в сільськогосподарському виробництві в низці країн світу активно розробляють і освоюють різноманітні альтернативні методи землеробства [5]. До таких методів виробництва належить і органічне землеробство, що передбачає освоєння методів виробництва сільськогосподарської продукції, які значною мірою обмежують використання мінеральних добрив, пестицидів, стимуляторів росту синтетичного походження. Важливо відмітити, що таке землеробство базується на використанні вторинної продукції рослинництва, гною та компостів з метою підвищення родючості та поліпшення структури ґрунту, забезпечення повноцінного живлення рослин.

Для підвищення врожайності сільськогосподарських культур широко використовують різноманітні хімічні добрива. Однак вони достатньо дорогі і, до того ж, нераціональне їх застосування може призвести до погіршення стану ґрунтів. Альтернативою хімічним добривам може бути використання органічних (гній, компости, комплексні органічні добрива), що сприяють підвищенню врожайності сільськогосподарських культур, зниженню в продукції вмісту нітратів, пестицидів та інших речовин, шкідливих для організму людини [4]. Проте недоліком таких добрив є необхідність їх внесення в ґрунт у великих кількостях (декілька тон на гектар). Зменшити кількість внесення органічних добрив при вирощуванні сільськогосподарських культур можна шляхом їх збагачення ґрунтовими мікроорганізмами. Корисними властивостями при взаємодії з рослиною характеризуються представники багатьох родів мікроорганізмів, серед них можна виділити бактерії роду *Azotobacter*, позитивна дія яких пов'язана з фіксацією азоту, синтезом вітамінів і фітогормонів.

Отже покращенням якості вирощуваної продукції є використання в технологіях її виробництва корисних ґрунтових мікроорганізмів [2]. Позитивна дія мікроорганізмів на рослини пов'язана з фіксацією азоту, синтезом ними вітамінів і фітогормонів, завдяки яким підвищується схожість насіння, подовжується період вегетації і плодоношення рослин, а також збільшується вміст у плодах вітамінів, цукрів, органічних кислот тощо [6]. Сумісне використання корисних мікроорганізмів із органічними добривами дозволить суттєво зменшити кількість внесення таких добрив без погіршення ефективності їх використання.

Виходячи із зазначеного, метою роботи була перевірка ефективності органічного добрива Біоферм, збагаченого бактеріями роду *Azotobacter*, на ріст і розвиток рослин кабачка.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами досліджень були: консорціум штамів бактерій *Azotobacter chroococcum* і *Azotobacter vinelandii* [1] (отриманий з Колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН), насіння кабачка сорту Грибовський 37, органічне добриво «Біоферм», що є біоферментованою сумішшю органічних речовин (ТУ У 24.1-36933042-001:2010).

Польові досліді було закладено в умовах ґрунтово-кліматичної зони Полісся на лучно-чорноземному вилугованому легкосуглинковому ґрунті і передбачено такі варіанти: 1) контроль (обробка водою); 2) передпосівна обробка консорціумом *A. chroococcum* і *A. vinelandii*; 3) внесення органічного добрива Біоферм (4 т/га); 4) внесення органічного добрива Біоферм (0,4 т/га); внесення органічного добрива Біоферм (0,4 т/га) з консорціумом *A. chroococcum* і *A. vinelandii*.

Досліджуване органічне добриво як в нативному вигляді, так і з культурою азотобактера, вносили в ґрунт локально безпосередньо перед висівом насіння кабачка згідно рекомендацій. Обробку насіння і органічного субстрату культурою мікроорганізмів проводили в день закладання досліді. Розміщення ділянок у досліді рендомізоване. Повторність варіантів чотириразова. Площа облікової ділянки становила 10 м². Агротехнічні заходи при вирощуванні кабачка проводили згідно загальноприйнятих вимог для зони Полісся [3].

Результати досліджень та їх обговорення

Відмічено суттєвий вплив органічного добрива, збагаченого азотобактером, на потенційну азотфіксувальну активність (ПАА) ризосферного ґрунту рослин кабачка у всіх фазах їх розвитку (рис. 1).

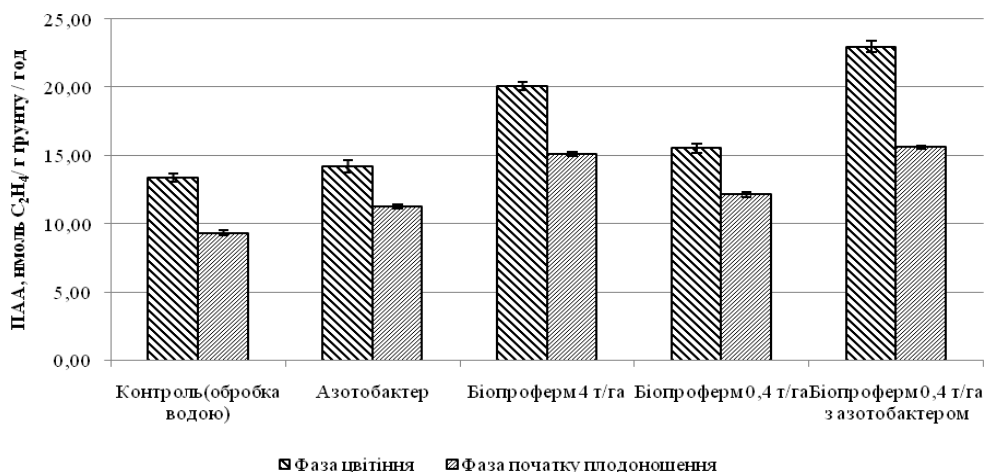


Рис. 1. Вплив удобрення на ПАА в ґрунті рослин кабачка

Так, у фазі цвітіння найвищий показник азотфіксації – 23,0 нмоль С₂Н₄/ г ґрунту / годину спостерігався у ризосфері рослин, удобрених Біопрофермом із азотобактером, що на 71 % вище порівняно з контрольним варіантом. Використання 4 т/га органічного добрива сприяло підвищенню показника ПАА у ґрунті порівняно з контролем на 50 % і складало 20,1 нмоль С₂Н₄/ г ґрунту / годину. Передпосівне удобрення кабачка бактеріями роду *Azotobacter* сприяло підвищенню досліджуваного показника на 6 %.

Аналогічну закономірність спостерігали й у фазі початку плодоношення: за використання добрива, збагаченого азотобактером, ПАА зроста на 67% щодо контролю і на 5% і 46% – порівняно з варіантами, в яких використовували, відповідно, тільки органічне добриво і обробку азотобактером.

У результаті проведених досліджень встановлено позитивний вплив органічного добрива, збагаченого азотобактером, на вміст хлорофілу в листках рослин кабачка (рис. 2). Так, вміст хлорофілу *a* у рослин цього варіанту перевищував контроль на 14%, хлорофілу *b* – на 15%, а сума хлорофілів (*a+b*) – на 14%, що вище, ніж у рослин, удобрених органічним добривом у дозі 4 т/га, на 8%, 37% і 16% відповідно. Обробка культурою бактерій роду *Azotobacter* сприяла підвищенню вмісту хлорофілу *a* на 6%, хлорофілу *b* на 3% і, як результат, суми хлорофілів (*a+b*) на 5% порівняно з контрольним варіантом.

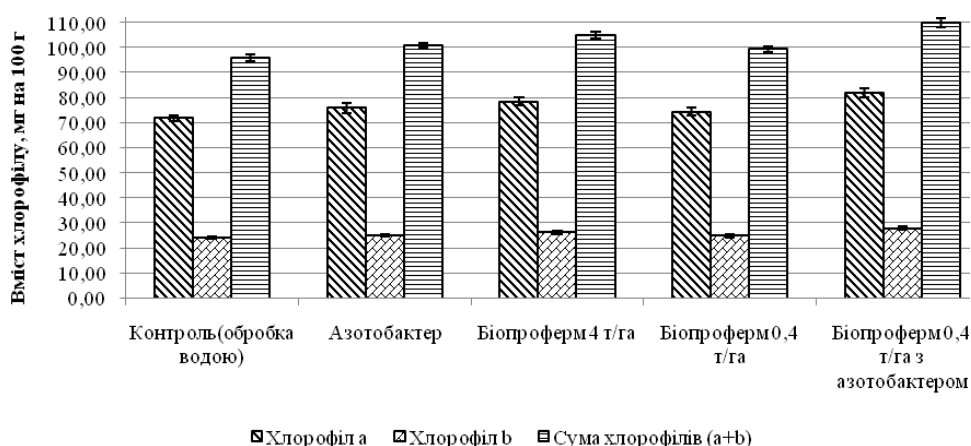


Рис. 2. Вплив удобрення на вміст хлорофілів у листках рослин кабачка

Як показали проведені дослідження, при внесенні в ґрунт органічного добрива Біопроферм із азотобактером покращився ріст і розвиток рослин. Так, маса надземної частини кабачка за таких умов перевищила контроль на 61%, тоді як у варіанті з внесенням лише органічного добрива в кількості 4 т/га і 0,4 т/га цей показник зріс на 8% і 48% відповідно, а у варіанті з обробкою азотобактером – на 43%.

За вивчення впливу удобрення на утворення зав'язей встановлено, що кількість плодів кабачка на рослинах упродовж усього періоду їх плодоношення за використання Біопрoferму, інокульованого бактеріями роду *Azotobacter*, збільшилася на 58% порівняно з контрольним варіантом і перевищила цей показник у рослин, удобрених 4 т/га і 0,4 т/га органічного добрива, на 11% та 39% відповідно.

При внесенні в ґрунт органічного добрива Біопрoferм із азотобактером покращився розвиток асиміляційного апарату рослин кабачка, оскільки в даному варіанті кількість листків на рослину перевищила контроль на 13%, тоді як за внесення лише органічного добрива в кількості 4 т/га і 0,4 т/га досліджуваний показник збільшився, відповідно, на 2% і 10%, а у варіанті з обробкою азотобактером – на 8%.

У результаті вивчення впливу удобрення на формування асиміляційного апарату рослин встановлено, що загальна площа асиміляційної поверхні листків рослин кабачка за використання Біопрoferму, інокульованого консорціумом азотобактера, збільшилася на 89% порівняно з контрольним варіантом і перевищила цей показник у рослин, удобрених органічним добривом (4 т/га), на 24%.

Закономірним є те, що саме в варіанті з використанням збагаченого біодобрива було отримано найвищий приріст урожаю. Так, згідно отриманих даних, урожайність кабачка сорту Грибовський 37 у контрольному варіанті становила 28,6 т/га. За внесення органічного добрива в ґрунт було отримано прибавку врожайності кабачка 10,7 т/га, що на 34% перевищувало контроль. У варіанті з використанням Біопрoferму, збагаченого азотобактером, урожайність цієї сільськогосподарської культури становила 39,7 т/га, що на 39% перевищувало досліджуваний показник у контрольному варіанті.

Висновки

Виходячи з отриманих результатів досліджень, доцільним є використання органічного добрива, збагаченого бактеріями роду *Azotobacter*, у технологіях вирощування кабачка, оскільки це сприяє зменшенню затрат на добрива, збагаченню ґрунтів корисними мікроорганізмами і підвищенню їх родючості.

1. А. с. 1476831 СССР, МКИ⁴ С 05 F11/08. Консорциум штаммов бактерий *Azotobacter chroococcum* и *Azotobacter vinelandii* для производства бактериальных удобрений под кормовую свеклу и капусту / Ю. М. Мочалов, В. И. Канивец.; заявитель Укр. науч.-исслед. ин-т микробиол. — № 4086625 / 30-13 ; заявл. 02.07.86 ; опубл. 03.01.1989.
2. Волкогон В. В. Мікробіологічні аспекти оптимізації азотного удобрення сільськогосподарських культур / В. В. Волкогон. — К.: Аграрна наука, 2007. — 144 с.
3. Наукові основи агропромислового виробництва в зоні Полісся України / [редкол.: М. В. Зубець (голова редакційної колегії) та ін.]. — К.: Аграрна наука, 2010. — 980 с.
4. Орлова О. В. Повышение плодородия почв при активизации почвенной микрофлоры, регулируемой биоудобрениями / О. В. Орлова // Сельскохозяйственная биология. — 2011. — № 3. — С. 94—97.
5. Танчик С. П. Проблеми екологічних систем землеробства в Лісостепу України / С. П. Танчик, А.І. Бабенко // Вісник аграрної науки. — 2007. — № 7. — С. 14—18.
6. Церковняк Л. С. Образование биологически активных соединений индольной природы бактериями рода *Azotobacter* / Л. С. Церковняк, З. Т. Бега, А. Н. Остапчук [и др.] // Укр. біохім. журн. — 2009, Т. 81, № 3. — С. 122—128.

С. Ф. Козар, А. В. Фирсовский, В. Н. Нестеренко

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН Украины

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКОГО УДОБРЕНИЯ, ОБОГАЩЁННОГО БАКТЕРИЯМИ РОДА *AZOTOBACTER*, НА РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ КАБАЧКА

Представлены результаты исследований влияния органического удобрения Биопрoferм, обогащённого азотобактером, на развитие растений кабачка сорта Грибовский 37. Нами отмечено существенное влияние такого удобрения на потенциальную азотфиксирующую активность ризосферной почвы растений кабачка в фазах цветения и начала плодоношения. Установлено положительное влияние органического удобрения с азотобактером на содержание хлорофиллов в листьях кабачка. При изучении влияния удобрения на образование завязей обнаружено, что повысилось количество плодов кабачка на растениях на протяжении всего периода их плодоношения при использовании Биопрoferма, инокулированного бактериями рода *Azotobacter*. При внесении в почву Биопрoferма с азотобактером улучшилось развитие ассимиляционного аппарата растений кабачка, поскольку в данном варианте возросло количество листьев и их общая

площадь. Закономерным является то, что именно в варианте с использованием удобрения, обогащённого полезными почвенными бактериями, был получен наивысший прирост урожая. В варианте с использованием Биопроферма с добавлением азотобактера урожайность данной сельскохозяйственной культуры составляла 39,7 т/га, что на 39 % превышало исследуемый показатель в контрольном варианте.

Ключевые слова: органическое удобрение, азотобактер, кабачок, бактеризация, ассимилирующий аппарат, потенциальная азотфиксирующая активность

S.F. Kozar, O.V. Firsovskiy, V.M. Nesterenko

Institute of Agricultural Microbiology and Agro-Industrial Manufacture NAAS, Ukraine

THE INFLUENCE OF ORGANIC FERTILIZER ENRICHED WITH AZOTOBACTER, ON THE DEVELOPMENT OF MARROW SQUASH PLANTS

The results of effect studies of the organic fertilizer Bioproferm enriched with Azotobacter on the development of marrow squash plants sort Grybovskiy 37 are presented. We have noted a significant impact of such fertilizer on the potential nitrogen-fixing activity of the rhizosphere soil of marrow squash plants in the flowering phase and the beginning of fruiting. The positive effect of organic fertilizer with Azotobacter on the chlorophyll content in leaves of marrow squash has been set. In studying of the fertilization effect on the formation of ovaries it has been found that the amount of fruits on marrow squash plants increased throughout the period of their fruiting using Bioproferm inoculated with bacteria of Azotobacter. Due to fertilizing by Bioproferm with Azotobacter the development of the marrow squash plants assimilation apparatus has improved, as in this variant the number of leaves and their total area has increased. Logical is that in the variant with fertilizer enriched with helpful soil bacteria the highest increase in yield has been obtained. In the variant with Bioproferm and Azotobacter current crop yield was 39,7 t/ha, which is 39 % higher than the studied parameter in the control variant.

Keywords: organic fertilizer, Azotobacter, marrow squash, bacterization, assimilation apparatus, the potential nitrogen-fixing activity

Рекомендує до друку

Надійшла 29.04.2014

О.В. Шерстобоева

УДК 635.655, 631.847.21, 631.461.5

М.С. КОМОК, В.В. ВОЛКОГОН, С.Б. ДІМОВА

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України
вул. Шевченка, 97, Чернігів, 14027

ВПЛИВ ФІТОГОРМОНАЛЬНОГО НАВАНТАЖЕННЯ НА АКТИВНІСТЬ СИМБІОТИЧНОЇ ВЗАЄМОДІЇ ТА АЗОТНИЙ ОБМІН РОСЛИН СОЇ

Досліджено вплив біопрепаратів, що містили крім бульбочкових бактерій різні кількості фітогормонів, на формування й активність соєво-ризобіального симбіозу та азотний обмін рослин сої сортів Устя та Аннушка. При тестуванні встановлено, що препарати з вмістом ауксинів у межах від 2,55 мкг / г до 9,39 мкг / г і цитокінінів – від 0,61 мкг / г до 2,01 мкг / г забезпечили достовірний приріст кількості бульбочок, їх нітрогеназної активності та вмісту водорозчинного білка відносно показників варіанту з використанням бактеріальної суспензії.

Ключові слова: ауксини, цитокініни, соя, нітрогеназна активність, бульбочкові бактерії

Основним прийомом активізації бобово – ризобіального симбіозу є застосування мікробних препаратів, що містять активні штами бульбочкових бактерій. При цьому можливим є підвищення ефективності інокуляції за оптимального забезпечення процесу фізіологічно активними речовинами (ФАР). Проте, в літературі є повідомлення, які свідчать, що сумісне застосування регуляторів росту рослин з мікробними препаратами може не забезпечити синергічної взаємодії або навіть викликати інгібування формування симбіозу [5]. Тому, для розробки ефективних мікробних препаратів комплексної дії важливим питанням є визначення оптимального фітогормонального навантаження на ювенільні проростки рослин, що і було метою цієї роботи.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами досліджень були рослини сої сортів Устя та Аннушка, бульбочкові бактерії сої *Bradyrhizobium japonicum* М 8 [6]. У досліді використовували торф'яний препарат, що містив, крім зазначених бактерій, різні кількості фітогормонів.

Вміст індолілоцтової (ІОК) та цитокінінів у біопрепаратах визначали за описаними методиками твердофазного імуоферментного аналізу [1, 4]. Вплив різних доз ФАР на формування та ефективність бобово-ризобіального симбіозу вивчали в умовах вегетаційних дослідів. Інокуляцію насіння проводили експериментальними препаратами, до складу яких, додатково до бактеріального компоненту, входила водна витяжка біогумусу з різним вмістом фітогормонів (ауксини в межах від 0,55 мкг / г до 18,52 мкг / г препарату, і цитокініни (зеатин + зеатинрибозид) – від 0,20 мкг / г до 3,88 мкг / г препарату). Контролями були варіанти з обробкою насіння водою та інокуляцією суспензією *B. japonicum* М 8.

Вивчення активності симбіотичної азотфіксації проводили методом редукції ацетилену на газовому хроматографі Chrom-4 [7]. Активність глутамінсинтетази та вміст білка визначали спектрофотометричними методами [2, 3].

Результати досліджень та їх обговорення

Визначення симбіотичних показників сої сортів Устя та Аннушка свідчить про позитивну дію експериментальних партій препаратів (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив експериментальних партій біопрепарату на формування та активність соєво-ризобіального симбіозу

Варіант досліді	Сорт Устя		Сорт Аннушка	
	1	2	1	2
Контроль	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Бактеріальна суспензія	17,7 ± 2,5	0,32 ± 0,05	24,1 ± 1,8	0,55 ± 0,05
Експериментальні препарати, що містять ауксини / цитокініни, мкг / г:				
18,52 / 3,88	17,0 ± 1,3	0,28 ± 0,05	19,2 ± 2,7	0,45 ± 0,05
9,39 / 2,01	23,6 ± 2,4	0,42 ± 0,04	31,1 ± 1,5	0,74 ± 0,04
4,83 / 1,08	23,8 ± 1,6	0,49 ± 0,05	33,7 ± 3,0	0,79 ± 0,09
2,55 / 0,61	21,3 ± 3,3	0,46 ± 0,05	30,4 ± 2,2	0,65 ± 0,05
1,41 / 0,38	18,3 ± 1,9	0,38 ± 0,04	26,9 ± 4,5	0,37 ± 0,04
0,94 / 0,26	20,3 ± 5,2	0,34 ± 0,04	24,3 ± 2,2	0,34 ± 0,04
0,55 / 0,20	18,4 ± 2,5	0,36 ± 0,02	26,4 ± 2,9	0,36 ± 0,02

Примітка *) тут і далі жирним шрифтом виділено достовірні зміни до показників позитивного контролю (інокуляція бактеріальною суспензією). 1 – кількість бульбочок на корінні, од. / рослину; 2 – нітрогеназна активність, мкмоль C₂H₄ / рослину. год

Оскільки для досліді використовували стерильний пісок, то у контрольному варіанті не відмічали утворення бульбочок на коренях рослин. У досліді з сортом Устя порівняно з показниками варіанту з інокуляцією бактеріальною суспензією, позитивний вплив на формування кореневих бульбочок мали експериментальні препарати із вмістом ауксинів 9,39 мкг / г та 4,83 мкг / г і цитокінінів – 2,01 мкг / г і 1,08 мкг / г.

ЕКОЛОГІЯ

Важливими процесами, що впливають на продуктивність сільськогосподарських рослин, є азотний метаболізм рослини – живителя. При тестуванні фітогормонального навантаження вивчали активність глутамінсинтетази, як одного з перших ферментів, який асимілює продукти азотфіксації. Результати дослідження вказують на достовірне підвищення активності ферменту в усіх варіантах з інокуляцією (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив експериментальних препаратів на азотний обмін рослин сої

Варіант дослідю	Сорт Устя		Сорт Аннушка	
	1	2	1	2
Контроль	3,55 ± 0,49	46,25 ± 3,23	4,47 ± 0,82	56,19 ± 1,81
Бактеріальна суспензія	5,34 ± 1,48	53,79 ± 3,28	7,02 ± 0,62	64,45 ± 0,87
Експериментальні препарати, що містять ауксини / цитокініни, мкг / г:				
18,52 / 3,88	5,39 ± 1,26	52,62 ± 1,39	5,87 ± 0,33	60,73 ± 1,88
9,39 / 2,01	6,48 ± 1,04	60,08 ± 1,28	8,52 ± 0,65	73,02 ± 0,87
4,83 / 1,08	6,88 ± 1,02	62,94 ± 1,68	8,29 ± 0,63	71,11 ± 3,03
2,55 / 0,61	6,46 ± 0,96	60,29 ± 1,84	7,77 ± 0,37	65,95 ± 2,08
1,41 / 0,38	6,08 ± 0,34	57,51 ± 1,35	8,03 ± 0,48	64,04 ± 1,10
0,94 / 0,26	5,83 ± 0,72	55,17 ± 2,48	7,15 ± 0,73	64,63 ± 2,91
0,55 / 0,20	5,50 ± 0,83	56,27 ± 2,40	7,03 ± 0,47	67,30 ± 0,57

Примітка. 1 - активність глутамінсинтетази, мкмоль Р / мг·хв.; 2 - вміст водорозчинного білка, мг/г

У досліді з сортом Устя найвищі показники активності глутамінсинтетази спостерігали у варіантах з використанням експериментальних інокулянтів із вмістом ауксинів у межах від 2,55 мкг / г до 9,39 мкг / г і цитокінінів – від 0,61 мкг / г до 2,01 мкг / г, що корелює з показниками нітрогеназної активності. Наслідком активізації ферментної системи у варіантах з інокуляцією є достовірно вищий приріст вмісту водорозчинного білка в листках дослідних рослин (на 0,63 – 1,66 %).

Водночас, у досліді з сортом Аннушка достовірний приріст активності глутамінсинтетази (на 18% – 21%) та вмісту водорозчинного білка (на 1,5% – 1,7%.) забезпечили лише два експериментальні інокулянти із вмістом ауксинів 9,39 мкг / г та 4,83 мкг / г і цитокінінів – 2,01 мкг / г і 1,08 мкг / г.

Аналізуючи дані досліджень необхідно відмітити, що для обох сортів сої найвищі показники симбіотичної взаємодії забезпечив препарат, що містив 4,83 мкг / г ауксинів і 1,08 мкг / г цитокінінів. Він отримав назву «Ризогумін»

Ефективність мікробного препарату комплексної дії з оптимізованим вмістом фізіологічно активних речовин, перевіряли у виробничих дослідях. Так, в умовах 2010 року вплив інокулянту комплексної дії на урожайність рослин сої досліджували в ПП «Профітленд» м. Кіровоград. Отримані результати свідчать про високу ефективність Ризогуміну. Використання біопрепарату комплексної дії забезпечило урожайність зерна сої на рівні 2,1 т/га, при цьому приріст до контрольних показників склав 31,3%.

Висновки

Експериментальний біопрепарат, що містив, крім активного бактеріального компонента 4,83 мкг / г ауксинів і 1,08 мкг / г цитокінінів проявляє найбільшу стимулювальну дію щодо формування та функціонування рослинно-бактеріального симбіозу. При застосуванні вдосконаленого інокулянту спостерігали значне підвищення нодуляційної здатності ризобій, нітрогеназної активності сформованих бульбочок, вмісту водорозчинного білка в дослідних рослинах сої. Отже, регулюючи вміст екзогенних фітогормонів, зокрема, ІОК і цитокінінів, у препаратах можна суттєво підвищити їх ефективність.

1. Дімова С.Б. Імуноферментне визначення вмісту індолілоцтової кислоти в культуральній рідині мікроорганізмів / С.Б.Дімова, О.О.Дмитрук, В.В. Волкогон та ін. // Сільськогосподарська мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб. — Чернігів: ЦНТЕІ, 2009. — № 9. — С.179—187
2. Евстигнеева З.Г. Определение активности глутаминсинтетази / З.Г. Евстигнеева, Е.Г. Громыко, К.Б. Асеева // Биохимические методы. — М.: Наука, 1980. — С. 84—86.

3. *Ермаков А.И.* Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков, В.В. Арасимович, М.И. Смирнова-Иконникова и др. — Л., «Колос», 1972. — 456 с.
4. *Кудоярова Г.Р.* Иммуноферментная тест-система для определения цитокининов / Г.Р. Кудоярова., С.Ю. Веселов, Н.Н. Каравайко и др. // Физиология растений — 1990. — Т. 37, Вып. 1. — С. 193—199.
5. *Леонова Н.О.* Ефективність застосування Нітрагіну і регуляторів росту рослин при вирощуванні сої / Н.О. Леонова, Л.В. Титова, А.Ф. Антипчук // Сільськогосподарська мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб. — Чернівці: ЦНТЕІ, 2007. — №. 5. — С.74—85.
6. *Пат.* UA 39545 A, 7C12N1/20, C05F11/08. Штам бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* М 8, який використовують для виготовлення бактеріального препарату, що підвищує урожайність сої / Толкачов М.З., Патика В.П., Каменева І.О., Грітчина Л.Ю. ; заявник і патентовласник Південний філіал інституту сільськогосподарської мікробіології УААН. — № 200105680; заявл. 06.10.00; опубл. 15.06.01, Бюл. № 5.
7. *Hardy R.W.F.* The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation/ R.W.F. Hardy, R.D. Holsten, E.K. Jackson et al. // Plant Physiol. — 1968. — 43, № 8. — P. 1185—1207.

М. С. Комок, В. В. Волкогон, С. Б. Димова

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН Украины

ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНАЛЬНОЙ НАГРУЗКИ НА АКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И АЗОТНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ СОИ

Исследовано влияние биопрепаратов, которые содержали кроме клубеньковых бактерий различные количества фитогормонов, на формирование и активность соево-ризобиального симбиоза и азотный обмен растений сои сортов Устя и Аннушка. При тестировании продемонстрировано, что препараты с содержанием ауксинов в диапазоне от 2,55 мкг / г до 9,39 мкг / г и цитокининов – от 0,61 мкг / г до 2,01 мкг / г обеспечивали достоверный прирост количества клубеньков, их нитрогеназной активности и содержания водорастворимого белка в сравнении с показателями варианта с использованием бактериальной суспензии. Анализируя данные исследования, следует отметить, что для обеих сортов сои наиболее оптимальным является Ризогумин, который содержал 4,83 мкг / г ауксинов и 1,08 мкг / г цитокининов. Высокую эффективность инокулянта с оптимальным содержанием фитогормонов подтвердили в производственных опытах с соей.

Ключевые слова: ауксины, цитокинины, соя, нитрогеназная активность, клубеньковые бактерии

M. S. Komok, V.V. Volkogon, S.B. Dimova

Institute of agricultural microbiology and agroindustrial manufacture NAAS, Ukraine

INFLUENCE OF PHYTOHORMONAL LOAD ON THE ACTIVITY SYMBIOTIC INTERACTIONS AND NITROGEN METABOLISM OF SOYBEANS

Studied the effect of biopreparations, which contained of nodule bacteria and different amounts of plant hormones, on the formation and activity of soy-legume symbiosis and nitrogen metabolism of soybean varieties Ustyа and Anushka. In the tests demonstrated that the preparations containing auxin range from 2.55 μg / g to 9.39 μg / g and cytokinins - 0.61 μg / g to 2.01 μg / g provides a significantly increase in the number of nodules and their nitrogenase activity and content of soluble protein compared with the figures of variant using bacterial suspension. Analyzing these studies, it should be noted that for both varieties of soybean is the most optimal Rizogumin, which contained 4.83 μg / g of auxins and 1.08 μg / g of cytokinins. High efficiency inoculant with optimal containing of phytohormones confirmed in industrial experiments with soybean.

Keywords: auxin, cytokinins, soybean, nitrogenase activity, nodule bacteria

Рекомендує до друку

Надійшла 05.06.2014

А.В. Калініченко

ПРОТЕЇНОВІ ПРОФІЛІ КОРЕНІВ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ ШТАМАМИ *V. JAPONICUM* РІЗНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ, ЗА ОПТИМАЛЬНОГО І НЕДОСТАТНЬОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ

Досліджували особливості білкових профілів коренів сої за дії різного водозабезпечення та інокуляції насіння штамми з контрастними симбіотичними властивостями. Показано, що за оптимального зволоження у коренях сої, інфікованої ризобіями, синтезуються поліпептиди розмірами 50, 60, 90 та 140 кДа, які утворюються у неінокульованих рослинах під впливом посухи. Отримані результати підтверджують припущення про схожість реакцій рослин на дію стресу та дають підґрунтя розглядати інокуляцію як потенційний спосіб підвищення стійкості бобових до несприятливих факторів довкілля.

Ключові слова: соя, *Bradyrhizobium japonicum*, білки, водний стрес

У відповідь на дію подразників у рослин відбувається порушення енергообміну і структури мембран, підвищення гідролітичної активності ферментів, деградація біополімерів і формування на їх основі сигнальних олігомерних молекул [6]. Утворені нові сполуки можуть виконувати роль вторинних месенджерів і активувати фосфорилування ферментів, що беруть участь у захисті рослини від дії стресового фактора.

Аналізуючи склад протеїнів інфікованих кореневих волосків сої, Вон зі співавт. [10] показали експресію 133 рослинних білків на початковій стадії розвитку бульбочок, пов'язаних із реорганізацією цитоскелету, ліпідним сигналінгом, регулюванням цукрозв'язуючої активності [7, 9]. Тобто, інвазія ризобій у клітини кореневих волосків бобових, як і процес патогенезу, активізує каскад реакцій, спрямованих на подолання захисних реакцій рослинного організму на інвазію бактерій, формування механізмів обміну метаболітами між симбіонтами та активізацію захисних механізмів симбіотичних систем до несприятливих умов.

Разом із тим, питання впливу ризобій із контрастними властивостями на характер відповіді рослини-хазяїна на інокуляцію в умовах дії додаткових стресових факторів залишається маловивченим. Тому, метою даної роботи було вивчення динаміки змін білкового складу коренів сої за інокуляції штамми ризобій різної ефективності в умовах водного дефіциту.

Матеріал і методи досліджень

У роботі використано активний (646) та неактивний (604к) штами *V. japonicum* із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів інституту фізіології рослин і генетики (ІФРГ) НАНУ. Культуру бактерій вирощували на манітно-дріжджовому середовищі протягом 9 діб при 26–28°C. Кінцева концентрація бактерій становила 10^7 клітин у 1 мл суспензії. Сою (*Glycine max* L. Merr.) сорту Васильківська вирощували по 6–8 рослин на промитому річковому піску з додаванням 0,2 норми азоту у суміші Гельрігеля за умов природного освітлення та за різного водозабезпечення (60 % повної вологоємності (ПВ) – оптимальне зволоження, 30 % – посуха). Повторність дослідів 7-кратна. Посуху моделювали у фазу початку бутонізації, шляхом зниження об'єму води для поливу до рівня 30 % ПВ протягом 7 днів.

Отримання білкових екстрактів проводили за методом [8]. Вміст сумарного розчинного білка в екстрактах визначали за Бредфордом [2]. Якісний склад протеїнів досліджували методом градієнтного електрофорезу в 12–20 %-ному ПААГ за Леммлі [5]. Аналіз гелів проводили за допомогою програми Total Lab версії 2.1. Повторність визначень 5-кратна. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали методом дисперсійного аналізу із залученням пакетів спеціальних програм Microsoft Excel'10 та Statgraphics Plus 3.0.

Результати досліджень та їх обговорення

При електрофоретичному розділенні пулу білків коренів сої, забезпеченої водою у повному обсязі, було показано (рисунок), що загальний вміст протеїнів у коренях контрольних рослин був значно меншим, ніж за інокуляції рослин ризобіями. Крім того, за умов оптимального водозабезпечення білкові екстракти коренів інокульованих рослин містили поліпептиди із молекулярними масами 50, 60, 90 та 140 кДа, які були відсутні у коренях контрольних зразків.

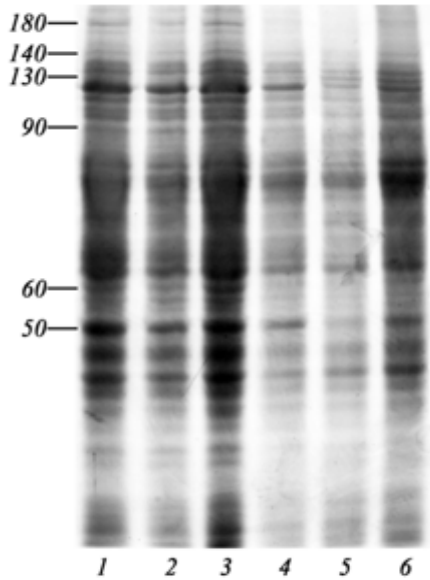


Рисунок. Білковий склад коренів сої, інокульованої штамми *V. japonicum* із контрастними симбіотичними характеристиками за різних рівнів водозабезпечення: 1 – штам 646 (60 % ПВ); 2 – штам 646 (30 % ПВ); 3 – штам 604к (60 % ПВ); 4 – штам 604к (30 % ПВ); 5 – контроль (без інокуляції) (60 % ПВ); 6 – контроль (без інокуляції) (30 % ПВ).

За умов недостатнього водозабезпечення у коренях інфікованих рослин спостерігалось зменшення загального вмісту білка. При цьому білкові профілі коренів інокульованих варіантів у обох випадках водозабезпечення мали спільні риси. При цьому додатково на електрофоретичних смугах було виявлено поліпептид масою 180 кДа. У коренях рослин інфікованих активним штамом був відсутній білок розмірами 130 кДа. Екстракти коренів сої, інокульованої неактивним штамом, містили даний протеїн у слідових кількостях. На нашу думку, зниження загального вмісту білків у коренях інокульованих рослин за дії посухи пов'язано із перерозподілом енергетичних запасів у рослині за умов дії стресу. У той же час у коренях контрольних рослин за дії стресу загальний вміст протеїнів навпаки збільшувався. За нестачі вологи серед білків коренів цього варіанту також виявлені білки розмірами 50, 60, 140 та 180 кДа, які характерні для білкових профілів коренів інокульованих рослин. Ми припускаємо, що подібність складу протеїнів коренів контрольних рослин, що зазнали стресу, і інокульованих є наслідком синтезу в них стресових білків, які синтезуються у відповідь на дію біотичних та абіотичних факторів [1, 3, 4, 8].

У ряді літературних джерел показано підвищення у бульбочках рівня сполук, характерних для осмотичного стресу – маніту, сорбіту, амінокислоти проліну і поліамінів, порівняно з іншими органами рослин [3, 4]. Крім того, в бактероїдах *V. japonicum* виявлені та ідентифіковані протеїни, що беруть участь у детоксикації клітин, а також стресові і сигнальні пептиди [8].

Висновки

Нами встановлено, що обробка рослин ризобіями призводить до синтезу білків, характерних для рослин, що зазнали впливу стресу і не залежить від ефективності штаму. Білковий склад симбіотичних систем є досить стабільним і практично не залежить від забезпечення рослин вологою. Отримані результати підтверджують припущення про те, що специфіка відповіді на дію стресу для багатьох рослин є схожою, а отже інокуляція бобових є важливим засобом підвищення стійкості рослин до несприятливих факторів довкілля.

1. *Биологическая фиксация азота. Бобово-ризобияльный симбиоз* / [Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. и др.]. — Киев: Логос, 2011. — Т. 2. — 523 с.
2. *Bradford M.M.* A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // *Analytical Biochem.* — 1976. — 72. — P. 248—254.
3. *Colebatch G., Desbrosses G., Ott T. et al.* Global changes in transcription orchestrate metabolic differentiation during symbiotic nitrogen fixation in *Lotus japonicum* // *Plant J.* — 2004. — 39. — P. 487—512.
4. *Desbrosses G.G.* *Lotus japonicus* metabolic profiling: Development of gas chromatography-mass spectrometry resources for the study of plant-microbe interactions / Desbrosses G.G., Kopka J., Udvardi M.K. // *Plant Physiol.* — 2005. — 137, N 6. — С. 1302—1318.
5. *Laemmly U.K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemmly // *Nature.* — 1970. — 227. — P. 680—685.
6. *Matamoros M., Dalton D., Ramos J. et al.* Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis // *Plant Physiol.* — 2003. — 133, N 4. — P. 499—509.
7. *Morris A.C.* Proteome analysis of cultivar specific interactions between *R. leguminosarum biovar trifolii* and subterranean clover cultivar Woogenellup / A.C. Morris, M.A. Djordjevic // *Electrophoresis.* — 2001. — 22. — P. 586—598.
8. *Sarma A.D.* A comparative proteomic evaluation of culture grown vs nodule isolated *B. japonicum* / A.D. Sarma, D.W. Emerich // *Ibid.* — 2006. — 6. — P. 3008—3028.
9. *Streeter J.G.* Recent developments in carbon transport and metabolism in symbiotic systems / J.G. Streeter // *Symbiosis.* — 1995. — 19. — P. 175—196.
10. *Wan J., Torres M., Ganapathy A. et al.* Proteomic analysis of soybean root hairs after infection by *B. japonicum* // *Mol. Plant-Microbe Interact.* — 2005. — 18. — P. 458—467.

Ю.Ю. Кондратюк, П.Н. Маменко, А.В. Жемойда

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины

ПРОТЕИНОВЫЕ ПРОФИЛИ КОРНЕЙ СОИ, ИНОКУЛИРОВАННОЙ ШТАММАМИ *B. JAPONICUM* РАЗЛИЧНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИ ОПТИМАЛЬНОМ И НЕДОСТАТОЧНОМ ВОДОБЕСПЕЧЕНИИ

В ответ на действие негативных факторов различной природы в организме растения запускается каскад неспецифических и специфических реакций, направленных на избежание негативных последствий, вызванных этим стрессом. Известно, что инокуляция семян бобовых растений симбиотическими микроорганизмами вызывает изменения метаболизма и функционирования макросимбионта. Вместе с тем вопросы влияния ризобий с контрастными симбиотическими свойствами на характер физиологического ответа растения-хозяина на инокуляцию в условиях действия дополнительных стрессовых факторов остается малоизученным.

Поэтому были исследованы особенности белковых профилей корней сои под влиянием различных уровней водообеспечения и инокуляции семян штаммами с контрастными симбиотическими свойствами. Показано, что в условиях оптимального водообеспечения в корнях сои, инфицированной активными и неактивными ризобиями, синтезируются полипептиды с молекулярными массами 50, 60, 90 и 140 кДа, которые образуются и в неинокулированных растениях под влиянием засухи. Полученные результаты подтверждают предположение о сходстве реакций растений на воздействие стресса и дают основание рассматривать инокуляцию как потенциальный способ повышения устойчивости бобовых к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Ключевые слова: соя, *Bradyrhizobium japonicum*, белки, водный стресс

Yu.Yu. Kondratiuk, P.M. Mamenko, A.V. Zhemojda

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

PROTEIN COMPOSITIONS OF SOYBEAN ROOTS INOCULATED BY BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM STRAINS WITH VARIOUS ACTIVITY UNDER OPTIMAL AND INSUFFICIENT WATER SUPPLY

The cascade of nonspecific and specific reactions are started in plant organism under the action of different stress factors. They are directed to prevent the negative effects induced by this stress. It is known that the inoculation of leguminous plants seeds by symbiotic microorganisms causes to changes in

metabolism and functioning of macrosymbiont. However, the questions of influence of symbiotic rhizobia with contrasting properties on the physiological response of host plant to the inoculation under the action of additional stress factors remains poorly known. Therefore, it was investigated the peculiarities of the soybean root protein profiles under the influence of different levels of water supply and seed inoculation by strains with different symbiotic properties. It was shown that the peptides with molecular weights 50, 60, 90 and 140 kDa, which are typical for non-inoculated plants affected by drought, were produced in the roots of soybean plants infected with both active and inactive rhizobia under optimal water supply. These results confirm the assumption that plant response to stresses is similar and give the basis to consider the inoculation as a potential way to improve the stability of legumes to adverse environmental factors.

Keywords: soybean, Bradyrhizobium japonicum, proteins, water stress

Рекомендує до друку
С.В. Пида

Надійшла 29.04.2014

удк 581.138.1 : 631.8 : 635.652

¹О. Б. КОНОНЧУК, ¹С. В. ПИДА, ²І. П. ГРИГОРІЮК

¹Тернопільський національний педагогічний університет імені В. Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

²Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041

ВПЛИВ РІСТРЕГУЛЯТОРІВ РЕГОПЛАНТ І СТИМПО НА СИМБІОТИЧНУ СИСТЕМУ ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ КВАСОЛІ

Встановлено, що передпосівна обробка насіння рістрегулятором Регоплант краще стимулює утворення і функціонування спонтанного квасоле-ризобіального симбіозу у фазу цвітіння, ніж регулятор Стимпо. Обидва препарати підвищують зернову продуктивність квасолі в ґрунтово-кліматичних умовах Тернопільської області за рахунок стимулювання різних елементів урожаю.

Ключові слова: Phaseolus vulgaris L., Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli, Регоплант, Стимпо, симбіоз, продуктивність

Підвищення ефективності азотфіксації розглядається як ключовий чинник зростання продуктивності бобових культур, який можна реалізувати за рахунок комплексу селекційних, агротехнічних та інших заходів, зокрема, поєднаним застосуванням бактеріальних препаратів та біологічно активних речовин (БАР) [1-6, 8, 10, 11, 14, 16].

Особливості взаємодії бактерій з рослиною за участю фітогормонів потребують всебічного дослідження, оскільки БАР розглядаються як фактори формування і функціонування системи ґрунт-мікроорганізми-рослина. Їх запропоновано враховувати під час розробки і впровадження нових підходів до керування продукційним процесом бобових культур [1, 2, 6, 17].

У сучасному сільському господарстві формування оптимальної продуктивності рослин можна досягти дією не тільки окремо їх БАР, а композицією за найраціональнішою схемою [9]. Тому, перспективним напрямком є застосування комплексних регуляторів росту рослин (РРР), зокрема, тих, що виробляються Державним підприємством «Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН України і Міністерства освіти та науки України (м. Київ), що мають природне походження, не шкодять рослинам і природному середовищу, покращують мікробіологічний склад ґрунту тощо – Агростимулін, Івін, Емістим С, Біолан, Біосил, Радостим, Стимпо, Регоплант та ін. [2, 4, 15].

Стимулювання бобово-ризобіальних взаємовідносин комплексом БАР відбувається не тільки під час спільного застосування їх із бактеризацією, а й під час формування симбіозу на основі аборигенних популяцій бульбочкових бактерій [2, 3, 6, 10, 11, 14].

Використання РРР для оптимізації бобово-ризобіального симбіозу має свою специфіку залежно від виду і сорту рослин, способу застосування, місцевих ґрунтово-кліматичних умов тощо. Тому важливим завданням є попередня перевірка і розробка найраціональніших прийомів їх застосування [1-3, 6, 14].

У зв'язку з цим, метою роботи було дослідити реакцію азотфіксуючої системи квасолі сорту Буковинка, сформованої місцевими популяціями ризобій на РРР Регоплант і Стимпо та їх дію на продуктивність у ґрунтово-кліматичних умовах Тернопільської області.

Матеріал і методи досліджень

Матеріалом дослідження була квасоля звичайна (*Phaseolus vulgaris* L.) середньостиглого зернового сорту Буковинка, що занесений до Державного реєстру сортів рослин, придатних до поширення в Україні з 2004 року.

Польові досліді проводились на малогумусових опідзолених чорноземах з важкосуглинистим механічним складом агробіолабораторії Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Вміст *N* (за Корнфілдом) – 13,5 мг/100 г ґрунту (низький), *P* і *K* (за Чіріковим), відповідно, 14,8 та 11,4 мг/100 г ґрунту (підвищений), *Mn* – 68,5 мг/кг ґрунту (середній), *B* – 1,21 мг/кг і *Cu* – 3,64 мг/кг ґрунту (високий), обмінна кислотність *pH* 6,7 (нейтральна).

Технологія вирощування квасолі типова для Лісостепу України (норма висіву – 400 тис. насінин на 1 га, ширина міжрядь 45 см, глибина сівби – 3-4 см, строк сівби – перша половина травня). Культуру висівали у 8-пільній польовій сівозміні після картоплі без використання добрив та хімічних засобів захисту. Догляд за культурою передбачав лише агротехнічні методи.

Насіння перед посівом зволожували водою із розрахунку 2% від його маси (контроль) та РРР Регоплант (25 мл/л) і Стимпо (2,5 мл/л), які виробляються у МНТЦ «Агробіотех» за ТУ У 24.2-31168762-006 – «Регоплант» та ТУ У 24.2-31168762-005 – «Стимпо» [15].

В основу препаратів покладено взаємодоповнюючу дію препаратів Радостим (у Регопланті) і Біолан (у Стимпо), які отримують із культури гриба-мікроміцета з кореневої системи женьшеню та аверсектина – продукту життєдіяльності бактерій *Streptomyces avermetilis*. Препарати містять збалансовану композицію біологічно активних сполук – аналогів фітогормонів (цитокінінів, ауксинів), амінокислот, жирних кислот, вуглеводів (глюкоза, рибоза, галактоза, олігосахариди), хітозану і мікроелементів, а також біозахисних сполук – аверсектинів [15].

Облік кореневих бульбочок проводили методом рамкового виймання ґрунту (метод моноліту), їх нітрогеназну активність – ацетиленвідновним методом [7, 12]. Аналіз газової суміші проводили в Інституті сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (м. Чернігів). Величину та структуру урожаю культури визначали у фазу повної стиглості методом пробних майданчиків [7].

Повторність досліджень від 4 до 100 і більше кратності. Статистичне опрацювання даних проводили за допомогою програми *Excel*.

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені у 2012-2014 роках досліді показали, що РРР з біозахисними функціями Регоплант і Стимпо впливали на утворення і функціонування симбіозу між рослинами квасолі і місцевими ґрунтовими популяціями ризобій, які сформувалися унаслідок використання у попередні роки штамів 700, ФС, ФН-6, ФА-22 *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* (*Rhizobium phaseoli*).

Передпосівне зволоження насіння розчином регулятора Регоплант активізувало формування та функціонування симбіотичної системи квасолі з аборигенними популяціями ризобій ґрунту. Так, у 2012 р. чисельність бульбочок на коренях квасолі у фазу цвітіння за дії РРР зросла на 20,3% порівняно з контрольними рослинами, їх сира маса – на 35,3%, суха – на 38,2% і середня маса однієї сухої бульбочки – 18,3% щодо контролю. Після застосування Стимпо кількість корневих бульбочок зменшувалась на 12,1%, хоча їх загальна сира маса зростала на 23,4%, суха маса – 19,1%, що відбулося за рахунок значнішого збільшення величини бульбочок – суха маса

ЕКОЛОГІЯ

бульбочки була на 39,6% вищою від контролю (табл. 1). Аналогічні кількісні зміни під впливом РРР отримали і у наступні роки.

Нітрогеназна активність бульбочок була також вищою за дії регулятора Регоплант, ніж Стимпо – за показниками загальної нітрогеназної активності (ЗНА) – на 70,8 і 22,1% і питомої нітрогеназної активності (ПНА) – 25,5 і 0,8% щодо контролю, відповідно за препаратами (табл. 1).

Таблиця 1

Бобово-ризобіальний симбіоз рослин квасолі звичайної сорту Буковинка за дії регуляторів росту рослин Регоплант і Стимпо у фазу цвітіння

Показник	Контроль	Регоплант	Стимпо
кількість бульбочок, шт./рослину	47,8±4,5	57,5±5,6	42,0±3,7
маса сирих бульбочок, мг/рослину	539,7±28,8	730,0±18,9*	666,2±18,2*
маса сухих бульбочок, мг/рослину	88,6±6,3	122,5±4,0*	105,5±2,8*
маса 1 сухої бульбочки, мг	1,97±0,18	2,33±0,06	2,75±0,10
ЗНА бульбочок, мкг N ₂ /рослину/год.	11,3±1,1	19,3±1,2*	13,8±1,1
ПНА бульбочок, мкг N ₂ /1г сух. маси/год.	131,6±6,9	165,2±15,7	132,7±10,2

Примітка. Тут і в табл. 2,3 * – зміни порівняно з контролем вірогідні (P<0,05)

Важливим показником бобово-ризобіального симбіозу є тривалість його функціонування [1, 3].

Встановлено, що у фазу зеленого бобу квасолі сорту Буковинка у середньому за досліджувані роки зберігала під впливом біорегулятора Регоплант на 24,1% вищу чисельність бульбочок із більшими сирією на 33,3% і сухою – 25,6% масами і на 6,0% більшою масою однієї сухої бульбочки порівняно з контролем. РРР Стимпо у цей період не проявляв стимулюючої дії. Виявлено зменшення чисельності бульбочок на коренях на 20,5%, їх сиріє маси – на 9,1%, сухої маси – 10,1% до контролю і лише величина бульбочок була вищою на 3,3% щодо контролю (табл. 2).

Таблиця 2

Бобово-ризобіальний симбіоз рослин квасолі звичайної сорту Буковинка за дії регуляторів росту рослин Регоплант і Стимпо у фазу зеленого бобу

Показник	Контроль	Регоплант	Стимпо
кількість бульбочок, шт./рослину	23,5±2,0	29,1±2,6	18,7±1,5*
маса сирих бульбочок, мг/рослину	298,8±18,7	398,3±25,4*	271,7±9,3
маса сухих бульбочок, мг/рослину	67,7±3,3	85,0±4,0*	60,8±2,1
маса 1 сухої бульбочки, мг	3,15±0,18	3,34±0,15	3,25±0,09

Отже, у фазу цвітіння РРР Регоплант більшою мірою стимулював утворення і функціонування спонтанного квасоле-ризобіального симбіозу, ніж регулятор Стимпо. У фазу зеленого бобу лише біопрепарат Регоплант зберігав стимулюючий вплив на бульбочки.

Зазначені зміни у формуванні та функціонуванні нодуляційного апарату бобових культур під впливом обробки Регоплантом і Стимпо можна пов'язувати із генотипами макросимбіонтів, ступенем їх комплементарності до ризобій та природою БАР регуляторів росту [1].

Сучасні РРР, що є композицією природних фітогормонів або синтетичних їх аналогів, які містять збалансований комплекс БАР, дозволяють цілеспрямовано керувати найважливішими процесами росту і розвитку рослин, ефективно реалізувати потенційні можливості сорту чи гібриду [4].

РРР Регоплант і Стимпо вплинули не тільки на бобово-ризобіальний симбіоз, а й на найважливіший показник ефективності дії – формування рослинами квасолі врожаю.

ЕКОЛОГІЯ

Так, біологічний урожай зерна квасолі звичайної сорту Буковинка під впливом біорегулятора Регоплант зростав у 2012 р. на 3,0 ц/га (9,8%), 2013 р. – на 2,5 ц/га (10,2%), за передпосівного зволоження насіння Стимпо – 3,7 (12,1%) і 3,5 (14,3%), відповідно за роками, до контролю (табл. 3).

Таблиця 3

Основні елементи продуктивності квасолі звичайної сорту Буковинка за дії регуляторів росту рослин Регоплант і Стимпо

Показник	Контроль	Регоплант	Стимпо	Контроль	Регоплант	Стимпо
	2012 р.			2013 р.		
густота рослин, тис. шт./га	316,7±10,1	344,4±11,1	347,2±10,2	262,2±5,0	284,4±7,7*	297,8±6,8*
біол. урожай надземної маси без листя, ц/га	40,2±1,2	42,5±0,9	45,6±1,5*	28,4±1,5	34,6±1,8*	36,5±0,9*
кількість бобів на 1 рослині, шт.	10,6±0,3	10,3±0,3	10,6±0,3	10,6±0,5	11,6±0,6	11,7±0,5
довжина боба, см	8,9±0,02	8,5±0,02*	8,7±0,01*	9,6±0,02	10,3±0,02*	9,7±0,02
к-сть насінин на 1 рослині, шт.	48,1±1,4	46,6±1,1	49,8±1,5	49,2±3,3	54,6±3,3	53,5±2,5
маса насіння на 1 рослині, г	9,8±0,28	10,1±0,25	10,1±0,31	8,7±0,58	9,7±0,59	9,8±0,46
к-сть насінин в 1 бобові, шт.	4,50±0,04	4,56±0,06	4,73±0,05*	4,56±0,11	4,62±0,11	4,57±0,14
маса 1000 насінин, г	203,6±2,8	216,1±4,6*	203,6±1,9	177,2±3,2	179,0±1,8	183,1±3,3
біологічний урожай зерна, ц/га	30,5±0,8	33,5±0,9*	34,2±1,4*	24,5±0,5	27,0±1,1*	28,0±0,6*

Аналіз елементів продуктивності показав, що зростання урожаю зерна під впливом регуляторів відбувалося, насамперед, за рахунок приблизно однакового зростання на 8,5-13,6% щодо контролю густоти рослин на момент жнив та їх вищої біомаси в надземній частині – 5,7-28,5%. На нашу думку, підвищення густоти стеблостою досліджуваних рослин можна пояснити наявністю в біопрепаратах, крім регуляторних властивостей, біозахисного ефекту та відомого додаткового збільшення (в 3-5 разів) ефективності інсектицидної, нематоцидної, акарицидної дії аверсектинів [15]. Вклад інших елементів дещо відрізнявся у різні роки. Так, виявлено зростання кількості бобів і насіння на рослинах під впливом Регопланту і Стимпо на 9,4-10,4% і 8,7-11,0% до контролю лише у 2013 р. Маса насіння на одній рослині підвищувалась у 2012 р. однаково за дії обох регуляторів на 3,1%, а у 2013 р. – 11,5 і 12,6% до контролю. Маса 1000 насінин, що є найбільш варіабельним показником структури [13], змінювався незначно – від 0-3,3% і лише у 2012 р. за дії Регопланту виявлено статистично достовірне зростання у 6,1% до контролю.

Висновки

У польових умовах встановлено, що передпосівна обробка насіння рістрегулятором Регоплант ефективніша у фазу цвітіння, ніж Стимпо, та зберігає стимулюючий ефект під час зеленого бобу на ріст та функціонування бульбочок.

Біорегулятори Регоплант і Стимпо позитивно впливають на формування зернової продуктивності квасолі в ґрунтово-кліматичних умовах Тернопільської області за рахунок стимулювання різних елементів структури урожаю.

Отже, одержані дані свідчать про доцільність і перспективність використання PPP з біозахисними функціями Регоплант для оптимізації симбіотичної азотфіксації і продуктивності, а Стимпо – врожаю квасолі, як додаткових елементів технології вирощування культури.

1. *Биологическая фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз* : [моногр. : в 4-х т.] / С. Я. Коць, В. В. Моргун, И. А. Тихонович и др. — К.: Логос, 2010. — Т. 2. — 2011. — 523 с.
2. *Биорегуляция микробно-растительных систем* / Иутинская Г. А., Пономаренко С. П., Андреев Е. И. и др.; Под общей ред. Г. А. Иутинской, С. П. Пономаренко. — К.: Ничлава, 2010. — 464 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. *Біологічно активні речовини в рослинництві* / Грицаєнко З. М., Пономаренко С. П., Карпенко В. П., Леонтюк І. Б. — К.: ЗАТ «Нічлава», 2008. — 352 с.
5. *Векірчик К. М.* Стан і перспективи досліджень впливу обробки насіння БАР та інокуляції ризобіями на азотфіксацію, ріст, розвиток і продуктивність квасолі звичайної і сої культурної в умовах Тернопільської області / К. М. Векірчик, О. Б. Конончук // *Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть: в 2 т. /* голов. ред. В. В. Моргун. — К.: [б. в.], 2001. — Том 1. — С. 231—236.
6. *Волкогон В. В.* Значення регуляторів росту рослин у формуванні активних азотфіксуючих симбіозів та асоціацій / В. В. Волкогон, В. П. Сальник // *Физиология и биохимия культ. растений.* — 2005. — 37, №3. — С. 187—197.
7. *Грицаєнко З. М.* Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин і ґрунту / З. М. Грицаєнко, А. О. Грицаєнко, В. П. Карпенко. — К.: ЗАТ «Нічлава», 2003. — 320 с.
8. *Ефективність застосування нітрагіну і регуляторів росту рослин при вирощуванні сої* / Леонова Н. О., Титова Л. В., Танцюренко О. В. та ін. // *Сільськогосподарська мікробіологія.* — 2007. — Вип. 5. — С. 74—85.
9. *Калинин Ф. Л.* Биологически активные вещества в растениеводстве : теория и практика применения / Ф. Л. Калинин. — К.: Наук. думка, 1984. — 320 с.
10. *Конончук О. Б.* Ефективність інокуючої суміші «Байкал ЕМ-1У» – *Rhizobium phaseoli* на рослинах квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.) сорту Надія / О. Б. Конончук, С. В. Пίδα, І. П. Григорюк // *Біоресурси і природокористування.* — 2012. — Т. 4, № 5-6. — С. 24—31.
11. *Конончук О. Б.* Ростові процеси та бобово-ризобіальний симбіоз сої культурної за передпосівної обробки насіння рістрегуляторами Регоплант і Стімпо / Конончук О. Б., Пίδα С. В., Пономаренко С. П. // *Агробіологія: Зб. наук. праць /* Білоцер. нац. аграр. ун-т. — 2012. — Вип. 9 (96). — С. 103—107.
12. *Методы изучения азотфиксации и денитрификации в почве* / М. М. Умаров, Ф. П. Кононков, М. Г. Куракова, Л. А. Зуева // *Микроорганизмы как компонент биогеоценоза.* — М.: Наука, 1984. — С. 107—119.
13. *Наукові основи ведення зернового господарства* / [В. Ф. Сайко, М. Г. Лобас, І. В. Яшовський та ін.]. — К.: Урожай, 1994. — 336 с.
14. *Нові біологічні препарати комплексної дії на основі активних штамів азотфіксуючих бактерій та фізіологічно активних речовин* / В. В. Волкогон, С. Б. Дімова, К. І. Волкогон, М. С. Комок // *Фізіологія рослин : проблеми та перспективи розвитку: у 2 т. /* НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики, Укр. т-во фізіологів рослин; Голов. ред. В. В. Моргун. — К.: Логос, 2009. — Том 1. — С. 393—403.
15. *Регулятори росту рослин. Рекомендації по застосуванню* / [Анішин Л. А., Пономаренко С. П., Грицаєнко З. М.]. — К.: МНТЦ «Агробіотех», 2011. — 54 с.
16. *Effect of seedbed type on yield and yield components of common bean (Phaseolus vulgaris L.) commercial cultivars* / Loth S. Mulungu, Akwilin J.P. Tarimo, Shazia O.W.M. Reuben et al. // *Journal of Agronomy.* — 2006. — Vol. 5 (4). — P. 583—588.
17. *Rhijn P.* The Rhizobium – plant symbiosis / P. Rhijn, J. Vanderleyden / *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* — 1995. — 59, № 1. — P.124—142.

А. Б. Конончук, С. В. Пίδα, І. А. Григорюк

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

ВЛИЯНИЕ РОСТРЕГУЛЯТОРОВ РЕГОПЛАНТ И СТИМПО НА СИМБИОТИЧЕСКУЮ СИСТЕМУ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ФАСОЛИ

В статье исследовано формирование и функционирование симбиотических систем фасоли обыкновенной с местными популяциями почвенных клубеньковых бактерий и продуктивность культуры под действием регуляторов роста растений с биозащитными свойствами Регоплант и Стімпо.

Установлено, что предпосевная обработка семян рострегулятором Регоплант эффективнее влияет на образование и функционирование фасоле-ризобийального симбиоза в фазу цветения, чем Стімпо, и сохраняет стимулирующий эффект на стадии зеленого боба.

Биорегуляторы Регоплант и Стімпо повышают зерновую продуктивность фасоли на 9,8-14,3% за счет стимулирования ростовых процессов в надземной части растений, более высокой густоты стеблестоя и других элементов структуры урожая.

Полученные данные указывают на целесообразность и перспективность использования регуляторов роста Регоплант и Стімпо для повышения семенной продуктивности фасоли, а

Регопланта – для оптимизации симбиотической азотфиксации, как дополнительных элементов технологии выращивания культуры в местных почвенно-климатических условиях.

Ключевые слова: *Phaseolus vulgaris L., Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli, Регоплант, Стимпо, симбиоз, производительность*

O. B. Kononchuk, S. V. Pyda, I. P. Hrigoryuk

Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS REGOPLANT AND STYMPON ON SYMBIOTIC SYSTEM AND PRODUCTIVITY OF COMMON BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS L.*)

The formation and functioning of symbiotic systems of the common bean with local populations of soil legume bacteria and planting productivity under the influence of growth regulators with protective properties Regoplant and Stympon were studied.

It was established that the presowing seed treatment with the regulator of growth Regoplant influences the formation and functioning of the *Rhizobium* – bean symbiosis more effectively than Stympon in the flowering period and preserves its stimulating effect during of green bean.

Bioregulators Regoplant and Stympon increase grain productivity by 9,8-14,3% due to stimulating growth processes in the above-ground part of a plant, higher haulm density and other elements of yield components.

The obtained data demonstrate the appropriateness and prospects of the use of growth regulators Regoplant and Stympon for the increase in the common bean productivity and Regoplant for optimization of symbiotic nitrogen fixation. These growth regulators are to be used as additional elements of the crop cultivation technology under the conditions of local soil and climate.

Keywords: *Phaseolus vulgaris L., Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli, Regoplant, Stympon, symbiosis, productivity*

Рекомендує до друку

Надійшла 17.04.2014

В.В. Грубінко

УДК 581.1:581.557

С.Я. КОЦЬ, Л.І. ВЕСЕЛОВСЬКА, Л.М. МИХАЛКІВ

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022

НІТРАТРЕДУКТАЗНА АКТИВНІСТЬ У ЛИСТКАХ СОЇ, ІНОКУЛЬОВАНОЇ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*, НА ФОНІ РІЗНОГО ВОДОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ТА ВИКОРИСТАННЯ ЛЕКТИНУ

Досліджено вплив екзогенного лектину насіння сої на відновлення нітратів у листках рослин сої, інокульованої активним (634б) та неактивним (604к) штамми *Bradyrhizobium japonicum*, за різного водозабезпечення. Показано, що характер змін нітратредуктазної активності внаслідок дії водного стресу пов'язаний із особливостями формування симбіотичних взаємовідносин між рослинами сої та ризобіями. Застосування лектину сумісно з активним штамом ризобій зменшує інгібуючий вплив нестачі вологи на активність нітратредуктази в листках рослин сої.

Ключові слова: *нітратредуктаза, соя, Bradyrhizobium japonicum, азотфіксація, нодуляція, водозабезпечення, лектин*

Характерною особливістю азотного метаболізму сої як представника родини бобових є здатність засвоювати зв'язану (в першу чергу нітратну) та молекулярну форми азоту за умов формування симбіозу з бульбочковими бактеріями, що обумовлено наявністю відповідних ферментних систем, зокрема, нітратредуктази та нітрогенази. Питання взаємодії цих двох ферментів висвітлено в багатьох працях [3, 5, 9], проте, зважаючи на сучасні кліматичні зміни, важливого значення набувають дослідження азотного живлення бобових рослин і пошук шляхів його оптимізації за дії несприятливих факторів довкілля, зокрема, за недостатнього водозабезпечення [7, 10].

У попередніх дослідженнях нами було показано [3, 4], що застосування лектину з насіння сої може підвищувати нодуляційну активність ризобій і азотфіксувальну активність корневих бульбочок, а також збільшувати продуктивність сої як за оптимального водозабезпечення, так і за посушливих умов. Метою представленої роботи було вивчити вплив екзогенного лектину насіння сої на відновлення нітратів у листках рослин сої, інокульованої різними за активністю штамми *Bradyrhizobium japonicum*, за оптимального та недостатнього водозабезпечення.

Матеріал і методи досліджень

Досліди проводили на вегетаційному майданчику Інституту фізіології рослин і генетики (ІФРГ) НАН України. Об'єктами дослідження були симбіотичні системи, створені за участю рослин сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Васильківська та бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* штамів 643б (активний, виробничий штам-стандарт) та 604к (неактивний, високовірулентний) із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАН України. Перед посівом насіння сої стерилізували 70 %-м розчином етанолу, промивали проточною водою та впродовж 1 год інокулювали ризобіями. У дослідних варіантах бактерії інкубували із розчином комерційного лектину насіння сої (Львів, «Лектинотест») у концентрації 100 мкг/мл протягом 20 год, у контрольних варіантах лектин не використовували. Рослини вирощували у 16-кілограмових посудинах Вагнера в піщаній культурі з внесенням поживної суміші Гельрігеля (0,25 норми азоту) за природного освітлення та контрольованого поливу (60 % повної вологості (ПВ)). Посуху (30 % ПВ) створювали протягом 2 тижнів від появи 3 справжнього листка, після чого полив поновлювали до 60 % ПВ. Відбори зразків проводили у фази 3 справжніх листків (6 доба посухи) та цвітіння (8 доба поновлення поливу). Активність відновлення нітратів (НРА) у листках визначали *in vivo* [6], виражали у мікрограмах NO_2^- , що утворився за 30 хв на 1 г сирової речовини. У таблиці наведені середні арифметичні значення із біологічних повторностей та їх стандартні похибки.

Результати досліджень та їх обговорення

Виявлено (таблиця), що на фоні інокуляції сої штамом 634б без застосування лектину 6-догова посуха призвела до зниження активності відновлення нітратів у листках на 8 %, але суттєво не вплинула на даний показник за умов інкубації ризобій із лектином. Після 2-тижневої посухи на 8 добу поновлення поливу (фаза цвітіння) різниця між НРА у листках сої, яку вирощували за різного водозабезпечення, стала чітко вираженою порівняно з попереднім відбором. Так, на фоні активного штаму даний показник у рослинах, що зазнали впливу водного стресу, був у 2 (без лектину) і 5 (застосування лектину) разів меншим, ніж за 60 % ПВ. Використання лектину для обробки *B. japonicum* 634б суттєво не вплинуло на НРА у період 3 справжніх листків, виявлено лише тенденцію до її збільшення за 30 % ПВ. У фазу ж цвітіння за 60 % ПВ спостерігали значну (в 2 рази) інтенсифікацію НРА у варіанті з використанням лектину.

Інокуляція сої неактивним штамом *B. japonicum* 604к сприяла формуванню на коренях великої кількості бульбочок, проте азотфіксувальної активності виявлено не було. Реакція рослин на посушливі умови та застосування лектину в цих симбіотичних системах суттєво відрізнялась від такої у випадку використання активного штаму 634б. Так, у фазу 3 справжніх листків зниження водозабезпечення суттєво не вплинуло на НРА у сої, інокульованої ризобіями без лектину, але при його використанні цей показник зріс на 13 %. Після поновлення поливу (цвітіння) ефект від нестачі води, як і у випадку використання штаму 634б, виявився досить значним, – спостерігали збільшення НРА у листках рослин варіантів без лектину на 71 %. У рослин, інокульованих інкубованими з лектином ризобіями, майже не виявлено НРА. Необхідно

значити, що як за 60, так і за 30 % ПВ інкубація бактерій неактивного штаму 604к із гемаглютиніном призводила до інгібування відновлення нітратів.

Таблиця

Активність відновлення нітратів у листках сої за інокуляції штамми *B. japonicum* при застосуванні лектину, мкг NO₂⁻/г за 30 хв

Варіант	Фаза розвитку рослин	
	3 справжні листки (посуха)	цвітіння (поновлення поливу)
Інокуляція <i>B. japonicum</i> 6346		
контроль без лектину, 60 % ПВ	47,41 ± 0,15	6,35 ± 0,15
ризобії + лектин, 60 % ПВ	46,66 ± 1,79	12,47 ± 1,79
контроль без лектину, 30 % ПВ	43,53 ± 1,79	3,10 ± 0,42
ризобії + лектин, 30 % ПВ	46,44 ± 1,49	2,37 ± 0,34
Інокуляція <i>B. japonicum</i> 604к		
контроль без лектину, 60 % ПВ	44,57 ± 2,24	1,27 ± 0,15
ризобії + лектин, 60 % ПВ	36,06 ± 1,79	0,53 ± 0,01
контроль без лектину, 30 % ПВ	46,52 ± 3,58	4,47 ± 0,50
ризобії + лектин, 30 % ПВ	40,92 ± 2,01	0,53 ± 0,01

Залежність нітратного метаболізму від симбіотичної азотфіксації – типова властивість бобових рослин, часто зміни в активності нітрогенази та нітратредуктази пояснюють існуванням між ними тісного зв'язку, характер якого може бути різним. Припускають, що ці ферменти конкурують між собою за продукти фотосинтезу, молібден чи відновлені форми піридиннуклеотидів [5], показано, що продукт біологічної азотфіксації здатний інгібувати конститутивну активність нітратредуктази [8]. Водночас виявлено, що за певних умов обернений зв'язок між нітратредуктазою і нітрогеназою може переходити у прямий [2]. У наших дослідженнях застосування лектину приводило до підвищення і симбіотичної азотфіксації [4], і активності відновлення нітратів у листках рослин сої, інокульованої штамом 6346. Використання неактивного штаму 604к дозволило нам уникнути впливу симбіотично фіксованого азоту на НРА у сої. При цьому ефект від застосування лектину, хоч і інгібуючий, все ж спостерігався. У попередньо проведених дослідженнях [1] нами було зроблено припущення, що особливості динаміки НРА у сої, інокульованої штамом 604к, можуть бути пов'язані із утворенням бульбочок. Цілком імовірно, що саме особливості нодуляційного та азотфіксувального процесів, обумовлені властивостями штамів-інокулянтів і дією лектину, вплинули на формування реакцій рослин сої на посуху та визначили виявлені нами функціональні особливості нітратредуктази.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що внесення лектину сої в інокуляційну суспензію змінює нітратредуктазну активність у листках рослини-хазяїна та її реакцію на дію водного стресу, що, в свою чергу, визначається особливостями формування та функціонування симбіотичної системи соя – *B. japonicum*. Показано, що застосування лектину сумісно з активним штамом ризобій зменшує інгібуючий вплив нестачі вологи на активність нітратредуктази в листках рослин сої.

1. *Активність* відновлення нітратів та азотфіксація в симбіотичних системах соя – *Bradyrhizobium japonicum* за інокуляції штамми і транспозоновими мутантами на фоні різного забезпечення рослин мінеральним азотом / [С.Я. Коць, Л.М. Михалків, В.М. Мельник та ін.] // Сільськогосподарська мікробіологія: здобутки та перспективи (збірник наукових праць). — Чернігів, 2012. — С. 222—228.
2. *Активність* ферментів асиміляції азота у люцерны при різному забезпеченні мінеральним азотом / [С.Я. Коць, Е.П. Старченков, И.М. Ермоленко, О.В. Бунтова] // Физиология и биохимия культ. растений. — 1993. — Т. 25, № 6. — С. 546—553.
3. *Биологическая* фиксация азота: бобово-ризобиальный симбиоз. Т. 1 / [С.Я. Коць, В.В. Моргун, В.Ф. Патыка и др.]. — К.: Логос, 2010. — 508 с.
4. *Веселовська Л.І.* Вплив екзогенного лектину на ефективність симбіозу *Glycine max* – *Bradyrhizobium japonicum* в умовах посухи / Л.І. Веселовська, Л.М. Михалків, С.Я. Коць // Физиология растений и генетика. — 2013. — № 4 (45). — С. 319—326.
5. *Львов Н.П.* Взаимоотношение нитрогеназы и нитратредуктазы в клетках азотфиксаторов / Н.П. Львов, Ш.С. Буриханов, В.Л. Кретович // Прикладная биохимия и микробиология. — 1980. — №6 (XVI) — С. 805—817.

6. *Методы* биохимического исследования растений [ред. А.И. Ермаков]. — Л.: Колос, 1972. — 456 с.
7. *Yasuo F.* Effect of water stress on nitrate assimilation in soybean leaves / *Yasuo Fucutokum* // *Bull. Fac. Agr. Saga University.* — 1996. — 80. — P. 69—70.
8. *Li Z.Z.* Development and biochemical regulation of “constitutive” nitrate reductase activity in leaves of nodulating soybean / *Z.Z. Li, P.M. Jresshoff* // *Journal Experimental Botany.* — 1991. — 41. — P. 1231—1238.
9. *Lucinski R.* Nitrate reduction and nitrogen fixation in symbiotic association *Rhizobium-legumes* / *R. Lucinski, W. Polcyn, L. Ratajczak* // *Acta Biochimica Polonica.* — 2002. — Vol. 49, N 2. — P. 537—546.
10. *Padder B.M.* Effect of salinity and water stress in Mungbean (*Vigna radiate*) L. Wilczek var. Hum-1 / *B.M. Padder, R. Yadav, R.M. Agarwal* // *Plant Sciences Feed.* — 2012. — № 9 (2). — P. 130—134.

С.Я. Коць, Л.И. Веселовская, Л.М. Михалкив

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

НИТРАТРЕДУКТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ В ЛИСТЯХ СОИ, ИНОКУЛИРОВАННОЙ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*, НА ФОНЕ РАЗНОГО ВОДОБЕСПЕЧЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛЕКТИНА

Исследовали влияние экзогенного лектина сои на восстановление нитратов в листьях сои, инокулированной активным (634б) и неактивным (604к) штаммами ризобий, при оптимальном (60 % ПВ) и недостаточном (30 % ПВ) водообеспечении. Выявлено снижение нитратредуктазной активности при инокуляции сои активным штаммом 634б, под действием 6-суточной засухи. При этом применение лектина нивелировало данный эффект. На фоне инокуляции неактивным, но высоковирулентным штаммом 604к реакция нитратредуктазы на засуху и лектин существенно отличалась от таковой в случае использования *B. japonicum* 634б. Недостаток влаги существенно не влиял на нитратредуктазную активность у сои, инокулированной ризобиями без лектина, но повышал ее при использовании гемагглютинина.

Сделан вывод, что характер изменений нитратредуктазной активности в листьях под влиянием водного стресса связан с особенностями формирования симбиотических взаимоотношений между растениями сои и ризобиями.

Ключевые слова: нитратредуктаза, соя, *Bradyrhizobium japonicum*, азотфиксация, нодуляция, водообеспечение, лектин

S.Ya.Kots, L.I. Veselovska, L.M. Mychalkiv

Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine

THE NITRATE REDUCTASE ACTIVITY IN THE LEAVES OF SOYBEAN INOCULATED WITH *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* UNDER DIFFERENT WATER SUPPLY AND LECTIN APPLICATION

The influence of the exogenous soybean seed lectin on nitrate reduction in the leaves of soybean inoculated with active (634b) and inactive (604k) rhizobia strains under 60 % (optimal water supply) and 30 % of soil moisture saturation was investigated. It was found the decrease of nitrate reductase activity in soybean inoculated with active strain after 6-days drought. Using seed lectin discarded this effect. The activity of nitrate reductase during application of drought and lectin under the inoculation with inactive but high virulence strain 604k essentially differed from one in case of strain 634b. The water deficiency did not influence essentially on nitrate reductase activity of soybean inoculated with rhizobia without lectin adding but increased it in presence of hemmagglutinine.

It was concluded that the character of changes of nitrate reductase activity in soybean leaves influenced by water stress is connected to the peculiarities of the formation of symbiotic interaction between plants and rhizobia.

Keywords: nitrate reductase, soybean, *Bradyrhizobium japonicum*, nitrogen fixation, nodulation, water supply, lectin

Рекомендує до друку

Надійшла 17.04.2014

С.В. Пида

ДИНАМІКА ВМІСТУ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ У КОРЕНЯХ СОЇ ЗА ІНОКУЛЯЦІЇ РІЗНИМИ ЗА ЕФЕКТИВНІСТЮ ШТАМАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

Вивчали особливості складу моно- і дикарбонових кислот коренів рослин сої за інокуляції штамми *Bradyrhizobium japonicum* різної ефективності. Показано, що інокуляція сої ризобіями сприяє підвищенню вмісту бензойної, малонової, яблучної та бурштинової органічних кислот, які, як відомо, є адаптогенами за дії стресових чинників. При цьому їх кількість не залежала від ефективності штаму-інокулянта. Висунуто припущення, що інокуляція сої не лише покращує її азотне живлення, а й стимулює синтез сполук, які підвищують стійкість рослин до стресу.

Ключові слова: *Bradyrhizobium japonicum*, соя, органічні кислоти, метаболіти

У процесі формування бобово-ризобіального симбіозу клітини рослин і ризобії зазнають істотних структурних та біохімічних змін. Зокрема, в них синтезується низка метаболітів, необхідних для функціонування симбіотичного апарату. Тому, для покращення розуміння окремих фізіолого-біохімічних особливостей при формуванні симбіотичних систем необхідне дослідження метаболічного профілю рослин. Серед відомих метаболітів нами надано перевагу органічним кислотам. Виходячи з існуючих літературних даних про їх безпосередню участь у більшості фізіологічних реакцій, пов'язаних із ростом і розвитком рослин, та у рослинно-мікробних взаємодіях за мету було поставлено дослідити динаміку вмісту даних сполук при формуванні симбіотичних систем різної ефективності. Це дозволить виявити механізми регуляції ефективності взаємодії партнерів та з'ясувати роль біологічних молекул у метаболізмі симбіозів різної ефективності.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами дослідження були корені рослин сої (*Glycine max* L. Merr.) сорту Васильківська, інокульованої різними за ефективністю штамми *Bradyrhizobium japonicum* – 634б (активний, високовірулентний) і 604к (неактивний, високовірулентний) із музейної колекції азотфіксувальних мікроорганізмів відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України.

Відбори зразків рослин для аналізу проводили у фази бутонізації (I відбір), початок цвітіння (II відбір) і масового цвітіння (III відбір).

Екстракцію органічних кислот проводили за загальноприйнятою методикою виділення метаболітів із коренів рослин [3].

Зразки аналізували на хроматографі «Agilent GC system 7890A» (США) з мас-спектрометром 5975С, із застосуванням HP5MS капілярної колонки довжиною 30 м, внутрішній діаметр якої 0,25 мм, плівкою щільністю 0,25 мкм та постійним протоком гелію 1 мл/хв. Об'єм досліджуваного зразка становив 2 мкл. Запрограмована температура колонки від 80°C до 300°C. Повторність усіх визначень трьохразова.

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз метаболітів коренів сої, інокульованої штамми *B. japonicum* різної ефективності, дозволив виявити широкий спектр органічних кислот: монокарбонові, що включають ароматичні і аліфатичні, які в свою чергу поділяються на насичені та ненасичені; дикарбонові; моноцукри із карбоксильною групою (цукрові кислоти) та інші (табл. 1).

Спектр органічних кислот, виділених із коренів сої, інюкульованої штамми *V. japonicum* різної ефективності

МОНОКАРБОНОВІ			ДИКАРБОНОВІ	МОНОЦУКРИ З КАРБОКСИЛЬНОЮ ГРУПОЮ	ІНШІ
ароматичні	аліфатичні				
	насичені	ненасичені			
бензойна	мурашина	корична	щавелева	ксилонова	тіогліколева
анісова	оцтова	кротонова	малонова	глюконова	вугільна
	пропіонова		бурштинова	треонова	2-кетобутирова
	масляна		глутарова	манонова	2-кетоглутарова
	валеріанова		яблучна		гідроксибутирова
	гексанова		винна		
	пальмітинова		фумарова		
	стеаринова				
	пеларгонова				
	каприлова				

Усі ідентифіковані кислоти є основними компонентами циклу Кребса, метаболізму пірвіноградної кислоти, рослинно-мікробних взаємодій тощо.

Аналіз вмісту дикарбонівих кислот у коренях сої показав (табл. 2), що інюкуляція сої сприяє збільшенню вмісту малонової, бурштинової та яблучної кислот, порівняно із контрольним неінюкульованим варіантом. При цьому рівень малонової та яблучної кислот збільшувався з розвитком рослин. Фумарова кислота була ідентифікована лише у контрольному варіанті і лише у фази бутонізації та початку цвітіння. Більшість дикарбонівих кислот є основними компонентами вуглецевого та азотного метаболізмів, а також головними компонентами сигнального каскаду при формуванні стійкості рослин до стресів. Так, бурштинова кислота є стресовим адаптогеном та помірним активатором росту, що покращує засвоєваність речовин із ґрунту [1]. Малонова кислота є алелопатичним агентом, який у значній кількості синтезується рослиною у відповідь на дію різних патогенів, зокрема грибів роду *Fusarium* [1]. Здатність рослин до активного синтезу даних кислот є маркером їх стійкості до впливу негативних зовнішніх чинників.

Таблиця 2

Кількість дикарбонівих кислот, виділених із коренів сої, інюкульованої штамми *V. japonicum* різної ефективності, мг/1г зразка

Дикарбоніві кислоти	I відбір (бутонізація)			II відбір (початок цвітіння)			III відбір (масове цвітіння)		
	конт- роль	646	604к	конт- роль	646	604к	конт- роль	646	604к
малонова	0,59	1,14	1,33	0,20	1,50	1,69	1,57	3,15	2,65
бурштинова	0,11	0,20	0,22	0,11	1,26	1,06	0,21	0,59	0,84
яблучна	0,41	1,10	0,99	0,35	1,91	2,57	1,49	3,52	2,35
фумарова	0,07	-	0,01	0,07	-	-	-	-	-

Серед монокарбонівих кислот у відповідь на інюкуляцію змінювався рівень лише бензойної кислоти (табл. 3), яка відома своєю антимікробною дією [4].

Попередня обробка рослин даною кислотою підвищує стійкість рослин до інфекційних агентів, а також сприяє їх адаптації до холоду та посухи, оскільки вона є попередником синтезу саліцилової кислоти [2]. Разом із тим, саліцилової кислоти в досліджених зразках сої нами не виявлено.

Кількість монокарбонових кислот, виділених із коренів сої, інокульованої штамми *B. japonicum* різної ефективності, мг/1г зразка

Монокарбонові кислоти	I відбір (бутонізація)			II відбір (початок цвітіння)			III відбір (масове цвітіння)		
	конт- роль	646	604к	конт- роль	646	604к	конт- роль	646	604к
оцтова	0,44	0,31	0,90	2,64	0,37	0,09	0,10	0,19	0,18
пропіонова	5,74	4,71	2,02	1,69	3,81	2,71	3,48	3,39	2,31
масляна	0,44	-	-	0,02	0,22	0,11	0,20	-	0,22
валеріанова	-	0,04	-	0,04	0,04	0,24	-	0,13	-
пальмітинова	9,59	9,17	8,40	7,28	7,41	8,43	7,20	6,40	6,80
стеаринова	9,66	8,29	7,92	7,30	6,34	6,11	5,41	5,29	4,93
бензойна	0,18	0,40	0,38	0,20	1,44	1,36	0,65	1,57	1,46

Згідно літературних джерел, інокуляція рослин сприяє підвищеному синтезу монокарбонових жирних кислот, таких як стеаринова та пальмітинова, що є наслідком посиленого клітинного біосинтезу мембранних ліпідів [5]. Разом із тим найвищий вміст даних кислот був відмічений у варіанті без інокуляції. На нашу думку, це є наслідком завершення формування симбіозу в даний період та розвитком стресу в контрольних рослинах на фоні дефіциту азоту.

У результаті проведених нами досліджень вивчено у динаміці синтез органічних кислот протягом періоду активного функціонування симбіотичних систем *Glycine max*-*B. japonicum* різної ефективності. Отримані дані свідчать про те, що інокуляція як активними, так і неактивними штамми *B. japonicum* сприяє синтезу органічних сполук, які не лише беруть участь у функціонуванні симбіозу, а й здатні створювати передумови для підвищення стійкості рослин до стресових чинників.

1. *Allelopathic effect of root exudates on pathogenic fungi of root rot in continuous cropping soybean* / [Ju H., Han L., Wang S. et al.] // *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao.* — 2002. — 13, N 6. — P. 723—727.
2. *Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants* / [Senaratna T., Merritt D., Dixon K. et al.] // *Plant Growth Regulation.* — 2003. — 39, N 1. — P. 77—81.
3. *Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants* / [Lisec J., Schauer N., Kopka J. et al.] // *Nature protocols.* — 2006. — 1, N 1. — P. 387—396.
4. *Soybean Metabolites Regulated in Root Hairs in Response to the symbiotic bacterium *Bradyrhizobium japonicum** / [Brenchenmacher L., Lei Z., Libault M. et al.] // *Plant Physiol.* — 2010. — 153, N 4. — P. 1808—1822.
5. *Upchurch R.G. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress* / Upchurch R.G. // *Biotechnol Lett.* — 2008. — 30, N 6. — P. 967—977.

А.С. Левишко, П.Н. Маменко, С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

ДИНАМИКА ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В КОРНЯХ СОИ ИНОКУЛИРОВАННОЙ РАЗНЫМИ ПО ЭФФЕКТИВНОСТИ ШТАММАМИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

Данное исследование было проведено для оценки эффективности инокуляции *Glycine max* (соя) активным и неактивным штаммами *Bradyrhizobium japonicum* на метаболитный профиль (в частности органические кислоты) корней сои. Анализ органических кислот проводили с использованием ГХ-МС. Экспериментальные данные показали, что корни сои, инокулированной как активным, так и неактивным штаммами клубеньковых бактерий содержали большее количество органических кислот, по сравнению с контрольными растениями. Инокуляция сои ризобиями вызвала изменения в количественном соотношении бензойной, малоновой, яблочной и янтарной кислот. Исследования показывают, что инокуляция индуцирует синтез физиологически

активных веществ, стимулирующих устойчивость растений к отрицательным воздействиям окружающей среды. Таким образом, полученные данные не только способствуют пониманию некоторых аспектов взаимодействия бобовых и клубеньковых бактерий, а также могут быть использованы для разработки стратегии создания растений с высокой экологической пластичностью.

Ключевые слова: Bradyrhizobium japonicum, соя, органические кислоты, метаболиты

A.S. Levishko, P.M. Mamenko, S.Ya. Kots
Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine

DYNAMICS OF ORGANIC ACIDS IN SOYBEAN ROOTS INOCULATED BY *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* STRAINS WITH DIFFERENT SYMBIOTIC PROPERTIES

This study was conducted in order to assess the efficiency of the inoculation of *Glycine max* (soybean) with the active and inactive strains of *Bradyrhizobium japonicum* on the metabolite profile (in particular, organic acids) of soybean roots. The analysis of organic acids was performed using GC-MS. The experimental data showed that the soybean roots inoculated with active, as well as, with inactive strain of nodule bacteria contained more organic acids, in comparison to the roots which were not treated by rhizobia. Inoculation with nodule bacteria caused the changes in the quantitative ratio of benzoic, malonic, malic and succinic acids. The studies show that the inoculation of soybean seeds induces the synthesis of physiological active products in plants affected by stress and there by stimulates the plant resistance to environment stress. Thus, our findings contribute to the understanding of some aspects of the interaction between legumes and nodule bacteria, and besides, these data can be used for the developing of the strategy for the creation of plants with high ecological flexibility.

Keywords: Bradyrhizobium japonicum, soybean, organic acids, metabolites

Рекомендує до друку
С.В. Пида

Надійшла 29.04.2014

УДК 577.175.1 + 579.841.3 + 632.35

¹Н.О. ЛЕОНОВА, ¹Л.А. ДАНКЕВИЧ, ²С.Ф. ПАДАЛКО, ²Л.В. БОБИК, ¹І.В. ДРАГОВОЗ

¹Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680

²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
вул. Васильківська 31/17, Київ, 03022

СИНТЕЗ АУКСИНІВ ТА ЦИТОКІНІНІВ РІЗНИМИ ФІЗІОЛОГІЧНИМИ ГРУПАМИ МІКРООРГАНІЗМІВ РИЗОСФЕРИ ТА ФІЛОСФЕРИ СОЇ

Досліджено здатність до синтезу позаклітинних ауксинів і цитокінінів симбіотичними ризобіями, фосфатмобілізувальними бацилами та патогенними для сої бактеріями. Обговорено різну фізіологічну спрямованість дії фітогормонів–стимуляторів при формуванні взаємовідносин цих мікроорганізмів з рослиною–хазяїном, пов’язану з особливостями їх біології.

Ключові слова: ауксини, цитокініни, симбіотичні ризобії сої, фосфатмобілізувальні бактерії, фітопатогенні бактерії, рослинно-мікробні взаємодії

Рослинно-мікробні взаємодії в даний час активно вивчаються у багатьох країнах світу. Це зумовлено не тільки важливістю розуміння фундаментальних основ формування взаємовідносин

цих організмів, але і особливостями сучасного рослинництва, що все більше спрямовується до екологічно безпечних технологій.

Важливу роль у формуванні ефективних взаємодій між рослиною та окремими фізіологічними групами мікроорганізмів (симбіотичними, ризосферними, філосферними, епіфітними, патогенними тощо) можуть відігравати певні класи фітогормонів. Причому, фізіологічна доцільність синтезу окремих класів гормонів у цих груп мікроорганізмів дуже різниться. Зокрема, синтез ауксинів та цитокінінів бульбочковими бактеріями покращує колонізацію кореневої системи, підсилює нодуляцію, що у подальшому позитивно впливає на розвиток ефективної симбіотичної системи та підвищує урожайність рослин [7, 12]. Здатність до синтезу гормонів-стимуляторів росту і розвитку рослин іншими представниками ризосферних мікроорганізмів, зокрема, фосфатмобілізувальними бактеріями, є важливим чинником у процесі розпізнавання та їх взаємодії з рослиною [3, 10]. Оскільки багато ризосферних бактерій здатні синтезувати фітогормони, що стимулюють ріст і розвиток рослин, індукують фітоімунітет та підвищують стійкість до фітопатогенів і факторів зовнішнього середовища, напевно, фітогормони мікроорганізмів можуть відігравати позитивну роль у складі бактеріальних препаратів. Застосування таких препаратів дозволяє знизити норми використання азотних і фосфорних мінеральних добрив та пестицидів для оптимального розвитку рослин, а також зменшити рівень забруднення довкілля, одночасно підвищуючи врожай та якість продукції рослинництва.

З іншого боку, гіперсинтез фітопатогенними бактеріями ауксинів призводить до порушення гормонального статусу рослини та виникнення ряду захворювань, і розглядається як один з ключових факторів їх патогенності [3, 6]. Розуміння цих процесів у подальшому може допомогти генетикам та селекціонерам у створенні сортів, стійких до широкого чи вузького кола фітопатогенів різної природи.

Тому, метою досліджень була порівняльна характеристика кількісного та якісного складу ауксинів і цитокінінів, що синтезуються *in vitro* різними фізіологічними групами мікроорганізмів ризосфери та філосфери сої.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктами досліджень були бактерії родів: *Bradyrhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* і *Pantoea*. Досліджено високоефективні штами ризобій сої *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6018 і *B. japonicum* УКМ В-6035 та фосфатмобілізувальний штам *Bacillus megaterium* УКМ В-5724 з колекції відділу загальної та ґрунтової мікробіології ІМВ НАН України. Ці штами є основою комплексного інокулянту для передпосівної обробки насіння сої – ековіталу. У роботі також досліджували синтез фітогормонів наступними штамами фітопатогенних бактерій: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027 – класичний поліфаг, уражує понад 50 видів рослин, зокрема, і бобові культури; *Pantoea agglomerans* 8490 – поліфаг, збудник бактеріальної смугастості стебла сої; *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 8609 – монофаг, збудник пустульного бактеріозу сої. Використані у роботі штами збудників бактеріальних хвороб сої отримані з колекції відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАН України.

Культивування бульбочкових бактерій здійснювали в колбах об'ємом 750 мл на качалці (220 об/хв.) при 26–28°C та рН 6,6–7,0 протягом 72–96 год. у рідкому поживному манітно-дріжджовому середовищі. Фосфатмобілізувальний штам *B. megaterium* УКМ В-5724 вирощували впродовж 24 год. у середовищі Наумової в колбах об'ємом 750 мл на качалці (220 об/хв.) при 26–28°C та рН 6,6–7,0. Штами *P. syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027 та *P. agglomerans* 8490 культивували за тих самих умов протягом 24 год. у рідкому мінеральному середовищі Омелянського з додаванням 1% триптофану, а *X. axonopodis* pv. *glycines* 8609 – у рідкому поживному синтетичному середовищі Ліча протягом 48 год. Для відділення біомаси від екзополімерів культуральні рідини центрифугували протягом 20 хв. при 15000 g та кімнатній температурі. Клітини бактерій тричі відмивали від залишків екзополімерів фізіологічним розчином, кожний раз центрифугуючи 20 хв. при 5000 g та кімнатній температурі. Осад клітин висушували до постійної маси.

Позаклітинні фітогормони виділяли із супернатанту культуральних рідин бактерій методом перерозподілу у двох не змішуваних між собою фазах [2]. Подальше їх концентрування та очищення проводили методом препаративно-накопичувальної тонкошарової хроматографії.

ЕКОЛОГІЯ

Визначення якісного та кількісного складу фітогормонів–стимуляторів здійснювали методом спектроденситометричної тонкошарової хроматографії [1]. Кількість позаклітинних фітогормонів–стимуляторів розраховували в мкг на 1 г абсолютно сухої біомаси (АСБ) продуцента.

Результати досліджень та їх обговорення

Показано, що високою здатністю до синтезу позаклітинних ауксинів, зокрема, індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), характеризувався високоефективний мікросимбіонт сої *B. japonicum* УКМ В-6035 (табл. 1).

Таблиця 1

Позаклітинні ауксини симбіотичних ризобій сої *Bradyrhizobium japonicum* та фосфатмобілізувального штаму *Bacillus megaterium* УКМ В-5724

Ауксини	Кількість, мкг/г абсолютно сухої біомаси		
	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> УКМ В-6018	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> УКМ В-6035	<i>Bacillus megaterium</i> УКМ В-5724
Індоліл-3-оцтова кислота	8,9	772,8	7,5
Індол-3-карбоксілова кислота	4,6	слідові кількості	0,8

Натомість, інший високоефективний штам *B. japonicum* УКМ В-6018 та фосфатмобілізувальний штам *B. megaterium* УКМ В-5724 синтезували ауксини у незначних кількостях.

Отримані результати свідчать, що сумарний синтез ауксинів прямо не корелює з характеристикою ефективності штамів ризобій сої. З літератури відома "ауксинова" гіпотеза інфікування ризобіями коренів [11]. Зокрема, отримані дані частково свідчать на користь цієї гіпотези. Ймовірно, ефективність симбіозу пов'язана з синтезом інших класів гормонів-стимуляторів, зокрема цитокінінів, співвідношення яких з ауксинами може позитивно впливати на рослини в умовах симбіозу [4].

Спектр цитокінінів, синтезованих штамми *B. japonicum*, відрізнявся як за якісним, так і за кількісним складом (рис. 1). Так, високоефективний симбіонт УКМ В-6018, що синтезував невелику кількість ауксинів, навпаки продукував найбільшу кількість цитокінінів (~ 1555 мкг/г АСБ), серед яких переважав зеатин-рибозид. Штам також був здатний синтезувати велику кількість інших цитокінінів, зокрема, зеатину та ізопентеніл-аденозину. *B. japonicum* УКМ В-6035 синтезував менше позаклітинних цитокінінів, при цьому переважав синтез зеатин-рибозиду (більше 670 мкг/г АСБ), а співвідношення форм цитокінінів дещо відрізнялося від штаму УКМ В-6018: виявлено слідові кількості ізопентеніл-аденіну.

У попередніх дослідженнях нами показана пряма кореляція між симбіотичною ефективністю штамів бульбочкових бактерій та рівнем синтезу цитокінінів [5]. Так, досліджені мікросимбіонти сої *B. japonicum* накопичували у значних кількостях екзогенні цитокініни, зокрема зеатин-рибозид. Відомо, що рибозильований зеатин є транспортною формою цитокінінів, фізіологічна активність якої дуже низька. Синтез цієї форми цитокінінів при формуванні симбіотичних стосунків з бактеріями дозволяє рослині поглинати та транспортувати форму, що передається висхідним потоком до надземних органів рослини, де піддається гідролізу і включається в регуляцію метаболізму клітин, змінюючи пул фізіологічно активних цитокінінів у рослинних тканинах та підсилюючи певні ланки метаболізму [7, 11]. Ймовірно, чим вища здатність ризосферних бактерій до синтезу рибозильованих форм цитокінінів, тим вищий рівень їх спеціалізованої адаптації до рослини-господаря. Цитокініни визначають ефективність фітобактеріальних взаємовідношень у ризобій.

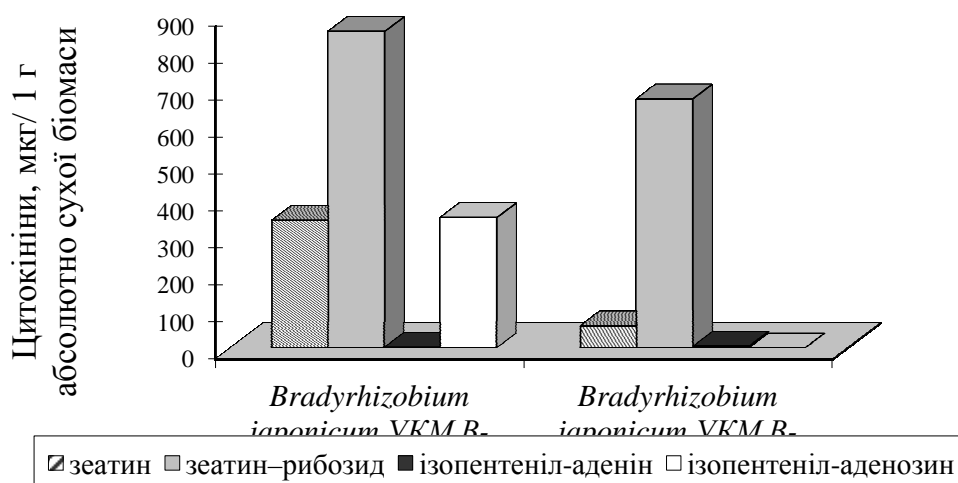


Рис. 1. Синтез позаклітинних цитокінінів високоефективними ризобіями сої

Фосфатмобілізувальний штам *B. megaterium* УКМ В-5724 також синтезував рибозильовані форми цитокінінів, хоча кількості зеатину та зеатин-рибозиду у культуральному середовищі були у 30-60 раз нижчими, ніж у ризобій сої (рис. 2). Це частково пояснюється біологічною особливістю штаму, активність якого у ґрунті спрямована на покращення фосфорного живлення рослин за рахунок гідролізу важкодоступних форм орґано- та мінералофосфатів. *B. megaterium* УКМ В-5724 має високу екологічну пластичність у мікробіоценозі і здатний продукувати позаклітинні фосфатази, що активно впливають на трансформацію фосфору в ґрунті.

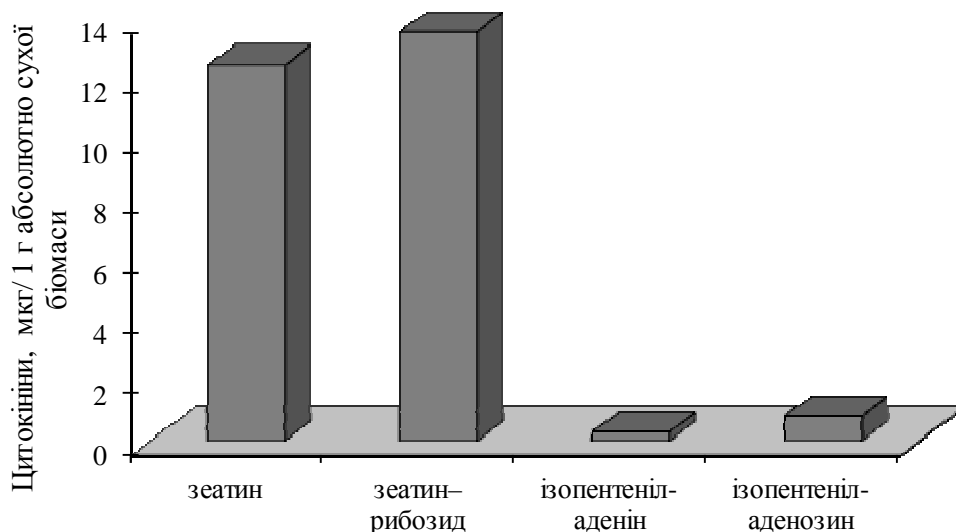


Рис. 2. Синтез позаклітинних цитокінінів фосфатмобілізувальним штамом *Bacillus megaterium* УКМ В-5724

Фітопатогенні бактерії, що уражують сою, також здатні до синтезу широкого спектру ауксинів та цитокінінів. Але, на відміну від ризобій сої та фосфатмобілізувального штаму, у фітопатогенних бактерій спостерігалася чітка залежність між їх здатністю уражувати широкий чи, навпаки, вузький спектр рослин та загальним рівнем синтезу ауксинів (табл. 2).

У штамів *P. syringae* pv. *syringae* В-1027 та *P. agglomerans* 8490, що окрім сої здатні викликати захворювання ряду інших сільськогосподарських рослин, виявлено значно вищий

ЕКОЛОГІЯ

рівень синтезу індольних сполук, порівняно із штамом *X. axonopodis* pv. *glycines* 8609, що викликає пустульний бактеріоз тільки рослин сої.

Таблиця 2

Позаклітинні ауксини та цитокініни фітопатогенних бактерій сої

Фітогормон	Кількість фітогормонів, мкг на 1г АСБ		
	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> B-1027	<i>Pantoea agglomerans</i> 8490	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> 8609
Ауксини			
ІОК + Індол-3-карбоксилова кислота	826,13	688,0	147,38
Індол-3-карбінол	106,18	слідові кільк.	слідові кільк.
Індол-3-оцтової кислоти гідразид	1055,6	слідові кільк.	слідові кільк.
Індол-3-карбоксальдегід	слідові кільк.	636,0	слідові кільк.
Загальна кількість ауксинів	1987,91	1327,0	147,38
Цитокініни			
Зеатин	слідові кільк.	31,51	15,60
Зеатин-рибозид	13,7	1695,0	52,30
Ізопентеніл-аденін	62,71	слідові кільк.	3,27
Ізопентеніл-аденозин	слідові кільк.	187,00	15,5
Загальна кількість цитокінінів	76,41	1913,51	102,27

У цих же збудників відмічено більш широкий спектр синтезованих ауксинів, що, ймовірно, також пов'язано з особливостями їх біології. Зокрема, у *P. syringae* pv. *syringae* B-1027 найбільший рівень синтезу індол-3-оцтової та індол-3-карбоксилової кислот тісно пов'язаний з синтезом одного з ключових його токсинів – сирінгоміцином. Раніше показано, що мутантні за синтезом ІОК штами *P. syringae* pv. *syringae* продукують менші кількості сирінгоміцину, ніж штами, здатні до синтезу даної індольної сполуки [8]. Достатньо велика кількість та широкий спектр ауксинів, що синтезовані штамом *P. agglomerans* 8490 також пов'язані з його біологією, оскільки цей вид може існувати як у складі епіфітної, ендofітної так і ризосферної мікрофлори, тобто бути у тих взаємовідносинах з рослиною, у яких важливу роль відіграє саме ІОК. Тому, згідно даних літератури, у представників цього виду виявлено два шляхи синтезу ІОК: через індол-3-ацетамід та перетворення індоліл-3-піровиноградної кислоти [9, 10]. Натомість збудник пустульного бактеріозу – *X. axonopodis* pv. *glycines* 8609 синтезує тільки ІОК та індол-3-карбоксилову кислоту, причому у невеликих кількостях, що, напевно, теж пов'язано з особливостями його біології.

Необхідно відзначити, що загальна кількість синтезованих фітопатогенними бактеріями ауксинів дещо вища порівняно з аналогічним показником у бульбочкових та фосфатмобілізувальних бактерій, що можна пояснити важливою роллю даних сполук у процесі інфікування рослин.

У досліджених фітопатогенних бактерій, що уражують сою, виявлено дещо нижчий, порівняно з ризобіями рівень і вузький спектр синтезу цитокінінів. Зокрема, найбільший спектр синтезованих позаклітинних цитокінінів (зеатин, зеатин-рибозид та ізопентеніл-аденін) та найвища їх кількість спостерігалася у штаму *P. agglomerans* 8490 (табл. 2). Крім того, він синтезує найбільшу кількість транспортної форми зеатину – зеатин-рибозид, що засвоюється корінням і транспортується в надземні органи рослин. Решта фітопатогенних бактерій здатна синтезувати незначний рівень цитокінінів, що, згідно даних літератури, можуть бути використані, зокрема, як додаткове функціональне джерело азоту.

Отже, синтез ауксинів і цитокінінів як бульбочковими і фосфатмобілізувальними, так і фітопатогенними бактеріями сої може бути пов'язаний з етапами їх взаємодії з рослиною. Зокрема, бульбочкові бактерії сої, на відміну від фітопатогенів та фосфатмобілізаторів, синтезують більш широкий спектр та більшу кількість цитокінінів, результатом чого є формування ефективних симбіотичних відносин з рослиною. Фосфатмобілізатори є

представниками ризосферної мікрофлори та синтезують невеликі кількості гормонів-стимуляторів, проте мають високу літичну активність екзоферментів щодо важкорозчинних сполук фосфору. Натомість, бактерії – збудники захворювань сої, здатні синтезувати більшу кількість і широкий спектр ауксинів, що можуть виступати одним з ключових факторів їх патогенності.

Висновки

Синтез ауксинів і цитокинінів різними фізіологічними групами мікроорганізмів ризосфери та філосфери сої суттєво різняться між собою, відіграючи важливу роль у процесах їх взаємодії з рослиною та відповідаючи особливостям їх біології (ризобії, фосфатмобілізувальні та фітопатогенні бактерії).

1. *Методические* подходы к определению фитогормонов с помощью спектроденситометрической тонкослойной хроматографии / [Савинский С.В., Кофман И.Ш., Кофанов В.И., Стасевская И.Л.] // Физиол. и биохим. культ. раст. — 1987. — 19, № 2. — С. 210—215.
2. *Методические* рекомендации по определению фитогормонов. — Киев: Ин-т ботаники АН УССР, 1988. — 78 с.
3. *Микроорганизмы* – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение / [Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И.] // Прикл. биохим. и микробиол. — 2006. — 42, № 2. — С. 133—143.
4. *Молекулярная* биология бактерий, взаимодействующих с растениями / [Спайнк Г., Кондорози А., Хукас П. Rhizobiaceae.]; под ред. И.А. Тихоновича, Н.А. Проворова. — Санкт-Петербург: ИПК «Бионт», 2002. — 568 с.
5. *Патент України на винахід* № 95878 МПК А01N 63/02 С05F 11/08. Спосіб визначення біологічної активності штамів бульбочкових бактерій роду *Bradyrhizobium* / Драговоз І.В., Леонова Н.О., Іутинська Г.О., Яворська В.К. // Опубл. 12.09.2011. — Бюл. № 17.
6. *Berner C.L.Pseudomonas syringae* phytotoxins: mode of action, regulation and biosynthesis by peptide and polyketide synthetases / Berner C.L., Alarcon-Chaidez F., Gross D.C. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 1999. — Vol. 93, N 2. — P. 266—292.
7. *Boiero L., Perrig D., Masciarelli O. et all.* Phytohormone production by the strains of *B. japonicum* and possible physiological and technological implications // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2007. — Vol. 74. — P. 874—880.
8. *Mazzola M.* A mutation in indole-3-acetic acid pathway *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* affect growth in *Phaseolus vulgaris* and syringomycin production / M. Mazzola, F.F. White // J. Bacteriology. — 1994. — Vol. 176, N 5. — P. 1374—1382.
9. *Patten Ch.L.* Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid / Ch.L. Patten, B.R. Glik // Can. J. Microbiol. — 1996. — Vol. 42, N 3. — P. 207—220.
10. *Phytohormones in soils: microbial production and function* / Ed. Frankenberger W. T., Arshad M. — New York: Dekker. — 1995. — 503 p.
11. *Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action.* / Ed. P.J. Davies. Dordrcht. Boston. London. — Kluwer Acad. Publishers. — 2004. — 750 p.
12. *Sraepen S., Vanderleyden J., Remans R.* Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling // FEMS Microbiol Rev. — 2007. — Vol. 31. — P. 425—448.

Н.О. Леонова, Л.А. Данкевич, С.Ф. Падалко, Л.В. Бобик, И.В. Драговоз

Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

СИНТЕЗ АУКСИНОВ И ЦИТОКИНИНОВ РАЗЛИЧНЫМИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМИ ГРУППАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ ФИЛОСФЕРЫ И РИЗОСФЕРЫ СОИ

Исследована способность к синтезу внеклеточных ауксинов и цитокининов у симбиотических ризобий, фосфатмобилизирующих бацилл и патогенных для сои бактерий. Обговорена различная физиологическая направленность действия фитогормонов-стимуляторов при формировании взаимоотношений этих микроорганизмов с растением-хозяином, связанная с особенностями их биологии.

Ключевые слова: ауксины, цитокинины, симбиотические ризобии фосфатмобилизирующие бактерии, фитопатогенные бактерии, растительно-микробные взаимодействия

N.O. Leonova, L.A. Dankevich, S.Ph. Padalko, L.V. Bobyk, I.V. Dragovoz

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

AUXINS AND CYTOKININS SYNTHESIS BY VARIOUS PHYSIOLOGICAL GROUPS OF MICROORGANISMS IN RHIZOSPHERE AND PHILLOSFERE OF SOYBEAN

A capacity of symbiotic rhizobia, phosphate mobilizing bacilli and pathogenic for soybean bacteria to synthesis of extracellular auxins and cytokinins has been researched. The various physiology influents of hormones-stimulants on forming of relationships of these microorganisms with a host plant, correlated with their biology have been discussed.

Keywords: auxins, cytokinins, symbiotic rhizobia, phosphate mobilizing bacteria, phytopathogenic bacteria, plant-microbial interaction

Рекомендує до друку

Надійшла 16.04.2014

С.Я. Коць

УДК 581.1:243.1

В.М. МЕЛЬНИК, Д.А. КІРІЗІЙ, С.Я. КОЦЬ

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022

ФОТОСИНТЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ТА АЗОТФІКСУВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ У РІЗНИХ ЗА ЕФЕКТИВНІСТЮ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМАХ СОЯ – *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

В умовах піщаної культури вивчали азотфіксувальну активність (АФА), газообмін CO₂ (інтенсивність фотосинтезу (ІФ), дихання (ІД)) та інтенсивність транспірації (ІТ) у листках сої, інокульованої різними за ефективністю Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum*. Виявлено пряму залежність між АФА корневих бульбочок та ІФ на різних етапах розвитку рослин. У фазу бутонізації високі показники АФА, ІФ й ІД спостерігали у сої, що формувала з ризобіями ефективний симбіоз. Зниження АФА, ІФ й ІТ відмічали у варіантах із інокуляцією насіння сої малоефективними Tn5-мутантами. Як наслідок, дефіцит азоту і зменшення інтенсивності поглинання CO₂, що його супроводжувало, призводили до зниження зернової продуктивності рослин у симбіотичних системах малої ефективності.

Ключові слова: азотфіксація, фотосинтез, дихання, транспірація, симбіоз, ефективність, соя, Bradyrhizobium japonicum

Адаптивне значення більшості мікробно-рослинних симбіозів полягає у використанні партнерами нових джерел живлення та енергії. У бобово-ризобіальних системах це досягається шляхом поєднання рослинного фотосинтезу і бактеріальної азотфіксації [7]. Біологічний азот експортується з бульбочок бобових у корені та надземну частину рослини. У свою чергу, фотоасиміляти слугують енергетичним матеріалом, С-акцепторами аміаку і джерелом вуглецю для росту корневих бульбочок [9]. На забезпечення симбіотичної азотфіксації витрачається 10–20% від загальної продукції фотосинтезу, необхідної для росту рослин [10]. Надходження в рослини фіксованих азотних сполук потребує включення механізмів їх асиміляції і перерозподілу між різними органами, що приводить до встановлення характерного для кожного рослинного генотипу співвідношення С:N [4]. Між споживанням фотоасимілятів і експортом із бульбочок азоту встановлюється баланс, який певною мірою визначає ефективність симбіозу, його фізіологічну доцільність для рослини. Проте питання, як у різні фази онтогенезу реалізуються потреби симбіотичної системи в азоті та вуглеці з урахуванням закономірностей її формування, росту і функціонування, є складними і до кінця не вивченими.

У цьому контексті доцільними є експерименти з використанням симбіотичних систем різної ефективності, створення яких можливе, зокрема, за рахунок застосування в якості мікосимбіонтів мутантів бульбочкових бактерій. Важливе місце у розширенні спектра мінливості ризобій займає транспозоновий мутагенез. За допомогою цього методу з використанням плазміди рSUP2021::Tn5 [11] були отримані різні за ефективністю мутанти *B. japonicum* 646 [5]. Метою було порівняти деякі показники активності фотосинтетичного апарату (інтенсивність фотосинтезу, дихання, транспірації листків) та азотфіксувальну активність різних за ефективністю симбіотичних систем, сформованих за участю сої (*Glycine max* (L.) Merr.) та Tn5-мутантів *B. japonicum* 646.

Матеріал і методи досліджень

Сою вирощували в умовах вегетаційного досліду по шість рослин у 8-кілограмових посудинах Вагнера на річковому піску за природного освітлення та вологості субстрату 60% ПВ. Джерелом мінерального живлення була суміш Гельрїгеля (0,25 норми азоту) з додаванням мікроелементів. Бульбочкові бактерії отримані з музейної колекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Перед посівом насіння сої сорту Мар'яна стерилізували 15 хв 70%-ним розчином етанолу і промивали водою. Інокуляцію насіння здійснювали зволоженням бактеріальною суспензією в концентрації 10^8 кл./мл. Контролем слугували рослини сої, оброблені штамами *B. japonicum* 6346 і 646. Відбір зразків для аналізу проводили у фазі появи 3-х справжніх листків, бутонізації та цвітіння. АФА вимірювали ацетиленовим методом [8] на газовому хроматографі «Chromatograf – 504» (Польща). ІФ й ІД листків визначали за допомогою установки, змонтованої на базі оптико-акустичного інфрачервоного газоаналізатора ГІАМ-5М (Росія), включеного за диференціальною схемою, і розраховували за загальноприйнятою методикою [6]. ІТ визначали вимірюванням вологості повітря термоелектричним мікропсихрометром до та після проходження через листову камеру. Дослідження проводили у 3–6-кратній біологічній повторності, результати обробляли статистично [3].

Результати досліджень та їх обговорення

Раніше показано [2], що отримані Tn5-мутанти *B. japonicum* 646 за симбіотичними характеристиками можна поділити на ефективні (21-2, 9-1 і 17-2) і малоефективні (35-2, 107 і 113). Нашими дослідженнями виявлено пряму залежність між АФА кореневих бульбочок та ІФ у листках сої на різних етапах її онтогенезу (табл. 1). Коефіцієнт кореляції між цими показниками був найвищим у період бутонізації рослин і становив 0,88 (для порівняння: у фазі 3-х справжніх листків і цвітіння – відповідно 0,61 і 0,70). Відмічено, що рослини, інокульовані Tn5-мутантами 35-2, і 113, характеризувалися зниженням АФА кореневих бульбочок та ІФ у листках порівняно з варіантами із обробкою насіння активними ризобіями.

Таблиця 1

Динаміка азотфіксувальної активності (АФА) кореневих бульбочок (мкмоль C_2H_4 /(рослину · год)) та інтенсивності фотосинтезу (ІФ) (мг CO_2 /(дм² · год)) у листках сої, інокульованої штамами і Tn5-мутантами *B. japonicum* 646

Варіант	Фаза розвитку рослин					
	3 справжніх листки		бутонізація		цвітіння	
	АФА	ІФ	АФА	ІФ	АФА	ІФ
Штам						
6346	1,04 ± 0,2	23,7 ± 0,8	1,76 ± 0,1	25,8 ± 0,9	5,07 ± 0,5	26,7 ± 0,2
646	1,08 ± 0,2	19,6 ± 0,3	5,83 ± 0,2	32,0 ± 0,8	2,18 ± 0,4	26,7 ± 1,1
Tn5-мутант						
21-2	2,01 ± 0,4	27,7 ± 0,9	6,46 ± 0,3	29,8 ± 0,9	4,32 ± 0,8	22,8 ± 0,8
9-1	0,24 ± 0,0	25,6 ± 0,6	3,88 ± 0,4	29,3 ± 1,6	6,87 ± 0,6	22,9 ± 0,6
17-2	0,62 ± 0,1	21,6 ± 1,1	2,81 ± 0,3	24,8 ± 0,5	4,09 ± 0,5	26,4 ± 1,1
35-2	0,16 ± 0,1	21,2 ± 1,1	0,82 ± 0,1	22,8 ± 1,0	0,29 ± 0,0	15,1 ± 1,1
107	0,03 ± 0,0	20,8 ± 1,1	2,05 ± 0,2	22,9 ± 0,7	2,34 ± 0,1	20,4 ± 1,0
113	0,04 ± 0,0	15,8 ± 0,8	0,75 ± 0,1	17,6 ± 0,9	0,09 ± 0,0	14,4 ± 1,0

ЕКОЛОГІЯ

Відомо, що дихання залежить від умов живлення рослин, перш за все азотного [9]. У фазу бутонізації високі показники ІД ми відмічали у рослин сої, що формували ефективний симбіоз із вихідним штамом 646 і Tn5-мутантами 21-2, 9-1 і 17-2 (табл. 2). У всіх варіантах, за винятком тих, у яких інокуляцію проводили Tn5-мутантами 17-2 і 107, спостерігали тенденцію до зниження ІД листків у період цвітіння порівняно з фазою 3-х справжніх листків. Коефіцієнт кореляції між ІД та ІФ у фази бутонізації та цвітіння становили відповідно 0,82 і 0,84.

Встановлено, що інокуляція рослин сої різними за активністю Tn5-мутантами неоднаково впливала на ІТ протягом періоду дослідження (табл. 2). У фазу цвітіння високу ІТ відмічали у варіантах з інокуляцією штамми 6346, 646 і мутантами 9-1 та 17-2, що формували із рослинами високоефективний симбіоз. У сої, бактеризованої малоєфективним Tn5-мутантом 113, протягом усього досліджуваного періоду спостерігали зниження ІТ порівняно з контролями.

Таблиця 2

Динаміка інтенсивності дихання (ІД) ($\text{мг CO}_2/(\text{дм}^2 \cdot \text{год})$) та транспірації (ІТ) ($\text{г H}_2\text{O}/(\text{дм}^2 \cdot \text{год})$) у листках сої, інокульованої штамми і Tn5-мутантами *V. japonicum* 646

Варіант	Фаза розвитку рослин					
	3 справжніх листки		бутонізація		цвітіння	
	ІД	ІТ	ІД	ІТ	ІД	ІТ
Штам						
6346	2,4 ± 0,2	1,70 ± 0,0	2,0 ± 0,7	2,02 ± 0,1	2,3 ± 0,4	1,90 ± 0,0
646	3,6 ± 0,3	1,47 ± 0,1	3,0 ± 0,6	2,01 ± 0,2	2,3 ± 0,4	2,02 ± 0,2
Tn5-мутант						
21-2	3,6 ± 0,5	2,10 ± 0,2	3,5 ± 0,1	1,92 ± 0,0	1,8 ± 0,1	1,58 ± 0,2
9-1	2,7 ± 0,4	1,79 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,02 ± 0,1	1,7 ± 0,7	1,60 ± 0,2
17-2	1,6 ± 0,0	1,76 ± 0,2	2,6 ± 0,4	2,02 ± 0,2	2,5 ± 0,7	1,83 ± 0,2
35-2	2,0 ± 0,6	1,67 ± 0,1	1,8 ± 0,6	1,72 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,51 ± 0,1
107	1,8 ± 0,4	1,70 ± 0,1	2,1 ± 0,8	1,93 ± 0,1	2,1 ± 0,4	1,58 ± 0,1
113	3,4 ± 0,5	1,03 ± 0,0	1,9 ± 0,6	1,56 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,43 ± 0,1

Рослини сої, інокульованої малоєфективними ризобіями, відчували дефіцит азоту, що викликало зниження ІФ одиниці площі листової поверхні. На фоні цього зменшувалася кількість CO_2 , яка поглинається цілою рослиною, що призводило до зниження її зернової продуктивності [1].

Вивчення співвідношення параметрів газообміну й азотфіксувальної активності є важливим для пошуку шляхів підвищення урожайності бобових рослин і лежить у площині оптимізації взаємовідносин між симбіотичним та фотосинтетичним апаратами, а точніше – у змозі останнього забезпечити асимілятами як енергетичні потреби бактероїдів, що фіксують азот у корневих бульбочках, так і процеси вегетативного росту, і, особливо, репродуктивного розвитку рослин. Методом транспозонового мутагенезу отримано Tn5-мутанти, які не лише характеризуються різними симбіотичними властивостями, а й викликають зміни у фізіологічних процесах у рослин – партнерів симбіозу, зокрема, по-різному впливають на газообмін CO_2 .

Висновки

Виявлено пряму залежність між АФА корневих бульбочок та ІФ на різних етапах розвитку рослин. У фазу бутонізації високі показники АФА, ІФ й ІД спостерігали у сої, що формувала із ризобіями ефективний симбіоз. Зниження АФА, ІФ й ІТ відмічали у варіантах із інокуляцією насіння малоєфективними Tn5-мутантами. Як наслідок, дефіцит азоту і зменшення інтенсивності поглинання CO_2 , що його супроводжувало, призводило до зниження зернової продуктивності рослин у симбіотичних системах малої ефективності.

1. *Василюк В.М.* Активність пероксидази і каталази у сої, інокульованої Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* / В.М. Василюк, О.Д. Кругова, Н.М. Мандровська, С.Я. Коць // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — Т. 39, № 4. — С. 334—342.
2. *Василюк В.М.* Динаміка фотосинтетичної й азотфіксувальної активностей та продуктивність сої, інокульованої Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum* / В.М. Василюк, Д.А. Кірізій, С.Я. Коць // Доповіді НАН України. — 2008. — № 1. — С. 147—152.
3. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
4. *Кретович В.Л.* Биохимия усвоения азота воздуха растениями / В.Л. Кретович. — М.: Наука, 1994. — 168 с.
5. *Маліченко С.М.* Транспозоновий мутагенез штамів *Bradyrhizobium japonicum* / С.М. Маліченко, В.К. Даценко, В.М. Василюк, С.Я. Коць // Физиология и биохимия культ. растений. — 2007. — Т. 39, № 5. — С. 409—418.
6. *Мокронос А.Т.* Онтогенетический аспект фотосинтеза / А.Т. Мокронос. — М.: Наука, 1981. — 196 с.
7. *Тихонович И.А.* Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции / И.А.Тихонович, Н.А. Проворов. — СПб.: Наука, 1998. — 194 с.
8. *Hardy R.W.F.* The acetylene-ethylene assay for N₂-fixation: laboratory and field evaluation / R.W.F. Hardy, R.D. Holsten, E.K. Jackson, R.C. Burns // Plant Physiol. — 1968. — Vol. 43, N 8. — P. 1185—1207.
9. *Hunt S.* Gas exchange of legume nodules and the regulation of nitrogenase activity / S. Hunt, D.B. Layzell // Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. — 1993. — Vol. 44. — P. 483—511.
10. *Phillips D.A.* Efficiency of symbiotic nitrogen fixation in legumes / D.A. Phillips // Annu Rev. Plant Physiol. — 1980. — Vol. 31, N 11. — P. 29—49.
11. *Simon R.* Plasmid vector for the genetic analysis and manipulation of rhizobia and other gram-negative bacteria / R. Simon, M. O'Connell, M. Labes, A. Puhler // Methods Enzymol. — 1986. — N. 118. — P. 640—659.

В.Н. Мельник, Д.А. Кірізій, С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ В РАЗНЫХ ПО ЭФФЕКТИВНОСТИ СИМБИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ СОЯ – *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

В песчаной культуре изучали азотфиксирующую активность (АФА), газообмен CO₂ (интенсивность фотосинтеза (ИФ), дыхание (ИД)) и интенсивность транспирации (ИТ) листьев сои, инокулированной разными по эффективности Tn5-мутантами *Bradyrhizobium japonicum*. Установлена прямая зависимость между АФА корневых клубеньков и ИФ на разных этапах развития растений. Коэффициент корреляции между этими показателями был максимальным в период бутонизации растений и составлял 0,88. В эту фазу высокую АФА, ИФ и ИД наблюдали у сои, которая формировала с ризобиями эффективный симбиоз по сравнению с вариантами с использованием малоэффективных клубеньковых бактерий. Снижение ИТ отмечали у растений, инокулированных малоэффективным Tn5-мутантом. Как результат, дефицит азота и уменьшение интенсивности поглощения CO₂, сопровождающий его, приводили к понижению зерновой продуктивности растений в симбиотических системах низкой эффективности.

Ключевые слова: азотфиксация, фотосинтез, дыхание, транспирация, симбиоз, эффективность, соя, *Bradyrhizobium japonicum*

V.N. Melnyk, D.A. Kiriziy, S.Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine

PHOTOSYNTHETIC PARAMETERS AND NITROGEN-FIXING ACTIVITY IN THE SYMBIOTIC SYSTEMS OF SOYBEAN – *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* WITH DIFFERENT EFFICIENCY

The effect of the inoculation of soybean by the Tn5 mutants of *Bradyrhizobium japonicum* revealing different efficiency on the nitrogen-fixing activity (NFA), CO₂ gas exchange (photosynthesis intensity (PI), respiration (RI)) and transpiration rate (TR)) of leaves were studied. Direct relationship between NFA of the root nodules and PI were established during different stages of plant development. The greatest correlation coefficient between these parameters 0.88 was observed during the budding stage. In this phase of plant development the NFA, PI and RI were higher in soybean forming effective symbiosis

with rhizobia as compared to the plants inoculated by ineffective nodule bacteria. It was shown that the TR was reduced in the plants inoculated with ineffective Tn5 mutant. As a result, the nitrogen deficiency and decline of the intensity of CO₂ absorption accompanying it, led to the decrease in grain productivity of plants in the symbiotic systems of low efficiency.

Keywords: nitrogen fixation, photosynthesis, respiration, transpiration, symbiosis, efficiency, soybean, Bradyrhizobium japonicum

Рекомендує до друку
В.П. Патика

Надійшла 16.04.2014

УДК: 581.135.5:579.262

Н.М. МЕЛЬНИКОВА

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
вул. Васильківська, 31/17, Київ, 03022

ФОРМУВАННЯ БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНОГО СИМБІОЗУ ЗА ДІЇ ЕКСУДАТІВ НАСІННЯ ЛЮПИНУ

Досліджували бульбочкоутворення у симбіозі люпин-*Bradyrhizobium sp.* (Lupinus) 359a за дії ексудатів насіння люпину, азотфіксуючу активність бульбочок та формування надземної частини рослин в умовах дрібноділянкових експериментів. Показано, що 6-ти годинний ексудат насіння люпину сприяв збільшенню кількості корневих бульбочок у період розвитку рослин 8-10 листків, тоді як 20-ти годинний ексудат підвищував азотфіксуючу активність бобово-ризобіального симбіозу.

Ключові слова: ексудати насіння, люпин, бобово-ризобіальний симбіоз, азотфіксація, бульбочкоутворення

Бобово-ризобіальний симбіоз є одним із найбільш потужних джерел біологічного азоту, функціонування якого забезпечує рослини доступними сполуками цього елемента, що сприяє покращенню їх росту і розвитку.

Під час набухання і проростання насіння бобових виділяє в навколишнє середовище низку біологічно активних речовин, зокрема флавоноїди, які викликають експресію генів нод-факторів бульбочкових бактерій [7], лектин – гемаглютинуючий білок, який може суттєво впливати на розвиток бобово-ризобіального симбіозу [3] та інші сполуки, які сприяють розвитку симбіотичних взаємовідносин [9]. З огляду на те, що взаємодія між партнерами симбіозу розпочинається ще на доконтактному рівні, коли відбувається активізація необхідних для симбіотичного кооперування фізіологічних процесів у макро- та мікроорганізмів, ексудати, зокрема насінні, можуть мати значний вплив на формування бобово-ризобіального симбіозу. Метою роботи було дослідити спрямованість дії ексудатів насіння люпину, зібраних на різних етапах проростання, на формування бульбочок бактеріями *Bradyrhizobium sp.* (Lupinus) 359a, азотфіксуючу активність останніх у симбіозі з люпином та розвиток надземної частини рослин в умовах дрібноділянкових експериментів.

Матеріал і методи досліджень

У дослідженнях використовували бульбочкові бактерії люпину *Bradyrhizobium sp.* (Lupinus) 359a, надані з колекції Всеросійського НДІ сільськогосподарської мікробіології (Санкт-Петербург, Росія), які вирощували на манітно-дріжджовому середовищі, а також рослини люпину (*Lupinus luteus* L.) сорту Круглик. Насіння стерилізували 15% H₂O₂, промивали стерильною водою і пророщували в чашках Петрі з додаванням стерильної води при 24⁰С протягом 6-ти та 20-ти годин. Ексудати стерилізували за допомогою мембранного фільтру (Millipore Co., США) та вимірювали в них кількість білку за Вітакером [10]. Росту активність бактерій *Bradyrhizobium*

sp. (*Lupinus*) 359a за дії ексудатів визначали методом лунок. Досліди з вивчення впливу ексудатів насіння люпину на формування бобово-ризобіального симбіозу проводили у дрібноділянкових експериментах (сірий лісовий супіщаний ґрунт) з рендомізованим розміщенням облікових ділянок. Промите стерильною водою насіння люпину інокулювали суспензією ризобій (титр 10^7 клітин/мл) протягом години і висівали. Ризобії вирощували в рідкому живильному середовищі з додаванням ексудатів у кількості 15 мкг/мл при 28°C протягом 12-ти діб. Відбір рослин для аналізу здійснювали у період, коли сформувалися 8-10 справжніх листків. Визначали кількість і масу бульбочок, їх азотфіксувальну активність [5] на хроматографі Agilent 6850 (США), а також масу надземної частини рослин. У контрольному варіанті використовували ризобії, які не інкубували з ексудатами. Було проведено два окремих досліди з чотирикратною повторністю кожен. Одержані дані статистично обраховували [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Насіння бобових може виділяти речовини, які здатні пригнічувати ріст ризобій [8]. Як свідчать експериментальні дані 6-ти та 20-ти годинні ексудати насіння люпину не інгібували ростової активності бактерій *Bradyrhizobium sp.* (*Lupinus*) 359a, що вказує на можливість їх інкубування з культурою цих мікроорганізмів. Відомо, що біологічно активні речовини нерівномірно виділяються насінням на різних етапах проростання [4, 7]. Тому ексудати, зібрані у перші години проростання насіння та протягом періоду, що передує появі корінця, будуть по-різному впливати на розвиток симбіотичних азотфіксувальних систем. Як видно з таблиці 1, досліджувані нами ексудати насіння люпину стимулювали бульбочкоутворення протягом початкових етапів формування бобово-ризобіального симбіозу (період розвитку рослин 8-10 листків). При цьому ексудат насіння люпину, зібраний протягом перших 6 годин проростання, сприяв збільшенню кількості бульбочок порівняно до контролю та незначному зростанню їх маси. Азотфіксувальна активність і маса рослин у цьому варіанті не відрізнялись від показників, характерних для контрольних рослин (табл. 2). В умовах короткотривалого інкубування з ризобіями 6-ти годинний ексудат насіння люпину також покращував бульбочкоутворення [2]. У разі використання виділень, зібраних протягом 20-ти годинного проростання насіння люпину, спостерігалось підвищення азотфіксувальної активності симбіозу люпин-*Bradyrhizobium sp.* (*Lupinus*) 359a та збільшення кількості сформованих на коренях люпину бульбочок, хоча воно було недостовірним (табл. 2). Інтенсивний відтік фотоасимілятів до азотфіксувального апарату, ймовірно, призвів до зниження маси надземної частини рослин та сповільнення наростання маси бульбочок (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Кількість та маса бульбочок, сформованих *Bradyrhizobium sp.* (*Lupinus*) 359a за дії ексудатів насіння люпину

Варіант	Кількість бульбочок, шт./ рослину	Маса бульбочок, мг/ рослину
контроль	18,0 ± 1,3	81,0 ± 7,1
ЕНЛ6	23,7 ± 2,3	86,0 ± 7,8
ЕНЛ20	21,3 ± 1,5	66,1 ± 6,1

Примітка. Тут і в таблиці 2 контроль – бульбочкові бактерії не обробляли ексудатами; ЕНЛ6 – 6-ти годинний ексудат насіння люпину; ЕНЛ20 – 20-ти годинний ексудат насіння люпину.

Таблиця 2

Вплив ексудатів насіння люпину на азотфіксувальну активність (АФА) симбіозу люпин-*Bradyrhizobium sp.* (*Lupinus*) 359a та масу надземної частини рослин

Варіант	АФА, нмоль C ₂ H ₄ /(г бульбочок х год)	Маса надземної частини, г/рослину
контроль	27,10 ± 0,39	3,64 ± 0,25
ЕНЛ6	26,05 ± 2,67	3,71 ± 0,24
ЕНЛ20	32,82 ± 1,61	2,87 ± 0,23

Одним із механізмів стимулюючої дії насінневих ексудатів може бути наявність у їх складі лектинів та флавоноїдів, які здатні позитивно впливати на бульбочкоутворення [3]. Було показано, що у перші години набухання і проростання насіння бобових ексудати можуть містити значну кількість лектину [4] та флавоноїдів [7]. Ймовірно з цим пов'язане збільшення кількості бульбочок у варіанті з 6-ти годинним ексудатом (табл. 1). У більш пізні фази проростання насіння вміст лектину і флавоноїдів у ексудатах зменшується, а також змінюється співвідношення цих [4, 7] та інших біологічно активних сполук, що може відігравати важливу роль у здатності 20-ти годинного ексудату стимулювати процес азотфіксації у бульбочках (табл. 2). Важливим фактором, який визначає характер впливу ексудатів на формування бобово-ризобіального симбіозу, є модулююча взаємодія окремих компонентів ексудатів [6].

Висновки

Ексудати насіння люпину відіграють важливу роль у формуванні симбіозу люпину з ризобіями. Спрямованість впливу ексудатів залежить від тривалості періоду проростання насіння, протягом якого вони були зібрані. Ексудат насіння люпину, зібраний протягом 6-ти годин проростання, стимулює бульбочкоутворення у період розвитку рослин 8-10 листків, тоді як 20-ти годинний ексудат сприяє збільшенню азотфіксувальної активності симбіотичної системи люпин-*Bradyrhizobium sp.* (Lupinus) 359a.

1. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М.: Колос, 1985. — 371 с.
2. Мельникова Н. Н. Влияние семенных экссудатов бобовых растений на формирование бобово-ризобияльного симбиоза / Н. Н. Мельникова, С. В. Омельчук // Прикл. биохим. микробиол. — 2009. — Т.45, № 3. — С. 331—337.
3. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих микроорганизмов / [С. Я. Коць, С. К. Береговенко, Е. В. Кириченко, Н. Н. Мельникова]. — Киев: Наук. думка, 2007. — 315 с.
4. Fountain D. W. Lectin release by soybean seeds / D. W. Fountain, D. E. Foard, W. D. Replogle, W.K. Yang // Science. — 1977. — V. 197, N 4309. — P. 1185—1187.
5. Hardy R. W. F. The acetylene – ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation / R.W.F. Hardy, R. D. Holsten, E. K. Jackson, R. C. Burns // Plant Physiol. — 1968. — V. 43, N 8. — P.1185—1207.
6. Hartwig U. A. Interactions among flavonoid nod gene inducers released from alfalfa seeds and roots / U.A. Hartwig, C. A. Maxwell, C. M. Joseph, D. A. Phillips // Plant Physiol. — 1989. — V. 91, N 3. — P. 1138—1142.
7. Hartwig U. A. Chrysoeriol and luteolin released from alfalfa seeds induce nod genes in *Rhizobium meliloti* / U. A. Hartwig, C. A. Maxwell, C. M. Joseph, D. A. Phillips // Plant Physiol. — 1990. — V. 92, N 1. — P. 116—122.
8. Materson L. A. Survival of *Rhizobium trifolii* on toxic and non-toxic arrowleaf clover seeds / L.A. Materson, R. W. Weaver // Soil Biol. Biochem. — 1984. — V. 16, N 5. — P. 533—535.
9. Ndakidemi P. A. Legume seed flavonoids and nitrogenous metabolites as signal and protectants in early seedling development / P. A. Ndakidemi, F. D. Dakora // Functional Plant Biol. — 2003. — V. 30, N 7. — P. 729—745.
10. Whitaker J. R. An absolute method for protein determination based on difference in absorbance at 235 and 280 nm / J. R. Whitaker, P. E. Granum // Anal. Biochem. — 1980. — V. 109, N 1. — P. 156—159.

Н.Н. Мельникова

Институт физиологии растений и генетики НАН Украины

ФОРМИРОВАНИЕ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКССУДАТОВ СЕМЯН ЛЮПИНА

При прорастании семена бобовых выделяют в окружающую среду ряд биологически активных веществ, которые способствуют развитию бобово-ризобияльного симбиоза. В условиях мелкоделяночных экспериментов исследовали клубенькообразование в симбиозе люпин-*Bradyrhizobium sp.* (Lupinus) 359a под влиянием экссудатов семян люпина, азотфиксирующую активность клубеньков и формирование надземной части растений. Показано, что экссудаты семян люпина играют важную роль в формировании бобово-ризобияльного симбиоза у растений люпина. Направленность действия экссудатов зависела от длительности периода прорастания семян, на протяжении которого они были собраны. 6-ти часовой экссудат семян люпина способствовал увеличению количества корневых клубеньков в период развития растений 8-10 листьев, тогда как 20-ти часовой экссудат незначительно стимулировал клубенькообразование и повышал азотфиксирующую активность бобово-ризобияльного симбиоза.

Ключевые слова: экссудаты семян, люпин, бобово-ризобияльный симбиоз, азотфиксация, клубенькообразование

N. M. Melnykova

Institute of Plant Physiology and Genetics of NAS of Ukraine

FORMATION OF THE LEGUME-RHIZOBIUM SYMBIOSIS UNDER INFLUENCE OF LUPINE SEED EXUDATES

The range of biologically active substances promoting the development of the legume-Rhizobium symbiosis is released into the environment during the germination of legume seeds. The nodulation in the lupine-*Bradyrhizobium sp.*(Lupinus) 359a symbiosis under influence of lupine seed exudates, nitrogen fixation and the formation of the aboveground part of plants were studied in field experiments. It was shown that the exudates from lupine seeds played important role in the development of the legume-Rhizobium symbiosis in lupine plants. The direction of exudate acting on symbiosis establishment depended on seed germination period that gave this excretion. The exudate collected after 6 h of lupine seed germination increased root nodule number when the lupine plants had 8-10 leaves. At the same time 20 h exudate weakly stimulated the nodulation and increased nitrogen fixation activity of the legume-Rhizobium symbiosis.

Keywords: seed exudates, lupine, legume-Rhizobium symbiosis, nitrogen fixation, nodulation

Рекомендує до друку

Надійшла 29.04.2014

С.В. Пида

УДК 631.461.5:633.11

Т.М. МЕЛЬНИЧУК, Л.О. ЧАЙКОВСЬКА, І.О. КАМЕНЄВА, А.І. ЯКУБОВСЬКА,
О.А. ЛОЛОЙКО

Інститут сільського господарства Криму НААН України
вул. Київська, 150, Сімферополь, 95453, АР Крим

ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ВЗАЄМОДІЇ БІОАГЕНТІВ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА РОСЛИН

Виявлено ефективність застосування комплексу мікробних препаратів різної функціональної дії, яка виражена в підвищенні потенціальної азотфіксуючої активності ризосферного ґрунту більше, ніж в 2 рази і урожайності пшениці озимої на 38%. Встановлено, що при забрудненні ґрунту ВМ вміст сульфоліпідів у листках пшениці озимої знижувався на 16 - 31% проти контролю залежно від рівня ГДК ВМ, тоді як при бактеризації зростав до 10% порівняно з небактеризованими рослинами.

Ключові слова: азотфіксуюча активність, діазотрофи, сульфоліпіди, жирні кислоти, комплекс мікробних препаратів, пшениця озима

Відомо, що важливі для природи процеси фотосинтезу та азотфіксації забезпечують симбіози рослин та мікроорганізмів. Ризосферні бактерії забезпечують рослини азотом, використовуючи як трофічну основу кореневі виділення. На долю фіксованого азоту атмосфери вільноживучими і асоціативними діазотрофами приходиться приблизно 30% від загальної кількості біологічного азоту [3]. В природних умовах рослини зазнають впливу різноманітних несприятливих чинників: вірусної та бактеріальної інфекцій, важких металів (ВМ), посухи, засолення тощо. Відомо, що посередниками між несприятливими умовами (зокрема токсичністю ВМ) та рослинами є мікроорганізми, вони сприяють значному зростанню стійкості макросимбіоту до стресу [1].

В аграрному виробництві широко використовуються мікробні препарати, основу яких складають мікроорганізми різної функціональної дії: азотфіксація, рістстимуляція, фосфатмобілізація, антагонізм до фітопатогенів.

Мета наших досліджень полягала у вивченні штамів-біоагентів мікробних препаратів різних за домінуючими властивостями та їх впливу на нітрогеназну активність ризосфери пшениці озимої, а також впливу бактеризації (Фосфоентерин) на вміст сульфоліпідів у листках пшениці озимої на ранніх етапах онтогенезу за стресової дії ВМ.

Матеріал і методи досліджень

Польові досліди з пшеницею озимою (*Triticum aestivum* L.) сорту Заможність проведені на чорноземі південному малогумусному, важко суглинковому після чорного пару. Для передпосівної інокуляції насіння використано біопрепарати Діазофіт (*Rhizobium radiobacter* 204, азофіксатор), Фосфоентерин (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3, фосфатмобілізатор), Біополіцид (*Paenibacillus polymyxa* П, антагоніст до фітопатогенів) та КБП (комплекс бактеріальних препаратів: Діазофіт, Фосфоентерин, Біополіцид у пропорції 1:1:1) із розрахунку 100 см³/га, контроль — вода. Зразки ґрунту ризосфери відбирали у фазу цвітіння пшениці. Чисельність аеробних діазотрофів враховували на середовищі Виноградського для азотфіксаторів [2]. Потенційну нітрогеназну активність визначали ацетиленовим методом на газовому хроматографі „Chrom” 5 [3].

Вміст метилових ефірів жирних кислот у культуральній рідині та кореневих ексудатах визначали методом хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС) на газовому хроматографі Agilent Technologies 6890n з квадрупольним мас-селективним детектором (мас-спектрометром) Agilent 5973n Еі/рсі аналізували водну суспензію та культуральну рідину, що над осадом [5].

Вегетаційні модельні досліди проведено в теплиці, об’єкт: пшениця озима *Triticum aestivum* L. сорту Фантазія одеська. Для передпосівної інокуляції насіння використано біопрепарат Фосфоентерин, контроль — без інокуляції. Рослини вирощували у вегетаційних посудинах протягом 6 тижнів, ґрунт: чорнозем південний. Перед висівом насіння в кожен із посудин внесено солі ВМ: Рb(CH₃COO)₂, CuSO₄, К₂CrO₄ з розрахунку, що відповідав наступним рівням забруднення: 1ГДК та 5ГДК. У контролі ВМ не вносили. Вміст сульфоліпідів у листках визначали за методикою Зіла та Хармона в модифікації Яковенко і Михно [4, 6].

Результати досліджень та їх обговорення

У наших дослідженнях встановлено, що біоагенти досліджуваних препаратів не виявляють антагоністичної дії один до одного *in vitro*, отже, вони можуть застосовуватись для бактеризації насіння сумісно.

Важливе значення у азотному живленні рослин займає угруповання діазотрофів, які в умовах енергетичного забезпечення здатні асимілювати молекулярний азот повітря. Відмічено збільшення діазотрофів у варіантах з інокуляцією в 2-3 рази в порівнянні з контролем (таблиця).

Таблиця

Чисельність азотфіксувальних мікроорганізмів і потенційна азотфіксувальна активність (ПАА) у ризосфері пшениці озимої сорту Заможність (польовий дослід, чорнозем південний, фаза цвітіння)

Варіант досліду	Діазотрофи, млн. КУО /1 г а.с.г.	Азотобактер, %	ПАА, нМоль С ₂ Н ₄ /г-годину
Контроль	3,3±0,09	54	148±4,36
Діазофіт	6,5±0,03	78	215,3±33,58
Фосфоентерин	6,5±0,08	60	184,8±26,10
Біополіцид	5,7±0,23	56	292,0±11,10
КБП	8,4±0,47	56	344,4±53,22

Індикатором агрохімічного стану ґрунтів є *Azotobacter*, здатний існувати як вільно у ґрунті, так і в асоціації з рослиною, у тому числі з пшеницею. Стимуляцію розвитку азотобактеру відмічено у варіантах з Діазофітом і Фосфоентерином. Потенційна азотфіксувальна активність ризосферного ґрунту підвищується у варіантах з бактеризацією насіння, а найбільший її показник 344,4±53,22 С₂Н₄/г-годину зафіксовано у варіанті з КБП, що можна пояснити позитивною взаємодією штамів.

Відмічено високу ефективність бактеризації насіння пшениці озимої: максимальну прибавку урожаю в 1,26 т/га (38%) забезпечив комплекс біопрепаратів (КБП) при 3,31 т/га у контролі.

Важливу роль у обмінних процесах між клітинами та оточуючим середовищем відіграють ліпіди, зокрема жирні кислоти та сульфоліпіди, які є джерелом енергії та структурними компонентами клітинних мембран. Необхідною структурною та функціональною складовою молекули будь-якого класу ліпідів є жирні кислоти, які володіють різноманітною біологічною активністю та беруть участь в адаптації організму до оточуючого середовища.

У лабораторних дослідках визначено вміст жирних кислот у штамів бактерій – біоагентів препаратів. Встановлено, що штам *R. radiobacter* 204 вирізнявся за кількісним і компонентним складом. У нього виявлено 13 жирних кислот, які подані в порядку зменшення їх кількості (від 485 до 8 мкг/см³): пальмітинова, олеїнова, пальмітолеїнова, лінолева, міристинова, стеаринова, пентадеканова, арахінова, лауринова, маргарінова, бегенова, каприлова, капронова. За компонентним складом штами *E. nimipressuralis* 32-3 та *P. polymyxa* П відрізнялись від азотфіксатора відсутністю бегенової і арахінової та наявністю ундецилової, ліноленої і пеларгонової кислот, а між собою – лише за їх кількістю.

Однією з складових мембранних структур пластид є сульфоліпіди, які підтримують оптимальний рівень перебігу фотосинтетичних процесів у хлоропластах. Відмічено негативну дію ВМ на вміст цього компоненту ліпідного комплексу в листках пшениці озимої. Так, забруднення ґрунту ВМ на рівні 1 ГДК призвело до зниження вмісту сульфоліпідів у листках пшениці на 16% проти контролю (11,0 мг/г сирової маси проти 13,17 мг/г). А за збільшення рівня забруднення ґрунту ВМ до 5 ГДК вміст сульфоліпідів у листках пшениці знизився до 9,07 мг/г сирової маси, що було меншим, ніж контрольні показники на 31%.

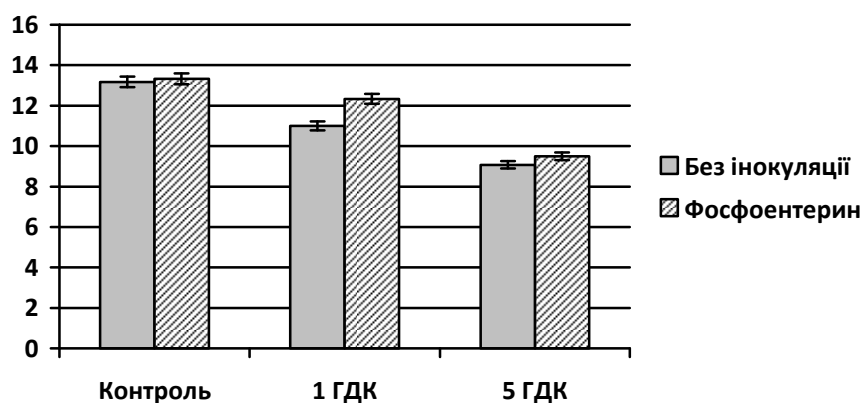


Рисунок. Вміст сульфоліпідів у листках пшениці озимої, мг/г сирової маси

Використання Фосфоентерину для передпосівної бактеризації насіння сприяло зростанню вмісту сульфоліпідів у листках пшениці. Їх вміст в листках бактеризованих рослин, порівняно з небактеризованими, зростав при забрудненні ґрунту ВМ на рівні 1 ГДК на 12%: 12,33 мг/г сирової маси проти 11,0 мг/г, а при 5 ГДК – на 5%: 9,50 мг/г сирової маси проти 9,07 мг/г. Отже, отримані результати свідчать про позитивну дію передпосівної бактеризації насіння (Фосфоентерин) на складові ліпід-пігментного комплексу пшениці озимої на ранніх етапах онтогенезу рослин, що сприяє пом'якшенню стресової дії при забрудненні ґрунту ВМ.

Висновки

1. Показана ефективність застосування комплексу мікробних препаратів різної функціональної спрямованості, яка виражена в підвищенні потенціальної азотфіксувальної активності ризосферного ґрунту і урожайності пшениці озимої на 38% до контролю.

2. Встановлено, що при забрудненні ґрунту ВМ вміст сульфоліпідів у листках пшениці озимої знижувався на 16 - 31% проти контролю залежно від рівня ГДК ВМ. Виявлено, що в

листяках бактеризованих рослин вміст сульфоліпідів зростає до 10% порівняно з небактеризованими рослинами.

1. *Белимов А.А.* Микробиологические аспекты устойчивости и аккумуляции тяжелых металлов у растений / А.А. Белимов, И.А. Тихонович // Сельскохозяйственная биология. 2011. — № 3. — С. 17—22.
2. *Звягинцев Д.Г.* Почва и микроорганизмы / Д.Г. Звягинцев. — М.: Изд-во МГУ, 1987. — 207 с.
3. *Умаров М.М.* Ассоциативная азотфиксация. М.: Изд. Моск. Ун-та, 1986. — 136 с.
4. *Яковенко Г.М.* Метод выделения и разделения по классам липидов листьев и хлоропластов растений / Г.М. Яковенко, А.И. Михно // Физиол. и биохимия культурных растений. — 1971. — Т. 3, № 6. — С. 651—656.
5. *Carrapiso A.I.* Development in lipid analysis: some new extraction techniques and in situ transesterification / A.I. Carrapiso, C. Garcia // Lipids. — 2000. — Vol. 35, № 11. — P. 1167—1177.
6. *Zill L.* Lipids of photosynthetic tissue. I. Salicylic acid chromatography of the lipids from whole leaves and chloroplasts / L. Zill, E. Harmonn // Biochem. Biophys. Acta. — 1962. — Vol. 57. — P. 573—575.

Т.Н. Мельничук, Л.А. Чайковская, И.А. Каменева, А.И. Якубовская, А.А. Лолойко

Институт сельского хозяйства Крыма НААН

ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БИОАГЕНТОВ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ И РАСТЕНИЙ

Изучали взаимодействие биоагентов микробных препаратов Диазофит (*Rhizobium radiobacter* 204, азотфиксатор), Фосфоэнтерин (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3, фосфатмобилизатор), Биополицид (*Paenibacillus polymyxa* П, антагонист фитопатогенов), влияние их отдельно и в комплексе на растения пшеницы озимой, а также действие бактериализации (Фосфоэнтерин) на содержание сульфолипидов в листьях на ранних этапах онтогенеза при стрессовом воздействии тяжелых металлов (ТМ).

Установлено, что биоагенты исследуемых препаратов, не проявляют антагонистического действия друг к другу *in vitro*, следовательно, могут применяться для бактериализации семян совместно. Штамм *R. radiobacter* 204 отличался по количественному и компонентному составу жирных кислот от *E. nimipressuralis* 32-3 и *P. polymyxa* П, тогда как последние только по их количеству.

Выявлена эффективность применения комплекса микробных препаратов различного функционального действия, выраженная в повышении потенциальной азотфиксирующей активности ризосферной почвы более, чем в 2 раза и урожайности озимой пшеницы на 38%. Установлено, что при загрязнении почвы ТМ содержание сульфолипидов в листьях озимой пшеницы снижалось на 16-31% против контроля в зависимости от уровня ПДК ТМ, тогда как при бактериализации (Фосфоэнтерин) возрастало до 10% по сравнению с небактеризованными растениями.

Ключевые слова: азотфиксирующая активность, diaзотрофы, сульфолипиды, жирные кислоты, комплекс микробных препаратов, озимая пшеница

T.N. Melnichuk, L.A. Chaykovskaya, I.A. Kameneva, A.I. Yakubovskaya, A.A. Loloyko

Institute of Agriculture of Crimea NAAS, Ukraine

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS OF THE INTERACTION OF BIOAGENTS MICROBIAL PREPARATIONS AND PLANTS

It was studied the interaction of bio-agents microbial preparations Diazophit (*Rhizobium radiobacter* 204, nitrogen fixers) Phosphoenterin (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3, phosphate-mobilization) Biopolicid (*Paenibacillus polymyxa* P antagonist, plant pathogens), its influence separately and in combination on plant winter wheat, as well as action bacterization (Phosphoenterin) sulfolipids content in leaves at early stages of ontogenesis under stress of heavy metals (HM).

It was established that bioagents of investigational biofertilizers do not exhibit an antagonistic action to each other *in vitro*, can therefore be used for common bacterization of seeds. *R. radiobacter* strain 204 different quantitative and component composition of fatty acids from *E. nimipressuralis* 32-3 and *P. polymyxa* P, whereas the latter only by their quantity.

It was shown the effective of using of complex microbial preparations of various functional activities, expressed in increasing the potential nitrogen-fixing activity of the rhizosphere soil more than in two times and wheat yield by 38 %. It was found that under soil contamination by HM the content of sulfolipids in the leaves of winter wheat was reduced by 16 - 31 % in compared to control, depending on the level of MPC HM, under bacterization (Phosphoenterin) one increased to 10% compared with not bacterized plants.

Keywords: nitrogen-fixing activity, diazotrophy, sulfolipid, fatty acids, complex microbial preparations, winter wheat

Рекомендує до друку
Г.О. Іутинська

Надійшла 29.04.2014

УДК 631.8:631.86/87

¹Т.Б. МІЛЮТЕНКО, ²О.В. ШЕРСТОБОЄВА

¹Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України
вул. Шевченка, 97, Чернігів, 14027

²Інститут агроекології і природокористування НААН України
вул. Метрологічна, 12, Київ, 03143

ВПЛИВ МІКРОБНОГО ПРЕПАРАТУ ПОЛІМІКСОБАКТЕРИНУ ТА СИДЕРАЦІЇ НА ВІНОС БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ З ҐРУНТУ

Встановлено, що застосування сидерата – зеленої маси люпину вузьколистого при вирощуванні кукурудзи сприяє обмеженню вертикальної міграції рухомих сполук біогенних елементів за межі кореневмісного шару ґрунту. Отриманий ефект посилюється за вирощування на фоні сидерації рослин, бактеризованих *Paenibacillus polymyxa* КВ. Також значно обмежується збільшення концентрації біогенних елементів у промивних водах при внесенні в ґрунт мінеральних добрив.

Ключові слова: біогенні елементи, ґрунт, добрива, поліміксобактерин, кукурудза

Одне з чільних місць у технології вирощування кукурудзи займає удобрення культури, зокрема зеленими добривами, що зумовлено дефіцитом гною, високою вартістю мінеральних добрив і низькими коефіцієнтами їх використання рослинами [3].

У свою чергу набуває популярності застосування мікробних препаратів для оптимізації складу та функціонування мікробного угруповання ґрунту. Інтродуковані в ґрунти агроценозів агрономічно корисні мікроорганізми активно впливають на формування кореневої системи культурних рослин, істотно збільшують її абсорбуючу та поглинальну здатність, і, відповідно, й асиміляцію сполук біогенних елементів [2].

Вертикальна міграція біогенних елементів за профілем ґрунту, крім економічних втрат спричиняє екологічну загрозу для природного середовища, особливо водних екосистем.

У контексті вищезазначеного, дослідження виносу біогенних елементів з ґрунту під час вирощування кукурудзи і впливу на цей процес бактеризації та сидерації набуває актуальності.

Матеріал і методи досліджень

Вертикальну міграцію сполук біогенних елементів у ґрунті досліджували в лізіметричній установці Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН. Посівна площа лізіметричної чарунки – 3,8 м², повторення – чотириразове. Шар ґрунту однієї чарунки – 155 см, його маса – 10,5 т. Ґрунт – дерново-підзолистий супіщаний, вміст гумусу за Тюрнімом – 1,1%, рН_{сол} – 5,0, гідролітична кислотність (за Каппеном) – 2,5 мг-екв./100 г, вміст Р₂О₅ (за Кірсановим) – 170,0 мг/кг, К₂О (за Масловою) – 62,0 мг/кг ґрунту.

ЕКОЛОГІЯ

Схема досліду: I. Без бактеризації насіння до сівби: контроль, без добрив; сидерат (зелена маса люцерни); N₉₀P₆₀K₉₀; N₉₀P₆₀K₉₀ + сидерат; гній 40 т/га; II. Обробка насіння до сівби Поліміксобактерином – аналогічні варіанти.

За сидерат використовували люпин вузьколистий, висіяний як проміжна культура після збирання жита озимого. Сидеральну масу та гній великої рогатої худоби (ВРХ) заробляли в ґрунт восени. З сидератом у ґрунт надходило азоту – 192 кг, рухомих форм фосфору – 81 і калію – 156 кг, що еквівалентно гною великої рогатої худоби у сухій речовині – 48 т, азоту – 44 , фосфору – 30, калію – 30 т.

Із 40 т гною у ґрунт надходило N – 176 кг, P – 112, K – 224 кг. Мінеральні добрива вносили у вигляді тукоsumішей у дозі N₉₀P₆₀K₉₀.

Мікробний препарат Поліміксобактерин на основі бактерії-продуцента речовин фітогормональної дії та органічних кислот *Paenibacillus polymyxa* KB, використовували для передпосівної інокуляції насіння кукурудзи [2].

Нітрати в промивних водах визначали дисульфифеноловим методом, P₂O₅ – за Кірсановим, K₂O – методом полум'яної фотометрії, CaO і MgO – комплексометричним методом, водорозчинний гумус – за Тюрніним [4].

Проведення дослідження, статистичну обробку отриманих результатів виконували за Доспеховим [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Результати експерименту з визначення у промивних водах концентрацій біогенних елементів, тобто їх втрат з ґрунту, що наведено в таблиці 1, свідчать про істотний вплив на цей процес усіх досліджених агротехнічних засобів. Так, за внесення в ґрунт мінеральних добрив спостерігається значне зростання концентрацій нітратів, амонійних солей, рухомих сполук фосфору, калію, кальцію і магнію, а також водорозчинних гумусових сполук порівняно з контролем. Проте, вирощування бактеризованих рослин на цьому агрофоні значно обмежує вимивання поживних речовин і навіть втрату вологи кореневмісним шаром ґрунтового профілю. Виявлений ефект обумовлено кращим засвоєнням біогенних елементів, утриманням їх кореневою системою рослин, величина і поглинаюча здатність якої збільшується завдяки стимулюючій дії бактерій-біоагентів препарату поліміксобактерин *P. polymyxa* KB [2].

Використання зеленого добрива також сприяє зменшенню втрат поживних речовин, вологи, водорозчинного гумусу, а вирощування рослин на цьому агрофоні бактеризованих рослин ще більшою мірою обмежує вимивання сполук біогенних елементів за межі кореневмісного шару ґрунту. На нашу думку, таке поєднання агроприймів є перспективним завдяки можливості надання інтродукованій в агроценоз бактерії субстрату живлення у вигляді свіжої органічної речовини, яка може отримувати енергію і вуглецеві сполуки та використовувати, крім корневих ексудатів рослин кукурудзи, також продукти мінералізації сидеральної маси, не контамінованої, на відміну від гною, висококонкурентними мікроорганізмами.

Таблиця 1

Винос біогенних елементів, гумусу та вологи з кореневмісного шару ґрунту за вегетаційний період кукурудзи залежно від застосованих агрозасобів, кг/га

Варіанти удобрення	NO ₃		NH ₄		P ₂ O ₅		K ₂ O		CaO		MgO		Гумус водорозчинний		Вологість, % від опадів	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Контроль	40,0	31,2	5,6	5,4	6,0	4,0	5,2	3,0	80,2	56,0	22,8	16,4	24,8	16,0	20,0	20,0
Сидерат	36,1	30,0	4,0	3,0	3,2	3,0	3,1	3,0	61,0	40,2	18,0	6,6	16,0	16,0	16,2	16,0
N ₉₀ P ₆₀ K ₉₀	56,0	51,2	6,8	6,0	6,6	6,0	6,0	5,0	106,0	64,0	28,0	18,4	26,0	20,0	24,0	24,0
Сидерат + N ₉₀ P ₆₀ K ₉₀	52,0	43,0	6,0	5,2	5,0	3,0	6,0	5,2	88,0	64,0	20,4	18,4	19,0	17,2	21,0	20,5
Гній, 40 т/га	64,0	62,2	8,8	8,6	7,0	7,0	8,2	8,2	122,0	120,0	32,0	30,4	31,4	30,7	26,0	25,0
НІР ₀₅	4,5		0,4		0,5		0,6		10,0		7,7		2,1			

Примітка: I – без інокуляції; II – інокуляція поліміксобактерином.

За внесення мінеральних добрив на фоні сидерації зменшується інтенсивність вимивання поживних речовин з ґрунту порівняно з застосуванням лише мінеральних добрив, адже вони

ЕКОЛОГІЯ

активно асимілюються ґрунтовою біотою, що мінералізує рослинну масу, а органічні речовини з високим вмістом целюлози, якими багата сидеральна маса, затримують вологу і розчинені в ній сполуки.

Використання гною спричиняє найбільшу концентрацію біогенних елементів у промивних водах, адже в гної міститься велика кількість рухомих сполук біогенних елементів, які не встигають іммобілізуватись в організмах ґрунтової біоти та рослинах, і тому в перший рік внесення вимиваються. А розклад високомолекулярних сполук гною відбувається повільніше, що є цінною властивістю цього виду добрива, ніж таких із сидерату, тому продуктів їх розкладу має бути більше й у наступні роки.

Бактеризація рослин не позначається на змінах показників умісту в промивних водах сполук фосфору і калію. Натомість спостерігається тенденція до зменшення інтенсивності вимивання інших елементів.

Завдяки застосування вищезазначених агрозасобів, що є складовими технології вирощування кукурудзи на зерно на дерново-підзолистому ґрунті, значно підвищується врожайність культури та якість отриманого зерна за вмістом білку (табл. 2).

Таблиця 2

Урожайність та якість зерна кукурудзи за вирощування бактеризованих рослин на різних агрофонах у лізіметричному досліді

Варіант досліду	Урожайність, т/га	Прибавка, %	Вміст білка в зерні, %
Без інокуляції			
Без добрив (контроль)	4,0	-	8,0
Сидерат	5,6	40	8,8
N ₉₀ P ₆₀ K ₉₀	7,2	80	9,4
Сидерат + N ₉₀ P ₆₀ K ₉₀	7,7	93	9,6
Гній, 40 т/га	4,8	20	8,8
Інокуляція Поліміксобактерином			
Без добрив	4,6	15	8,8
Сидерат	6,2	55	9,2
N ₉₀ P ₆₀ K ₉₀	8,0	100	9,4
Сидерат + N ₉₀ P ₆₀ K ₉₀	8,5	113	10,0
Гній, 40 т/га	5,1	27	9,0
НІР ₀₅ у досліді – 0,5; для інокуляції – 0,3; для добрив і взаємодії – 0,2.			

Зокрема, поєднання внесення у ґрунт сидеральної маси з передпосівної бактеризацією насіння поліміксобактерином є екологічно доцільним агроприйомом, оскільки зменшується ризик забруднення агроєкосистем, та економічно вигідним, зважаючи на показники високої врожайності культури і поліпшення якості отриманої продукції.

Висновки

Поєднане використання зеленого добрива і інокуляції насіння до сівби *Paenibacillus polymyxa* КВ істотно зменшує вертикальну міграцію біогенних елементів і вологи з ґрунту за мінерального удобрення кукурудзи. У варіанті найменшої втрати ґрунтом поживних елементів відповідно отримано більш високі урожай та якість зерна за вмістом білку.

Досліджені елементи технології вирощування кукурудзи на дерново-підзолистому ґрунті є екологічно доцільними, оскільки зменшують ризик забруднення підземних вод, та економічно вигідними, зважаючи на показники врожайності культури і якість отриманої продукції.

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
2. Методологія і практика використання мікробних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур / За ред. В.В. Волгогона. — К.: Аграрна наука, 2011. — 156 с.

3. Мільютенко Т.Б. Цикл азоту в ризосферному ґрунті рослин кукурудзи / Т.Б. Мільютенко, О.В. Шерстобоева, В.В. Волкогон, О.М. Бердніков // Агроекологічний журнал. — 2013. — № 3. — С. 88—94.
4. *Практикум по агрохімії* / Под ред. В.Г. Минеева. — М.: МГУ, 1989. — 304 с.

Т.Б. Мільютенко, Е.В. Шерстобоева

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України

Інститут агроекології та природопольовання НААН України

ВЛИЯНИЕ МИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА ПОЛИМИКСОБАКТЕРИН И СИДЕРАЦИИ НА ВЫНОС БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ИЗ ПОЧВЫ

В лизиметрическом опыте исследовано влияние минеральных и органических удобрений и предпосевной обработки семян кукурузы микробным препаратом Полимиксобактерин на уровень выноса биогенных элементов из корнеобитаемого слоя почвы под посевом кукурузы. Установлено, что применение сидерата – зеленой массы люпина узколистного – способствует ограничению вымывания растворимых соединений биогенных элементов за пределы корнеобитаемого слоя. Наблюдаемый эффект усиливается при выращивании бактеризованных растений на данном агрофоне. Внесение в почву минеральных удобрений в дозе $N_{90}P_{60}K_{90}$ приводит к значительному увеличению количества питательных веществ в промывных водах. Однако бактеризация растений на фоне совместного применения зеленого и минерального удобрения существенно уменьшает вертикальную миграцию биогенных элементов по почвенному профилю.

Ключевые слова: биогенные элементы, почва, удобрения, полимиксобактерин, кукуруза

T.B. Milutenko, O.V. Sherstoboeva

The Institute of Agricultural Microbiology and Agricultural Production of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

The Institute of Agroecology and Environmental Management of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

INFLUENCE OF MICROBIAL PREPARATION POLYMYXOBACTERIN AND GREEN MANURE ON THE NUTRIENT REMOVAL FROM THE SOIL

In lysimetric experiment investigated the influence of mineral fertilizers and organically treatment of seeds of maize Polymyxobacterin the level of removal of nutrients from the root layer of soil for sowing maize. Found that the use of green manure - green mass blue lupine - helps to limit leaching of soluble compounds of nutrients beyond the root layer. The observed effect is enhanced when growing plants inoculation against this background. Soil application of mineral fertilizers ($N_{90}P_{60}K_{90}$) leads to a significant increase in the amount of nutrients in the washing waters. However, the combined use of green manure with mineral and plant significantly reduce the vertical migration of nutrients through the soil profile.

Keywords : nutrients, soil, fertilizers, polimixobacterin, cornmaize, nutrients

Рекомендує до друку

А.В. Калініченко

Надійшла 12.06.2014

«ФІЗІОЛОГІЯ РОСЛИН» ЯК НАВЧАЛЬНА ДИСЦИПЛІНА В ПЕДАГОГІЧНИХ УНІВЕРСИТЕТАХ

У статті узагальнено особливості викладання навчальної дисципліни «Фізіологія рослин». Розглянуто головні особливості процесу підготовки майбутніх вчителів, що доводить необхідність удосконалення змісту, форм і методів навчання. Окреслено педагогічні цілі, що лежать в основі формування сучасної технології навчання. Наведено приклади завдань різного рівня складності, що сприяють високій активності і самостійності студентів, уможливають набуття умінь користування обладнанням, забезпечують умови для формування важливих практичних умінь. Проаналізовано чинники, що підтверджують необхідність упровадження і систематичного використання в навчальному процесі активних методів навчання, проаналізовано особливості методів і прийомів для стимулювання пізнавального інтересу студентів під час навчання.

Ключові слова: фізіологія рослин, експеримент, знання, уміння, навички

Одним з показників успішності реформування системи освіти в Україні є формування творчої особистості, спроможності її використати можливості ринкової економіки, демократизації суспільного життя, розвитку громадянського суспільства для своєї успішної та оптимальної самота взаємореалізації. Сучасна система вищої освіти ставить завдання неухильно вдосконалювати форми і методи навчання, максимально наближувати його організацію до сучасних вимог, дати кожному студенту якісну й ефективну освіту. Пріоритетними напрямами державної політики у розвитку вищої освіти є особистісна орієнтація, постійне підвищення якості освіти, оновлення її змісту і форм, запровадження освітніх інноваційних технологій, інтеграція вітчизняної освіти до європейського та світового освітніх просторів [1, 7]. Це, в свою чергу, потребує модернізації вищої школи, а головне – підвищення системних знань студентів, в тому числі питань, які торкаються взаємозв'язку людини з природою і суспільством. Одним з найбільш дієвих засобів даного напрямку може служити біологічна освіта, оскільки вона дозволяє вирішувати не тільки екологічні проблеми, але і досліджувати протиріччя, які виникають між людиною і природою. У даній статті проаналізовано роль навчальної дисципліни «Фізіологія рослин», яка є тим фундаментом, що об'єднує багато інших біологічних дисциплін при підготовці студентів – майбутніх вчителів природничих дисциплін.

У біосфері провідне місце займає рослинний світ – основа життя на нашій планеті. Сучасна фізіологія рослин, як одна із провідних наук серед біологічних дисциплін, вивчає функції живих рослинних організмів, їх органів, тканин та клітинних компонентів. Це один з найскладніших курсів у системі підготовки біологів, оскільки потребує ґрунтовних знань з ботаніки, хімії, фізики і передбачає їх узагальнення при вивченні процесів життєдіяльності рослин. Методологія фізіології рослин заснована на уявленнях про рослинний організм як складну саморегулюючу систему.

Основна мета навчальної дисципліни «Фізіологія рослин» – пізнання закономірностей життєвих функцій рослин, розкриття їх механізмів, формування уявлення про структурно-функціональну організацію рослинних систем різних рівнів. Об'єктом дослідження є рослинний організм з його винятковою специфічністю хімічного складу, морфологічною будовою, тісним взаємозв'язком структури і функції, залежністю процесів обміну речовин від стану структури [3, 46]. Все це свідчить про те, що проблеми та завдання фізіології рослин настільки широкі та складні, що вирішення їх потребує цілого комплексу фізико-хімічних методів, різноманітних експериментальних та теоретичних підходів.

Викладання і оцінювання знань навчальної дисципліни «Фізіологія рослин» при підготовці студентів – майбутніх вчителів природничих дисциплін на кафедрі ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка

здійснюється згідно з навчальними і робочими програми [2; 5; 6; 7], кредитами ECTS і за відповідною шкалою у світлі вимог кредитно-трансферної системи, її вивчення ведеться впродовж V і VI семестрів після вивчення ботаніки, цитології, фізики, агрохімії, ґрунтознавства. Початкова та кінцева мета і завдання передбачають точну орієнтацію на потреби студента у певних знаннях, уміннях і навичках з опорою на подальшу самоосвіту, оскільки у навчальному закладі не закінчується формування особистості спеціаліста, воно продовжується все життя упродовж практичної діяльності і безперервного підвищення кваліфікації.

Формуючи ієрархію цілей при викладанні даної навчальної дисципліни, викладач керується трьома основними напрямками: навчальна – домогтись міцного засвоєння знань, формування практичних навичок і умінь, що застосовуються у практиці; розвиваюча – розвивати інтелектуальні здібності, пам'ять, увагу, мовлення, уяву, мислення, спостережливість, активність, творчість, самостійність, прищеплювати їм раціональні способи пізнавальної діяльності тощо; виховна – сприяти формуванню наукового світогляду, моральних, естетичних та інших якостей особистості. Зазначені цілі допомагають викладачеві обмежуватись вимогами освітніх стандартів вишу та формувати очікування студентів від вивчення предмету.

Навчальна програма «Фізіологія рослин» передбачає оволодіння студентами не лише ґрунтовними теоретичними знаннями, а й практичними навичками та вміннями проводити експериментальні дослідження у цих галузях [2]. Викладання біологічних дисциплін необхідно спрямовувати в такому руслі, щоб нові поняття студенти відкривали для себе у процесі дослідницької діяльності. Методикою формування дослідницьких умінь передбачено використання проблемного (дослідницького) лабораторного методів, коли висувається гіпотеза дослідження, визначаються його шляхи, добираються необхідні матеріали і прилади самими студентами. Труднощі спонукають студента до самостійної роботи та ролі активного дослідника; він збирає й оцінює основні та допоміжні дані, альтернативні гіпотези, обґрунтовує вибір способів накопичення інформації тощо. Вирішення проблеми активізує продуктивне мислення, збільшує кількість освоєних предметів та явищ і, найголовніше, формує творчий підхід до навчання.

Лабораторно-практичні заняття є обов'язковим видом навчального процесу, який дозволяє студентам не тільки одержати підтвердження теоретичних положень лекційного курсу, а й здобути певні знання і навички з практичного вирощування рослин; аналізувати окремі функції, щоб відновити цілісну картину життєдіяльності організму рослини як складної саморегулюючої системи, з ієрархією різних структурних рівнів – від субклітинних до організменного, фіто- та агрофітоценозів; проводити досліди фізіологічного змісту в лабораторних умовах та на шкільній дослідній ділянці. Для отримання результатів та поєднання навчального процесу з науковою роботою переважна більшість робіт виконується на стандартизованих дослідних рослинах за допомогою сучасних методів. Кожне практичне заняття перетворюється на невелике наукове дослідження. Студенти поділяються на групи і кожна група, отримавши інструктивні картки, виконує певне завдання. При цьому використання завдань різного рівня складності спричиняють високу активність і самостійність студентів, уможливають набуття умінь користування обладнанням, забезпечують умови для формування важливих практичних умінь: вимірювати і вираховувати, обробляти результати та порівнювати їх з попередніми, перевіряти відомі й обирати нові шляхи самостійних досліджень. Наприклад: 1. Завдання на уміння висувати та обґрунтовувати гіпотезу: які умови є необхідними для проростання насіння пшениці, буряків, рису, гороху посівного? 2. Завдання на планування експерименту: визначить, чи впливає світло на проростання насіння двох видів рослин – гороху і салату (латука)? Запропонуйте план проведення експерименту для виявлення впливу світла на проростання насіння. 3. Завдання на уміння формувати висновки за результатами експерименту: студент провів експеримент: по 10 насінин помістив на вологий фільтрувальний папір у дві чашки Петрі. Одну чашку розмістив на підвіконні, іншу – в темній шафі. Чашки залишив відкритими. Щодня зволожував фільтрувальний папір. Температурні умови були однаковими (+20⁰С). Через три дні студент виявив, що насіння в обох чашках проросло неоднаково. Зробіть висновок з даного експерименту.

Значна увага приділяється навчально-польовій практиці [5, 6, 7] з фізіології рослин, яка є завершальним етапом у вивченні курсу упродовж навчального року. Метою є поглиблення, розширення і закріплення знань, одержаних студентами з різних розділів фізіології рослин, а

також ознайомлення їх з методами дослідження процесів життєдіяльності рослин у лабораторних, вегетаційних і польових умовах. Базою для її проведення є навчально-дослідна агробіологічна лабораторія. Час проведення практики недостатній для здійснення повноцінних польових досліджень, але дає змогу ознайомити студентів з методикою ведення фізіологічних експериментів у польових умовах; закладати довготривалі та короточасні досліди для вивчення функцій рослин, проводити фізіолого-біохімічні аналізи у лабораторних та польових умовах; працювати з приладами (мікроскопом, фотоелектроколориметром, рефрактометром, торсійними та електронними терезами, водяною банею, тощо); обговорювати результати дослідження, узагальнювати та робити висновки. На території агробіологічної лабораторії проводяться експериментальні дослідження для написання курсових, дипломних та магістерських робіт з фізіології рослин [4].

Самостійна робота здійснюється під керівництвом викладача в різних взаємопов'язаних формах. Передусім студентам пропонується систематичне опрацювання навчального матеріалу під час підготовки до практичних і семінарських занять упродовж семестру. Викладачі кафедри постійно проводять індивідуальну роботу протягом навчального року, адже студент працює ефективніше, якщо має чітке уявлення про те, які знання та уміння стануть йому корисними упродовж майбутньої педагогічної діяльності, а з якими може бути тільки ознайомлений.

Навчання студента – творчий процес, що потребує постійної індивідуальної повсякденної роботи. Викладачі повинні організувати навчально-пізнавальний процес та посилити мотивацію так, щоб у студента виникала потреба набувати нові знання, формувати вміння й навчатись упродовж усього життя. Застосування активних методів навчання сприятиме ґрунтовному засвоєнню теоретичної і практичної бази для вивчення дисципліни.

Висновки

Реалізація усіх завдань, які виникають на сучасному етапі в процесі вивчення навчальної дисципліни «Фізіологія рослин», потребує сукупної діяльності та уваги як з боку студентів, так і професорсько-викладацького та навчально-допоміжного персоналу.

1. Бабкіна О. Проблема підвищення якості вищої освіти в Україні у контексті Болонських реформ / О. Бабкіна // Освіта і управління. — 2006. — Т. 9. — № 1. — С. 91—95.
2. Векірчик К. М. Програма з курсу «Фізіологія рослин» для природничих факультетів педагогічних інститутів для спеціальності 01.09.00 «Біологія і хімія» [Електронний ресурс] / К. М. Векірчик, І. М. Бутницький, С. В. Пида. — Режим доступу: <http://old.tnpu.edu.ua/kurs/85/index.html>.
3. Векірчик К. М. Фізіологія рослин: Практикум / К. М. Векірчик. — К.: Вища шк., 1984. — 238 с.
4. Виконання дипломних та магістерських робіт студентами напрямів підготовки 6(7)(8).040101 Хімія*, 6(7)(8).040102 Біологія*: навч.-метод. посібник / [В. В. Грубінко, С. В. Пида, А. В. Степанюк, Н. В. Москалюк та ін.]; за ред. А. В. Степанюк. — Тернопіль: Вектор, 2012. — 76 с.
5. Пида С. В. Фізіологія рослин. Робочий зошит з навчально-польової практики для студентів спеціальності «Біологія» заочної форми навчання / С. В. Пида. — Тернопіль: ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2013. — 48 с.
6. Пида С. В. Фізіологія рослин. Робочий зошит з навчально-польової практики для студентів спеціальності «Біологія» денної форми навчання / С. В. Пида. — Тернопіль: ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2013. — 80 с.
7. Пида С. В. Фізіологія рослин. Робочий зошит з навчально-польової практики для студентів спеціальності «Хімія» денної форми навчання / С. В. Пида. — Тернопіль: ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2013. — 68 с.

Н. В. Москалюк

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

«ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ» КАК УЧЕБНАЯ ДИСЦИПЛИНА В ПЕДАГОГИЧЕСКИХ УНИВЕРСИТЕТАХ

В статье обобщены методические аспекты преподавания учебной дисциплины «Физиология растений». Рассмотрены главные особенности процесса подготовки будущих учителей, что доказывает необходимость усовершенствования содержания, форм и методов обучения. Определены педагогические цели, лежащие в основе формирования современной технологии

обучения. В частности, приведены примеры задач различного уровня сложности, что способствует высокой активности и самостоятельности студентов, приобретению навыков пользования оборудованием, обеспечивает условия для формирования важных практических умений. Проанализированы факторы, подтверждающие необходимость внедрения и систематического использования в учебном процессе активных методов обучения, показаны особенности методов и приемов для стимулирования познавательного интереса студентов во время учебы.

Ключевые слова: физиология растений, эксперимент, знания, умения, навыки

N. Moskalyuk

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University, Ukraine

«PLANT PHYSIOLOGY» AS AN ACADEMIC DISCIPLINE IN NORMAL UNIVERSITY

This article summarizes the methodological aspects of teaching "Plant Physiology". Main features of the training of future teachers are examined, which proves the need to improve the content, forms and methods of teaching. Educational goals that underlie the formation of modern educational technologies are outlined. In particular, the examples of tasks of different difficulty levels that contribute to high activity and independence of students, enable to acquire skills to use the equipment, provide conditions for important practical skills are given. The factors that confirm the need for the introduction and systematic educational usage of active learning methods are analyzed, peculiarities of methods and techniques for promoting cognitive interest of students during their studies are analyzed too.

Keywords: plant physiology, experiment, knowledge, skills

Рекомендує до друку

Надійшла 12.06.2014

С.В. Пида

УДК 576.083.1:581.19

Л.П. ПАНЧЕНКО, К.С. КОРОБКОВА

Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680

ЗМІНА ВМІСТУ ФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК В КАЛЮСА ЦУКРОВОГО БУРЯКУ ЯК ВІДПОВІДЬ НА ІНФІКУВАННЯ АХОЛЕПЛАЗМОЮ

Досліджено динаміку суми фенольних сполук клітинних культур цукрових буряків при інфікуванні їх *Acholeplasma laidlawii var. granulum* шт.118. Встановлено, що на ранніх етапах взаємодії з патогеном (24 год) відбувається збільшення в 6-7 разів загального вмісту фенольних сполук в інокульованих калюсних культурах цукрових буряків порівняно з не інокульованими. На 3 добу після інокуляції вміст фенольних сполук повертається на вихідний рівень, який зберігається при подальшому культивуванні досліджуваних клітинних культур цукрових буряків.

Збільшення вмісту суми фенольних сполук у калюсних культурах цукрового буряку в перші години інфікування ахолеплазмою дає підставу вважати, що в досліджуваній клітинній культурі цукрового буряку стимулюються захисні реакції у відповідь на дію патогена.

Ключові слова: mollicutes, калюси цукрових буряків, фенольні сполуки

Рослини, що знаходяться в постійному оточенні багаточисельних патогенних організмів, стійко чинять опір інфекції і, як правило, виживають у цих несприятливих умовах. Колонізація рослин патогенами супроводжується змінами багатьох фізіолого-біохімічних показників, що пов'язані з

активізацією сигнальних систем. Встановлено, що рослинам властива здатність утворювати сполуки вторинного метаболізму, серед яких найбільш розповсюдженими є поліфеноли [2].

За даними літератури, фенольні сполуки відіграють значну роль у взаємовідносинах рослини з патогеном. Було встановлено, що фенольні сполуки відносно простої будови виконують роль свого роду сигнальних речовин у взаємовідносинах рослин з мікроорганізмами. Рослина-хазяїн синтезує ці сигнальні речовини, а мікроорганізми відгукуються на них експресією генів, необхідних для подальших стадій взаємодії з рослиною [6]. Важлива роль фенольних сполук у стійкості рослин до грибних захворювань підкреслювалася неодноразово. Продемонстровано зв'язок між стійкістю ярої пшениці до стеблової іржі і здатністю рослин до накопичення фенольних сполук [4].

Мікоплазми рослин знаходять широке розповсюдження, уражуючи значну кількість сільськогосподарських культур. Разом з тим, даних відносно сумарного вмісту фенольних сполук рослин у відповідь на зараження молюкутами в доступній нам літературі не виявлено. Тому метою даної роботи було дослідити особливості клітинної відповіді рослинних культур на зараження фітопатогенними ахолоплазмами.

Матеріал і методи досліджень

У дослідженнях використовували калюси цукрового буряку різних ліній: ЗК-43, ЗК-51, СК-60/2, які одержували з селекційних матеріалів Інституту цукрових буряків НААН України. Калюси культивували на агаризованому середовищі Гамборга [7].

Молюкт *A.laidlawii var.granulum* шт.118, який спричиняє блідо-зелену карликовість пшениці, отримали з Національної колекції мікроорганізмів України Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Культивування *A.laidlawii var.granulum* шт.118 здійснювали на поживному середовищі СМ ІМВ-72 [5].

Для виділення фенольних сполук біомасу досліджуваних калюсних тканин (2г сирової маси) подрібнювали розтиранням у ступці, заливали 2 мл 80 %-ного етанолу, переносили в пробірки зі щільно притертими пробками та інкубували на водяній бані при 80⁰С протягом 30 хв. Отриману суміш центрифугували протягом 10 хв при 8000 g, супернатант відбирали, до осаду додавали 0,5-0,7мл 80%-ного етанолу, перемішували та ще раз центрифугували за тих же умов. Супернатанти об'єднували і використовували для визначення вмісту розчинних фенольних сполук.

Для кількісного визначення у досліджуваних зразках калюсних ліній цукрових буряків вмісту суми фенольних сполук була використана методика з реактивом Фоліна-Деніса, інтенсивність забарвлення визначали за довжини хвилі 725 нм [3]. Як стандартний зразок використовували галову кислоту (Sigma).

Аналізи проводилися в трьох повторностях, отримані дані були оброблені статистично з використанням електронних таблиць Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення

Калюсні культури цукрових буряків ЗК-43, ЗК-51, СК60/2, які були використані нами для дослідження накопичення в них фенольних сполук, представляють собою повільно зростаючий калюс, приріст тканини яких до кінця циклу вирощування становив близько 400%. При цьому індукційна і експоненціальна фази тривали до 15-го дня, а лінійна — до 30-го дня вирощування культури. Надалі зростання тканини сповільнюється, що відповідає переходу культури до стаціонарної фази росту.

Дослідження активності синтезу суми фенольних сполук у не інфікованих калюсів залежно від їх віку, проведене протягом трьох пасажів калюсів, показало, що на початку циклу вирощування (до 12-го дня) відбувається деяке зниження вмісту поліфенолів. Мабуть ослаблення синтезу фенольних сполук у цей період обумовлено як дією стресових факторів (перенесення калюсу на свіже живильне середовище), так і адаптацією до нових умов. Надалі, при переході до лінійної фази росту утворення суми розчинних фенольних сполук досить швидко збільшується, що свідчить про активацію фенольного метаболізму. Найбільше накопичення суми фенольних сполук відбувається до середини лінійної фази росту, після чого воно поступово знижується до кінця циклу вирощування (рис. 1).

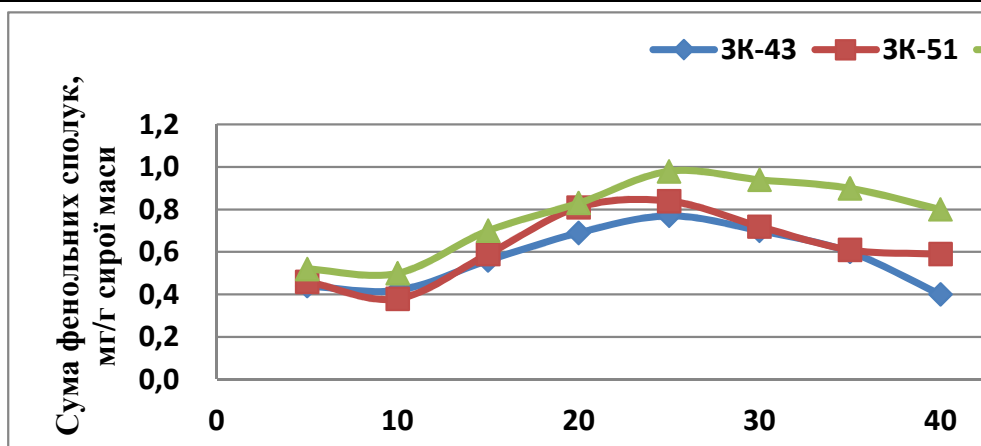


Рис.1. Залежність вмісту розчинних фенольних сполук від віку калюсних ліній цукрового буряка

Враховуючи отримані нами дані щодо динаміки суми фенольних сполук в інтактних калюсах цукрового буряка, при дослідженні кількісних змін суми синтезованих фенольних сполук у клітинних культурах цукрового буряка при інфікуванні їх *A. laidlawii var.granulum* шт.118 інокуляцію калюсів клітинами молікута проводили на 14 добу після пасажу.

Аналіз результатів порівняльного вивчення накопичення фенольних сполук у інфікованих ахолеплазмой і контрольних (не інфікованих) калюсах цукрового буряка вказує на те, що у досліджуваних калюсах з різною інтенсивністю відбувається синтез фенольних сполук (рис. 2).

На рисунку представлені дані про динаміку загальної концентрації фенольних сполук у відповідь на інокуляцію *A.laidlawii var.granulum* шт. 118. Як видно із рисунка, через 24 год після інфікування відбувається значне збільшення загального вмісту фенольних сполук в інокульованих калюсних культурах цукрових буряків порівняно з неінокульованими, 7,4 і 1,2 мг/г сирієї маси, відповідно. Через 48 год спостерігається зниження вмісту фенольних сполук у інокульованих клітинних культурах. На 3 добу після інокуляції вміст фенольних сполук повертається на вихідний рівень концентрації, який зберігається при подальшому культивуванні досліджуваних клітинних культур цукрових буряків.

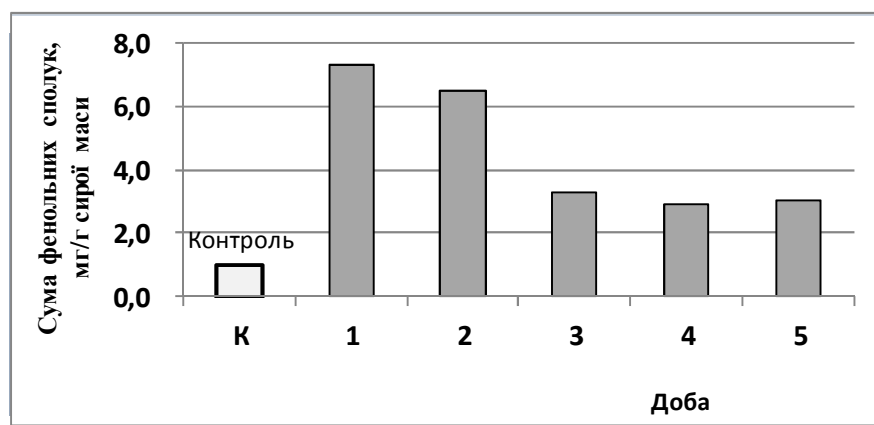


Рис. 2. Вміст фенольних сполук калюсів цукрового буряку (лінія 3K-51), інфікованих *A.laidlawii var.granulum* шт.118

Зміна вмісту фенольних сполук у калюсних культурах цукрового буряку за інфікування їх *A. laidlawii var.granulum* шт.118 і, особливо, значне збільшення його в перші години інокуляції, дає підставу вважати, що в досліджуваній культурі рослин стимулюються захисні реакції у відповідь на дію патогена. З іншого боку, зміна в калюсах цукрових буряків, інфікованих *A.laidlawii var.granulum* шт.118, вмісту фенольних сполук, які є однією з ланок

фенілпропаноїдного синтезу, можна розглядати як один з етапів у стрес-індукованій відповіді рослин на дію патогену. Як відомо, одним із найважливіших ферментів початкових етапів біосинтезу фенольних сполук є L-фенілаланінаміак-ліаза (ФАЛ; КФ 4.3.1.5). За її участю здійснюється процес дезамінування L-фенілаланіну з утворенням *транс*-коричної кислоти. Остання слугує попередником різноманітних фенольних сполук, синтезованих у тканинах рослин [6]. У багатьох дослідженнях було встановлено, що за ураження рослин тими чи іншими патогенами практично у всіх випадках відбувається інтенсивне новоутворення фенольних сполук, яке супроводжується індукцією активності відповідних ферментів, таких, наприклад, як L-фенілаланінаміак-ліаза, 4-гідроксилаза *транс*-коричної кислоти і халконсинтаза [1, 6].

Порівнюючи отримані нами дані відносно вмісту суми розчинних фенолів і активності L-фенілаланінаміакліази, можемо зазначити, що рівень накопичення фенольних сполук у клітинних культурах цукрових буряків, інфікованих ахолеплазмою, корегується з активністю ключового ферменту біосинтезу фенольних сполук – L-фенілаланінаміакліази.

Висновки

Результати визначення рівня розчинних фенольних сполук в клітинних культурах цукрових буряків, інфікованих ахолеплазмою, свідчать про те, що накопичення поліфенолів - процес динамічний. Виявлені вікові зміни кількісного вмісту фенольних сполук пояснюються функціональними особливостями, що протікають в рослинних організмах.

1. *Адамовская В.Г.* Изменение активности фенилаланин-аммиак-лиазы, суммарного содержания фенольных соединений и лигнина в проростках ярового ячменя при действии фузариозной инфекции / В.Г. Адамовская // Вісник Харківського Національного аграрн. у-ту. Серія біологія. — 2007. — Вип. 1(10). — С.50—58.
2. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения и их роль в жизни растений / М.Н. Запрометов // LVI Тимирязевские чтения. — М.: Наука, 1996. — 46 с.
3. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения и методы их определения / М.Н. Запрометов // Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. Павлиновой О.А. — М.: Наука, 1971. — С. 185—197.
4. *Озерецковская О.А.* Индуцирование устойчивости растений биогенными элиситорами фитопатогенов / О.А. Озерецковская // Микология и фитопатология. — 2004. — 30. — С. 325—339.
5. *Скрипаль И.Г.* Среда СМ ИМВ-72 для выделения и культивирования фитопатогенных микоплазм / И.Г. Скрипаль, Л.П. Малиновская // Микробиол. журн. — 1984. — 46, № 2. — С. 71—75.
6. *Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений / И.А. Тарчевский. — М.: Наука, 2002. — 296 с.
7. *Gamborg O.G.* Culture methoda and detection of glucanases in Cultures of wheat and barley / O.G.Gamborg, D.E. Eveleigh // Canad.J.Biochem. — 1968. — 46, № 5. — P. 417—421.

Л.П. Панченко, Е.С. Коробкова

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КУЛТУРАХ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ КАК ОТВЕТ НА ИНФИЦИРОВАНИЕ

Исследована динамика суммы фенольных соединений клеточных культур сахарной свеклы при инфицировании их *Acholeplasma laidlawii var. granulum* шт.118. Установлено, что на ранних этапах взаимодействия с патогеном (24 час) наблюдается увеличение в 6-7 раз общего содержания фенольных соединений в инфицированных каллусных культурах сахарной свеклы по сравнению с неинфицированными. На 3 сутки после инокуляции содержание фенольных соединений возвращается на исходный уровень значений, который сохраняется при дальнейшем культивировании исследованных клеточных культур сахарной свеклы.

Увеличение содержания фенольных соединений в каллусных культурах сахарной свеклы в первые часы инокуляции ахолеплазмы дает основание считать, что в исследованных клеточных культурах сахарной свеклы стимулируются защитные реакции в ответ на действие патогена.

Ключевые слова: Mollicites, каллусы сахарной свеклы, фенольные соединения

Panchenko L.P., Korobkova K.S.

D.K. Zabolotny Institute of microbiology and virology of National Academy of Science of Ukraine

CHANGING OF PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT IN CALLUSES OF SUGAR BEET AS ANSWER TO INFECTION BY ACHOLEPLASMA

It was studied a dynamics of total phenolic compounds of cell cultures of sugar beet at infection by *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* шт. 118. It is established that in the plant material infected by *acholeplasma* in the early stages of interaction (24 h) there is an increase in 6-7 times the total content of phenolic compounds in infected cell cultures of sugar beet compared with the not infected. On the 3rd day after inoculation a content of phenolic compounds returns to the start level, which is saved in the further cultivation of researched cell culture.

The increase in the content of phenolic compounds in callus cultures of sugar beet in the first hours of inoculation gives grounds to believe that protective reactions in the studied culture of plants stimulates as response to the pathogen.

Keywords: Mollicutes, phenolic compounds, calluses of sugar beet

Рекомендує до друку
С.. Коць

Надійшла 19.06.2014

УДК 579.264:579.262

¹Т.Ю. ПАРХОМЕНКО, ¹О.Л. ПАРХОМЕНКО, ¹В.А. ЧАЙКОВСЬКИЙ,
²М.О. ПАРХОМЕНКО

¹ Інститут сільського господарства Криму НААН України
вул. Київська, 150, Сімферополь, 95453, АР Крим

² Навчально-науковий центр «Інститут біології», Київський національний університет імені Т.Г. Шевченко
вул. Глушкова, 2, Київ, 03187

ВПЛИВ ЗАСТОСУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ-АНТАГОНІСТІВ ФІТОПАТОГЕНІВ НА БОБОВО-РИЗОБІАЛЬНИЙ КОМПЛЕКС І ПРОДУКТИВНІСТЬ НУТУ

Показано доцільність застосування мікроорганізмів-антагоністів фітопатогенів сумісно з бульбочковими бактеріями для передпосівної обробки насіння нуту з метою підвищення продуктивності культури. Встановлено, що в середньому за два роки досліджень урожайність нуту сорту Одисей істотно підвищувалась при обробці штамом *Bacillus sp.* 01-1 – 10, 3%, штамми 1н та бн – 6 та 23%, відповідно, порівняно з контролем.

Ключові слова: нут, мікроорганізми-антагоністи фітопатогенів, бульбочкові бактерії, бобово-ризобіальний симбіоз

Нут адаптований до посушливих і спекотних природно-кліматичних умов Степу України, має унікальні біологічні особливості. Рослини нуту у симбіозі з бульбочковими бактеріями нуту виду *Mesorhizobium ciceri* здатні засвоювати за період вегетації до 120-150 кг/га молекулярного азоту повітря і сформувати урожай насіння на рівні 20-25 ц/га без застосування мінеральних добрив. Для формування ефективного бобово-ризобіального симбіозу і забезпечення рослин біологічним азотом потрібно проводити передпосівну обробку насіння ефективними бульбочковими бактеріями *M. ciceri* [1].

Одним з факторів, що лімітують процес симбіотичної азотфіксації є ураження рослин нуту хворобами. Питання захисту нуту за допомогою мікробних препаратів від хвороб вивчене недостатньо. Створення сприятливої фітосанітарної ситуації в ризосфері нуту дозволить

оптимізувати продукційні процеси у рослині та отримати якісну, екологічно безпечну продукцію без негативного впливу на довкілля [2].

Метою нашого дослідження є підбір ефективних штамів мікроорганізмів-антагоністів для покращення розвитку рослин при вирощуванні нуту.

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом досліджень були нові штами мікроорганізмів з антагоністичними властивостями з колекції відділу мікробіології ІСГ Криму НААН. У якості референтних штамів були використані – *Paenibacillus polymyxa* П (біоагент препарату Біополіцид), *Bacillus subtilis* D-26 (Фітоспорин), *Bacillus sp.* 01-1 (Аурілл).

Насіння нуту було оброблено штамом *M. ciceri* 065. Для порівняння були використані хімічні протруювачі фундазол, ламардор, Вітавакс 200ФФ. Вегетаційні та польові дослідження були закладені з рослинами нуту сорту Одісей. Насіння нуту сорту Одісей обробляли водною суспензією штамів у дозі 1% від маси насіння. Все насіння було оброблене препаратом бульбочкових бактерій Ризобофіт згідно рекомендацій авторів. Дослід закладено у 10-кратному повторенні на чорноземі південному.

Статистичну обробку отриманих даних проводили методом дисперсійного аналізу за Б.О. Доспеховим [2].

Дослідження проводили на дослідному полі Інституту сільського господарства Криму НААН у 2012 – 2013 рр., відділ мікробіології. Грунт - чорнозем південний, у 100 г якого міститься: рухомого P_2O_5 – 4,2 мг та обмінного K_2O – 42,5 мг (за методом Мачигіна), азоту, що легко гідролізується – 3,4 мг (за ГОСТом 26213-91); 2,6% гумусу (за методом Тюріна); рН водної витяжки – 8,45.

Результати досліджень та їх обговорення

У вегетаційному досліді на чорноземі південному показано вплив сумісної передпосівної обробки насіння мікроорганізмами-антагоністами фітопатогенів і бульбочковими бактеріями на рослини нуту сорту Одісей. Так, з досліджуваних штамів істотно підвищував висоту рослин штам 1н – на 11,9%. Абсолютно суха маса надземної частини знижувалась за дії хімічних протруювачів – фундазолу і ламардору та штамів 4н, 5н, 8н – до 38%. Довжина кореня під дією досліджуваних штамів збільшувалась, але найбільш істотно — за використання штамів 9н – 16%, *P. polymyxa* П – 18%, штаму 1н – 19%, *Bacillus sp.* 01-1, штаму 6н – на 50%, порівняно з контролем. Кількість бульбочок істотно збільшувалась за використання ламардору – на 50%, штамів 1 н – на 87% та 16 н-3 – на 91%.

У наступному вегетаційному досліді (2013 р.) показано, що всі досліджувані штами позитивно впливали на ростові процеси рослин нуту – висоту, суху біомасу надземної частини та кореневої системи, показники підвищувались на 11-21%, 31-95% та 25-135%, відповідно, істотно перевищуючи контрольний варіант – обробку насіння Ризобофітом. Ефективними виявились штами *Bacillus sp.* 43, 37-2, 1н, 6н, 16н-3. Так, абсолютно суха маса надземної частини рослин нуту складала у контролі 0,55 г, у варіанті з Вітаваксом 200ФФ – 0,59 г, при використанні штамів мікроорганізмів-антагоністів – від 0,69 до 1,07 г (перевищувала на 36-95% контрольний варіант). Найбільше збільшення біомаси спостерігалось у варіантах зі штамми *Bacillus sp.* 43 (на 95% відносно контролю), 1н і 16н-3 (на 64%), 6н (на 71%). Абсолютно суха маса кореневої системи у контролі (обробка Ризобофітом) складала 0,17 г, неістотно зростала при використанні хімічного протруювача Вітавакс 200ФФ – 0,19 г, при використанні досліджуваних штамів складала від 0,23 до 0,40 г (на 35-135% перевищували показники контрольного варіанту). Найбільш ефективними були штами *Bacillus sp.* 43 (0,40 г), *Bacillus sp.* 37-2 (0,34 г), штам 6н (0,30 г). Кількість бульбочок зростала на 37 - 93%, найбільше - у варіантах з використанням штаму *Bacillus sp.* 28-1 (на 58%), штамів 1н, 6н та 16н-3 (на 62, 57, 63%, відповідно), порівняно з контролем (табл. 1).

У польовому досліді показано, що в середньому за два роки досліджень урожайність нуту істотно підвищувалась за обробки штамми *Bacillus sp.* 01-1 – 10,3%, 1н і 6н – 6 та 23%, відповідно, порівняно з контролем (табл. 2).

Кількість і маса бульбочок на коренях рослин нуту сорту Одісей за сумісної передпосівної обробки насіння Ризобіфітом і мікроорганізмами з антагоністичними властивостями (вегетаційний дослід, 2013 р.)

Варіант досліджу	Кількість бульбочок		Маса бульбочок	
	середня, штук/рослину	% до контролю	середня, мг/рослину	% до контролю
Ризобіфіт (R)	6,74	100	47,84	100
R+ вітавакс 200ФФ	7,07	104,90	49,60	103,68
R+ <i>B. subtilis</i> D-26	8,22	121,96	64,59	135,01
R+ <i>P. polymyxa</i> П	10,39	154,15	37,70	78,80
R+ <i>Bacillus sp.</i> 19	9,25	137,24	74,38	155,48
R+ <i>Bacillus sp.</i> 36	10,15	150,59	87,40	182,69
R+ <i>Bacillus sp.</i> 43	7,05	104,60	154,5	322,88
R+ <i>Bacillus sp.</i> 37-2	6,13	90,94	89,0	186,04
R+ <i>Bacillus sp.</i> 28-1	10,67	158,31	103,17	215,66
R+ штам 1н	10,93	162,17	44,42	92,85
R+ штам 6н	10,57	156,82	87,3	182,48
R+ штам 16н-3	11,00	163,20	78,25	163,57
НІР ₀₅	2,55	28,58	14,66	18,47

Таблиця 2

Урожайність нуту сорту Одісей за передпосівної обробки Ризобіфітом та мікроорганізмами-антагоністами фітопатогенів (польовий дослід, чорнозем південний, відділ мікробіології Інституту сільського господарства Криму НААН, 2012 р.)

Варіант досліджу	Урожайність, т/га			Середнє за два роки, % до контролю
	2012р.	2013р.	середня	
Ризобіфіт (R)	0,40	2,50	1,45	100,0
Вітавакс 200 ФФ + R	-	2,64	2,64	106,0
R+ фундазол	0,12	-	0,12	30,0
R+ ламардор	0,14	-	0,14	35,0
R + <i>P. polymyxa</i> П	0,45	2,25	1,35	93,0
R + <i>B. subtilis</i> D-26	0,31	2,34	1,33	91,7
R + <i>Bacillus sp.</i> 01-1	0,48	2,71	1,60	110,3
R + штам 1н	0,15	2,92	1,54	106,2
R + штам 6н	0,46	3,09	1,78	122,8
R + штам 16н-3	0,33	2,63	1,48	102,1
НІР ₀₅	0,15	0,46	-	-

Примітка: «-» - не вивчали.

Висновки

Показано доцільність застосування мікроорганізмів-антагоністів фітопатогенів сумісно з бульбочковими бактеріями для передпосівної обробки насіння нуту з метою підвищення продуктивності культури.

1. Відібрано низку штамів мікроорганізмів-антагоністів фітопатогенів, що виділені з різних екологічних ніш, які сприяють кращому розвитку рослин нуту і покращують досліджені показники бобово-ризобіального комплексу - *Bacillus sp.* 01-1, 19, 36, 28-1, штамми 1н, 3н, 8н, 5н, 6н.

2. Показано, що передпосівна обробка насіння нуту сорту Одісей сприяє кращому розвитку рослин на фоні обробки насіння Ризобіфітом. Так, висота рослин підвищувалась — 11-21%, довжина кореня — 18-31%, абсолютно суха маса надземної частини — 35-95 %, абсолютно суха маса кореневої системи — 41-135% порівняно з контролем в умовах вегетаційного досліджу.

3. Встановлено, що в середньому за два роки досліджень, урожайність нуту сорту Одисей істотно підвищувалась при обробці штамом *Bacillus sp.* 01-1 – 10, 3%, штамми 1н і 6н – 6 та 23%, відповідно, порівняно з контролем.

1. Дідович С.В. Формування та функціонування симбіозу *Mesorhizobium ciceri* - *Cicer arietinum* в агроценозах південного Степу України: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 03.00.07 „Мікробіологія” / С.В. Дідович. — Чернігів, 2007. — 22 с.
2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов — М.: Колос, 1985. — 376 с.
3. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика: [монографія] / В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська, Л.М. Токмакова, Є.П. Копилов, С.Ф. Козар, М.З. Толкачов, Т.М. Мельничук, Л.О. Чайковська, М.К. Шерстобоев, А.М. Москаленко, Ю. М. Халеп; За ред. В.В. Волкогона. — К.: Аграрна наука, 2006. — 312.

Т.Ю. Пархоменко, А.Л. Пархоменко, В.А. Чайковський, М.А. Пархоменко

Інститут сільськогосподарського господарства Криму НААН України

Образовательный научный центр «Институт биологии», Киевский национальный университет имени Т. Г. Шевченко

ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ-АНТАГОНИСТОВ ФИТОПАТОГЕНОВ НА БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС И ПРОДУКТИВНОСТЬ НУТА

Показана целесообразность применения микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов совместно с клубеньковыми бактериями для предпосевной обработки нута с целью повышения продуктивности культуры. Отобраны штаммы микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов, которые улучшают развитие растений нута и исследованы показатели бобово-ризобияльного комплекса - *Bacillus sp.* 01-1, 19, 36, 28-1, штаммы 1н, 3н, 8н, 5н, 6н. Показано, что предпосевная обработка семян нута сорта Одиссей исследованными штаммами позволяет повысить высоту растений на 11-21%, увеличить длину корневой системы на 18-31%, абсолютно сухую массу надземной части – на 35-95%, абсолютно сухую массу корневой системы – на 41-135% в сравнении с контролем в условиях вегетационного опыта. Установлено, что в среднем, за два года исследований, урожайность нута сорта Одиссей достоверно увеличивалась при обработке штаммом *Bacillus sp.* 01-1 на 10%, штаммами 1н и 6н – 6 и 23%, в сравнении с контролем.

Ключевые слова: нут, микроорганизмы-антагонисты фитопатогенов, клубеньковые бактерии, бобово-ризобияльный симбиоз

Т.Ю. Пархоменко, А.Л. Пархоменко, В.А. Чайковський, М.А. Пархоменко

Institute of agricultural of Crimea of NAAS Of Ukraine

Educational-scientific center "Institute of biology", Kyiv national University. T.G. Shevchenko, Ukraine

THE INFLUENCE OF THE USING OF MICROORGANISMS-ANTAGONISTS OF PHYTOPATHOGENS TO CHICKPEA'S LEGUME-RHIZOBIAL COMPLEX AND PRODUCTIVITY

It has been shown the expediency of using of microorganisms-antagonists of phytopathogens common with nodule bacteria for pre-sowing treatment chickpea for increasing of crop productivity. It have been selected the strains of microorganisms-antagonists of phytopathogens which able to promotes of chickpea plants growing and investigated the some indexes of legume-rhizobial symbiosis - *Bacillus sp.* 01-1, 19, 36, 28-1, 1n, 3n, 8n, 5n, 6n. It has been shown that the pre-sowing treatment of chickpea seeds variant Odissey by investigated strains allows increasing the high of plants to 11-21%, long of root system to 18-31%, absolutely dry biomass of green part of plant to 35-95%, absolutely dry biomass of root system to на 41-135% in comparison with control under green-house experiments. It has established that in average on two years of investigation the harvest of chickpea var. Odissey significant increasing under treatment by strain *Bacillus sp.* 01-1 to 10%, strains 1n and 6n – to 6 and 23%, in comparison with control.

Keywords: chickpea, microorganisms-antagonists of phytopathogens, nodule bacteria, legume-rhizobial symbiosis

Рекомендує до друку

Надійшла 26.06.2014

С.Я. Коць

¹В.П. ПАТИКА, ¹Т.Т. ГНАТЮК, ¹Н.В. ЖИТКЕВИЧ, ²О.О. АЛЕКСЄЄВ¹Інститут мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, ГСП, Д03680²Вінницький національний аграрний університет
вул. Сонячна, 3, Вінниця, 21008

ЧУТЛИВІСТЬ ДО ПЕСТИЦИДІВ НИЗКИ ПРЕДСТАВНИКІВ БАКТЕРІАЛЬНОЇ МІКРОБІОТИ СОЇ

Проведено скринінг пестицидів хімічного походження, які можна було б одночасно використовувати, як для знезараження насіння сої, так і не виявляли б токсичної дії до бульбочкових бактерій.

Ключові слова: соя, *Bradyrhizobium japonicum*, збудники бактеріозів сої, фунгіциди, гербіциди, інсектициди

Роль бактеризації насіння відома в світі як беззаперечна складова сучасних технологій вирощування зернобобових культур. Ступінь залежності інтенсивності росту, розвитку рослин сої та рівень реалізації генетичного потенціалу нових сортів опосередковано залежить від дії інокуляції високоактивними штамми бульбочкових бактерій [2, 5]. Однак, паралельно з інокуляцією рослин у сучасних системах землеробства використовується широкий спектр пестицидів як хімічного, так і біологічного походження. Тому перед використанням штамів бульбочкових бактерій необхідним є визначення токсичної дії на них цих препаратів або надійних методів нівелювання такої дії. Можливо також проводити скринінг на препарати, які не виявляють токсичної дії до бульбочкових бактерій або антагоністичної дії в разі використання препаратів біологічного походження.

Таким чином, пропозицію з використання засобів для інокулювання сої необхідно супроводжувати рекомендаціями щодо можливості використання інших препаратів. Окрім цього, перед сучасною агропромисловою наукою стоїть комплексне завдання підвищення біопродуктивності сільськогосподарських рослин, і захист їх від різноманітних шкідників у тому числі, і від фітопатогенних бактерій. Фітопатогенні бактерії, які широко розповсюджені в природі, спричинюють значні втрати в сільському господарстві і виявляють значну стійкість до пестицидів. Отже, скринінг пестицидів біологічного і хімічного походження, які одноразово можна було б використовувати як для знезараження насіння сої, так і для інокулювання її бульбочковими бактеріями, є актуальним [6, 7].

Тому, метою роботи було визначення чутливості високоактивного штаму *Bradyrhizobium japonicum* штаму М-8 і представників високошкодочинних збудників бактеріозів сої до низки пестицидів хімічного походження.

Матеріал і методи досліджень

У роботі використано як тест-культури *japonicum* штам М-8 та представники найбільш шкодочинних і поширених бактеріальних фітопатогенів сої: *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 10 штамів - збудник пустульозного бактеріозу сої, *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* 13 штамів - збудник кутастої плямистості сої, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* 2 штами - бактеріальний опік, *Pantoea agglomerans* 5 штамів - збудник смугастості стебла сільськогосподарських рослин. Бактеріальні культури були отримані з колекції відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАНУ. Бактерії вирощували на твердому живильному середовищі манітно-дріжджовому агарі (МДА), який придатний для росту бактерій роду *Bradyrhizobium* і картопляному агарі (КА) - для фітопатогенів. Використано препарати, які зазвичай застосовуються при вирощуванні сої: Харнес (досходовий гербіцид), Прометрин (грунтовий гербіцид), Ранкона (протруйник фунгіцид), Максим ХЛ (фунгіцид), а також широкоживані в сільському господарстві України: Ридоміл, Пропульс (фунгіциди), Пончо (інсектицид) [1]. Дію зазначених препаратів оцінювали за їх впливом на ріст бактеріальних штамів у дозі, рекомендованій до використання [3]. Для цього застосовували крапельний метод, за якого 0,1 мл бактеріальної суспензії наносили у вигляді краплі у центр

ЕКОЛОГІЯ

картопляної пластинки з бактеріальною тест-культурою. Відсутність затримки росту вказувало на резистентність мікроорганізмів до даної концентрації препарату. Зони, діаметр яких не перевищує 15 мм, свідчать про слабку чутливість до препарату. Зони затримки росту від 15 до 25 мм фіксуються у чутливих мікроорганізмів, високочутливі характеризуються зонами з діаметром більш ніж 25 мм [6].

Результати досліджень та їх обговорення

Оскільки частка хімічних засобів захисту рослин, що використовується у сільському господарстві України, все ще перевищує застосування біологічних пестицидів, то певну увагу приділяємо пестицидам хімічного походження. Виявлено, що пестициди різного призначення (фунгіциди, гербіциди, інсектициди) переважно не виявляють токсичної дії до *Bradyrhizobium japonicum* штаму М-8 у лабораторних умовах. До таких пестицидів можна віднести Харнес, Прометрин, Ранкона, Максим XL (табл. 1). Їх можна рекомендувати до сумісного або паралельного застосування за інокуляції насіння сої вказаним штамом і препаратів на його основі.

У той же час, відомий і широко застосований в землеробстві України фунгіцид Ридоміл виявляє високу токсичну дію до штаму М-8. Фунгіцид Пропульс та інсектицид Пончо також токсичні для штаму М-8, але дещо в меншому ступені. Тобто за потреби використання цих препаратів при інокуляції бульбачковими бактеріями потрібно додержуватися почерговості їх використання. Отримані результати вказують на необхідність постійного визначення сумісності препаратів хімічного та біологічного походження при їх застосуванні в сільському господарстві.

Таблиця 1

Визначення чутливості *Bradyrhizobium japonicum*, штам М-8 до препаратів хімічного походження

Дослідний препарат	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , штам М-8	
	Діаметр зон пригнічення росту (мм)	
Ридоміл	45	
Пропульс	25	
Ранкона	0	
Максим XL	0	
Харнес	0	
Прометрин	0	
Пончо	15	

Примітка: “цифрова позначка” - позитивна реакція, наявність зони пригнічення росту, “0” - відсутність зони пригнічення росту, активний ріст тест-культури.

Таблиця 2

Визначення чутливості представників основних родів фітопатогенних бактерій до препаратів хімічного походження

Дослідний штам	Препарати фунгіцидної дії				гербіциди		інсектицид
	Ридоміл	Пропульс	Ранкона	Максим XL	Харнес	Прометрин	Пончо
	діюча речовина						
	манко-цеб, металаксил-М	протиоко-назол, Флуопирам	іпконазол	металаксил-М, флудиоксонил	ацетохлорид	прометрин	бета-цифлутрин, клотианидин
Діаметр зон пригнічення росту (мм)							
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycine</i> s-10 штамів	35-40	0	35-35	20-35	0	0	0
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i> – 13 штамів	15-25	0	0	0-15	0	0	0
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i> – 2 штами	15	0	0	0	0	0	0
<i>Pantoea agglomerans</i> – 5 штамів	10-15	0	0	0	0	0	0

Примітка: “цифрова позначка” - позитивна реакція, наявність зони пригнічення росту, “0” - відсутність зони пригнічення росту, активний ріст тест-культури.

У подальших дослідженнях визначено, що переважна кількість використаних препаратів не виявляють токсичної дії щодо представників основних родів та видів фітопатогенних бактерій (табл. 2). Проте фунгіцид Ридоміл токсичний до фітопатогенів, а фунгіциди Ранкона та Максим XL - до збудника пустульного бактеріоза сої *axonopodis* pv. *glycines*. Тобто застосування Ридомілу проти грибних і бактеріальних хвороб сої не можна одночасно поєднувати із інокуляцією насіння. На протилежність цьому, фунгіциди Ранкона та Максим XL можна використовувати паралельно із обробкою насіння в якості засобів захисту рослин від хвороб, оскільки вони не токсичні для дослідного штаму *jaronicum*.

Висновки

Проведено скринінг пестицидів хімічного походження, які можна було б одночасно використовувати з мікробними препаратами на основі бульбочкових бактерій.

Показано, що фунгіцид Ридоміл проявляє високу токсичну дію до фітогенних бактерій і *Bradyrhizobium japonicum* штаму М-8. Пестициди Харнес, Прометрин, Ранкона, Максим XL можна рекомендувати до сумісного або паралельного застосування при інокуляції сої.

1. *Бактеріальні хвороби сільськогосподарських рослин і пестициди* / [Петриченко В.Ф., Корнійчук О.В., Пасічник Л.А. та ін.] // Вісник Аграрної Науки — № 4. — 2013. — С. 21—26.
2. *Волкогон В.В.* Експериментальна ґрунтова мікробіологія / Волкогон В.В., Надкернична О.В., Токмакова Л.М. з співавт. / під ред В.В. Волкогон — Інститут с/г мікробіології, Київ «Аграрна Наука», 2010. — С. 3—463.
3. *Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні* — Арт-Прес. — 2008, додаток від 1.01.2012.
4. *Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»* / Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007 р.
5. *Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»* / Наказ МОЗ України №167 від 05.04. 2008 р.
6. *Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин* / [Гвоздяк Р.І., Пасічник Л.А., Яковлева Л.М. та ін.] — під ред. Патики В.П. — Київ: ТОВ «Науково-виробниче підприємство Інтерсервіс», 2011. — 442 с.
7. *Шкаликів В.А., Белошапкина О.О., Букреев Д.Д.* Защита растений. — под. ред. А.А.Белоусова, Н.А. Фролова. — Москва: Колос, 2004. — 205 с.

В.Ф. Патыка, Т.Т. Гнатюк, Н.В. Житкевич, А.А. Алексеев

Институт микробиологии и вирусологии имени Д. К. Заболотного НАН Украины
Винницкий национальный аграрный университет

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ПРЕПАРАТАМ РЯДА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОБИОТЫ СОИ

Проведён скрининг пестицидов химического происхождения, которые можно было бы одноразово использовать, как для обеззараживания семян сои, так и не проявляли бы токсичного действия на клубеньковые бактерии.

Ключевые слова: соя, *Bradyrhizobium japonicum*, возбудители бактериозов сои, фунгициды, гербициды, инсектициды

V. Patuka, T. Gnatuk, N. Zhitkevich, O. Aleksaev

The Institute of Microbiology and Virology. D. Zabolotnogo NAS of Ukraine
Vinnytsia National Agrarian University, Ukraine

SENSITIVITY TO PESTICIDES NUMBER OF REPRESENTATIVES OF THE BACTERIAL MICROBIOTA SOYBEAN

Screening of chemical origin pesticides that can be used singly as for decontamination of soybean seeds from phytopatogenic bacteria and showed no toxic effect to rhizobia.

Keywords: soy, pesticides, bacteria, *Bradyrhizobium japonicum*, soybean pathogens of bacteriosis, fungicides, herbicides, insecticides

Рекомендує до друку

Надійшла 10.06.2014

Г.А. Іутинська

ФОРМУВАННЯ І ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ *LUPINUS ALBUS L. -BRADYRHIZOBIUM SP. (LUPINUS)* ЗА ВИКОРИСТАННЯ РИЗОБОФІТУ І РІСТРЕГУЛЯТОРІВ

Проведено дослідження динаміки формування та функціонування симбіотичного апарату люпину білого сортів Діета та Серпневий за обробки насіння ризобіофітом на основі *Bradyrhizobium sp. (Lupinus)* штамів 367a і 5500/4, регуляторами росту рослин Регоплант і Стимпо. В онтогенезі люпину білого виявлено два піки азотфіксувальної активності: під час бутонізації рослин та у фазу зеленого бобу. Застосування композицій ризобіофіту з регуляторами росту рослин інтенсифікувало наростання бульбочок на коренях люпину білого. Виявлено позитивний ефект від комплексної обробки люпину білого ризобіофітом, штам 5500/4 і регулятором росту рослин Регоплант.

Ключові слова: люпин білий, симбіотична система, бульбочки, ризобіофіт, регулятори росту рослин

Рівень ведення сільськогосподарського виробництва має визначатися не тільки врожайністю культур, а й екологічними наслідками. Зменшення обсягів використання органічних і мінеральних добрив, надмірне антропогенне навантаження призвело до дефіциту в ґрунтах поживних речовин та забруднення атмосфери [7].

Тому, доцільно розробити технології вирощування сільськогосподарських культур, що базуються на досягненнях біології [2, 13], і є нешкідливими для довкілля.

Впровадження в практику сільського господарства інтенсивних, з високим генетичним потенціалом сортів рослин потребує створення в кореневмісному шарі ґрунту високих концентрацій легкодоступних елементів живлення, зокрема сполук азоту. Проте, в ґрунтах багатьох регіонів України доступних для рослин азотних сполук не вистачає. Тому, питання про підняття родючості ґрунту, підвищення врожайності сільськогосподарських культур і усунення дефіциту харчового та кормового білка насамперед пов'язують із збільшенням азоту в ґрунті [13, 14]. Фіксація атмосферного азоту бобовими культурами, зокрема люпином у симбіозі з бульбочковими бактеріями роду *Bradyrhizobium* – один із шляхів забезпечення рослин зв'язаним азотом [15].

Люпин білий (*Lupinus albus L.*) є важливою кормовою та харчовою культурою [9], з високим вмістом у насінні білка (до 500 %), олії (від 5 до 200 %), за якістю близької до оливкової, відсутністю інгібіторів травлення й інших антипоживних речовин. Завдяки симбіозу з бульбочковими бактеріями люпин здатний накопичувати в ґрунті за вегетаційний період від 70 до 280 кг/га молекулярного азоту з повітря [3], за даними Гвоздева та ін. – від 200 до 400 [12].

У зв'язку з цим, пошук шляхів створення потужного симбіотичного апарату в онтогенезі люпину білого в його агробіоценозах є важливою теоретичною проблемою, яка потребує наукового обґрунтування при розробці зональних технологій вирощування люпину.

Одним із шляхів підвищення його урожайності та отримання екологічно чистої продукції є використання мікробних препаратів та регуляторів росту рослин (РРР). РРР проявляють як стимулюючу, так і інгібуючу дію на перебіг основних фізіологічних процесів у рослинному організмі, посилюють пристосування та виживання рослин у стресових умовах, суттєво впливають на функціонування донорно-акцепторної системи [10, 11].

Нині у сільському господарстві України та інших країнах широко застосовуються нові ефективні композиційні регулятори росту рослин, створені в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України разом з Міжвідомчим науково-технологічним центром "Агробіотек"

НАН України і МОН України. Серед розмаїття сучасних препаратів важливими є PPP природного походження, зокрема Регоплант та Стимпо.

Мета роботи – встановити вплив передпосівної обробки насіння ризобіофітом на основі бульбочкових бактерій люпину штамів 367а, 5500/4, PPP Стимпо та Регоплант і їхніми композиціями на формування і функціонування симбіотичної системи *Lupinus albus* L. – *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) сортів Діета і Серпневий.

Матеріал і методи дослідження

Польові досліди закладали на дослідних ділянках Кременецького ботанічного саду за схемою: 1 варіант – контроль, насіння не оброблене; 2 – насіння перед посівом інокулювали ризобіофітом на основі *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) штаму 367а (стандартний); 3 – ризобіофіт, штам 5500/4; 4 – насіння перед посівом обробляли PPP Регоплант; 5 – PPP Стимпо; 6 – ризобіофіт, 367а + PPP Регоплант; 7 – ризобіофіт, 367а + PPP Стимпо; 8 – ризобіофіт, 5500/4 + PPP Регоплант; 9 – ризобіофіт, 5500/4 + PPP Стимпо. Ризобіофіт виготовлено в Інституті сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України (м. Чернігів). В основу створення препаратів PPP Стимпо та Регоплант покладено синергійний ефект взаємодії продуктів біотехнологічного культивування гриба-мікроміцета, вилученого з кореневої системи женьшеню та препаратів з продуктів життєдіяльності *Streptomyces avermitilis* [1].

Люпин білий сорту Діета внесений до Реєстру сортів рослин України на 2004 рік (виведений у ННЦ "Інститут землеробства НААН України"). Створений методом індивідуального добору на інфекційному фоні із сорту люпину білого Український. Для нього характерне одночасне досягання зерна на центральній китиці та бічних пагонах, що забезпечує скоростиглість і високу якість насіння. Зерно сорту Діета може бути використане для приготування продуктів харчування. Сорт Серпневий занесений до Реєстру сортів рослин України на 2006 рік. Створений методом гібридизації (лінія 2101×лінія 2247) з подальшим індивідуальним доббором за ознакою скоростиглості. Сорт стійкий до фузаріозу та вірусу жовтої мозаїки квасолі (ВЖМК), рекомендовано для вирощування на зерно і зелену масу [16].

При визначенні особливостей формування та функціонування симбіотичної системи люпину з кожної повторності відбирали зразки ґрунту з коренями в монолітах, розмірами 22×22×27 см. Корені відділяли від ґрунту, відмивали, обривали бульбочки, зважували та визначали їх нітрогеназну активність ацетилен-етиленовим методом на газовому хроматографі «Chrom – 4» [4]. Статистичну обробку даних проводили за Б.О. Доспеховим [8] та за допомогою програми Microsoft Office Excel.

Результати досліджень та їх обговорення

Згідно сучасних уявлень, бобово-ризобіальний симбіоз є результатом комплементарності двох геномів: макро- та мікросимбіонтів [6]. Ефективність симбіозу люпину з бульбочковими бактеріями залежить не тільки від властивостей фіто- і ризосимбіонтів та їх генетичної комплементарності, а й від умов навколишнього середовища – абіотичних, біотичних, антропогенних [5] та від технології вирощування. За взаємодії бобової рослини з бульбочковими бактеріями може утворюватися як ефективний, так і неефективний симбіоз, який часто пов'язаний зі слабким розвитком кореневих бульбочок [17]. Як показали дослідження, обробка насіння мікробними препаратами поліпшує умови для контакту кореневої системи люпину з вірулентними формами ризобій та ряснішого формування на коренях активних азотфіксувальних бульбочок.

Протягом вегетації ми вивчали морфологію бульбочок люпину білого. За обробки насіння культури більшість бульбочок мали рожевий колір та розміщувалися на головному корені, що свідчить про активну азотфіксацію в них молекулярного азоту. Разом з бульбочками видовженої форми спостерігали формування великої кількості бульбочок, зібраних у муфти (рис).

Вагомим критерієм ефективності взаємодії рослини і бактерій є маса активних бульбочок на коренях бобових (табл. 1). В онтогенезі скоростиглих сортів люпину вона зростала до фази зеленого бобу.



Рис. Бульбочки на коренях люпину білого сорту Дієта за інокуляції ризобієфітом, штам 367а

Результати дослідження показали, що ризобієфіт, штамів 367а та 5500/4, регулятори росту рослин та їхні композиції сприяли наростанню бульбочок. У ґрунт дослідних ділянок наявні місцеві раси бульбочкових бактерій, які спонтанно інокулювали корені рослин контрольного варіанту.

Встановлено, що у фазі бутонізації обробка насіння біопрепаратами призвела до зростання маси бульбочок у 1,170 – 02,06 разів (сорт Дієта) та 1,320 – 03,37 (сорт Серпневий), порівняно з контролем (табл. 1). Найбільшу масу бульбочок сформували на коренях рослини сорту Дієта за дії композиції ризобієфіту, штам 5500/4 з РРР Регоплант. Істотну різницю за вищезазначеним показником виявлено у 3, 7, 8 та 9-му варіантах. Рослини сорту Серпневий виявилися більш комплементарними, порівняно з сортом Дієта, до бульбочкових бактерій люпину штаму 5500/4, що проявилось у формуванні великої кількості бульбочок з високою масою впродовж онтогенезу. Необхідно зазначити, що передпосівна обробка насіння РРР Регоплант і Стімпо на фоні спонтанної інокуляції інтенсифікувала формування бульбочок на коренях рослин обох сортів люпину.

Таблиця 1

Маса бульбочок (мг) на коренях рослин люпину білого за дії мікробних препаратів і регуляторів росту рослин

№	Варіант	Фаза росту і розвитку		
		бутонізація	цвітіння	зелений біб
Сорт Дієта				
1	Контроль	109,72±6,01	115,37±2,88	163,12±7,43
2	Ризобієфіт, штам 367а	124,10±10,96	195,32±17,50	238,12±20,70
3	Ризобієфіт, штам 5500/4	202,74±17,52*	209,51±21,17	193,67±14,86
4	РРР Регоплант	144,12±13,74	202,47±11,56	254,28±2,24*
5	РРР Стімпо	184,17±11,17*	194,21±14,71	166,42±12,38
6	Ризобієфіт, штам 367а + РРР Регоплант	148,26±12,13	206,17±11,27	210,33±13,86
7	Ризобієфіт, штам 367а + РРР Стімпо	227,05±4,04*	309,06±15,80	341,15±25,30
8	Ризобієфіт, штам 5500/4 + РРР Регоплант	231,04±15,00*	267,12±9,88*	266,05±19,38*
9	Ризобієфіт, штам 5500/4 + РРР Стімпо	227,21±4,27*	271,17±14,82*	253,27±7,66*
Сорт Серпневий				
1	Контроль	105,12±2,95	106,23±3,30	138,19±10,50
2	Ризобієфіт, штам 367а	236,41±15,66*	241,21±10,32*	224,36±5,40*
3	Ризобієфіт, штам 5500/4	355,18±2,99*	363,05±7,53*	296,54±13,98
4	РРР Регоплант	246,14±18,41*	248,08±1,20*	210,07±5,81*
5	РРР Стімпо	235,70±15,25*	246,32±9,42*	172,65±14,85
6	Ризобієфіт, штам 367а + РРР Регоплант	197,22±14,58*	228,43±13,52*	143,20±14,94
7	Ризобієфіт, штам 367а + РРР Стімпо	178,34±13,45*	197,28±12,86*	161,15±13,75
8	Ризобієфіт, штам 5500/4 + РРР Регоплант	243,26±19,20*	234,52±5,49*	276,03±15,02*
9	Ризобієфіт, штам 5500/4 + РРР Стімпо	139,28±12,67	157,61±10,16	233,12±12,21*

Примітка: * – позначено істотну різницю порівняно з контролем.

ЕКОЛОГІЯ

Фаза цвітіння, порівняно з фазою бутонізації, характеризувалася незначним підвищенням маси бульбочок на коренях рослин в усіх варіантах досліджуваних сортів. За сумісної дії регуляторів росту і ризобіофіту маса бульбочок на кореня люпину істотно відрізнялася від контролю.

Протягом досліджуваного періоду у фазі зеленого бобу маса бульбочок на коренях рослин сорту Діета була максимальною за обробки насіння ризобіофітом, штам 367а, РРР Регоплант, композиціями ризобіофіту, штам 367а з РРР Стімпо та ризобіофіту, штам 5500/4 з РРР Регоплант. У рослин сорту Серпневий аналогічну закономірність виявлено лише за дії композицій ризобіофіту, штам 5500/4 з РРР Регоплант та Стімпо. Зниження маси бульбочок на коренях рослин сорту Серпневий інших варіантів, очевидно, пов'язане з їх лізісом.

Отже, на накопичення маси бульбочок протягом онтогенезу рослин люпину білого найкраще впливають композиції ризобіофіту, штам 5500/4 з РРР нового покоління.

Про ефективність обробки насіння біопрепаратами свідчить не стільки маса сформованих на коренях бульбочок, скільки їх азотфіксувальна активність. Результати дослідження показали (табл. 2), що протягом онтогенезу у рослин люпину білого виявлено два піки у величині загальної азотфіксувальної активності: у фазах бутонізації та зеленого бобу. Нітрогеназна активність бульбочок рослин дослідних варіантів була значно більша, ніж у контролі.

Таблиця 2

Загальна азотфіксувальна активність бульбочок (мк Моль C_4H_4 / рослину*год) люпину білого за дії біопрепаратів

№	Варіант	Фази розвитку		
		бутонізація	цвітіння	зелений біб
Сорт Діета				
1	Контроль	2,801±0,170	0,150±0,028	6,083±0,330
2	Ризобіофіт, штам 367а	9,240±0,600*	0,126±0,006	10,523±1,030
3	Ризобіофіт, штам 5500/4	9,523±0,470*	0,199±0,020	13,717±1,300
4	РРР Регоплант	9,121±0,950*	0,141±0,008	18,032±0,590*
5	РРР Стімпо	13,863±0,230*	0,203±0,001*	18,681±1,120*
6	Ризобіофіт, штам 367а + РРР Регоплант	7,280±0,760*	0,227±0,013*	15,543±1,350*
7	Ризобіофіт, штам 367а + РРР Стімпо	4,092±0,490	0,313±0,007*	13,752±1,210*
8	Ризобіофіт, штам 5500/4 + РРР Регоплант	16,171±1,500*	0,362±0,064*	19,941±1,690*
9	Ризобіофіт, штам 5500/4 + РРР Стімпо	2,232±0,700	0,218±0,010*	16,523±1,520*
Сорт Серпневий				
1	Контроль	2,960±0,260	0,245±0,025	15,680±0,390
2	ББЛ	5,860±0,650	0,294±0,011*	16,711±0,980
3	Ризобіофіт, штам 5500/4	9,831±0,360*	0,139±0,005	24,321±1,490*
4	РРР Регоплант	4,553±0,180	0,181±0,008	19,353±1,510
5	РРР Стімпо	8,032±0,320*	0,110±0,006*	22,218±0,890*
6	Ризобіофіт, штам 367а + РРР Регоплант	18,650±1,100*	0,339±0,005*	47,621±1,940*
7	Ризобіофіт, штам 367а + РРР Стімпо	12,521±1,450*	0,745±0,037*	21,423±1,700*
8	Ризобіофіт, штам 5500/4 + РРР Регоплант	18,713±1,140*	0,642±0,080*	22,722±2,140*
9	Ризобіофіт, штам 5500/4 + РРР Стімпо	4,271±0,730	0,342±0,130	10,810±1,191

Примітка: * – позначено істотну різницю порівняно з контролем.

Найвищий рівень нітрогеназної активності виявлено у фазі бутонізації за дії композицій ризобіофіту, штамми 367а і 5500/4 з РРР Регоплант (сорт Серпневий). У сорту Діета найбільш ефективним у вищезазначеній фазі виявилось лише сумісне застосування РРР Регоплант з ризобіофітом, штам 5500/4.

Результати експерименту не узгоджуються з дослідженнями Пейта [18], які показали, що в процесі розвитку більшості бобових максимум азотфіксації припадає на початок цвітіння рослин.

За динамікою нітрогеназної активності сорт Серпневий відрізняється від сорту Діета, у нього на 15,70 % рівень азотфіксувальної активності був вищим. У фазі цвітіння азотфіксувальна активність істотно знижувалася, порівняно з фазою бутонізації. Ризобії слабо фіксували молекулярний азот з повітря. Очевидно, зниження азотфіксувальної активності зумовлене

зменшенням потоку вуглецевих сполук із листків у коріння і бульбочки, а також використанням їх для утворення та діяльності генеративних органів.

У фазі зеленого бобу активність нітрогенази, порівняно з попередньою фазою, дещо зростає у 1,75 (ризобіфіт, штам 367a) – 3 (ризобіфіт, штам 5500/4 + PPP Реґоплант) рази у сорту Діста, та у 1,07 (ризобіфіт, штам 367a) – 3,05 (ризобіфіт, штам 367a + PPP Реґоплант) у сорту Серпневий.

Сортові особливості люпину впливали на фіксацію молекулярного азоту протягом вегетації. У сорту Серпневий показники нітрогеназної активності були дещо вищими, ніж у сорту Діста. Найвища азотфіксувальна активність (АФА) була у рослин обох сортів за комплексної обробки ризобіфітом, штам 5500/4 і PPP Реґоплант.

Висновки

Застосування композицій ризобіфіту на основі активних штамів бульбочкових бактерій з новими регуляторами росту рослин є перспективним напрямком біологічних досліджень, оскільки сприяє формуванню на коренях рослин люпину білого значної кількості бульбочок з високою активністю симбіотичної азотфіксації.

1. *Анішин Л. А.* Регулятори росту рослин. Рекомендації по застосуванню / Анішин Л. А., Пономаренко С. П., Грицаєнко З. М. — К.: ДП МНТЦ «Агробіотех», 2011. — 40 с.
2. *Біологічний азот* / [Патика В. П., Коць С. Я., Волкогон В. В. та ін.]. — К.: Світ, 2003. — 422 с.
3. *Вільямс М. В.* Симбиотическая фиксация азота у растений люпина в зависимости от условий фотосинтеза и азотного питания / М. В. Вильямс, Б. А. Ягодин, Ю. Г. Сазонов // Физиология растений. — 1985. — 32, № 1. — С. 97—103.
4. *Волкогон В. В.* Методичні рекомендації по визначенню азотфіксації в ґрунті та кореневій зоні рослин ацетиленовим методом / В. В. Волкогон. — Чернігів, 1997. — 14 с.
5. *Вплив ґрунтових грибів на функціонування симбіотичної системи люпин-бульбочкові бактерії люпину* / [Надкєрнична О. В., Горбань В. П., Дмитрук О. О.] // Селекція і насінництво. — 2009. — Вип. 97. — С. 266—275.
6. *Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции*; под. ред. И. А. Тихоновича и Н. А. Прохорова. — С.-Пб.: Наука, 1998. — 194 с.
7. *Голодна А. В.* Продуктивність люпину вузьколистого залежно від строків сівби в Північному Ліссостепу / А. В. Голодна, Н. Г. Буслаєва // Збірник наукових праць Національного наукового центру «Інститут землеробства УААН» — К.: ВД «ЕКМО», 2010. — Вип. 4. — С. 149—155.
8. *Доспєхов Б. А.* Методика полевого опыта / Б. А. Доспєхов. — М.: Агрпроміздат, 1985. — 351 с.
9. *Зінченко О. І.* Рослинництво: Підручник / О. І. Зінченко, В. Н. Салатєнко, М. А. Білоножко. — К.: Аграрна освіта, 2001. — 591 с.
10. *Косаківська І. В.* Фітогормональна регуляція процесів адаптації рослин до стресів / І. В. Косаківська // Укр. ботан. журн. — 1997. — Т. 54, № 4. — С. 330—333.
11. *Кур'ята В. Г.* Ретарданти – модифікатори гормонального статусу рослин / В. Г. Кур'ята // Физиология растений: проблеми та перспективи розвитку. / НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики, українське т-во рослин; голов. ред. В. В. Моргун. — К.: Логос, 2009. — Т. 1. — С. 565—589.
12. *Люпин: сельскохозяйственная энциклопедия* / ред. В. П. Милотин. — М.: Гос. изд-во «Советская энциклопедия», 1934. — Т. 3. — 488 с.
13. *Мікроорганізми і альтернативне землеробство* / [Патика В. П., Тихонович І. А., Філіп'єв І. Д. та ін.]; за ред. В. П. Патики. — К.: Урожай, 1993. — 176 с.
14. *Петриченко В. Ф.* Наукові основи формування високопродуктивних посівів гороху в умовах Правобережного Ліссостепу України / В. Ф. Петриченко, Т. М. Гончар // Корми і кормовиробництво. — 2007. — Вип. 59. — С. 103—110.
15. *Пида С. В.* Роль біологічного азоту в підвищенні насінневої продуктивності люпину / С. В. Пида, Н. В. Солодюк, Т. М. Левченко // Збірник наукових праць Національного наукового центру «Інститут землеробства УААН» (спецвипуск). — К.: ЕКМО, 2006. — С. 153—161.
16. *Сайт «МНТЦ Агробіотех»* [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <https://www.agrobiotech.com.ua/>. — Перевірено: 24.03.2014.
17. *Maier R. J.* Ineffective and non-nodulating mutant strains of *Rhizobium japonicum* / R. J. Maier, W. J. Brill // J. Bacteriol. — 1976. — Vol. 127, № 2. — P. 763—769.
18. *Pate J. S.* Herridge partitioning and utilization of net photosynthate in a nodulated annual legume / J. S. Pate // J. Exper. Botany. — 1978. — 29, № 109. — P. 401—402.

С. В. Пыда, Е. В. Тригуба, А. Б. Конончук

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

Кременецкий областной гуманитарно-педагогический институт имени Тараса Шевченко

ФОРМИРОВАНИЕ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ *LUPINUS ALBUS L. -BRADYRHIZOBIUM SP. (LUPINUS)* ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РИЗОБОФИТА И РОСТРЕГУЛЯТОРОВ

Проведено исследование динамики формирования и функционирования симбиотического аппарата люпина белого сортов Диета и Сэрпневый при обработке семян ризобифитом на основании *Bradyrhizobium sp. (Lupinus)* штаммов 367a и 5500/4, регуляторами роста растений Регоплант и Стымпо. В онтогенезе люпина белого выявлено два пика азотфиксирующей активности: во время бутонизации растений и в фазе зеленого боба. Применение композиций ризобифита с регуляторами роста растений способствовало нарастанию клубеньков на корнях люпина белого. Выявлено положительный эффект от комплексной обработки люпина белого ризобифитом, штамм 5500/4 и регулятором роста растений Регоплант.

Ключевые слова: люпин белый, симбиотическая система, клубеньки, ризобифит, регуляторы роста растений

S. V. Pida, E. V. Tryguba, O. B. Kononchuk

Ternopil national teachers' training university named after Vladimir Gnatuk

Kremenets regional humanitarian teachers' training institute named after Taras Shevchenko

FORMATION AND FUNCTIONING OF SYMBIOTIC SYSTEM *LUPINUS ALBUS L. BRADYRHIZOBIUM SP. (LUPINUS)* FOR USING OF RHIZOBOFIT AND GROWTH REGULATORS

Research of dynamics of formation and functioning of symbiotic apparatus of Lupinus white of such kinds as Dieta and Serpnevyy with processing of seeds by rhizobifit on the basis of *Bradyrhizobium sp. (Lupinus)* stamps 367a and 5500/4 and by growth regulators of plants Regoplant and Stympo was hold. In ontogenesis of Lupinus white there were found two peaks of nitrogen-fixing activity: during budding of plants and in the phase of green bean. Using of compositions of rhizobifit with growth regulators of plants intensified growth of tubers on the roots of Lupinus white. There was found a positive effect from complex processing of Lupinus white by rhizobifit, stamp 5500/4 and by growth regulators of plants Regoplant.

Keywords: Lupinus white, symbiotic system, tubers, rhizobifit, growth regulators of plants

Рекомендує до друку

Надійшла 18.06.2014

С.Я. Коць

УДК 579.64 + 606:63

Г.В. САФРОНОВА, З.М. АЛЕЩЕНКОВА, Н.В. МЕЛЬНИКОВА

Институт микробиологии НАН Беларуси

ул. Академика Купревича, 2, Минск, 220141, Республика Беларусь

**АЗОТФИКСИРУЮЩИЕ И ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИЕ
МИКРООРГАНИЗМЫ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ РОСТА СЕЯНЦЕВ
СОСНЫ И ЕЛИ**

Выделены и отобраны штаммы азотфиксирующих (р. *Rahnella*) и фосфатмобилизирующих (р. *Pseudomonas*) бактерий и арбускулярных микоризных грибов р. *Glomus* для стимуляции роста сеянцев сосны и ели.

Ключевые слова: сосна, ель, азотфиксирующие и фосфатмобилизирующие микроорганизмы, ростстимуляция

Республика Беларусь – лесная страна, почти 40% ее территории заняты лесами. Общая площадь лесного фонда государства составляет 9,4 млн гектаров, за последние 20 лет она увеличилась на 1 млн. 350 тыс. га. Ежегодно в лесах республики прирастает свыше 30,3 млн. м³ древесины [7].

Для успешного восстановления леса используются сосна обыкновенная и ель европейская, которые легко приспосабливаются к условиям неблагоприятной среды. Сеянцы и саженцы хвойных выращиваются из семян в питомниках. Многократные уходы за посевами, выкопка посадочного материала и частая пахота почвы в питомниках приводят к ухудшению ее физических свойств и снижению плодородия [4]. Реальная возможность восстановления почвенного плодородия биологическим путем – использование почвенных и ризосферных микроорганизмов и биопрепаратов на их основе. В мировой практике земледелия применение ризобактерий для улучшения роста и питания сельскохозяйственных культур служит одним из перспективных подходов [1]. Однако в лесном хозяйстве они используются недостаточно.

Цель работы – выделить и идентифицировать азотфиксирующие и фосфатмобилизующие микроорганизмы, стимулирующие рост и развитие сеянцев сосны и ели.

Материал и методы исследований

Растительные объекты: сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) и ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.).

Микробиологические объекты – 21 изолят олигонитрофильных и 21 изолят фосфатмобилизующих бактерий, выделенные из почв Беларуси и ризосферных микробценозов однолетних сеянцев сосны и ели; АМГ, выделенные из корней однолетних сеянцев сосны.

Изоляты ризобактерий получали из накопительных культур гомогенизированных образцов почвы и ризосферной почвы с последующим высевом разведений суспензии на поверхность агаризованных сред: олигонитрофильные – на среду Эшби [8], фосфатмобилизующие – на среду Муромцева [6].

Нитрогеназную активность изолятов олигонитрофильных микроорганизмов определяли ацетиленовым методом на газовом хроматографе Хром-4, модернизированном аппаратно-программным комплексом UniChrom 4.x-5 [9], фосфатмобилизующую – по руководству [6].

Ростостимулирующее действие исследуемых бактерий и влияние продуктов их метаболизма на энергию прорастания семян сосны и ели, их всхожесть, развитие и накопление массы корней проростков изучали по методам, изложенным в руководстве [2].

Количество индолил-уксусной кислоты (ИУК), продуцируемое ризобактериями, определяли колориметрическим методом [10].

Степень микоризации корней однолетних сеянцев сосны АМГ и их выделение проводили согласно рекомендациям [3].

Статистическая обработка данных общепринятая для биологических исследований [5].

Результаты исследований и их обсуждение

Из образцов накопительных культур выделили 21 изолят олигонитрофильных и 21 изолят фосфатмобилизующих бактерий. Из выделенных изолятов олигонитрофильных бактерий способностью фиксировать азот атмосферы обладали 15. Их нитрогеназная активность колебалась в пределах от 24,6 до 148,4 нМоль С₂Н₄/фл./сут (рис. 1).

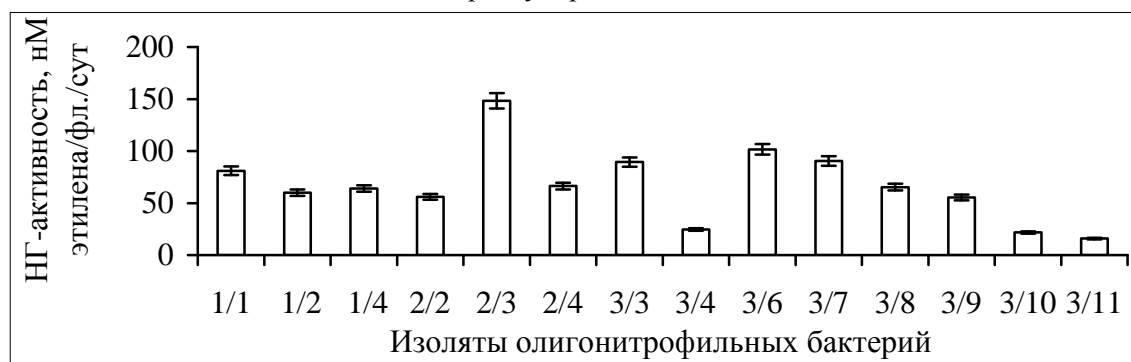


Рис. 1. Нитрогеназная активность выделенных изолятов ризобактерий

Диаметр зон растворенных фосфатов кальция на агаризованной глюкозо-аспарагиновой среде выделенными фосфатмобилизующими бактериями составлял 6–20 мм (рис. 2).

Фитостимулирующим действием на ранних стадиях онтогенеза сосны и ели обладали не все выделенные изоляты. Установлено, что семена сосны прорастали быстрее под влиянием 23 выделенных бактерий: энергия их прорастания в контрольном варианте составляла 40, всхожесть – 56%, а в вариантах опыта – 77 и 80% соответственно. Накопление проростками сухой биомассы стимулировали 50% азотфиксирующих и 86% фосфатмобилизующих штаммов.

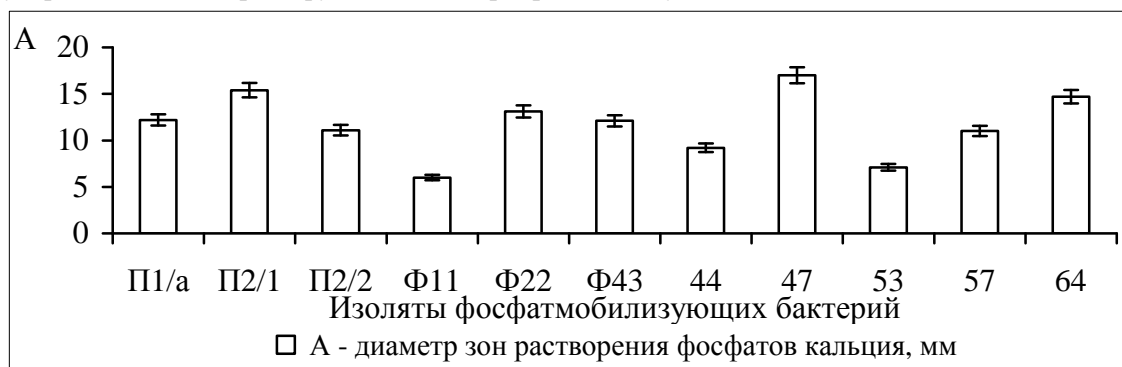


Рис. 2. Растворение фосфатов Са изолятами фосфатмобилизующих бактерий

Энергию прорастания семян ели (в среднем на 12%) повышали 59% выделенных ризобактерий. Всхожесть и рост проростков достоверно повышали 78% анализируемых микроорганизмов. Длина проростков ели, семена которых обработаны изолятами, возрастала по сравнению с контролем в среднем на 6,6 мм, сухой вес – на 65%. Ростстимулирующая активность отобранных штаммов обусловлена синтезом ИУК. Содержание ауксина в среде культивирования ризобактерий с 0,05% L-триптофана составляло 3,5–191,0 мкг ИУК/мл культуральной жидкости.

Высокие значения нитрогеназной активности выявлены у изолята Е10 (438 нМоль C_2H_4 /фл./сут), фосфатмобилизующей активности – у изолята П2/1 (15,5 мм). Штаммы стимулировали рост и развитие проростков сосны и ели. Анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК показал их принадлежность к рр. *Rahnella* и *Pseudomonas* соответственно.

Выделение спонтанных АМГ проводили из микоризованных корней однолетних сеянцев сосны со 100%-ной микоризацией, 67%-ной интенсивностью развития гиф и 55%-ным обилием везикул (рис. 3).

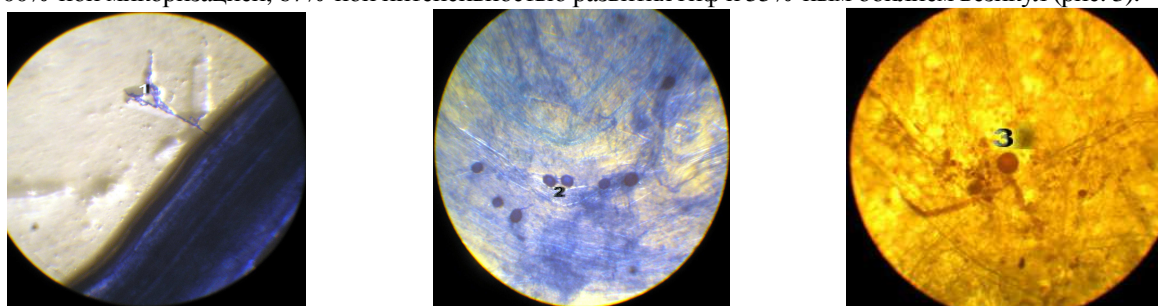


Рис. 3. Микоризные структуры в корнях однолетних сеянцев сосны. 1 – гифы (увеличение 5x2,5x90); 2 – везикулы (увеличение 15 x 20); 3 – споры (увеличение 15 x 20)

Идентификация АМГ, проведенная на основе морфологических особенностей структур (арбускул, везикул и гиф в корне растения и спор в ризосферной почве), показала их принадлежность к р. *Glomus*. Выделенные эндофиты использованы для получения накопительной культуры и наработки инокуляционного материала АМГ в лабораторных условиях.

Выводы

Выделенные из ризосферных микробных ценозов и корней однолетних сеянцев сосны и ели штаммы ростстимулирующих азотфиксирующих (р. *Rahnella*) и фосфатмобилизующих (р. *Pseudomonas*) бактерий и АМГ р. *Glomus*, перспективные для стимуляции роста сеянцев сосны и ели.

1. *Взаимодействие* ризосферных бактерий с растениями: механизмы образования и факторы эффективности ассоциативных симбиозов / [А.И. Шапошников, А.А. Белимов, Л.В. Кравченко, Д.М. Вивако] // Сельскохозяйственная биология. — 2011. — № 3. — С. 16—22.
2. *Возняковская Ю.М.* Микрофлора растений и урожай / Ю.М. Возняковская. — Л.: Колос, 1969. — С. 14—22.
3. *Лабутова Н.М.* Методы исследования арбускулярных микоризных грибов / Н.М. Лабутова. — СПб., 2000. — 24 с.
4. *Маркова И.А.* Современные проблемы лесовыращивания (Лесокультурное производство): учебное пособие / Маркова И.А. — СПб.: СПбГЛТА, 2008. — 156 с.
5. *Математические модели.* Учебное пособие для студентов высших учебных заведений. / [В.Д. Мятлев, Л.А. Панченко, Г.Ю. Ризниченко, А.Т. Терехин]. — М.: Издательский центр «Академия», 2009. — 320 с.
6. *Некоторые новые методы количественного учета почвенных микроорганизмов и изучения их свойств: метод рекомендации* / Всесоюз. науч.-исслед. ин-т с.-х. микробиол. — Л., 1987. — 53 с.
7. *Программа развития лесного хозяйства на 2007–2011 годы: постановление СМ Респ. Беларусь от 29.12.2006 г. № 1760* — 38 с.
8. *Теплер Е.З.* Практикум по микробиологии: учебное пособие для вузов / Е.З. Теплер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева; под ред. В.К. Шильниковой. — 5-е изд., перераб. и доп. — М.: Дрофа. — 2004. — 256 с.
9. *Умаров М.М.* Ацетиленовый метод изучения азотфиксации в почвенно-микробиологических исследованиях / М.М. Умаров // Почвоведение. — 1976. — № 11. — С. 119—123.
10. *Libbert E.* Isolation and identification of the IAA-producing and degrading Bacteria from Pod Plants / E. Libbert // Physiologia Plantarum. — 1969. — Vol. 22. — P. 51—58.

Г.В. Сафронова, З.М. Алещенко, Н.В. Мельникова

Інститут мікробіології НАН Білорусі

АЗОТФІКСУЮЧІ І ФОСФАТМОБІЛІЗУЮЧІ МІКРООРГАНІЗМИ ДЛЯ ПОЛПШЕННЯ РОСТУ СІЯНЦІВ СОСНИ І ЯЛИНИ

З зразків накопичувальних культур виділили 21 ізолят олігонітрофільних і 21 ізолят фосфатмобілізуючих бактерій. 15 ізолятів олігонітрофілов фіксували азот атмосфери (24,6-148,4 нмоль C₂H₄/фл./сут.). Діаметр зон розчинених Са-Р на агаризованому глюкозо-аспарагінової середовищі фосфатмобілізуючіми бактеріями становив 6-20 мм. 23 виділених ізоляту підвищували в порівнянні з контролем енергію проростання і схожість насіння сосни на 37 і 24% відповідно. Накопичення проростками сухої біомаси стимулювали 50% азотфіксуючих і 86% фосфатмобілізуючих штамів. Енергію проростання насіння ялини (в середньому на 12%) підвищували 59% виділених ризобактерій. Схожість і зростання проростків достовірно підвищували 78% бактерій. Рістстимулюючи штами синтезували ІУК. Перспективні ростстимулятори азотфіксуючих Е10 (нітрогеназна активність – 438 нмоль C₂H₄/фл./сут) і фосфатмобілізуючих П2/1 (діаметр розчинення Са-Р – 15,5 мм) ізоляти належать до рр. *Rahnella* і *Pseudomonas* відповідно (аналіз нуклеотидних послідовностей гена 16S рРНК).

АМГ для стимуляції росту сіянців сосни та ялини виділені з мікорізованих коренів однорічних сіянців сосни та ідентифіковані за морфологічними особливостями арбускули, везикул, гіф і суперечка як АМГ р. *Glomus*. Ендоефіти використані для отримання накопичувальної культури та напрацювання інокуляційної матеріалу АМГ в лабораторних умовах.

Ключові слова: сосна, ялина, азотфіксуючі і фосфатмобілізуючі мікроорганізми, ростстимуляція

H.V. Safronava, Z.M. Aleschenkova, N.V. Melnikova

Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences

NITROGEN-FIXING AND PHOSPHATE-MOBILIZING MICROORGANISMS PROMOTING GROWTH OF PINE-TREE AND FIR-TREE SEEDLINGS

Based on nitrogen-fixing, phosphate-mobilizing and growth-promoting activities, strains of nitrogen-fixing (*Rahnella* genus), phosphate-mobilizing bacteria (*Pseudomonas* genus) and arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus* genus) suitable for growth stimulation of pine and spruce seedlings were isolated and selected.

Keywords: pine-tree, fir-tree, nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing microorganisms, growth-stimulation

Рекомендує до друку

Надійшла 07.04.2014

В.В. Волкогон

¹В.І. СІЧКАР, ¹П.І. ХУХЛАЄВ, ¹О.В. БУШУЛЯН, ²С.В. ДІДОВИЧ, ¹С.В. КОБЛАЙ,
¹Г.Д. ЛАВРОВА, ¹О.І. ГАНЖЕЛО

¹Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення
Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036

²Південна дослідна станція ІСГМ НААН

вул. К.Маркса, 107, с. Гвардійське, Сімферопольський р-н, 97513, АР Крим

ІНТЕНСИФІКАЦІЯ АЗОТФІКСУВАЛЬНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР ШЛЯХОМ КОМПЛЕМЕНТАРНОГО ДОБОРУ МАКРО- І МІКРОСИМБІОНТІВ

За умов нестачі вологи в ґрунті та дуже високих температур повітря у весняно-літній період у польових умовах оцінили виробничі та перспективні штами бульбочкових бактерій у деяких сортів сої, гороху та нуту. Високу ефективність у сортів гороху виявив новий штам У-1. У сортів нуту найкращим виявився штам А-44.

У вегетаційних дослідженнях з соєю на безазотному середовищі спостерігали дуже сильний вплив сорту на показники симбіозу. Найбільш активним за кількістю бульбочок виявився новий штам Х-9, а серед сортів максимальне значення цього показника спостерігали у сорту Ятрань.

Ключові слова: азотфіксувальна активність, штами бульбочкових бактерій, соя, нут, горох, показники симбіозу, селекція

Основними шляхами підвищення продуктивності сільськогосподарських культур є створення і впровадження у виробництво нових сортів і гібридів, а також застосування інтенсивних технологій, які включають внесення великої кількості мінеральних добрив, пестицидів для захисту від хвороб і шкідників, регуляторів і стимуляторів росту рослин [1, 3]. При цьому суттєво зростають урожаї, але одночасно це веде до значного погіршення стану довкілля, особливо ґрунтів. Крім того, використання підвищеної кількості азотних мінеральних добрив призводить до збільшення енергетичних затрат. У ґрунті, водоймищах, продукції рослинництва нагромаджуються нітрати, які в організмах людей і тварин провокують формування ракових пухлин.

Біологічний азот, зв'язаний із повітря, не має таких недоліків. Він є екологічно чистим, засвоюється рослинами повністю, сприяє покращенню родючості ґрунтів [2, 5]. Інокуляція ефективними штамами бульбочкових бактерій насіння зернобобових культур перед сівбою дозволяє зв'язувати 90-250 кг/га азоту в діючій речовині, який є легкозасвоюваним і використовується на формування врожаю, а певна його частина залишається в ґрунті й слугує стартовою дозою для наступних в сівозміні культур. Величина симбіотично зв'язаної кількості вищезазначеного елемента в значній мірі залежить від обох партнерів цього процесу.

Селекціонери нашої країни інтенсивно працюють над створенням нових сортів сої, гороху, нуту, багаторічних бобових трав. Щорічно державний реєстр поповнюється сортами цих культур, тому дуже важливо для них добрати ефективні штами бульбочкових бактерій. Як показують наші, а також результати інших дослідників, за рахунок вдалого добору макро- і мікросимбіонтів можливо збільшити урожай зернобобових культур на 3-5 ц/га. Ми вважаємо, що на сьогоднішній день це найбільш дешевий спосіб збільшення урожайності без порушення екологічної рівноваги довкілля.

Матеріал і методи досліджень

Наші дослідження, які проводяться в останні роки, направлені на виявлення стійких асоціацій «сорт рослини – штам бульбочкових бактерій» у сої, гороху та нуту, які за умов недостатнього зволоження та високої температури ґрунту здатні формувати значну кількість бульбочок на рослині, які характеризуються підвищеною активністю та ефективністю.

Польові дослідження проводили на полях дослідного господарства Селекційно-генетичного інституту "Дачна", яке розташоване у степовій зоні Одеської області [4]. У процесі вегетації сої,

нуту і гороху проводили фенологічні спостереження, необхідні обліки та оцінки. Кількість бульбочок і їх масу визначали у фазі цвітіння рослин.

У дослідах використовували штами мікроорганізмів колекцій Південної дослідної станції та Інституту фізіології рослин і генетики НАН України та насіння сортів і селекційних ліній Селекційно-генетичного інституту.

У вегетаційних дослідах рослини вирощували в теплиці у посудинах з перфорованим дном об'ємом 0,3 л на безазотному субстраті – вермикуліті, насиченому 0,2% розчином калію фосфорнокислого однозаміщеного (KН₂РO₄). Насіння обробляли перед посівом суспензією 7-добової культури ризобій із розрахунку 10⁶ бактерій/насінину. Щільність суспензії бульбочкових бактерій для дозування інокуляційного навантаження визначали на фотоелектроколориметрі (КФК-2). Повторність вегетаційних дослідів 6-разова.

Ефективність бобово-ризобіального симбіозу оцінювали за кількістю, біомасою, нітрогеназною активністю бульбочок і сухою надземною масою рослин. Нітрогеназну активність аналізували ацетиленовим методом на газовому хроматографі "Chrom 5".

Результати досліджень та їх обговорення

У вегетаційних дослідах із соєю виявили дуже сильну сортову залежність від штаму за кількістю бульбочок на рослині. Наприклад, на рослинах сорту Ятрань за інокуляції експериментальним штамом Х-9 в середньому за два роки сформувалось 31,2 бульбочок, тоді як у сорту Аркадія одеська - всього 6,5, а у сорту Сяйво – 10,4. Перевагу цього штаму за кількістю бульбочок на рослині спостерігали і у сорту Фенікс. У цілому штам Х-9 виявився найбільш продуктивним за середнім значенням кількості бульбочок у всіх сортів (табл. 1), максимальна їх кількість сформувалась на проростках сорту Ятрань (табл. 2). У середньому за інокуляції всіма штамми на рослинах сорту Ятрань нарахували 19,1 бульбочок, тоді як у сорту Аркадія одеська їх кількість становила 9,4, а у сорту Симфонія – 10,6 штук.

Таблиця 1

Порівняльна ефективність штамів *Bradyrhizobium japonicum* у сої

Штам	Кількість бульбочок			Маса бульбочок на рослині, мг			Нітрогеназна активність, мМоль етилену/год			Надземна маса проростків, г		
	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня
Контроль	0,0	8,2	4,1	0,0	71,8	35,9	0,0	0,0	0,0	3,2	4,8	4,0
М-8	9,4	20,5	15,0	73,0	99,0	86,0	3,0	1,9	2,4	4,4	6,0	5,2
36	7,7	18,3	13,0	61,2	110,2	85,7	1,4	1,1	1,2	4,1	5,8	5,0
Х-9	16,5	17,8	17,2	140,0	109,3	124,6	0,8	2,2	1,5	4,6	5,9	5,2
ГС-4	8,0	21,8	14,9	66,0	122,0	94,0	3,7	1,7	2,7	4,3	6,1	5,2

Важливо зауважити, що штам Х-9 досить чітко виділився позитивною дією у сортів Аркадія одеська, Ятрань і Симфонія за середньою за два роки масою бульбочок на рослині. У сорту Сяйво він був кращим за цим показником у 2012 році. Таким чином, цей штам в середньому на всіх сортах виявився найкращим за масою бульбочок на рослині (табл. 1). Серед сортів за цим показником також перевагу мав сорт Ятрань (табл. 2).

Нітрогеназна активність у всіх сортів була невисокою. Надземна маса проростків у всіх варіантах була вищою порівняно з контролем і суттєво залежала від штаму бульбочкових бактерій. У сортів Аркадія одеська, Ятрань і Симфонія найбільш ефективними за цим показником штамми виявились М-8 і Х-9, у сорту Сяйво – 36 і ГС-4, у сорту Фенікс – ГС-4 і М-8. В цілому за інакуляції всіма штамми надземна маса проростків була досить близькою (табл.1). Сорт Сяйво виділився серед інших за цією ознакою (табл. 2).

У дослідженнях такого роду з горохом чітко виявився новий високопродуктивний штам *Rhizobium leguminosarum* 34.

Показники симбіозу нових сортів сої за інокуляції виробничими та перспективними штамми бульбочкових бактерій

Сорт	Кількість бульбочок			Маса бульбочок на рослині, мг			Нітрогеназна активність, мМоль етилену/год			Надземна маса проростків, г		
	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня	2011 р.	2012 р.	середня
Аркадія одеська	4,6	14,2	9,4	17,5	80,2	48,8	1,3	0,8	1,0	4,0	5,3	4,6
Ятрань	23,7	14,5	19,1	237,5	68,0	152,8	4,6	1,1	2,8	4,9	5,5	5,2
Симфонія	5,2	16,0	10,6	42,8	68,0	55,4	1,2	1,4	1,3	3,6	5,5	4,6
Сяйво	6,2	25,5	15,8	55,0	137,0	96,0	2,0	2,5	2,2	4,6	7,2	5,9
Фенікс	12,4	20,8	16,6	72,5	118,2	95,4	2,1	1,7	1,9	5,2	5,8	5,5
Берегиня	-	26,8	-	-	185,2	-	-	2,9	-	-	6,4	-

У гороху за інокуляції різними штамми *Rhizobium leguminosarum* найбільш ефективним виявився перспективний штам У-1, у варіантах з яким спостерігали максимальні прибавки урожаю насіння порівняно зі стандартним штамом 261б (табл. 3). У середньому за два роки найбільше перевищення урожаю за інокуляції штамом У-1 мало місце у сорту Одорус (23,8 ц/га проти 20,8 ц/га). Аналіз елементів продуктивності свідчить про те, що підвищення урожаю обумовлене формуванням крупнішого насіння.

Таблиця 3

Вплив штамів бульбочкових бактерій на урожай насіння гороху (ц/га)

Штам	Сорт								
	Світ			Одорус			Сіріус (ЛІ 35-11)		
	2012	2013	середнє	2012	2013	середнє	2012	2013	середнє
261б, ст.	23,1	18,2	20,6	22,6	19,1	20,8	24,7	18,6	21,6
К-29	25,8	19,6	22,7	23,3	20,5	21,9	27,5	20,2	23,8
У-1	26,4	19,6	23,0	25,1	22,5	23,8	25,8	20,8	23,3
НІР ₀₅	1,58	1,38		1,47	1,44		1,59	1,46	

Польові дослідження зі сортами нуту Пам'ять і Буджак виявили високу ефективність виробничого штаму *Mesorhizobium ciceri* Н-12 протягом 2012-2013 рр. Середня прибавка урожаю насіння при його використанні у сорту Пам'ять склала 3,6 ц/га, сорту Буджак – 3,0 ц/га або 26,5% і 24,4% відповідно. Серед вивчених штамів більш ефективним виявився лише А-44, прибавки врожаю від інокуляції яким склала 4,4 ц/га у сорту Пам'ять і 3,3 ц/га у сорту Буджак. Суттєвий позитивний ефект у сорту Пам'ять виявила суміш ризобіфіту і експериментального зразка на основі мікоризних грибів, якою інокулювали насіння нуту перед сівбою.

Висновки

1. За умов недостатнього зволоження ґрунту і підвищених температур повітря у сої, гороху та нуту виділені комплементарні асоціації «сорт рослини – штам бульбочкових бактерій», які характеризуються підвищеною насінневою продуктивністю, формуванням значної кількості бульбочок і їх маси на рослині.
2. До державного випробування передано сорт гороху Сіріус і сорт сої Астер, які поряд з підвищеною насінневою продуктивністю виділяються покращеною азотфіксувальною здатністю.

1. *Биорегуляция* микробно-растительных систем / Иутинская Г. А., Пономаренко С. П., Андреюк Е. И. и др.; Под общей ред. Г. А. Иутинской, С. П. Пономаренко. — К.: Ничлава, 2010. — 464 с.
2. *Біологічний азот* / В. П. Патики, С. Я. Коць, В. В. Волкогон та ін.; За ред. В. П. Патики. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
3. *Біологічно активні речовини в рослинництві* / Грицаєнко З. М., Пономаренко С. П., Карпенко В. П., Леонтюк І. Б. — К.: ЗАТ «Нічлава», 2008. — 352 с.
4. *Доспехов Б. А. Методика полевого опыта* / Б. А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
5. *Мікроорганізми і альтернативне землеробство* / [Патики В.П., Тихонович І.А., Філіп'єв І.Д. та ін]; за ред. В. П. Патики. — К.: Урожай, 1993. — 176 с.

В.И. Сичкарь, И.И. Хухлаев, О.В. Бушулян, С.В. Дидович, С.В. Коблай, Г.Д. Лаврова, О.И. Ганжелю
Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения
Южная опытная станция ИСХМ НААН Украины

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПОТЕНЦИАЛА АЗОТФИКСАЦИИ ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР ПУТЕМ КОМПЛЕМЕНТАРНОГО ПОДБОРА МАКРО- И МИКРОСИМБИОНТОВ

В условиях недостатка влаги в почве и очень высокой температуры воздуха в весенне-летний период в полевых условиях оценили производственные и перспективные штаммы клубеньковых бактерий ряда сортов сои, гороха и нута. Высокую эффективность на сортах гороха показал новый штамм *Rhizobium leguminosarum* У-1, прибавка урожая при его использовании составила 1,21-3,3 ц/га в сравнении со стандартным штаммом 261 б. Неплохие результаты дало также использование штамма К-29.

Для сортов нута лучшим оказался штамм *Mesorhizobium ciceri* А-44, при инокуляции которым прибавка урожая составила у сорта Память 4,8 ц/га, у сорта Буджак – 4,1 ц/га, или 47 и 42,7% соответственно. Приблизительно такой же эффект имел место и у штамма 068 при его взаимодействии с сортом Буджак.

В вегетационных опытах с соей на безазотном субстрате наблюдали очень сильное влияние сорта на показатели симбиоза. Самым активным по количеству клубеньков был новый штамм *Bradyrhizobium japonicum* Х-9, а среди сортов максимальное значение этого показателя имело место у сорта Ятрань. Установлена высокая корреляция между количеством клубеньков на растении и их массой.

В подобных исследованиях с горохом был выявлен новый высокопродуктивный штамм *Rhizobium leguminosarum* 34, как по количеству клубеньков, так и по их массе. В вариантах с этим штаммом наблюдали более интенсивный рост проростков у исследуемых сортов.

Ключевые слова: азотфиксирующая активность, штаммы клубеньковых бактерий, соя, нут, горох, показатели симбиоза, селекция

V.I. Sichkar, I.I. Khuhlayev, O.V. Bushulyan, S.V. Didovich, S.V. Koblay, G.D. Lavrova, O.I. Ganzhelo¹
Plant Breeding and Genetic Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation, Ukraine
South research station of the Institute of Agricultural Microbiology, Ukraine

THE INTENSIFICATION OF NITROGEN FIXATION POTENTIAL IN LEGUME CROPS VIA COMPLEMENTARY SELECTION OF HOSTS AND MICROSymbionTS

A range of industrial and perspective strains of nodulating bacteria in soybeans, pea and chickpea were evaluated in field plots under extremely dry and hot conditions during the growing period. A new *Rhizobium leguminosarum* strain У-1 has been highly effective with pea cultivars which have yielded 0.12-0.33 t/ha more than with the standard strain 2616. Good results were also obtained with the strain К-29.

The *Mesorhizobium ciceri* strain А-44 was the best for chickpea varieties. Being inoculated with А-44, the cultivar Pamyat' increased the seed yield for 0.48 t/ha, or 47% and the cultivar Budzhak for 0.41 t/ha (42.7%). Approximately the same effect was observed in Budzhak-strain 068 combination.

A significant variation in nitrogen fixation has been observed among soybean cultivars grown in the greenhouse on the non-nitrogen substrate. The cultivar Yatran' showed the largest number and weight of nodules per plant. It also had the highest nitrogenase activity. The inoculation with the *Bradyrhizobium japonicum* strain Х-9 resulted in the largest number of nodules. The high correlation between nodule number and nodule weight was observed during two years of the research.

A new highly productive *Rhizobium leguminosarum* strain 34 has been determined in similar experiments with pea. It exceeded the other strains for nodule number and nodule weight. The inoculation with this strain resulted in more intensive shoot growth.

Keywords: nitrogen fixation ability, nodulating bacteria strains, soybean, pea, chickpea, symbiosis characters, breeding

Рекомендує до друку
С.В. Пида

Надійшла 08.04.2014

УДК 579.22+579.26

¹А.Б. ТАШИРЕВ, ¹О.С. СУСЛОВА, ¹П.В. РОКИТКО, ²К.М. БОНДАРЬ, ³В.В. ПОКАЛЮК

¹Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К.Заболотного НАН Украины
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ДСП, Д03680

²Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
ул. Васильковская, 90, Киев, 03022

³Институт геохимии окружающей среды НАН Украины и МЧС Украины
просп. Академика Палладина, 34 а, Киев, 03680

ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЗОФИКСАТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ КАРСТОВЫХ ПОЛОСТЕЙ МУШКАРОВА ЯМА И КУЙБЫШЕВСКАЯ

З глинистих відкладів двох карстових порожнин Мушкарова Яма (Поділля, Україна) та Куйбишевська (Західний Кавказ, Абхазія) були виділені шість штамів азотфіксуючих бактерій. Встановлено, що штами здатні рости як в копію-, так і в олігокарботрофних умовах, утилізувати широкий спектр органічних речовин (цукри, органічні кислоти, спирти, ароматичні сполуки), в тому числі центральні метаболіти циклу вуглецю. Показано, що всі штами мають широкий температурний діапазон росту. Вони представлені мезотермофілами та психлотолерантами. За температури 5°C лаг-фаза штамів подовжується в 4 рази і складає 20-25 діб.

Ключевые слова: азотфиксирующие бактерии, карстовые полости

Наряду с хорошо известными наземными и водными экосистемами на нашей планете существуют уникальные и малоизученные сообщества живых организмов. Некоторые из них формируются в подземных полостях различного происхождения. Наиболее распространенными являются карстовые полости, образующиеся в результате растворения и механического разрушения проницаемых растворимых (карстующихся) карбонатных и сульфатных горных пород. Их возраст, как правило, измеряется миллионами лет. По оценкам разных авторов [7, 8], открыто и описано лишь 0,1% – 10% карстовых полостей. Особенности карстовых полостей как среды обитания являются полное отсутствие света, относительная стабильность физико-химических параметров (постоянная температура, влажность, низкая концентрация органических соединений) на протяжении сотен лет. В карстовых полостях можно обнаружить редкие и экстремальные виды микроорганизмов, являющиеся реликтами прошлых геологических эпох.

Как правило, микроорганизмы экстремальных экосистем устойчивы к токсичным соединениям (например, металлы или органические ксенобиотики) и способны взаимодействовать с ними. Таким образом, данные экосистемы могут служить полигоном для биоразведки – скрининга промышленно перспективных микроорганизмов. Большой интерес к пещерным экосистемам проявляет NASA, рассматривая карстовые полости в качестве модельных объектов для отработки технологий поиска жизни на других планетах [5]. Принимая во внимание масштабы распространения и объемы карстовых полостей, микробные сообщества в них могут существенно

влиять на глобальные циклы элементов. Исследования карстовых полостей показали наличие в этих экосистемах микроорганизмов циклов азота [3, 8]. Эти микроорганизмы играют важнейшую роль в процессах образования органических соединений, их деструкции и минерализации. Азотфиксирующие микроорганизмы – ключевая физиологическая группа микроорганизмов цикла азота. Азотфиксирующие бактерии трансформируют молекулярный азот в органический. При освоении новых экониш (например, поверхности скал после извержения вулканов) они подготавливают условия для заселения почв другими группами микроорганизмов. Эта физиологическая группа также является индикатором загрязнения почв, поскольку именно азотфиксирующие микроорганизмы наиболее неустойчивы к воздействию экстремальных факторов (токсичные металлы и т.д.). Изучение физиологических особенностей азотфиксирующих микроорганизмов дает возможность оценить закономерности функционирования бактерий цикла азота в экосистеме карстовых полостей и их роль в биогеохимических циклах элементов.

Целью нашей работы была экофизиологическая характеристика азотфиксирующих бактерий из рыхлых глинистых отложений горизонтальной карстовой полости Мушкарова Яма и вертикальной пещеры-шахты Куйбышевская.

Материал и методы исследований

Объектами исследования выступили азотфиксирующие бактерии, выделенные нами из отложений глин двух пещер. Одна проба была отобрана в максимально удаленной от входа точке лабиринтовой пещеры Мушкарова Яма, заложенной в гипсах неогенового возраста на Подолье Украины, другая – в донном зале вертикальной полости пещеры Куйбышевская, образованной в юрских известняках Западного Кавказа, на глубине 1 км от входа (отбор О.Ткачевой, Украинская спелеологическая ассоциация, август 2013 г.). После отбора образцы хранились в холодильнике при температуре +4°C в герметично закрытых полиэтиленовых пакетах. Для последующего пересчета количества клеток в 1 г глины учитывали коэффициент влажности почвы.

Выделение азотфиксирующих бактерий проводили на жидкой и агаризованной среде Эшби [4]. Состав среды, г/л: K_2HPO_4 — 0.2, $MgSO_4$ — 0.2, $NaCl$ — 0.2, K_2SO_4 — 0.1, $CaCO_3$ — 5, pH среды – 7.2-7.4. Источник углерода (сахароза) вносили в «копикоцентрации» — 20 г/л (8,4 мг С/л) и в «олигоконцентрации» – 0.02 г/л (0,084 мг С/л). Копикокарботрофные условия – это условия, при которых концентрация углерода в среде не менее 0.5 г/л, а олигокарботрофные – не более 0.09 г/л углерода [6].

Штаммы выделяли на жидкой и агаризованной среде Эшби с сахарозой. Полученные на агаризованной среде колонии, отличающиеся по морфологическим признакам (морфотипы), пересеивали последовательно трижды на жидкую среду Эшби. Морфотипы, выросшие после трехкратной реинкуляции в жидкой среде, рассевали на агаризованную среду для получения единичных колоний и проверки чистоты культуры. Далее штаммы проверяли на способность фиксировать молекулярный азот. Для этого их высевали в жидкую среду Эшби (100 мл) во флаконы (500 мл) с герметичным затвором. В закрытые инокулированные флаконы добавляли стерильный воздух (100 мл) для создания избыточного давления. Далее штаммы выращивали на качалке (145 об/мин, 7 суток, температура 22°C), ежедневно анализируя состав газовой фазы. Фиксацию N_2 оценивали по снижению его концентрации в газовой фазе.

Температурный диапазон роста определяли на агаризованной среде Эшби с сахарозой при экспозиции инокулированных чашек при температурах – 5, 18, 25, 30, 37°C. Контролируемыми параметрами были наличие роста штаммов по штриху и длительность лаг-фазы.

Способность использовать субстраты устанавливали на жидкой среде Эшби в четырех вариантах – с сахарозой, этанолом, натрия ацетатом, натрия бензоатом. В пробирки (16Ч120 мм, объемом 20 мл) со средой (10 мл) каждого варианта вносили инокулят (0.1 мл) и культивировали при температуре 25°C в течение 10 суток под ватно-марлевой пробкой. Прирост биомассы определяли фотокolorиметрически на КФК-2МП, оптический путь кюветы 0.5 см, $\lambda=540$ нм.

Результаты исследований и их обсуждение

Нами установлено, что в глинах карстовых пещер Мушкарова яма и Куйбышевская присутствуют азотфиксирующие микроорганизмы. Они могут фиксировать молекулярный азот, как при

высоких, так и при малых концентрациях органических соединений. В глинах Мушкаровой Ямы количество копиокарботрофных азотфиксирующих бактерий на один-два порядка превышало количество олиготрофных – $nЧ10^6$ - $nЧ10^8$ и $nЧ10^5$ - $nЧ10^6$ кл/г глины, соответственно. В глинах шахты Куйбышевская доминируют олигокарботрофные азотфиксирующие микроорганизмы. Количество олигокарботрофных на два порядка превышает количество копиокарботрофных – $nЧ10^4$ и $nЧ10^2$ кл/г глины, соответственно.

Следует отметить высокую концентрацию олигокарботрофных азотфиксирующих микроорганизмов в исследуемых экосистемах. Известно, что для фиксации 1 молекулы молекулярного азота, т.е. восстановления тройной ковалентной связи, бактерии используют большое количество АТФ – 16 молекул [1]. Именно этим и объясняется необходимость внесения в среду источника углерода и энергии в высокой концентрации. При культивировании азотфиксирующих бактерий карстовых полостей в среду вносят органические соединения в концентрации в 100 раз ниже той, что используется для выделения и культивирования копиотрофных азотфиксаторов на среде Эшби. Отсюда следует, что олиготрофные микроорганизмы карстовых полостей могут играть существенную роль в фиксации молекулярного азота в пещерных глинах при малых концентрациях органических соединений.

При количественном учете было выделено 14 морфотипов колоний, потенциально относящихся к азотфиксирующим бактериям. Из них 6 морфотипов выросли в жидкой среде Эшби с сахарозой после третьего пересева, что свидетельствует об их способности расти на безазотистой среде и фиксировать молекулярный азот. Все штаммы представлены бактериями (N6 – кокки; N1, N2, N7, N8, N10 – палочки), непигментированы, либо слабо пигментированы, не образуют спор.

Азотфиксирующие микроорганизмы являются гетеротрофами и окисляют широкий спектр органических соединений. Они являются поставщиками органического азота, и участвуют в аккумуляции органических соединений азота в глинах карстовых полостей. Поэтому выявление спектра доступных субстратов и их концентраций для азотфиксирующих бактерий имеет общебиологическое значение.

Для всех штаммов определяли спектр доступных субстратов и температурный диапазон роста (табл.). В качестве источников углерода и энергии использовали *центральные метаболиты*¹ цикла углерода – ацетат и этанол. Согласно данным литературы [7, 8], в глинах почв содержатся ароматические соединения. Поэтому в спектр субстратов был включен бензоат натрия как нетоксичное ароматическое соединение.

Таблица

Экофизиологическая характеристика штаммов азотфиксирующих бактерий карстовых полостей Мушкарова Яма и Куйбышевская

Экосистема	№ штамма	Утилизация субстратов*				Температурный диапазон роста, °С
		сахароза	этанол	натрия ацетат	натрия бензоат	
Мушкарова Яма	N1	+	-	+	-	18-37
	N2	+	+	+	-	5-30
	N6	+	+	+	+	5-30
Куйбышевская	N7	+	+	+	+	5-30
	N8	+	+	+	-	5-30
	N10	+	+	+	-	18-30

* “+” – использует в качестве источника углерода, “-” – не использует в качестве источника углерода

¹ Под центральными метаболитами мы понимаем простые соединения, образующиеся в результате микробной деструкции белковых и растительных полимеров в биохимических циклах. Наиболее распространенные центральные метаболиты – этанол, ацетат, углекислый газ (Заварзин Г.А., 2003).

Азотфиксирующие бактерии способны использовать в качестве субстратов широкий диапазон органических соединений [1]. Однако вопрос использования этими микроорганизмами органических соединений в малых концентрациях не изучался. Нами показано, что все изоляты утилизировали субстраты в олиго- и копиокарбоконтрациях – 84 и 8400 мг С/л. По приросту биомассы мы провели разделение на «копио» и «олиго» штаммы, т.е. штаммы, дающие больший прирост биомассы в среде с высоким содержанием органических соединений (сахарозы), мы отнесли к копиокарботрофным. Остальные отнесены к олигокарботрофным. Таким образом, штаммы N1, N6 были отнесены к копиокарботрофам, N2 – к олигокарботрофам, а N7, N8, N10 растут в широком концентрационном диапазоне субстратов, что позволяет отнести их как к олиго-, так и к копиокарботрофам. Длительность лаг-фазы при культивировании на сахарозе, манните и натрия бензоате у большинства штаммов составляла 7 суток. При культивировании с натрием ацетатом и этанолом – 10 суток.

При культивировании штаммов в копиокарботрофных условиях наибольший прирост биомассы отмечен на таких источниках углерода и энергии как сахароза и маннит (рис. 1). Меньший прирост биомассы (30-45%) наблюдали на этаноле и совсем незначительный – на бензоате.

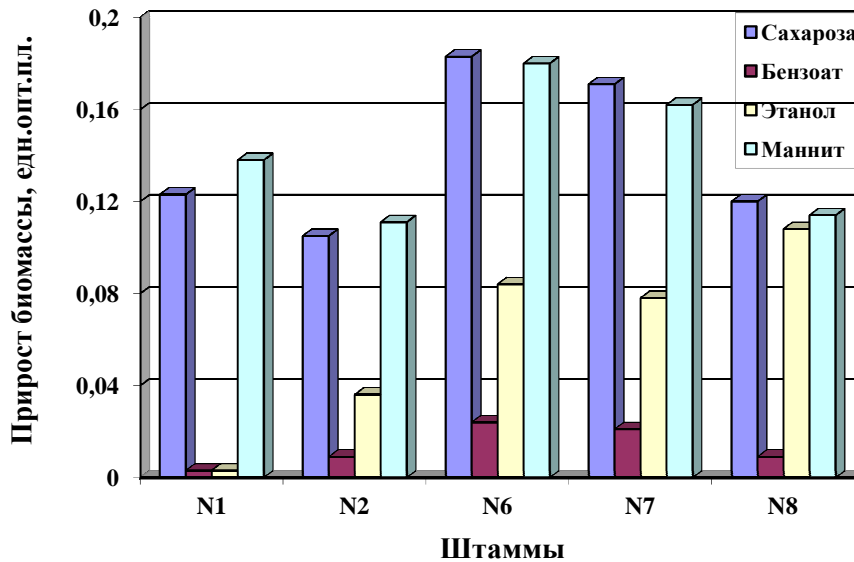


Рис. 1. Прирост биомассы штаммов азотфиксирующих бактерий на жидкой среде Эшби в зависимости от источника углерода (копиокарботрофные условия)

При культивировании же в олигокарботрофных условиях наибольший прирост биомассы (90-100%) также наблюдали на сахарозе и манните (рис. 2). На ацетате прирост биомассы варьировался в диапазоне 55-90%, а на этаноле – 30-80% в зависимости от штамма. В олиготрофных условиях только один штамм (N7) давал сопоставимый с контрольным прирост биомассы на бензоате – 60%.

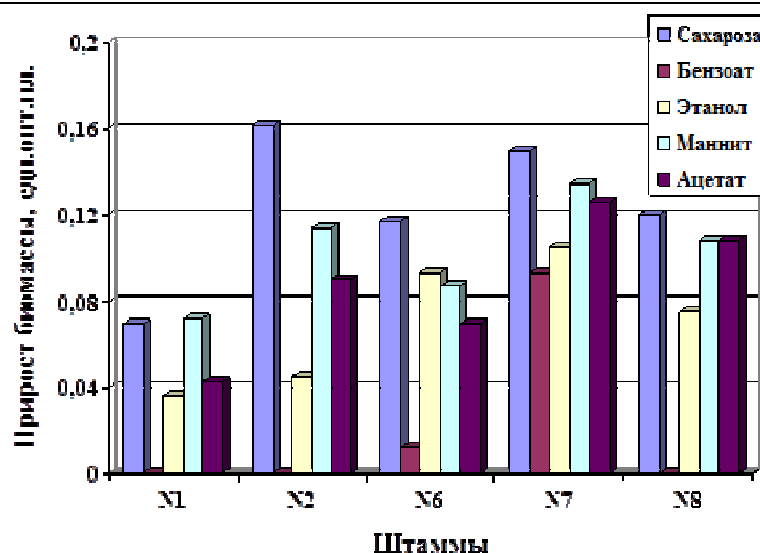


Рис. 2. Прирост биомассы штаммов азотфиксирующих бактерий на жидкой среде Эшби в зависимости от источника углерода (олигокарботрофные условия)

Ранее было показано, что азотфиксирующие микроорганизмы карстовых полостей способны расти при пониженных температурах – 4-5°C [3]. Мы установили, что все выделенные штаммы способны расти в широком температурном диапазоне (табл.). По отношению к температуре штаммы были разделены таким образом: N1, N10 – мезотермофилы, N2, N6, N7, N8 – психротолеранты и мезотермофилы. В мезотермальных условиях лаг-фаза у всех штаммов длилась 6-8 суток. А при 5°C лаг-фаза у психротолерантных штаммов увеличивалась до 20-25 суток.

Выводы

Азотфиксирующие бактерии карстовых полостей Мушкарова Яма и Куйбышевская растут в широком диапазоне концентраций органических соединений, субстратов и температур. Это свидетельствует об их высоком адаптационном потенциале. Способность фиксировать молекулярный азот и расти в олигокарботрофных условиях способствует дальнейшей колонизации глин карстовых полостей полноценными микробными сообществами. Способность азотфиксирующих бактерий данных экосистем расти в неблагоприятных условиях (пониженная температура, малые концентрации источников углерода) может быть использована в перспективе в природоохранных биотехнологиях, например для биоремедиации промышленных отвалов.

1. Заварзін Г.А. Лекції з природознавчої мікробіології / Г.А. Заварзін. — М.: Наука. — 2003. — 348 с.
2. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др.; Под ред. А.И. Нетрусова. — М.: Академия. — 2005. — 608 с.
3. Хижняк С.В. Численность и качественный состав микрофлоры карстовых пещер Красноярского края / С.В. Хижняк, И.В. Таушева, А.А. Березикова, Е.В. Нестеренко // Проблемы экологии Сибири: Сб. науч. трудов. Красноярск. — 2001. — С. 69—77.
4. Ashby S. F. Some Observations on the Assimilation of Atmospheric Nitrogen by a Free Living Soil Organism // The Journal of Agricultural Science. — 1907. — Vol.2. — P. 35—51.
5. Boston P.J, Spilde M.N, Northup D.E Cave biosignature suites: microbes, minerals, and Mars// Astrobiology. — 2001. — Vol. 1(1). — P. 25—55.
6. Laiz L. Isolation bacteria of caves and substrate using in different temperature/ L. Laiz, M. Gonzalez-Delvalle, B. Hermosin et. al. // Cave and Study Karst. — 1997. — P. 7—11.
7. Maltsev V.A. Cave chemolithotrophic soils / V.A. Maltsev, V.V. Korshunov, A.A. Semikolennykh // Proc. of 12th Cong. of Speleology.- La-Chaux-de-Fonds. Switzerland. — 1997. — Vol. 1. — P. 29—32.
8. Northup D.E. Geomicrobiology of caves: A review/ D.E. Northup, K.H. Lavoie // Geomicrobiology Journal. — 2001. — Vol 18. — № 3. — P. 199—220.

О.Б. Таширеві, О.С. Сулова, П.В. Рокитко, К.М. Бондарь, В.В. Покалюк
Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАНУ України
Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Інститут геохімії навколишнього середовища НАН України і МНС України

ЕКОФІЗІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА АЗОТФІКСУЮЧИХ БАКТЕРІЙ КАРСТОВИХ ПОРОЖНИН МУШКАРОВА ЯМА І КУЙБИШЕВСЬКА

З глинистих відкладів двох карстових порожнин Мушкарова Яма (Поділля, Україна) та Куйбишевська (Західний Кавказ, Абхазія) були виділені шість штамів азотфіксуючих бактерій. Встановлено, що штами здатні рости як в копіо-, так і в олігокарботрофних умовах, утилізувати широкий спектр органічних речовин (цукри, органічні кислоти, спирти, ароматичні сполуки), в тому числі центральні метаболіти циклу вуглецю. Показано, що всі штами мають широкий температурний діапазон росту. Вони представлені мезотермофілами та психротолерантами. За температури 5°C лаг-фаза штамів подовжується в 4 рази і складає 20-25 діб. Здатність фіксувати молекулярний азот і рости в олігокарботрофних умовах сприяє подальшій колонізації глини карстових порожнин повноцінними мікробними угрупованнями. Здатність азотфіксуючих бактерій даних екосистем рости в несприятливих умовах (понижена температура, малі концентрації джерел вуглецю) може бути використана в перспективі в природоохоронних біотехнологіях, наприклад для біоремедіації промислових відвалів.

Ключові слова: азотфіксуючі бактерії, карстові порожнини

O.B. Tashyrev, O.S. Suslova, P.V. Rokitko, K.M. Bondar, V.V. Pokalyuk
Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the NASU, Ukraine
National Taras Shevchenko University of Kyiv, The Faculty of Geology, Ukraine
Institute of Environmental Geochemistry of the NAS and MES of Ukraine

NITROGEN-FIXING BACTERIA ECOPHYSIOLOGICAL CHARACTERISTIC OF MUSHKAROVA YAMA AND KUYBUSHEVSKAYA KARST CAVES

From clay deposits of two karst caves Mushkarova Yama (Podillya, Ukraine) and Kuibyshevskaya (Western Caucasus, Abkhazia) were isolated six strains of nitrogen-fixing bacteria. It has been established that the strains are able to grow in kopio- and oligokarbotrophic conditions, utilize a wide range of organic compounds (sugars, organic acids, alcohols, aromatic compounds), including central metabolites of carbon cycle. It was shown that all strains grow in a wide temperature range. They are characterized as mezotermophilic and psychrotolerant. At 5 °C strains lag phase increased in 4 times and lasted 20-25 days. Ability to fix atmospheric nitrogen and grow in oligokarbotrophic conditions helps to further colonization of cave clays by complex microbial communities. The ability of cave nitrogen-fixing bacteria grow in unfavorable conditions (low temperature, low concentrations of carbon sources) can be used in future in environmental biotechnologies, e.g. for bioremediation of industrial waste dumps.

Keywords: nitrogen-fixing bacteria, karst caves

Рекомендує до друку
В.В. Грубінко

Надійшла 09.04.2014

ПРОЦЕСИ БІОЛОГІЧНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ АЗОТУ ЗА ДІЇ БІОТИЧНИХ ТА АБІОТИЧНИХ ФАКТОРІВ

Представлено результати визначення фізіологічної (екологічної) доцільності застосування різних доз азотних добрив у технології вирощування жита озимого за використання показників азотфіксації та біологічної денітрифікації. При вирощуванні жита озимого на дерново-підзолистому ґрунті фізіологічно (екологічно) доцільним є внесення мінерального азоту роздрібним способом у дозі 60 кг/га. Застосування 90 кг/га мінерального азоту є компромісним. Подальше збільшення рівня удобрення є недоцільним.

Ключові слова: мінеральний азот, азотфіксація, біологічна денітрифікація, фізіологічно (екологічно) доцільні дози азоту, інокуляція, Діазобактерин, жито озиме

Як відомо, за наявності в ґрунті мінерального азоту в надлишкових кількостях нітрогеназна активність бактерій пригнічується. У зв'язку з цим, активність азотфіксації може використовуватись як показник реакції системи «ґрунт–мікроорганізми–рослина» на ті чи інші концентрації мінерального азоту. Дослідження активності процесу асоціативної азотфіксації в динаміці протягом вегетаційного періоду дає змогу визначити екологічно (фізіологічно) доцільні дози азотних добрив, тобто дози, що не перевищують фізіологічних потреб рослин. При вирощуванні рослин на фізіологічно доцільних агрофонах інтродуковані в кореневу зону азотфіксатори здатні підвищувати ступінь засвоєння діючої речовини з мінеральних добрив [3]. При цьому кількість субстрату для нітратного дихання мікроорганізмів буде обмеженою. Таким чином, інтенсивність перебігу процесів біологічної трансформації азоту може бути надійним тестом визначення фізіологічно (екологічно) доцільних доз мінерального азоту.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили в умовах польового досліді на дерново-підзолистому пілувато-супіщаному ґрунті ($pH_{\text{сольове}}$ - 7,2; вміст гумусу - 1,02%; вміст легкогідролізованого азоту за Корнфілдом- 54,9 мг/кг; P_2O_5 - 330 мг / кг; K_2O - 148 мг / кг) дослідного поля Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН у 2011–2013 рр. Сорт жита озимого Синтетик 38.

Схема досліді:

I. Без бактеризації

Без добрив

$N_{30}K_{20}$ (N_{10} восени + N_{20} ранньою весною)

$N_{60}K_{40}$ (N_{30} восени + N_{30} ранньою весною)

$N_{90}K_{60}$ (N_{30} восени + N_{30} ранньою весною + N_{30} у фазу виходу в трубку)

$N_{120}K_{80}$ (N_{30} восени + N_{45} ранньою весною + N_{45} у фазу виходу в трубку)

II. Бактеризація Діазобактерином

6–10 – аналогічні варіанти.

Схема досліді не передбачала внесення фосфорних добрив через високий вміст водорозчинних фосфатів у ґрунті. Доза азотних добрив 120 кг/га та калійних 80 кг/га розрахована за виносом з максимально запланованим урожаєм у 35 ц/га.

У досліді в динаміці (починаючи з фази кушіння) досліджували потенційну активність азотфіксації в кореневій зоні рослин [4] та потенційну активність денітрифікації [2], проводили облік урожаю. Планування і проведення польових дослідів, статистичну обробку експериментальних даних виконували за Доспеховим [1].

Результати досліджень та їх обговорення

Визначення потенційної активності азотфіксації у ризосферному ґрунті рослин жита через 14 днів після весняного внесення запланованої частини добрив свідчить, що застосування навіть найменших доз добрив призводить до зниження активності азотфіксації порівняно до контролю. Застосування мікробного препарату Діазобактерину суттєво нівелює негативну дію мінеральних добрив і значною мірою відновлює активність процесу у варіантах з невисокими дозами добрив (рис. 1 а). Дослідження потенційної нітрогеназної активності через 50 днів після ранньовесняного внесення добрив і 13 днів після підживлення рослин мінеральним азотом у відповідних варіантах демонструє зростання показників у варіанті з $N_{30}K_{20}$ і тенденцію до збільшення за внесення $N_{60}K_{40}$ (рис. 1 б). У варіантах з інокуляцією спостерігаємо аналогічні залежності, проте абсолютні показники за цих умов є значно вищими. Наступне визначення потенційної активності азотфіксації свідчить, що найбільші показники спостерігаються у варіантах з внесенням N_{30} та N_{60} . Інокуляція стимулює активність процесу азотфіксації, найбільшою мірою – за внесення N_{60} (рис. 1 в).

Необхідно відмітити, що навіть наприкінці вегетаційного періоду жита озимого найбільша в досліді доза добрив інгібує нітрогеназну активність в кореневій зоні рослин, що свідчить про її недоцільність при вирощуванні жита на дерново-підзолистому ґрунті. Застосування Діазобактерину покращує екологічну ситуацію, однак не в змозі повністю відновити азотфіксувальну активність (наприкінці вегетації показники нижче контрольних).

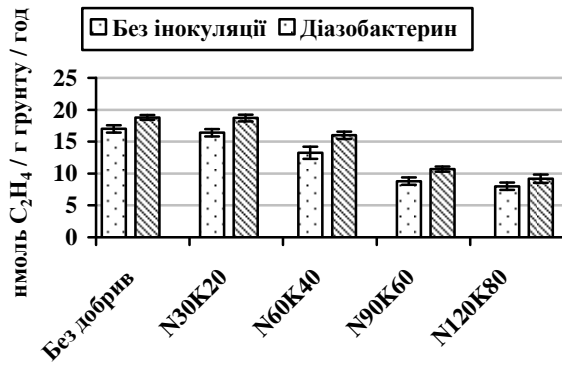
Додатковим тестом на доцільність тих чи інших рівнів азотного удобрення сільськогосподарських культур є дослідження перебігу процесу біологічної денітрифікації в кореневій зоні рослин. Результати визначення потенційної емісії закису азоту демонструють зростання газоподібних втрат азоту по мірі збільшення доз азотних мінеральних добрив (рис. 2). Інокуляція спочатку підсилює активність біологічної денітрифікації у варіантах з внесенням мінеральних добрив. Це пояснюється тим, що для слабо розвинених рослин жита певний час всі застосовані дози мінерального азоту є надлишковими. Проте вже в наступні фази органогенезу рослин ситуація помітно змінюється – інокуляція сприяє суттєвому зниженню активності емісії закису азоту у варіантах з невисокими дозами мінеральних добрив. Це можна пояснити інтенсивним розвитком ініційованих бактеризацією рослин і, відповідно, значно швидшим вичерпанням сполук азоту в кореневій зоні.

Порівнюючи інтенсивність біологічної денітрифікації між варіантами досліді, можемо бачити, що за роздрібного внесення добрив у дозі N_{60} емісія закису азоту, маючи тенденцію до зростання, все таки статистично не відрізняється від показників контрольного варіанту. В той же час, застосування вищих доз добрив призводить до достовірних втрат газоподібних сполук азоту.

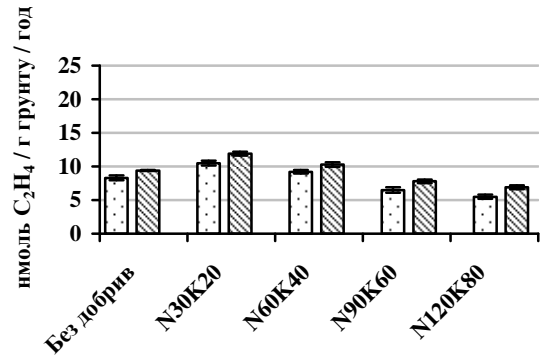
Виходячи з одержаних даних, можемо вважати дози мінерального азоту в межах 60 кг/га при вирощуванні жита озимого екологічно оптимальними, що підтверджує висновки, зроблені на основі досліджень активності процесу азотфіксації. Дози азоту в межах 90 кг/га необхідно вважати екологічно пороговими, а подальше підвищення доз добрив є екологічно недоцільним. Інокуляція при застосуванні екологічно доцільних доз мінерального азоту сприяє надходженню додаткового азоту, фіксованого мікроорганізмами з повітря.

Застосування мінеральних добрив підвищує урожайність жита озимого. Проте зі збільшенням рівня мінерального живлення зменшується віддача добрив урожаєм.

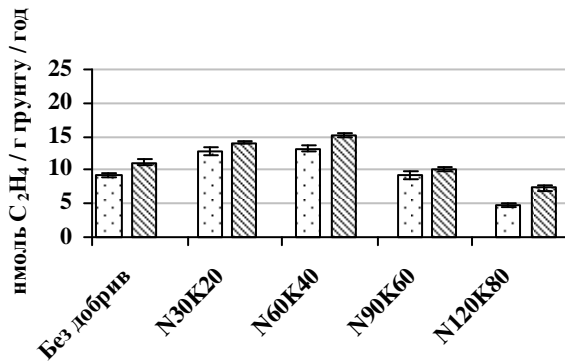
Так, застосування найменшої в досліді дози добрив забезпечує приріст урожайності на 53,1%, а найбільшої – лише на 9,3%. Інокуляція істотно покращує ситуацію. Наприклад, застосування Діазобактерину в поєднанні з $N_{30}K_{20}$ забезпечує приріст врожайності жита на 64,3%. Урожайність культури при внесенні $N_{60}K_{40}$ і бактеризації сприяє формуванню майже таких же показників, як і при внесенні добрив у дозі $N_{90}K_{60}$. Поєднання з біопрепаратом дози добрив $N_{90}K_{60}$ сприяє отриманню такої ж врожайності, як і при внесенні $N_{120}K_{80}$ (без інокуляції) – 5,53 і 5,60 т/га, відповідно. Таким чином, орієнтуючись на урожайні дані, можемо стверджувати про еквівалентність впливу Діазобактерину дії мінеральних добрив у дозі $N_{30}K_{20}$.



а

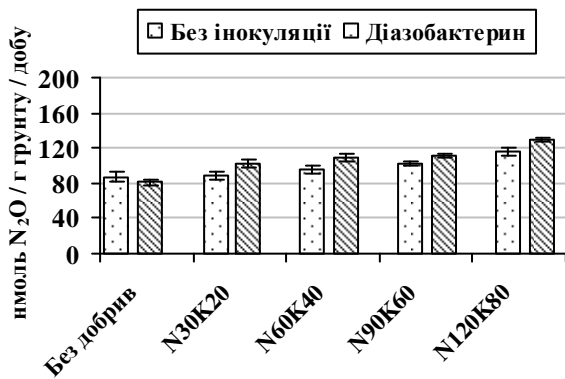


б

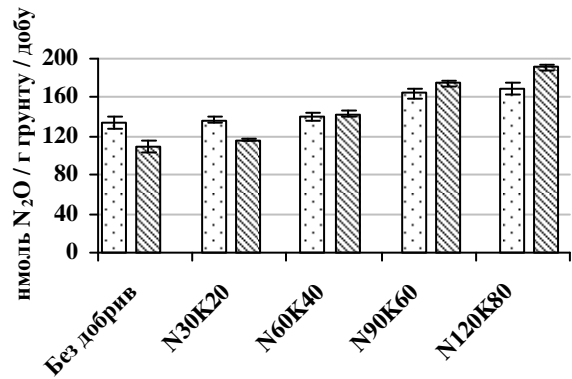


в

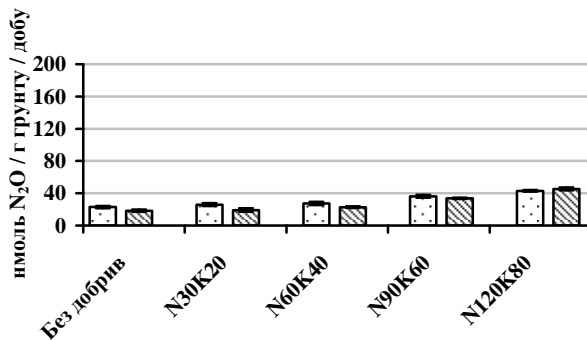
Рис. 1. – Потенційна нітрогеназна активність ризосферного ґрунту рослин жита озимого під впливом інокуляції та добрив, польовий дослід, нмоль C_2H_4 / г ґрунту / год: а) фаза кушіння (через 14 днів після ранньовесняного внесення мінерального азоту); б) фаза цвітіння (через 50 днів після ранньовесняного внесення мінерального азоту і через 13 днів після підживлення рослин); в) фаза молочної стиглості (через 81 день після ранньовесняного внесення мінерального азоту і через 44 дні після підживлення рослин)



а



б



в

Рис. 2. – Потенційна емісія закису азоту з ризосферного ґрунту рослин жита озимого під впливом інокуляції та добрив, польовий дослід, нмоль N_2O / г ґрунту / добу: а) фаза кушіння (через 14 днів після ранньовесняного внесення мінерального азоту); б) фаза цвітіння (через 50 днів після ранньовесняного внесення мінерального азоту і через 13 днів після підживлення рослин); в) фаза молочної стиглості (через 81 день після ранньовесняного внесення мінерального азоту і через 44 дні після підживлення рослин)

Висновки

Для діагностики оптимальності удобрення сільськогосподарських культур використання показників активності азотфіксації та денітрифікації є достатньо швидким і показовим. Фізіологічно (екологічно) доцільними дозами мінерального азоту при вирощуванні культури на дерново-підзолистому ґрунті є дози, що не перевищують N_{60} . Застосування мікробного препарату Діазобактерину в технологіях вирощування жита озимого на екологічно оптимальних агрофонах сприяє суттєвому зростанню активності азотфіксації і зменшенню емісії закису азоту.

1. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М. : Колос, 1979. — 376 с.
2. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія / [В. В. Волкогон, О. В. Надкернична, Л. М. Токмакова та ін.; за наук ред. В. В. Волкогона]. — К.: Аграр. наука, — 2010. — 464 с.
3. Мікробіологічні аспекти оптимізації азотного удобрення сільськогосподарських культур: Монографія / В. В. Волкогон. — К.: Аграрна наука, 2007. — 144 с.
4. Умаров М. М. Ацетиленовий метод изучения азотфиксации в почвенно-микробиологических исследованиях / М. М. Умаров // Почвоведение. — 1976. — № 11. — С. 119—123.

И.Г. Чучвага, Е.И. Волкогон

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН Украины

ПРОЦЕССЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ АЗОТА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Приведены экспериментальные данные, обосновывающие физиологическую (и экологическую) целесообразность применения минерального азота в технологиях выращивания ржи озимой на дерново-подзолистой почве в дозах, не превышающих 60 кг/га. При этом уменьшается эмиссия закиси азота и возрастает активность процесса азотфиксации. Доза N_{90} является экологически пороговой. Дальнейшее повышение уровня азотного минерального питания нежелательно из-за значительных потерь газообразных соединений азота.

Применение микробного препарата Діазобактерина в технологиях выращивания ржи на екологічно оптимальних агрофонах сприяє підвищенню активності азотфіксації і зменшенню біологічної денітрифікації.

Использование минерального азота и Діазобактерина способствует повышению урожайности зерна ржи озимой. Так, в частности, совмещение бактериализации и внесения $N_{60}K_{40}$ обеспечивает формирование такой же урожайности, как и при внесении удобрений в дозе $N_{90}K_{60}$. Сочетание дозы удобрений $N_{90}K_{60}$ с Діазобактерином способствует получению такой же урожайности, как и при внесении $N_{120}K_{80}$ (но без инокуляции). Полученные результаты свидетельствуют об эквивалентности влияния Діазобактерина на урожайность ржи озимой действию минеральных удобрений в дозе $N_{30}K_{20}$.

Ключевые слова: минеральный азот, азотфиксация, биологическая денитрификация, физиологически (экологически) целесообразные дозы азота, инокуляция, Діазобактерин, рожь озимая

I. Chuchvaga, K. Volkogon

Institute of Agricultural Microbiology and Agricultural Production NAAS, Ukraine

PROCESSES OF BIOLOGICAL NITROGEN TRANSFORMATION OF EFFECT BIOTIC AND ABIOTIC FACTORS

The paper depicts the experimental data substantiating the physiological (and ecological) rationale of mineral nitrogen use in winter rye growing technologies on sod-podzol soils in doses that do not exceed 60 kg/ha. At this the increase of nitrogen fixation activity and reduction of dinitrogen monoxide emissions is observed. N_{90} dose was shown to be liminal in terms of ecology. Further increase of mineral nutrition is unacceptable due to the vast loses of nitrogen compounds.

Use of microbial preparation Діазобактерин in winter rye growing technologies on ecologically optimal fertilization backgrounds increases nitrogen fixation activity and decreases biological denitrification.

Application of mineral nitrogen and Diazobacterin had promoted yield increase of winter rye. Thus, application of $N_{60}K_{40}$ and bacterization had resulted in the similar yield as $N_{90}K_{60}$, while Diazobacterin combination with $N_{90}K_{60}$ assures the identical yield to $N_{120}K_{80}$ variants (without inoculation). The results received confirm the equivalence of Diazobacterin effect on winter rye to $N_{30}K_{20}$ dose of mineral fertilizers.

Keywords: mineral nitrogen, nitrogen fixation, biological denitrification, physiological (ecological) rationale doses of mineral nitrogen, inoculation, Diazobakterin, winter rye

Рекомендує до друку
Н.М. Дробик

Надійшла 10.04.2014

ІСТОРІЯ НАУКИ

УДК 165.9 :37.015.2

А.В. СТЕПАНЮК

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль, 46027

ІСТОРІЯ СТАНОВЛЕННЯ ТА РОЗВИТКУ ПОНЯТТЯ «СИСТЕМА ЖИВОЇ ПРИРОДИ»

У статті на основі аналізу процесу становлення змісту понять «система» та «цілісність» висвітлено їх сутність та взаємозв'язок. Розкрито особливості розгляду об'єктів живої природи як органічно цілісних систем. Виявлено два підходи до опису суті біологічних систем: моноатрибутний та поліатрибутний. Обґрунтовано, що принцип системної організації, взаємозалежності та розвитку ієрархічних рівнів живих систем доцільно покласти в основу конструювання змісту навчального матеріалу з біології для суб'єктів освітньої діяльності..

Ключові слова: біологія, історія біології, пізнання, системний підхід, цілісність

У наші дні біологія все більше перетворюється з науки, що емпірично описує ті чи інші окремі явища і процеси, які протікають в живих об'єктах, в науку, що теоретично пояснює їх сутність на основі пізнання внутрішніх зв'язків та відношень між ними в межах єдиної цілісної системи. А оскільки рівень розвитку науки суттєво впливає на зміст біологічної освіти, то для його вдосконалення важливо знати історію становлення та досягнення науки про життя на сучасному етапі її розвитку. Тому *метою* нашої статті є на основі висвітлення процесу становлення змісту понять «система» та «цілісність», розкриття особливостей розгляду об'єктів живої природи як цілісних систем.

Проведений А. Авер'яновим аналіз генезису поняття "система" дає нам підстави зробити висновок, що існують різні погляди на визначення онтологічного змісту цього поняття. Це пов'язано з неоднозначністю його тлумачення в грецькій мові: поєднання, організм, будова, організація, устрій, керівний орган. Так, наприклад, якщо А. Огурцов вважає, що на початку свого виникнення поняття "система" було пов'язане з формами соціально-історичного буття [8], то В. Садовський, Е. Юдін стверджують, що це поняття вперше вживалось як світовий порядок [2].

Різноманітність поняття дозволила за його допомогою визначати велике коло різноякісних явищ, які мали однак дещо спільне, і створила передумови для перетворення його в філософську категорію. Увібравши в себе суть таких важливих понять, як "порядок", "організація", "цілісність" і одночасно не ототожнюючись за своїм об'єктивним змістом ні з одним із них, поняття "система" стало аксіоматичним. Стародавні філософи, не даючи визначення, вільно вживали його як очевидне і всім відоме за змістом поняття, що відображає форму організації природи та знання. Наприклад, у Гольбаха природа виступає і як система, і як ціле, і як сукупність речей.

Аналіз філософських праць Нового часу показав таку закономірність: якщо стосовно природи поняття система використовувалось як саме собою зрозуміле, то щодо знань намагались визначити його зміст. Так, Кондильяк писав, що всяка система є ніщо інше, як

розміщення різних частин будь-якого мистецтва чи науки у відповідному порядку, в якому вони всі взаємно підтримують один одного, в якому наступні причини пояснюються першими [7]. Найбільш змістовну дефініцію поняття "система" знань дав Е. Кант – це єдність різноманітних знань, об'єднаних однією ідеєю [6]. На відміну від метафізичного визначення системи Кондильяком, де фіксувались лише позитивні особливості системи (порядок, взаємообумовленість), в дефініції Е. Канта знайшла відображення суперечність, що розкривала діалектичну суть даного поняття.

Подальше збагачення діалектичного розуміння поняття отримало в філософії Гегеля. Він писав, що ідея є органічною системою, цілісністю, що містить у собі сукупність ступенів та моментів. Кожний ступінь, момент ідеї у свою чергу є системою. Тобто, все системне, світ є системою систем. "Природа повинна бути розглянута як система ступенів, кожний з яких обов'язково впливає з наступного і є найближчою істиною того, з якого він походить [1]. Однак, справедливо стверджуючи системність реальності, Гегель в той же час розумів цю реальність лише як систему різних ступенів ідеї, що розвивається.

Ідея розвитку систем отримала фундаментальне обґрунтування в працях Ф. Енгельса [1]. Дослідник фактично висунув основні ідеї стосовно визначення поняття "система": взаємний зв'язок тіл та відмежованість взаємопов'язаних тіл. Проаналізувавши ряд сучасних визначень системи, ми дійшли до висновку, що саме вони є головним (констатація наявності зв'язку впорядкованості та організованого характеру взаємодії компонентів). Так, система це: комплекс елементів, що знаходиться у взаємодії (Берталанфі); множина елементів з відношеннями між ними та їх атрибутами (Холл і Фейджин); сукупність пов'язаних між собою елементів (і підсистем), що впорядковані за відношеннями, які мають певні властивості; цій множині характерна єдність, що проявляється в наявності спільних для всієї множини властивостей і функцій, тобто в відносній автономності її поведінки» (В. Готт, В. Тьютін, Е. Чудінов). Г. Югай відмічає, що всі ці визначення вірні, проте в них не розкрито принципів організації системи.

Різноплановість організації системи проявляється в тому, що, з одного боку, вона може розглядатись як ізольоване, самостійне утворення, що не залежить від інших "зовнішніх" обставин. У цьому випадку предметом системного аналізу будуть якості і властивості системи як одиничного явища. З іншого боку, система може розглядатись як елемент і продукт більш складної системи. В даному разі система виступає в ролі частини цілого, як продукт і прояв більш загальної системи.

Ідею системності, цілісності форм життя чітко сформулював ще А. Сент-Дердьї: "...дві системи, сполучені разом певним чином, утворюють нову одиницю, систему, властивості якої неадитивні і не можуть бути описані засобами властивостей її складових" [3]. Діалектика фіксує різні типи цілісності, кожному з яких притаманна особлива форма взаємодії частин. Біологічні об'єкти належать до категорії органічно цілісних систем, особливість яких полягає в тому, що їх частини визначаються залежно від цілого, від координації з іншими його складовими. Органічне ціле не складається із ззовні скоординованих в часі і просторі частин, а характеризується функціональною взаємозалежністю компонентів, кожний з яких має свою специфіку і разом з тим чітко підпорядкований цілому. Ціле має здатність до саморозвитку та самовідтворення, а складові його компоненти є результатом внутрішньої диференціації і відіграють роль його функціонального члена — органа тощо. У розробку проблеми специфіки біологічної цілісності великий вклад вніс І. Шмальгаузен.

На даний час склалися два підходи до опису суті біологічних систем: моноатрибутний та поліатрибутний. Специфіка першого полягає у виділенні зі всієї різноманітності функціонування біосистем головного, того, в чому фіксується життя в цілому (Є. Бауер, Ф. Енгельс, М. Овчинников, О. Опарін, Г. Югай тощо). Прихильники другого підходу характеризують його шляхом перерахування всіх важливих проявів. (М. Костюк тощо) Ми вважаємо, що обидва підходи є продуктивними. Вони доповнюють, збагачують один одного, дозволяють більш широко та глибоко проникнути в суть біосистем.

Одним із суттєвих моментів вивчення живої матерії є встановлення рівнів її організації. Під даним поняттям сучасні природодослідники розуміють таке співвідношення частини і

цілого, яке специфічне для якісно різних об'єктів природи. Вперше поняття "рівні організації матерії або ступені організації" сформулював Ф. Шеллінг. Він висунув ідею про ієрархію організованих утворень, структур і зробив чудовий для свого часу висновок: "Ця ієрархія організованостей показує різні моменти в еволюції світостворення. Кожний рівень організованостей повторює попередній, але на більш високому ступені розвитку" [9].

Проблема ієрархічності стосовно живих систем досить повно розроблена в дослідженнях В. Афанасьєва, Л. Берталанфі, П. Вейсса, К. Гробстайна, В. Енгельгардта, М. Мойсєєва, І. Павлова, І. Фролова, І. Шмальгаузена та інших вчених. Особливо багато уваги питанню ієрархічності живого приділяв В. Енгельгардт. Він вважав, що життя — це, насамперед, система систем, в якій чітко виражене не паралельне, а поступове поєднання. Так створюється передумова організації цієї наступності за принципом ієрархічної підлегливості. При цьому кожний більш високий рівень ієрархії проявляє спрямовуючу дію на нижче розміщений, підкоряючи його собі, своїм функціям, перетворює його, породжує в компонентах цього рівня нові властивості, які в ізольованому стані їм не притаманні [4].

Досить ґрунтовно проблема існування живих систем різного ступеня складності розглядалась організмістами ще в 20-ті роки минулого століття (С. Александер, П. Браун, Ф. Уелс, Р. Ліллі, Дж. Г. Льюїс, С. Рейсер, Р. Селларс). Проте природу вищого рівня вони розуміли ідеалістично. Вважали, що лише вищі рівні життя активні, їм відводилась "командна" роль стосовно нижчих, які самі по собі розглядались лише пасивним матеріалом для їх впорядкування, систематизації. Вперше діалектичне трактування реальності живих систем різних рівнів дав В. Крем'янський. Він зробив висновок, що таксони (живі системи різного ступеня складності та організації) реальні, існують в дійсності.

Висновки

Проведений методологічний аналіз проблеми особливості біологічної форми існування матерії засвідчив, що одним з головних принципів наукової методології, які є основою загального підходу до вивчення життя як в науковому, так і в навчальному пізнанні, є принципи системності та цілісності. Перший стосується структурної організації життя, другий – його функціонування. Згідно до концепції рівневої організації живої природи кожний вищий рівень визначається природою попереднього і відноситься до нього як органічно цілісна система до своїх найближчих компонентів. Кожний вищий рівень обумовлює природу нижчого рівня, надаючи йому свою визначеність. Структура та розвиток живих систем мають суттєві власні загальні закони, які є законами тієї чи іншої системи і разом з тим законами їх взаємного зв'язку. Необхідно знати ці закони життя і згідно з ними корегувати свою діяльність. Це положення є методологічною основою формування стратегії поведінки сучасної людини в біосфері та конструювання знання нового типу, що є синтезом істини і цінності, яке не дозволить розірватися зв'язку людства з джерелом його існування. Тому, ми вважаємо, що принцип системної організації, взаємозалежності та розвитку рівнів живого доцільно покласти в основу конструювання змісту навчального матеріалу з біології для суб'єктів освітньої діяльності.

1. Гегель Г.В. Энциклопедия философских наук. — Т.2. — Философия природы. / Г.В.Гегель. — М.: Мысль, 1975. — 676 с.
2. Садовский В. Н. Основания общей теории систем. Логико-методологический анализ. / В.Н. Садовский — М.: Наука, 1974. — 279 с.
3. Сент-Дьердьи А. Биоэнергетика. / А. Сент-Дьердьи. — М., 1960. — 155 с.
4. Энгельгард В. А. Познание явлений жизни. / В. А. Энгельгард. — М.: Наука, 1984. — 304 с.
5. Энгельс Ф. Диалектика природы. / К. Маркс, Ф. Энгельс. Соч. 2-е изд. — Т. 20. — С. 339—626.
6. Кант И. Соч. В 6-ти томах. / И. Кант. — М.: Мысль, 1964. — Т. 5. — 564 с.
7. Кондильяк Э. Б. Соч. В 3-х т. / Э. Б. Кондильяк. — Т. 2. — М.: Мысль, 1982. — 541 с.
8. Огурцов А. П. Этапы интеграции системности научного знания (Античность и Новое время) / А. П.Огурцов // Системные исследования. Ежегодник. — М.: Наука, 1974. — С. 154—186.
9. Шеллинг Ф. Система трансцендентивного идеализма. / Ф. Шеллинг Соч.: В 2-х т. Т. 1. — М.: Мысль, 1987. — 637 с.

А.В. Степанюк

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка

ИСТОРИЯ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ПОНЯТИЯ «СИСТЕМА ЖИВОЙ ПРИРОДЫ»

В статье на основании анализа процесса развития содержания понятий «система» и «целостность» освещена их специфика и взаимосвязь. Раскрыты особенности изучения объектов живой природы как органически целостных систем. Конкретизированы два подхода к описанию сущности биологических систем: моноатрибутный и полиатрибутный.

Выявлено, что одними из главных принципов научной методологии, которые являются основой общего подхода к изучению биологических систем как в научном, так и в учебном познании, являются принципы системности и целостности. Первый касается структурной организации, второй – ее функционирования.

Обосновано, что принцип системной организации, взаимосвязи и развития иерархических уровней живых систем целесообразно признать доминирующим при конструировании содержания учебного материала по биологическим дисциплинам для субъектов образовательной деятельности (учеников, студентов). Это будет способствовать формированию стратегии поведения современного человека в биосфере и конструированию знаний нового типа, которые являются синтезом истины и ценности.

A. Stepanuk

Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University, Ukraine

HISTORY OF FORMATION AND DEVELOPMENT OF CONCEPT «LIVING NATURE SYSTEM»

On the basis of analyzing the development process of concepts' content of system and entirety there have been covered their specificity and correlation. The peculiarities of studying living nature objects as organic entire systems have been revealed. There have been concretized two approaches to describing the essence of biological systems: mono-attribute and poly-attribute.

It has been revealed that the main principles of scientific methodology are the principles of system and entirety. They are the basis of the general approach to studying biological systems in both scientific and educational knowledge. The first principle concerns to structural organization. The second principle concerns to functioning.

It has been substantiated that the principle of system organization, correlation and development of hierarchical levels of living systems reasonably has to be recognized as dominating in forming educational material content in Biology for the subjects of learning activity (pupils, students). It will contribute to developing the strategy of contemporary man behaviour in biosphere and constructing knowledge of new type which is synthesis of truth and value.

Рекомендує до друку

В.В. Грубінко

Надійшла 19.06.2014

АВТОРИ НОМЕРА

- Адамчук-Чала Н.І.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу загальної і ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України (ІМВ НАНУ).
- Алещенкова З.М.** — доктор биологических наук, заведующая лабораторией взаимоотношений микроорганизмов почвы и высших растений Института микробиологии НАН Беларуси.
- Алексеев О.О.** — аспірант кафедри екології та ОНС Вінницького національного аграрного університету (ВНАУ).
- Бабенко Л.П.** — провідний інженер відділу ґрунтової мікробіології ІМВ НАНУ.
- Барна Л.С.** — кандидат педагогічних наук, доцент кафедри теорії і методики навчання природничих дисциплін Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка (ТНПУ).
- Барна М.М.** — доктор біологічних наук, професор кафедри ботаніки та зоології ТНПУ.
- Бобик Л.В.** — провідний інженер відділу експериментального мутагенезу Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (ІФРГ НАНУ).
- Боднар О.І.** — кандидат біологічних наук, асистент кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін ТНПУ.
- Бондарь К.М.** — кандидат біологічних наук Київського національного університету імені Тараса Шевченка (КНУ).
- Бровко И.С.** — ведущий инженер отдела общей и почвенной микробиологии ИМВ НАНУ.
- Бунас А.А.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник лабораторії екології мікроорганізмів Інституту агроєкології і природокористування НААН України (ІАП НААНУ).
- Бушулян О.В.** — кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії селекції та насінництва бобових трав і нуту Селекційно-генетичного інституту – НЦНС.
- Василенко О.В.** — кандидат біологічних наук, науковий співробітник кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін ТНПУ.
- Величко О.І.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, доцент кафедри фізіології та екології рослин Львівського національного університету імені Івана Франка.
- Веселовська Л.І.** — аспірант ІФРГ НАНУ.
- Вінярська Г.Б.** — аспірант кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін ТНПУ.
- Вознюк С.В.** — аспірант ІМВ НАНУ.
- Волкогон В.В.** — доктор сільськогосподарських наук, член кореспондент НААН, професор лабораторії ґрунтової мікробіології, директор Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України (ІСМАВ НААНУ).
- Волкогон К.І.** — кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник лабораторії ґрунтової мікробіології ІСМАВ НААНУ.
- Ганжело О.І.** — старший науковий співробітник відділу селекції, генетики та насінництва бобових культур Селекційно-генетичного інституту – НЦНС.

- Герц Н.В.** — кандидат біологічних наук, викладач кафедри ботаніки та зоології ТНПУ.
- Гнатюк Т.Т.** — аспірант, провідний інженер відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАНУ.
- Григорюк І.П.** — доктор біологічних наук, член-кореспондент НАН України, професор кафедри фізіології, екології рослин і біомоніторингу Національного університету біоресурсів і природокористування України.
- Грищук В.І.** — кандидат біологічних наук, молодший науковий співробітник відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Грищук О.О.** — кандидат біологічних наук, молодший науковий співробітник ІФРГ НАНУ.
- Грубінко В.В.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін ТНПУ.
- Данкевич Л.А.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАНУ.
- Демченко О.А.** — провідний інженер відділу ґрунтової мікробіології ІМВ НАНУ.
- Дідович С.В.** — кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії біологічного азоту і фосфору відділу мікробіології Інституту сільського господарства Криму НААН України (ІСГК НААНУ).
- Дімова С.Б.** — кандидат сільськогосподарських наук, завідувач лабораторії ґрунтової мікробіології ІСМАВ НААНУ.
- Дмитрук О.М.** — здобувач, науковий співробітник лабораторії екології мікроорганізмів ІАП НААНУ.
- Драговоз І.В.** — доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу антибіотиків ІМВ НАНУ.
- Жемойда А.В.** — молодший науковий співробітник відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Житкевич Н.В.** — провідний інженер ІМВ НАНУ.
- Журба М.А.** — аспірант лабораторії ґрунтової мікробіології ІСМАВ НААНУ.
- Зленко І.Б.** — кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри екології та охорони навколишнього середовища Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету.
- Жолобак Н.М.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів ІМВ НАНУ.
- Иутинская Г.А.** — доктор биологических наук, член-кор. НАНУ, заведующий отделом общей и почвенной микробиологии ІМВ НАНУ.
- Калініченко А.В.** — доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри інформаційних систем і технологій Полтавської державної аграрної академії.
- Каменєва І.О.** — кандидат сільськогосподарських наук, завідувач відділу мікробіології ІСГК НААНУ.
- Карпенко В.П.** — доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри біології, проректор з наукової та інноваційної діяльності Уманського національного університету садівництва.
- Кириленко Л.В.** — аспірант кафедри екології та охорони навколишнього середовища ВНАУ.
- Кириченко О.В.** — доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Кірізій Д.А.** — доктор біологічних наук, старший науковий співробітник відділу фізіології та екології фотосинтезу ІФРГ НАНУ.
- Клименко А.М.** — провідний фахівець відділу агроєкології і біобезпеки ІАП НААНУ.
- Коблай С.В.** — науковий співробітник відділу селекції, генетики та насінництва бобових культур Селекційно-генетичного інституту – НЦНС.
- Козар С.Ф.** — кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, заступник директора з наукової роботи ІСМАВ НААНУ.
- Комок М.С.** — кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник лабораторії ґрунтової мікробіології ІСМАВ НААНУ.

- Кондратюк Ю.Ю.** — кандидат біологічних наук, науковий співробітник відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Конончук О.Б.** — кандидат біологічних наук, доцент кафедри ботаніки та зоології ТНПУ.
- Коробкова К.С.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник ІМВ НАНУ.
- Коць С.Я.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Кравченко И.К.** — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института микробиологии имени С.Н. Виноградского РАН.
- Круть В.В.** — аспірант ІМВ НАНУ.
- Лаврова Г.Д.** — кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник відділу селекції, генетики та насінництва бобових культур Селекційно-генетичного інституту – НЦНС.
- Левішко А.С.** — кандидат біологічних наук, науковий співробітник відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Леонова Н.О.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу загальної та ґрунтової мікробіології ІМВ НАНУ.
- Лолойко О.А.** — завідувач лабораторії селекції ефіроолійних культур ІСГК НААНУ.
- Луців А.І.** — аспірант кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін ТНПУ.
- Маменко П.М.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Мацюк О.Б.** — кандидат біологічних наук, асистент кафедри ботаніки та зоології ТНПУ.
- Мельник В.М.** — кандидат біологічних наук, молодший науковий співробітник відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Мельникова Н.В.** — научный сотрудник лаборатории взаимоотношений микроорганизмов почвы и высших растений Института микробиологии НАН Беларуси.
- Мельникова Н.М.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу симбіотичної азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Мельничук Т.М.** — кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, заступник директора з наукової роботи ІСГК НААНУ.
- Михалків Л.М.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу симбіотичного азотфіксації ІФРГ НАНУ.
- Мілютенко Т.Б.** — аспірант Інституту ІАП НААНУ.
- Мінькова О.Г.** — аспірант Полтавської державної аграрної академії.
- Москалюк Н.В.** — кандидат педагогічних наук, асистент кафедри ботаніки та зоології, зав. навчальної лабораторії морфології та систематики рослин-гербарію ТНПУ.
- Нестеренко В.М.** — молодший науковий співробітник лабораторії фізіології росту мікроорганізмів ІСМАВ НААНУ.
- Падалко С.Ф.** — молодший науковий співробітник відділу експериментального мутагенезу ІФРГ НАНУ.
- Панченко Л.П.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник ІМВ НАНУ.
- Пархоменко М.О.** — студент КНУ імені Т. Шевченка, ННЦ «Інститут біології».
- Пархоменко Т.Ю.** — кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник ІСГК НААНУ.
- Патика В.П.** — доктор біологічних наук, професор, академік НААН, завідувач відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАНУ.
- Пида С.В.** — доктор сільськогосподарських наук, професор. в. о. завідувача кафедри ботаніки та зоології ТНПУ.
- Притуляк Р.М.** — кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри біології Уманського національного університету садівництва.
- Покалюк В.В.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Інституту геохімії навколишнього середовища НАНУ і МНС України.

- Рокитко П.В.** — кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник відділу біології екстремальних мікроорганізмів ІМВ НАНУ.
- Сафронова Г.В.** — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории взаимоотношений микроорганизмов почвы и высших растений Института микробиологии НАН Беларуси.
- Січкач В.І.** — доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу селекції, генетики та насінництва бобових культур Селекційно-генетичного інституту – НЦНС.
- Співак М.Я.** — доктор біологічних наук, професор зав. відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів ІМВ НАНУ.
- Степанюк А.В.** — доктор педагогічних наук, професор кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін ТНПУ.
- Сухачева М.В.** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центр «Биоинженерия» РАН.
- Суслова О.С.** — аспірант, провідний інженер відділу біології екстремальних мікроорганізмів ІМВ НАНУ.
- Таширев О.Б.** — доктор технічних наук, завідувач відділу біології екстремальних мікроорганізмів ІМВ НАНУ.
- Титова Л.В.** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела общей и почвенной микробиологии ІМВ НАНУ.
- Тригуба О.В.** — викладач Кременецького обласного гуманітарно-педагогічного інституту імені Тараса Шевченка.
- Фіровський О.В.** — молодший науковий співробітник лабораторії фізіології росту мікроорганізмів ІСМАВ НААНУ.
- Чабанюк Я.В.** — кандидат сільськогосподарських наук, завідувач відділу агроєкології і біобезпеки ІАП НААНУ.
- Чайковська Л.О.** — доктор сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник відділу мікробіології ІСГК НААНУ.
- Чернега А.О.** — кандидат сільськогосподарських наук Уманського національного університету садівництва.
- Чучвага І.Г.** — молодший науковий співробітник лабораторії фізіології росту мікроорганізмів ІСМАВ НААНУ.
- Шерстобоева О.В.** — доктор сільськогосподарських наук, професор, головний науковий співробітник відділу агроєкології і біобезпеки ІАП НААНУ.
- Шкатула Ю.М.** — кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри селекції та насінництва с.-г. культур ВНАУ.
- Яворівський Р.Л.** — асистент кафедри ботаніки та зоології ТНПУ.
- Якубовська А.І.** — аспірант, молодший науковий співробітник відділу мікробіології ІСГК НААНУ.



Здано до складання 02.09.2014. Підписано до друку 09.09.2014. Формат 60 x 84/18. Папір друкарський.
Умовних друкованих аркушів — 15.2. Обліково-видавничих аркушів — 18.2. Замовлення № 39.
Наклад 300 прим. Віддруковано у видавничому центрі «Вектор»

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру видавців,
виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції
серія ТР № 46 від 07 березня 2013р.
ФО Осадца Ю.В.
