

С.В. Дідович, М.З. Толкачов

ЕФЕКТИВНІСТЬ НІТРАГІНІЗАЦІЇ СОРТІВ *CICER ARIETINUM* L. ШТАМАМИ *MESORHIZOBIUM CICERI* В УМОВАХ ПІВДЕННОГО СТЕПУ УКРАЇНИ

Cicer arietinum, *Mesorhizobium ciceri*, симбіоз, везикулярно-арбускулярні мікоризні гриби, фосфорні добрива.

Нут (*Cicer arietinum* L.) займає третє місце в світі за площею посівів серед зернобобових культур. В Україні його виробничі посіви зростають з кожним роком і у 2005 році становили 33 тисячі гектарів [5]. Завдяки своїм цінним біологічним властивостям, нут має великі перспективи для виробництва рослинного білку і відновлення родючості ґрунту в суходольному землеробстві на півдні та південному сході України в умовах аридизації клімату і значного скорочення площі зрошуваних земель.

Для підвищення продуктивності бобових культур застосовують нітрагінізацію – передпосівну обробку насіння біопрепаратами на основі високоефективних штамів ризобій.

Для мобілізації рослинами важкорозчинних органічних і мінеральних сполук фосфору із ґрунту необхідно використовувати препарати на основі фосфатмобілізівних бактерій [8] або везикулярно-арбускулярну мікоризу (ВАМ) [10].

Для підсилення симбіотичної азотфіксації необхідно проводити селекцію бульбочкових бактерій на високоефективний симбіоз з сучасними сортами нуту, оптимізувати технологію застосування біопрепаратів у сучасних системах землеробства. Враховуючи сорт нуту, обробіток ґрунту і його мікробіоту, мінеральне живлення рослин і застосування стимуляторів росту, варто максимально використовувати мікробіологічні засоби захисту рослин від хвороб і шкідників та зменшити або виключити дію негативних для симбіозу факторів природного та антропогенного походження: бур'янів, мінеральних азотних добрив, токсичних фунгіцидів, гербіцидів тощо [6].

Метою даної роботи було вивчення ефективності нітрагінізації сучасних сортів нуту перспективними штамми *Mesorhizobium ciceri*, а також впливу фосфорних добрив на потрійний симбіоз *C. arietinum* - *M. ciceri* - ВАМ-гриби в сучасних агротехнологіях вирощування нуту в зоні південного Степу України.

Досліджували ефективність формування та функціонування бобово-ризобіального симбіозу *C. arietinum* – *M. ciceri* різних штамів і продуктивність рослин сортів нуту, а також вплив нітрагінізації і фосфорних добрив на потрійний симбіоз *C. arietinum* - *M. ciceri* - ВАМ-гриби в агроценозах степової зони України.

Предметом досліджень були виробничий штам *M. ciceri* 527, люб'язно наданий А.П. Кожемяковим з колекції АRIAM PАСГН (Санкт-Петербург, Росія), перспективні штамми *M. ciceri*, препарат ризобіофіт під нут на основі штаму 065, виготовлений в лабораторії технічної мікробіології ПДС ІСГМ УААН за технологією соєвого ризобіофіту (ТУ У 319. 00494456-006-2000), ґрунтова популяція ВАМ-грибів. В дослідках використовували шість сучасних сортів нуту селекції СГІ НАЦНАС УААН.

Нові штамми бульбочкових бактерій нуту виділяли згідно методичних рекомендацій ВНДІСГМ PАСГН [4]. Кількість бульбочкових бактерій нуту в ґрунті визначали в шарі 0-15 см модифікованим методом Красільнікова-Кореняко на стерильних паростках нуту [9].

Симбіотична ефективність штамів *M. ciceri* з сучасними сортами *C. arietinum* оцінювалася в польових дослідках на чорноземі південному та лучно-чорноземному ґрунті з середньою забезпеченістю рухомого фосфору, високою – обмінного калію та низькою азотом, що легко гідролізується, із застосуванням сучасної зональної технології вирощування нуту [7]. Насіння за 1-2 години до посіву зволожували водою (2% від маси) - контроль або водною суспензією штамів *M. ciceri* із розрахунку 10^6 бактерій на насінину, протруйники і гербіциди не застосовували, бур'яни знищували вручну або механізовано. Облікова площа ділянок складала 12,0 м², повторність дослідів 4-х разова, розміщення варіантів рендомізоване.

Дію мінеральних фосфорних добрив на ефективність нітрагінізації насіння ризобіофітом та вплив цих чинників на мікоризацію коріння рослин ґрунтовою популяцією ВАМ-грибів досліджували в умовах польового дослідку з використанням двох сучасних технологій внесення фосфорних добрив: під оранку у дозі P_{60} та при посіві з насінням у рядки в дозі P_{10} . Застосовували розчинний фосфор (суперфосфат з вмістом P_2O_5 16,0%), нерозчинний фосфор (агрофоска з Карповського родовища фосфорит-глауконітових руд з вмістом P_2O_5 9,3%). Дослід проводили за такою схемою: контроль – без інокуляції і добрив, варіанти – без добрив + нітрагінізація ризобіофітом, фосфорні добрива + нітрагінізація ризобіофітом. В період найбільшої фізіологічної активності нуту – фазі цвітіння визначали інтенсивність мікоризації коріння рослин [2].

Для визначення ефективності бобово-ризобіального симбіозу відбирали по 10 рослин у чотирьох повтореннях кожного варіанту дослідку для визначення кількості, маси та нітрогеназної активності бульбочок. Нітрогеназну активність аналізували ацетиленовим методом на газовому хроматографі „Chrom” 5 [3]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом дисперсійного аналізу [1].

Нашими дослідженнями показано, що в ґрунтах України відсутні аборигенні бульбочкові бактерії нуту і рослини використовують для формування урожаю мінеральний азот ґрунту та добрив. Перспективним джерелом нових ефективних штамів *M. ciceri* є ґрунтові популяції ризобій старих селекційних стаціонарів України.

Для виділення високоефективних штамів *M. ciceri*, адаптованих до сортів, що вирощуються в ґрунтово-кліматичних умовах зони Степу України, були використані кореневі бульбочки нуту, а також зразки ґрунтів з посівів СГІ НАЦНАС УААН, Луганського Інституту АПВ УААН і Саратовської дослідної станції (Росія).

За період досліджень (1987 - 2005 р.) шляхом аналітичної селекції було виділено більше 60-ти ефективних штамів ризобій нуту, що підтримуються періодичними пересівами на агаризованому бобовому середовищі і проходять скринінг за симбіотичними ознаками у симбіозі з сучасними сортами нуту в порівнянні з виробничими штамми у вегетаційних і польових дослідках.

В польовому досліді на чорноземі південному, вільному від *M. ciceri*, вивчали ефективність симбіозу штамів *M. ciceri* з сортами нуту Тріумф та Александрит. В умовах холодної, затяжної та посушливої весни 2006 року сходи нуту з'явилися пізно, в кінці квітня. Вегетація нуту проходила у відносно сприятливих умовах, урожайність зерна була високою – у сорту Тріумф - 19,1 ц/га, у сорту Александрит - 21,3 ц/га (табл. 1).

Виробничий штам 527 збільшив урожайність зерна сорту Тріумф на 8,6 ц/га (45%), сорту Александрит - на 5,0 ц/га (23%) порівняно з контролем без інокуляції. Сорт Тріумф формував високоефективний симбіоз з чотирма штамми *M. ciceri* Н-12, Н-14, НС-6, 068, що дало прибавку урожайності зерна 1,4 - 5,5 ц/га (5,1 - 19,9%) порівняно до варіанту з виробничим штамом 527. У сорту Александрит високоефективний симбіоз виявлено з сьома штамми Н-12, ПН-12, Н-14, Н-18, Н-22, 065, 068, де отримано урожайність зерна на 1,4 - 3,8 ц/га (5,3 - 14,5 %) більше, ніж у варіанті з стандартним штамом 527.

Таблиця 1. Ефективність симбіозу перспективних штабів *Mesorhizobium ciceri* з сортами нуту (польовий дослід на чорноземі південному, ПДС ІСГМ УАН, 2006 р.)

Варіант досліду	Кількість бульбочок, од./рослину		Маса бульбочок, мг/рослину		Н.А., нМоль етилену на рослину за годину		Урожайність зерна, ц/га	
	сорт Тріумф	сорт Александрит	сорт Тріумф	сорт Александрит	сорт Тріумф	сорт Александрит	сорт Тріумф	сорт Александрит
Контроль без інокуляції	0,1	0,5	8	57	0	157	19,1	21,3
Виробничий штаб 527	8,9	8,7	730	476	3758	5200	27,7	26,3
Перспективні штаби:								
Н-12	2,6	7,9	250	640	2301	2797	29,1	27,7
ПН-12	12,2	1,8	891	187	5171	7260	28,0	29,4
Н-14	10,3	13,7	741	1020	4341	5870	29,1	28,3
Н-18	11,1	13,9	695	995	5157	10459	25,9	27,8
Н-22	9,6	12,8	616	528	1704	4471	25,2	30,0
НС-6	12,1	1,2	528	111	2972	1180	29,1	26,0
065	9,1	13,4	525	569	2811	2870	27,3	30,1
068	9,6	9,2	705	550	3292	5229	33,2	27,8
075	8,3	12,8	618	462	2840	3044	26,3	23,2
НІР ₀₅	2,5		400		2964		4,7	

Примітка. Н.А. – нітрогеназна активність

Таблиця 2. Ефективність застосування ризобофіту (штам 065) на сучасних сортах нуту на фоні інтродукованої популяції *Mesorhizobium ciceri* (польовий дослід на лучно-чорноземному ґрунті, ПДС ІСГМ УААН, 2006 р.)

Варіант досліду	Кількість бульбочок, од./рослину	Маса бульбочок, мг/рослину	Н.А., нМоль етилену на рослину за годину	Урожайність зерна, ц/га
Сорт Пам'ять				
Без інокуляції	25	706	5506	19,3
Ризобофіт	23	709	4967	22,6
Сорт Розанна				
Без інокуляції	25	537	4312	19,8
Ризобофіт	27	662	3540	23,5
Сорт Александрит				
Без інокуляції	31	740	3103	20,0
Ризобофіт	29	711	3729	18,3
Сорт Антей				
Без інокуляції	28	657	2797	21,1
Ризобофіт	29	662	4370	23,8
Сорт Буджак				
Без інокуляції	26	612	2942	19,4
Ризобофіт	24	627	2302	22,2
Сорт Тріумф				
Без інокуляції	31	752	2447	24,3
Ризобофіт	29	780	2141	27,1
НІР ₀₅	5	265	1700	2,3

Примітка. Н.А. – нітрогеназна активність

У польовому досліді на лучно-чорноземному ґрунті з інтродукованою популяцією ризобій нуту щільністю 10^3 бульбочкоутворювальних одиниць (БУОД)/г ґрунту досліджували ефективність нітрагінізації ризобофітом на основі високоефективного та технологічного штаму *M. ciceri* 065 шести сучасних сортів нуту. Бульбочки утворилися в усіх варіантах досліду в кількості 23 - 31 од./рослину, але нітрагінізація суттєво не підвищила їх кількості, біомаси і азотфіксувальної активності (табл. 2).

Проте, нітрагінізація забезпечила збільшення урожайності зерна сортів нуту Пам'ять, Розанна, Антей, Буджак та Тріумф на 2,8 - 3,7 ц/га (11,5 - 18,7%) порівняно з ґрунтовою популяцією *M. ciceri*. Сорт Александрит, навпаки, формував більш ефективний симбіоз з ґрунтовою популяцією ризобій нуту, де урожайність зерна була на 1,7 ц/га (8,5%) вище порівняно з варіантом із використанням нітрагінізації.

У польовому досліді на чорноземі південному, вільному від бульбочкових бактерій нуту, досліджували вплив мінеральних фосфорних добрив і нітрагінізації нуту сорту Тріумф на мікоризацію коріння ґрунтовою популяцією ВАМ-грибів. На даній дослідній ділянці сходи нуту з'явилися тільки після дощів у кінці травня, рослини прискорили свій розвиток і сформували урожай зерна 16,1 - 18,6 ц/га.



Рис. ВАМ-гриби в корені нуту сорту Триумф (збільшення бінокюляру x 20).
1 – гіфи міцелію; 2 – арбускули; 3 – везикули

Вивчення мацерированих бокових коренів нуту 3 - 4 порядку показало, що на ранніх фазах розвитку рослин нуту мікориза в коренях не виявлялась, але в період цвітіння і формування бобів спостерігали добре розвинуту везикулярно-арбускулярну ендомікоризу (рис.). Гіфи були локалізовані у міжклітинному просторі епідермальної тканини кореня впродовж осевого циліндра і формували характерне „кільце перетравлення”. В паренхімних кореневих клітинах утворювалася гранульована „зерниста маса” – арбускули, які перетравлюються рослиною. Завдяки такому лізису арбускул, рослини нуту отримують органічні речовини, поліпшуючи кореневе живлення. Крім арбускул спостерігали овальні пухирчасті структури – везикули, які мають зв’язок з несучими їх гіфами. Везикули допомагають виживати ВАМ-грибам у ґрунті та є джерелами живильних речовин.

Частота зустрічальності мікоризної інфекції в усіх варіантах була дуже високою і складала 94 – 100%, що свідчило про наявність щільної ґрунтової популяції ВАМ-грибів і сприятливі умови для мікоризації рослин.

При внесенні під оранку суперфосфату і агрофоски в дозі P_{60} істотно не змінювалась кількість, біомаса та нітрогеназна активність бульбочок нуту, але значно збільшувалась інтенсивність мікоризації коріння – 51 – 86 % проти 40 – 46% у варіантах без добрив, тоді як кількість арбускул мало відрізнялась від контролю.

Внесення фосфорних добрив у дозі P_{10} в рядки слабо впливало на кількість бульбочок, але значно збільшувало їх біомасу та нітрогеназну активність, також не відмічено впливу на частоту зустрічальності та інтенсивність розвитку мікоризної інфекції. Кількість арбускул у мікоризованій частині кореня мало змінювалась і була на рівні контролю 17 – 21%.

Кількість везикул була дуже низькою в усіх варіантах (0,3 – 4,0%), крім варіантів з суперфосфатом, внесеним під оранку, де вона становила 7,0 – 9,3%. У мікоризованих частинах кореня в період цвітіння – початку формування бобів зустрічальність везикул складала 3 – 14%.

В результаті проведених досліджень виявлено, що застосування фосфорних добрив під нут не спричиняло негативного впливу на мікоризацію рослин ґрунтовими ВАМ-грибами. Сумісне внесення фосфорних добрив у дозі P_{10} з інокуюваним насінням нуту у рядки підвищувало урожайність зерна нуту на 4 – 6 ц/га порівняно до варіантів з внесенням фосфорних добрив у дозі P_{60} під оранку і передпосівною обробкою ризобіфітом.

Таким чином, виявлено ефективність нітрагінізації сучасних сортів нуту перспективними штамми *M. ciceri*, встановлено, що у симбіозі з сортом Триумф чотири

штами *M. ciceri* підвищили урожайність зерна на 1,4 – 5,5 ц/га (5,1 – 19,9%), а сім штамів *M. ciceri* у симбіозі з сортом Александрит – на 1,4 – 3,8 ц/га (5,3 – 14,5%) порівняно з виробничим штамом 527. Штами Н-12, Н-14, 068 були висококомплементарні до генотипів обох сортів нуту в умовах суходолу південного Степу України на чорноземі південному і рекомендовані як основа для виготовлення ризобіофіту під нут.

Визначено, що сорти нуту Пам'ять, Буджак, Розана, Антей, Триумф були чутливі до нітрагінізації ризобіофітом на основі високоефективного та технологічного штаму 065, прибавка урожайності зерна складала 2,8 – 3,7 ц/га (11,5 – 18,7%) порівняно до ґрунтової популяції ризобій з щільністю 10^3 БУОД/г ґрунту. Сорт Александрит в симбіозі з ґрунтовою популяцією *M. ciceri* формував урожай зерна на 1,7 ц/га (8,5%) більше порівняно з варіантом, де проводилася нітрагінізація.

Дослідження впливу фосфорних добрив на потрійний симбіоз *Cicer arietinum* - *M. ciceri* - ВАМ-гриби показало, що внесення агрофоски та суперфосфату під оранку або в рядки при посіві не має негативної дії, відмічено збільшення біомаси та нітрогеназної активності бульбочок у варіантах при застосуванні фосфорних добрив у дозі P_{10} в рядки.

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
2. Лабутова Н.М. Методы исследования арбускулярных микоризных грибов. - Л.- 2000.- 24 с.
3. Методические указания по использованию ацетиленового метода при селекции бобовых культур на повышение симбиотической азотфиксации. – Л. – 1982. – 12 с.
4. Методы исследований клубеньковых бактерий /Методические рекомендации для курсов повышения квалификации научных сотрудников по сельскохозяйственной микробиологии – Л. - 1981.- 48 с.
5. Отчёт по специализированным рынкам Украины (нут, сорго, просо) / Аналитический центр УкрАгроКонсалт. – marketing@ukragroconsult.com/ – К., 2006. – 4 с.
6. Патыка В.Ф., Толкачев Н.З., Бутвина О.Ю. Основные направления оптимизации симбиотической азотфиксации в современной земледелии Украины // Физиология и биохимия культурных растений. – 2005. – 37. – № 5. – С. 384 – 293.
7. Сичкарь В.И., Бушуляна О.В., Толкачев Н.З. Нут. Биологические особенности, технология выращивания и новые сорта. – Одесса: СГИ-НАЦ СЕИС, 2004. – 20 с.
8. Суховицкая Л.А., Мохорт Т.Т., Клышко Г.М. Выживаемость *Rhizobium* в бинарных популяциях с фосфатмобилизующими бактериями и некоторые критерии подбора ризобияльно-фосфатмобилизующих композитов // Весці АН Беларусі, Сер. біял. н. – 1997. – № 3. – С. 64 – 69.
9. Толкачев Н.З. Модифицированный метод определения количества клубеньковых бактерий сои в почве // Труды ВНИИСХМ. – Л., 1990. – С.37 – 43.
10. Ailoush G.A., Zeto S.K., Clark R.B. Phosphorus source, organic matter, and arbuscular mycorrhiza effects on growth and mineral acquisition of chickpea grown in acidic soil // J. Plant Nutr. – 2000. – 23, № 9. – P. 1351 – 1369.

Південна дослідна станція
Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН

Надійшла 06.07.2007

УДК 633.31/37: 631.461

ЕФЕКТИВНІСТЬ НІТРАГІНІЗАЦІЇ СОРТІВ *CICER ARIETINUM* L. ШТАМАМИ *MESORHIZOBIUM CICERI* В УМОВАХ ПІВДЕННОГО СТЕПУ УКРАЇНИ

С.В. Дідович, М.З. Толкачов

Південна дослідна станція Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН

В польових дослідах в умовах суходолу південного Степу України передпосівна інокуляція насіння нуту високоефективними штамми *Mesorhizobium ciceri* підвищувала урожайність зерна нуту на 1,4-5,5 ц/га. Застосування фосфорних добрив у дозах P_{10} (внесення у рядки) і P_{60} (внесення під оранку) не спричиняло негативного впливу на потрійний симбіоз *Cicer arietinum* – *Mesorhizobium ciceri* – везикулярно-арбускулярні мікоризні гриби.

UDC 633.31/37: 631.461

EFFICIENCY OF NITRAGINISATION OF *CICER ARIETINUM* L. CULTIVARS BY *MESORHIZOBIUM CICERI* STRAINS IN ZONE OF SOUTHERN STEPPE OF UKRAINE

S.V. Didovych, M.Z. Tolkachov

South Experimental Station of Institute of Agricultural Microbiology of Ukrainian Academy of Agrarian Sciences

The presowing inoculation of chick pea seeds with *M. ciceri* high efficient strains in the field experiments of southern Steppe of Ukraine non-irrigation soils increased the seed yield by 1,4-5,5 c/ha. Application of phosphoric fertilizer in doses of P_{10} (row application) and P_{60} (plowed-under application) did not influence upon triple symbiosis *Cicer arietinum* – *Mesorhizobium ciceri* – vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi negatively.