

УДК 579.64:602.3:
631.847.211:635.657

© 2019

ЕФЕКТИВНІСТЬ БАКТЕРИЗАЦІЇ НАСІННЯ НУТУ СОРТУ СКАРБ НОВИМ ШТАМОМ MESORHIZOBIUM CICERI

О.В. Логоша¹, Ю.О. Воробей², Т.О. Усманова³

²кандидат біологічних наук

*Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна*

e-mail: ¹olga.logosha94@gmail.com, ²yu.a.vorobey@gmail.com, ³usmanova0218@gmail.com

Надійшла 7.06.2019

Мета. Дослідити вплив бактеризації насіння нуту сорту Скарб новим штамом *Mesorhizobium ciceri* на ефективність бобово-ризобіального симбіозу. **Методи.** Мікробіологічні, газохроматографічні, польового досліду, статистичні. **Об'єкти досліджень** — рослини нуту сорту Скарб, штами бульбочкових бактерій *M. ciceri*. **Польові дослідження в 2018 р.** проводили на дослідних полях Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннезнавства та сортовивчення (СГІ — НЦНС, Одеська обл.) та Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (ІСМАВ НААН, Чернігівська обл.). **Посів нуту** здійснювали вручну на ділянках з обліковою площею 5 м² (СГІ — НЦНС) та 8 м² (ІСМАВ НААН). **Повторність дослідів** 4-разова, розміщення варіантів рендомізоване. **Математичну обробку** виконували за допомогою програми Microsoft Office Excel 2007. **Результати.** Виділено новий штам *M. ciceri* 2 з бульбочок рослин нуту сорту Пам'ять, відібраних на полях з активною місцевою популяцією ризобій, яка сформувалася внаслідок багаторічного вирощування нуту в сівозміні. **Передпосівна бактеризація насіння нуту штамом *M. ciceri* 2** при вирощуванні цієї культури як на полях, де не було місцевої популяції бульбочкових бактерій нуту, так і на фоні активної популяції *M. ciceri*, позитивно впливала на формування бобово-ризобіального симбіозу. Так, середня висота рослин збільшувалася на 10–17%, кількість бобів на рослині — на 23–55, насінин з рослини — на 27–46, маса насінин з рослини — на 27–35%. **Висновки.** Новий штам *M. ciceri* 2, виділений з бульбочок нуту сорту Пам'ять, формує ефективний симбіоз з рослинами нуту сорту Скарб як за відсутності, так і за наявності в ґрунті активної популяції ризобій нуту.

Ключові слова: бобово-ризобіальний симбіоз, бульбочкові бактерії, рослини, інокуляція насіння.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk2019010-05>

Перспективною сільськогосподарською культурою для вирощування в посушливих умовах степової зони України є нут [1, 2]. Тенденція до зміни інтегральних показників погодних умов сприяла значному

розширенню посівів нуту в лісостеповій зоні та Поліссі [3, 4]. У Державному реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні, в 2019 р. зареєстровано 15 сортів нуту, що вдвічі більше, ніж

торік. У Селекційно-генетичному інституті — Національному центрі насіннєзнавства та сортівивчення (СГП — НЦНС) виведено світлонасінні сорти Пам'ять, Триумф, Буджак, Одісей, районовані для вирощування в степовій зоні України, сорт Скарб — для лісостепової зони. Сорт Пам'ять характеризується середнім розміром насіння, тоді як решта — крупнонасінні.

Для успішної інтродукції нуту у різних ґрунтово-кліматичних зонах України і, особливо, у регіонах, де раніше не вирощували цю культуру, потрібно проводити передпосівну бактеризацію насіння активними штамми бульбочкових бактерій нуту. Це сприятиме реалізації симбіотичного потенціалу рослин, підвищенню стійкості до несприятливих ґрунтово-кліматичних умов і зростанню врожайності [5, 6].

Мета досліджень — дослідити вплив бактеризації насіння нуту сорту Скарб новим штамом *Mesorhizobium ciceri* на формування ефективного бобово-ризобіального симбіозу.

Матеріали та методи досліджень. Польові дослідження в 2018 р. проводили на полях Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннєзнавства та сортівивчення (ДП ЕБ «Дачна» (Одеська обл.) та Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (Чернігівська обл.).

Вирощували нут за загальноприйнятою методикою для степової зони [7]. На полях СГП — НЦНС ґрунтовий покрив — це південні середньогумусні важкосуглинкові чорноземи на лесових відкладеннях. Попередник — пшениця озима.

Дослідне поле Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового

виробництва НААН (ІСМАВ НААН) характеризується такими агрохімічними показниками: ґрунт — чорнозем вилугуваний неглибокий легкосуглинковий на лесовидних суглинках. Попередник — овес ярий.

Висівали нут ручним широкорядним способом (ширина міжрядь — 45 см).

Для бактеризації насіння нуту в обох дослідках використовували бактеріальну суспензію виробничого (*M. ciceri* Н-12) та нових штамів *M. ciceri*, які вирощували на рідкому бобовому середовищі на мікробіологічній качалці при 220 об./хв протягом 3-х діб. Бактеріальне навантаження — 10^6 клітин/насінину [8]. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за використання програми Microsoft Office Excel 2007.

Результати досліджень. Досліди проведено у 2016–2018 рр. Упродовж 2016–2017 рр. нами було виділено 58 бактеріальних ізолятів з бульбочок нуту сортів Скарб, Адмірал, Одісей, Буджак, Триумф, Пам'ять, відібраних на полях СГП — НЦНС, де в ґрунті сформувалась активна популяція ризобій унаслідок багаторічного вирощування (понад 10 років) цієї культури [9]. Ще 11 ізолятів виділено з бульбочок нуту сортів Пам'ять і Триумф, відібраних у нових районах вирощування цієї культури на полях Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН (Львівська обл.). Отримані ізоляти за культурально-морфологічними ознаками відповідали характеристикам роду *Mesorhizobium* [10].

В умовах вегетаційних дослідів на стерильному вермікуліті аналізували здатність нових ізолятів до формування активного симбіозу з рослинами нуту та відібрали 2 найефективніші штами, виділені

1. Симбіотичні властивості нових штамів бульбочкових бактерій нуту в умовах польових дослідів (2018 р.)

Варіант	Кількість бульбочок, од./рослину		Маса бульбочок, мг/рослину	
	Чернігівська обл.	Одеська обл.	Чернігівська обл.	Одеська обл.
Контроль (без бактеризації)	—	14,0±0,6	—	108,9±2,2
Бактеризація:				
<i>M. ciceri</i> Н-12	13,2±1,1	14,6±0,4	215±5	121,1±4,8
<i>M. ciceri</i> 1	15,1±2,1	14,8±0,4	435±32,5	123,3±8,8
<i>M. ciceri</i> 2	23,3±2,1	15,3±0,7	636±30	133,3±5,8

2. Вплив передпосівної бактеризації насіння штамми *M. ciceri* на структурні показники врожаю нуту сорту Скарб за відсутності в ґрунті активної популяції ризобій цієї культури (ІСМАВ НААН, 2018 р.)

Варіант	Висота рослин, см	Кількість бобів, од./рослину	Кількість насінин, од./рослину	Маса насіння, г/рослину
Контроль (без бактеризації)	52,53±0,73	25,13±0,85	13,40±0,74	4,04±0,24
Бактеризація:				
<i>M. ciceri</i> Н-12	56,03±0,71	30,37±1,40	15,10±0,73	4,29±0,22
<i>M. ciceri</i> 1	57,57±0,67	31,67±1,13	17,60±0,99	4,80±0,20
<i>M. ciceri</i> 2	61,60±0,98	38,97±2,99	19,17±1,98	5,44±0,60

з бульбочок нуту сортів Скарб (*M. ciceri* 1) та Пам'ять (*M. ciceri* 2), які відрізняються між собою за крупністю насіння та формою куща. *M. ciceri* 1 і *M. ciceri* 2 характеризуються середньою швидкістю росту (колонії за культивування на бобовому агарі з'являються на 4–5-ту добу), не ростуть на м'ясо-пептонному агарі, за культивування на середовищі з лакмусом підкиснюють середовище. Згідно з аналізом результатів досліджень фізіолого-біохімічних властивостей нових штамів їх ідентифіковано як *M. ciceri* [11].

Симбіотичні властивості ризобій вивчали в умовах польових дослідів за відсутності бульбочкових бактерій нуту в ґрунті (ІСМАВ НААН) та на фоні активної місцевої популяції *M. ciceri* (СГІ — НЦНС).

Так, бактеризація насіння нуту сорту Скарб новими штамми *M. ciceri* за відсутності бульбочкових бактерій нуту в ґрунті (ІСМАВ НААН) сприяла збільшенню кількості бульбочок на коренях нуту на 14% (*M. ciceri* 1) та на 77% (*M. ciceri* 2) порівняно з позитивним контролем, а їхня маса була більшою в 2–3 рази відповідно (табл. 1).

На фоні активної місцевої популяції ризобій нуту кількість і маса бульбочок за

бактеризації *M. ciceri* 1 була на рівні з позитивним контролем, тоді як бактеризація *M. ciceri* 2 сприяла збільшенню кількості бульбочок на 10 і 5% порівняно з абсолютним і позитивним контролюми та маси бульбочок — на 22 та 10% відповідно.

Отримані дані свідчать про високу симбіотичну активність і конкурентоспроможність нового бактеріального штаму *M. ciceri* 2, виділеного з бульбочок нуту сорту Пам'ять.

Наступним етапом нашої роботи було вивчення впливу бактеризації насіння нуту сорту Скарб новими штамми *M. ciceri* на структурні показники врожаю та продуктивність рослин.

В умовах польового дослідів за відсутності в ґрунті активної популяції ризобій нуту найефективнішою виявилася бактеризація насіння нуту сорту Скарб штамом *M. ciceri* 2. Так, спостерігали збільшення висоти рослин на 17 та 10% порівняно з варіантами без бактеризації та з бактеризацією *M. ciceri* Н-12. Зростала кількість бобів на рослині на 55 і 28%, кількість насінин з рослини — на 43 і 27% та маса насіння — на 35 та 27% відповідно (табл. 2).

Вирощування нуту, бактеризованого досліджуваними штамми, на ґрунтах

3. Вплив передпосівної бактеризації насіння штамми *M. ciceri* на структурні показники врожаю нуту сорту Скарб на фоні активної популяції ризобій цієї культури (СГІ — НЦНС, 2018 р.)

Варіант	Висота рослин, см	Кількість бобів, од./рослину	Кількість насінин, од./рослину	Маса насіння, г/рослину
Контроль (без бактеризації)	43,2±1,72	21,6±2,83	13±1,87	4,76±1,06
Бактеризація:				
<i>M. ciceri</i> Н-12	43,1±0,92	24,6±1,66	19,6±1,32	5,64±0,66
<i>M. ciceri</i> 1	37,1±1,49	25,1±5,88	17,1±4,98	4,37±1,38
<i>M. ciceri</i> 2	43,1±0,94	26,8±2,77	28,7±2,78	6,63±0,87

з активною популяцією *M. ciceri* бульбочкових бактерій не забезпечувало значного збільшення висоти інокульованих рослин щодо контролю. Однак обробка насіння суспензією *M. ciceri* 2 сприяла збільшенню кількості бобів на рослині на 23% порівняно з варіантом без бактеризації, кількості зерен з рослини — на 46%, маси насінин

з рослини — на 39% (табл. 3).

Отже, за результатами польових дослідів доведено, що новий штам *M. ciceri* 2, виділений з бульбочок рослин нуту сорту Пам'ять, характеризується здатністю до формування ефективного симбіозу з рослинами нового крупнонасінного сорту Скарб у різних ґрунтово-кліматичних умовах України.

Висновки

Передпосівна бактеризація насіння нуту новим штамом *Mesorhizobium ciceri* 2 за вирощування цієї культури як на полях, де не було місцевої популяції бульбочкових бактерій нуту, так і на фоні активної популяції *M. ciceri* позитивно впливала на формування ефективного бобово-ризобіального симбіозу. У ґрунтах Одеської обл. на фоні місцевої популяції ризобій нуту кількість бульбочок на коренях інокульованих рослин зростала на 5%, їхня маса — на 10% відносно позитивного контролю. Формування активного симбіозу рослин нуту з *M. ciceri* 2 сприяло збільшенню кількості бобів на рослині на 23% порівняно з варіантом без бактеризації, кількості зерен з рослини — на 46%, маси насінин з рослини — на 39%. Використання

для інокуляції насіння досліджуваного штаму і вирощування нуту на ґрунтах, де ще не сформована аборигенна популяція бульбочкових бактерій *M. ciceri*, забезпечило підвищення кількості бульбочок на 77% та їх маси в 3 рази порівняно з позитивним контролем. Спостерігали також збільшення висоти рослин (на 10–17%) та підвищення структурних показників урожаю нуту: кількості бобів на рослині — на 23–55%, кількості насінин з рослини — на 27–46% та маси насінин — на 27–35%.

З огляду на зазначене вище, новий штам *M. ciceri* 2 є перспективним біоагентом мікробного препарату для бактеризації нуту з метою формування ефективного бобово-ризобіального симбіозу та підвищення продуктивності цієї культури.

Логоша О.В.¹, Воробей Ю.А.², Усманова Т.О.³

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН, ул. Шевченко, 97, г. Чернігов, 14027, Україна; e-mail: ¹olga.logosha94@gmail.com, ²yu.a.vorobey@gmail.com, ³usmanova0218@gmail.com

Ефективність бактеризації насіння нуту сорту Скарб новим штамом *Mesorhizobium ciceri*

Цель. Исследовать влияние бактериализации семян нута сорта Скарб новым штаммом *Mesorhizobium ciceri* на эффективность бобово-ризобияльного симбиоза. **Методы.** Микробиологические, газохроматографические, полевые опыты, статистические. Объекты исследований — растения нута сорта Скарб, штаммы клубеньковых бактерий *Mesorhizobium ciceri*. Полевые исследования в 2018 г. проводили на опытных полях Селекционно-генетического института — Национального центра семеноводства и сортоизучения (СГИ — НЦСС, Одесская

обл.) и Института сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН (ИСМАП НААН, Черниговская обл.). Посев нута осуществляли вручную на участках с учетной площадью 5 м² (СГИ — НЦСС) и 8 м² (ИСМАП НААН). Повторность опытов 4-разовая, размещение вариантов рендомизированное. Математическую обработку выполняли с помощью программы Microsoft Office Excel 2007. **Результаты.** Выделен новый штамм *M. ciceri* 2 из клубеньков растений нута сорта Пам'ять, отобранных на полях с активной местной популяцией ризобий, которая сформировалась в результате многолетнего выращивания нута в севообороте. Предпосевная бактериализация семян нута штаммом *M. ciceri* 2 при выращивании этой культуры как на полях, где не было местной популяции клубеньковых бактерий нута, так и на фоне активной популяции *M. ciceri* позитивно влияла на формирование бобово-ризобияльного симбиоза. Так, средняя высота растений увеличивалась на 10–17%, количество бобов на растениях — на 23–55,

семян с растения — на 27–46, масса семян с растения — на 27–35%. **Выводы.** Новый штамм *M. ciceri* 2, выделенный из клубеньков нута сорта Память, формирует эффективный симбиоз с растениями нута сорта Скарб как при отсутствии, так и при наличии в почве активной популяции ризобий нута.

Ключевые слова: бобово-ризобиальный симбиоз, клубеньковые бактерии, растения, инокуляция семян.

DOI: <https://doi.org/20.31073/agrovisnyk201910-05>

Lohosha O.¹, Vorobei Yu.², Usmanova T.³

Institute of Agricultural Microbiology and Agro-industrial Manufacture of NAAS, 97 Shevchenko str., Chernigov, 14027, Ukraine; e-mail: ¹olga.logosha94@gmail.com, ²yu.a.vorobey@gmail.com, ³usmanova0218@gmail.com

Efficiency of bacterization of seeds of chick pea of grade Skarb with new strain of *Mesorhizobium ciceri*

The purpose. To study effect of bacterization of seeds of chick pea of grade Skarb with new strain of *Mesorhizobium ciceri* upon efficiency of fabaceous-rhizobial symbiosis. **Methods.** Microbiological, gas-chromatographic, field experiment, statistical. Objects of researches — chick pea of grade Skarb, strains of nodule bacteria *Mesorhizobium ciceri*. Field researches in 2018 were carried out on experimental fields of Selection-genetic institute — National center

of seeds growing and strain investigation (SGI-NCSGSI, Odessa oblast) and Institute of agricultural microbiology and agroindustrial production of NAAS (IAMAIP, Chernihiv oblast). Sowing of chick pea was realized manually on plots with area 5 m² (SGI-NCSGSI) and 8 m² (IAMAIP). Frequency of experiments — 4, disposition of alternatives — randomized. Mathematical processing was made by means of program Microsoft Office Excel 2007. **Results.** New strain *M. ciceri* 2 is secreted from nodules of plants of chick pea of grade Pamiat, taken on fields with active local population of rhizobia, which was generated as a result of long-term growing of chick pea in crop rotation. Preseeding bacterization of seeds of chick pea with strain *M. ciceri* 2 at growing this crop both on fields without local population of nodule bacteria of chick pea, and on the background of active population of *M. ciceri* positively influenced formation of fabaceous-rhizobial symbiosis. So, average height of plants increased on 10–17%, amount of legumes for a plant — on 23–55%, amount of seeds for a plant — on 27–46%, mass of seeds for a plant — on 27–35%. **Conclusions.** New strain *M. ciceri* 2, secreted from nodules of chick pea of grade Pamiat, forms efficient symbiosis with plants of chick pea of grade Skarb both at absence and presence in soil of active rhizobia population of chick pea.

Key words: fabaceous-rhizobial symbiosis, nodule bacteria, plants, seed inoculation.

DOI: <https://doi.org/20.31073/agrovisnyk201910-05>

Бібліографія

1. Петкевич З.З., Мельніченко Г.В. Нут, сочевиця — перспективні зернобобові культури для вирощування на півдні України. *Зрошуване землеробство*. 2016. Вип. 65. С. 104–107.

2. Бушулян О.В., Сичкарь В.И., Бушулян М.А., Пасичник С.М. Результаты и перспективы селекции нута в Украине. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2015. № 4 (16). С. 49–54.

3. Каленська С.М., Новицька Н.В., Барзо І.Т. Економічна ефективність вирощування нуту в умовах Правобережного Лісостепу України. *Молодий вчений*. 2014. № 10(13)(1). С. 18–20.

4. Холод С.М., Холод С.Г., Іллічов Ю.Г. Нут — перспективна зернобобова культура для Лісостепу України. *Вісник Полтавської державної аграрної академії: наук.-виробн. фаховий журн.* 2013. № 2. С. 49–54. <https://doi.org/10.31210/visnyk2013.02.12>

5. Дідович С.В., Толкачов М.З., Бутвіна О.Ю. Ефективність симбіотичної азотфіксації в агроценозах України. *Сільськогосподарська мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб.* 2008. Вип. 8. С. 117–125.

6. Elias N.V., Herridge D.F. Naturalised populations

of mesorhizobia in chickpea (*Cicer arietinum* L.) cropping soils: effects on nodule occupancy and productivity of commercial chickpea. 2014. *Plant and Soil*. 387(1–2). P. 233–249. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2298-z>

7. Бушулян О.В., Січкач В.І. Сучасна технологія вирощування нуту: метод. рекомендації. Одеса, 2011. 32 с.

8. *Методи* культивування та тривалого зберігання бульбочкових бактерій у колекціях: метод. рекомендації. Чернігів: ІСМАВ НААН, 2015. 36 с.

9. Бушулян О.В. Селекція нуту — історія та перспективи. *Збірник наукових праць СГП — НЦНС*. Вип. 20 (60). 2012. С. 126–131.

10. Логоша О.В., Воробей Ю.О., Романова І.М. та ін. Новий штам *Mesorhizobium* sp. 1 та його вплив на структурні показники врожаю нуту сорту Скарб. *Сільськогосподарська мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб.* 2018. Вип. 27. С. 40–44.

11. Garrity G.M., Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. *Bergey's manual of systematic bacteriology. The Proteobacteria, Part C: The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria*. Springer. 2005. V. 2. 1415 p.