

Научная статья

УДК 579.64:633.34

<https://doi.org/10.24412/2949-2211-2023-1-2-32-37>

ВЛИЯНИЕ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ БОБОВЕРИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА У СОРТОВ СОИ

Татьяна Владимировна Горгулько, Светлана Витальевна Дидович, Анна Николаевна Пась

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,
г. Симферополь, Республика Крым, Россия,
t.gorgulko@gmail.com, sv-alex.68@mail.ru, annapass@mail.ru

Аннотация. В статье приведены результаты исследований симбиотической эффективности штаммов клубеньковых бактерий Крымской коллекции микроорганизмов ФГБУН «НИИСХ Крыма» *Bradyrhizobium japonicum* 6346, X-9, Д-2, 36/46; *Bradyrhizobium ottawaense* М-8 на трех современных сортах сои Марина, Османь, Покровская в условиях вегетационного опыта. Показано, что изученные штаммы вирулентны и способны формировать в симбиозе с растениями азотфиксирующие корневые клубеньки. Выявлен штамм *Bradyrhizobium ottawaense* М-8, высокоэффективный в симбиозе с растениями сорта Марина, обеспечивший прибавку фитомассы 0,51 г/растение (12,4%), высоту растений 8,8 см/растение (21,6%), количество клубеньков 6,7 ед./растение (47,5%) в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

Ключевые слова: штамм, клубеньковые бактерии, соя, симбиотическая эффективность.

Для цитирования: Горгулько Т. В., Дидович С. В., Пась А. Н. Влияние штаммов клубеньковых бактерий на эффективность бобово-ризобиального симбиоза у сортов сои // Агронаука. 2023. Том 1. № 2. С. 32–37. <https://doi.org/10.24412/2949-2211-2023-1-2-32-37>.

Original article

EFFECT OF STRAINS OF NODULE BACTERIA ON THE EFFICIENCY OF LEGUME-RHIZOBIA SYMBIOSIS IN SOYBEAN VARIETIES

Tat'yana V. Gorgul'ko, Svetlana V. Didovich, Anna N. Pas'

Research Institute of Agriculture of Crimea,
Simferopol, Republic of Crimea, Russia,
t.gorgulko@gmail.com, sv-alex.68@mail.ru, annapass@mail.ru

Abstract. The article presents the results of studies, symbiotic effectiveness of nodule bacteria strains of the Crimean collection of microorganisms in the Research Institute of Agriculture of Crimea (<http://www.ckr-rf.ru/usu/507484/>) *Bradyrhizobium japonicum* 6346, Kh-9, D-2, 36/46; *Bradyrhizobium ottawaense* M-8 on three modern varieties of soybeans Marina, Osman, Pokrovskaya in conditions of pot experiment. It is shown that the studied strains are virulent and are able to form nitrogen-fixing root nodules in symbiosis with plants. Strain *Bradyrhizobium ottawaense* M-8 was revealed, which is highly effective in symbiosis with plants of Marina variety, and provided increase of phytomass 0.51 g/plant (12.4%), height of plants 8.8 cm/plant (21.6%), amount of nodules 6.7 units/plant (47.5%) in comparison with control ($p < 0.05$).

Keywords: strain, nodule bacteria, soybeans, symbiotic efficiency.

For citation: Gorgulko TV, Didovich SV, Pas' AN. Vliyanie shtammov kluben'kovyh bakterij na effektivnost' bobovorizobial'nogo simbioza na sortah soi [Effect of strains of nodule bacteria on the efficiency of legume-rhizobia symbiosis in soybean varieties]. *Agronauka. – Agrosience*. 2023; 1; 2: 32–37. (in Russ.). <https://doi.org/10.24412/2949-2211-2023-1-2-32-37>.

Введение зерно содержит 30...55% белка, 13...26% жира, Соя (*Glycine max.*) – является ценной мас- 20...32% крахмала, минеральные вещества личной культурой мирового земледелия, её (калий, фосфор, кальций), жирорастворимые

витамины (С, В, Е). Сою широко используют в кормовых, пищевых, технических, фуражных, продовольственных, фармацевтических и медицинских целях.

Соя относится к перспективным сельскохозяйственным культурам. За последние годы в России отмечается увеличение её площадей в регионах возделывания. В 2021 году посевные площади под соей в РФ составили 2,9 млн га, в 2022 г. – 3,4 млн га, и в дальнейшем увеличение её посевов планируется до 5 млн га. Основными регионами производства сои в России являются Амурская область, Краснодарский и Приморский края, Белгородская, Курская, Воронежские области, – в целом производственные площади расположены более чем в 20 регионах России.

Однако не во всех почвах присутствуют аборигенные клубеньковые бактерии сои, в связи с чем, в технологии её выращивания важнейшим агроприёмом должна быть предпосевная обработка семян микробными препаратами на основе высокоэффективных штаммов клубеньковых бактерий (ризобий) *Bradyrhizobium japonicum* (так называемая нитрагинизация, бактеризация, инокуляция) [4–7].

Многолетние производственные исследования эффективности этого агроприёма показали повышение зерновой продуктивности сои в среднем на 25...30% и увеличение содержания белка в семенах на 2...6 абсолютных процента. Кроме того, обогащение почвы корневыми и пожнивными остатками сои с повышенным содержанием азота увеличивало урожайность последующей культуры (озимой пшеницы) на 0,5...0,6 т/га в сравнении с её выращиванием по неинокулированной сое или кукурузе.

В процессе выращивания нитрагинизированной сои клубеньковые бактерии интродуцируются в микробный ценоз почвы и формируют стойкую почвенную популяцию. На таких почвах эффективность нитрагинизации сои снижалась за счёт фоновой симбиотической азотфиксации, которая повышала урожайность в контроле, но в большинстве наших производственных опытов нитрагинизация достоверно увеличивала урожайность семян сои на 0,2...0,4 т/га и содержание в них белка на 1...3% в сравнении с почвенной популяцией ризобий сои.

Применение предпосевной нитрагинизации семян биопрепаратами на основе селекционных штаммов клубеньковых бактерий с

различными функциональными свойствами, снижает использование пестицидов и минеральных удобрений, что позволяет получить экологически безопасную продукцию, использовать природный процесс азотфиксации, при котором соя получает питание азотом до 90% и оставляет после уборки 25...40 кг/га азота для последующих культур [8, 9].

Целью наших исследований стало изучение симбиотической эффективности штаммов клубеньковых бактерий на современных сортах сои.

Материалы и методы исследований

В исследовании использованы штаммы клубеньковых бактерий из коллекций ФГБУН «НИИСХ Крыма» (<http://www.ckp-rf.ru/usu/507484/>), современные сорта бобовых культур российской селекции: *Bradyrhizobium japonicum* 6346, X-9, Д-2, 36/46; *Bradyrhizobium ottawaense* М-8.

В вегетационных опытах бобовые культуры сои сорта Марина, Османь, Покровская, выращивали в сосудах с перфорированным дном, объемом 300 мл на черноземе южном в условиях теплицы до фазы начала цветения. Учёт количества азотфиксирующих клубеньков проводили через 45 суток после высева семян. Семена поверхностно стерилизовали 96% этанолом в течение пяти минут, высушивали на воздухе и перед высевом в почву обрабатывали суспензией 5–7-суточного штамма клубеньковых бактерий из расчёта 106 бактерий / семя. Плотность суспензии клубеньковых бактерий для дозирования инокуляционной нагрузки определяли на фотоэлектродиметре (КФК-2) в кюветах с рабочей длиной 30,110 мм при зелёном световом фильтре с длиной волны – 315 нм. Растения в вегетационном опыте выращивали по фону почвенной популяции ризобий. Повторность вегетационных опытов шестикратная. Эффективность симбиотической азотфиксации оценивали по количеству азотфиксирующих клубеньков, высоте и фитомассе растений [1–3].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием Microsoft Office Excel 2007, в которой формировали электронные таблицы с первичными данными морфометрических показателей высоты и фитомассы растений, количества клубеньков – показателя симбиотической эффективности. Далее информацию переносили в программу StatSoft Statistica–10, анализируя данные с помощью дисперси-

онного анализа ANOVA для определения наличия статистически значимых различий между группами измеряемых данных по факторам (сорта, штаммы) на уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования показывают, что в контрольных вариантах азотфиксирующие корневые клубеньки формировались в результате симбиоза клубеньковых бактерий из состава почвенной популяции (на уровне

1...5 клубенькообразующих единиц/г почвы) с исследуемыми растениями сортов сои.

Бактеризация семян сои сорта Марина штаммами *Bradyrhizobium japonicum* 6346, *Bradyrhizobium ottawaense* М-8 обеспечила максимальную прибавку количества образовавшихся клубеньков на корнях, которое составило 14...15 ед./растение – более чем на 104,6 и 91,4% в сравнении с контролем ($p < 0,005$) (рисунок 1).

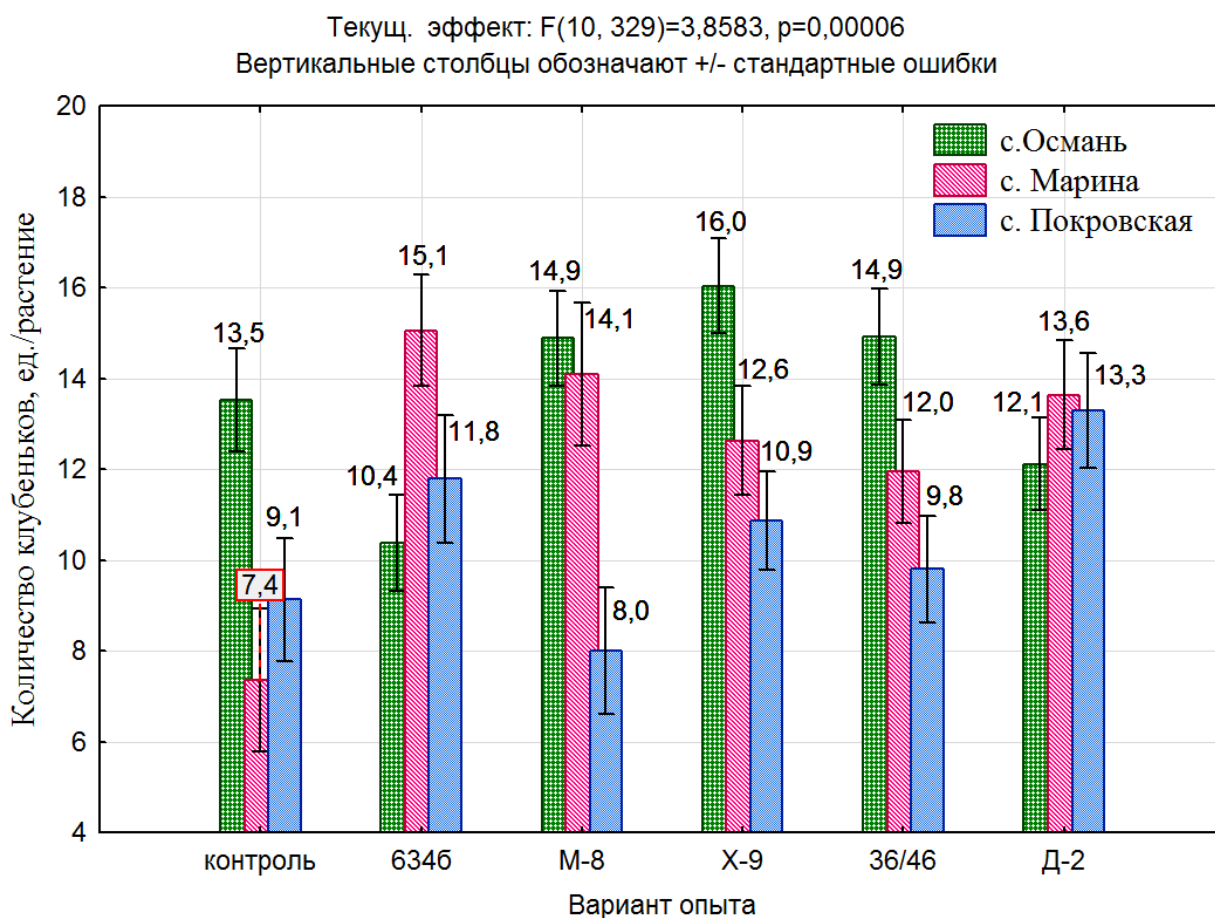


Рисунок 1 – Влияние штаммов рода *Bradyrhizobium* на клубенькообразование на корнях сортов сои (вегетационный опыт)

Установлено, что предпосевная бактериализация семян сои сорта Покровская штаммом *Bradyrhizobium japonicum* 6346, Д-2 обеспечила формирование азотфиксирующих клубеньков на корнях в количестве 11,8; 13,3 ед./растение, что выше на 29,1; 45,6% по отношению к контролю ($p < 0,05$). При обработке

штаммом *Bradyrhizobium japonicum* Х-9 наблюдалась тенденция увеличения азотфиксирующих клубеньков на корнях в количестве 10,9 ед./растение, что выше на 19,1% по отношению к контролю. У сои сорта Османь при обработке штаммом *Bradyrhizobium japonicum* Х-9 увеличилось образование клу-

беньков на корнях в количестве 16,0 ед./растение, что больше на 15,7% (2,52 ед./растение $p < 0,05$) по сравнению с контролем. Отмечена тенденция к увеличению образования клубеньков на корнях (14,9 ед./растение) в варианте с обработкой штаммами *Bradyrhizobium japonicum* 36/46, *Bradyrhizobium ottawaense* М-8, что больше на 10,4% соответственно к контролю.

Установлено, что бактеризация влияла на высоту и фитомассу растений. У сои сорта Марина высота растений увеличивалась за счёт бактеризации штаммами *Bradyrhizobium japonicum* Х-9, 6346, Д-2, 36/46 *Bradyrhizobium ottawaense* М-8 на 11,7; 10,4; 9,3; 8,4 и 8,7 см/растение (36,7; 32,5; 29,1; 26,4 и 27,5%) в соотношении с контролем (рисунок 2).

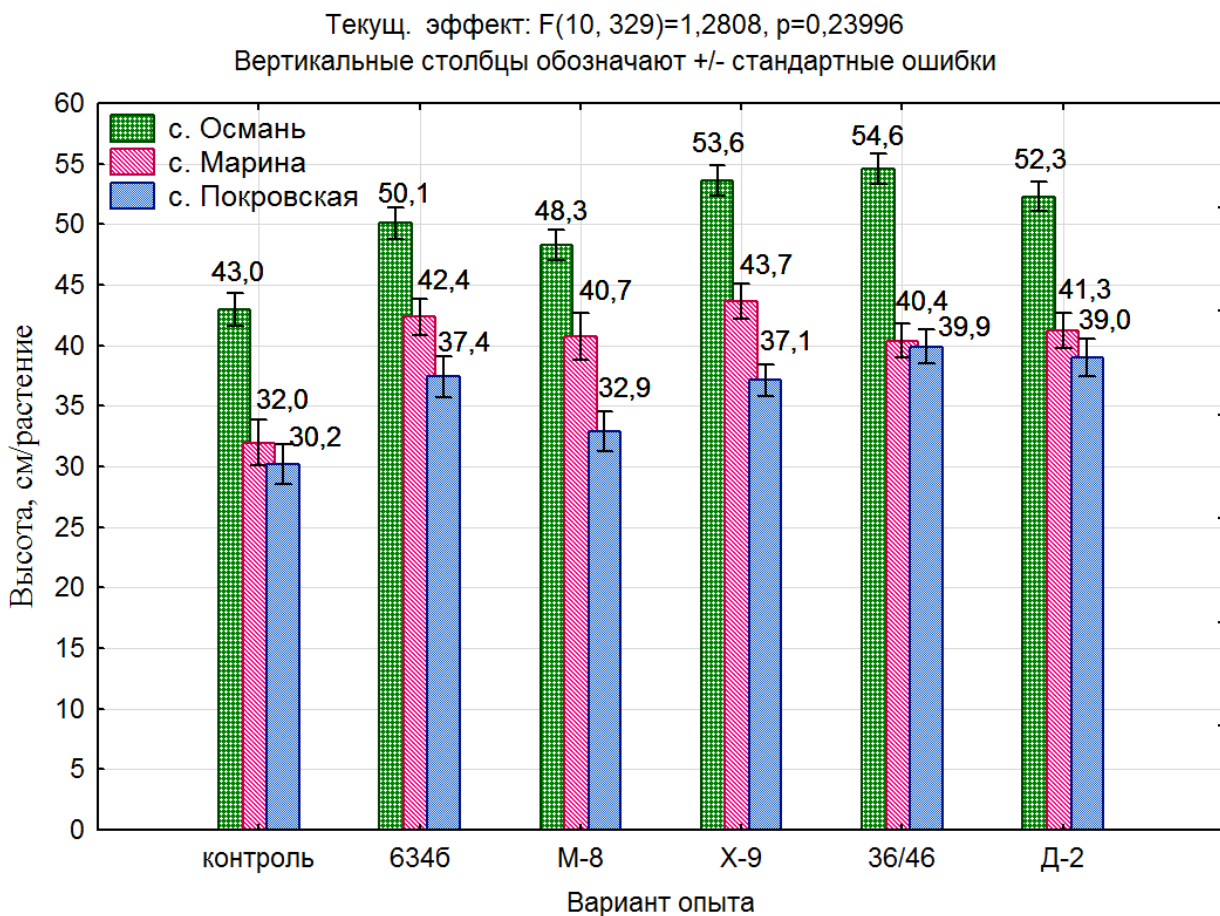


Рисунок 2 – Влияние штаммов рода *Bradyrhizobium* на высоту растений сортов сои (вегетационный опыт)

Высокоэффективной оказалась бактеризация семян сои сорта Османь штаммами *Bradyrhizobium japonicum* 36/46 и Х-9, которая способствовала повышению высоты растений на 11,6 и 10,7 см/растение (27,1 и 24,9%) по сравнению с контролем.

Высота растений сорта Покровская в вариантах с инокуляцией штаммами

Bradyrhizobium japonicum 36/46, Д-2, 6346 и Х-9 увеличивалась на 9,7; 8,8; 7,2; и 6,9 см/растение (32,3; 29,3; 23,9 и 23,1%) в сравнении с контролем. В варианте с обработкой штаммом *Bradyrhizobium ottawaense* М-8 отмечена тенденция к повышению фитомассы сои сорта Марина на 0,51 г/растение (12,4%) в сравнении с контролем (рисунок 3).

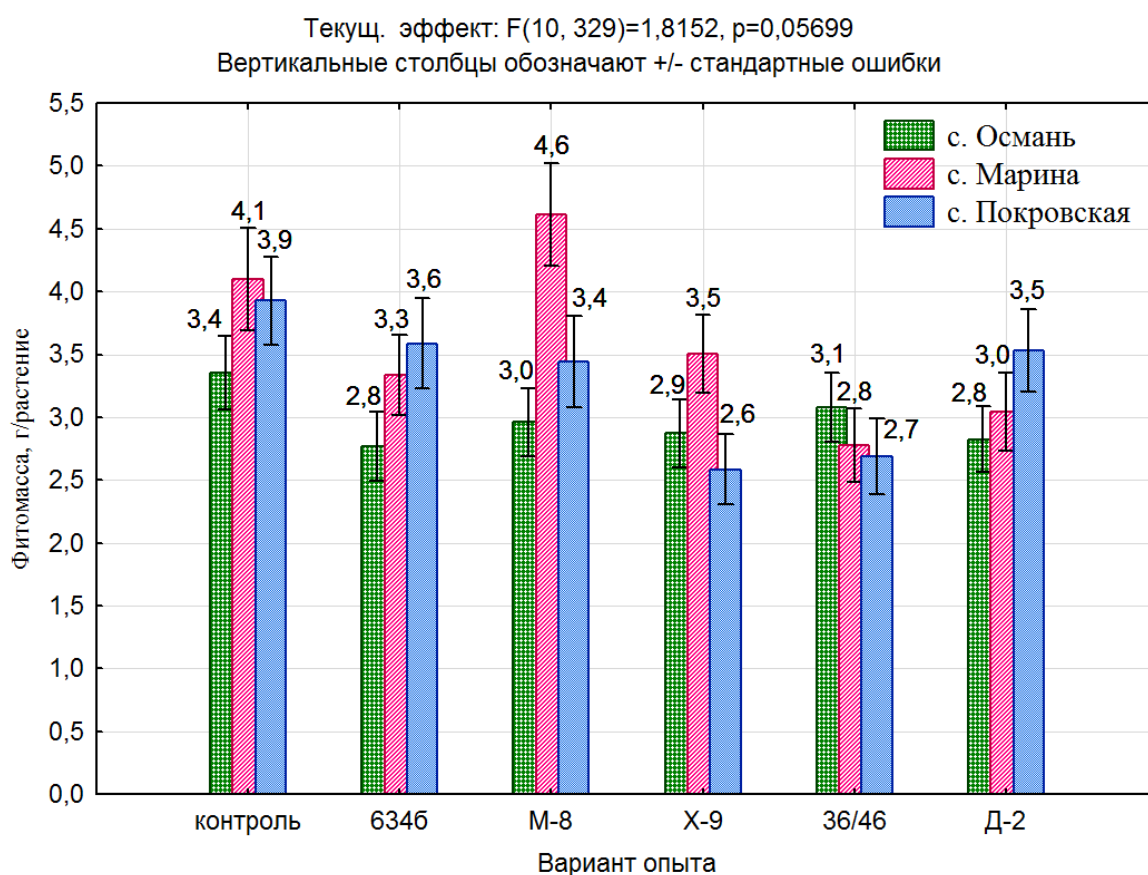


Рисунок 3 – Влияние штаммов рода *Bradyrhizobium* на фитомассу растений сортов сои (вегетационный опыт)

Выводы

Таким образом, в результате проведения вегетационных экспериментов на различных сортах сои установлено, что предпосевная бактериализация семян штаммами микроорганизмов *Bradyrhizobium ottawaense* M-8, *Bradyrhizobium japonicum* 6346, X-9, 36/46, D-2 способствовала формированию азотфиксирующих клубеньков на корнях сои сорта Марина в количестве 14,1...15,1 единиц на растение, сорта Османь в количестве 14,9...16,0 ед./растение, сорта Покровская 10,9...13,3 ед./растение и повышала высо-

ту растений у сорта Марина на 8,8...11,7 см на растение, сорта Османь на 5,4...11,6 см/растение, сорта Покровская на 2,8...9,7 см/растение в сравнении с контролем без бактериализации ($p<0,05$). Обработка семян штаммом *Bradyrhizobium ottawaense* M-8 обеспечила прибавку фитомассы сои сорта Марина на 0,51 г/растение в сравнении с контролем. Таким образом, установлено, что по фитомассе, высоте растений и количеству азотфиксирующих клубеньков сорт Марина был более отзывчив на инокуляцию штаммом *Bradyrhizobium ottawaense* M-8.

Список источников

1. Толкачёв Н. З. Модифицированный метод определения количества клубеньковых бактерий сои в почве // Труды ВНИИСХМ. Ленинград, 1990. С. 37 – 43.
2. Методы исследований клубеньковых бактерий : методические рекомендации для курсов повышения квалификации научных сотрудников по сельскохозяйственной микробиологии / под ред. Л.М. Доросинского. Ленинград, 1981. 48 с.
3. Экспериментальна ґрунтова мікробіологія / В. В. Волгогон та ін.; за ред. В. В. Вокогона. Киев : Аграрна наука, 2010. 464 с.
4. Biologization of soybean growing in forest-steppe and steppe zones of Ukraine / Y. Belyavskaya, et al. // Soybean growing under inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* strains in the Forest-steppe and

Steppe zones of Ukraine. *Zemdirbyste-Agriculture*. Vol. 109. № 3. P. 203–210. <https://doi.org/10.13080/z-a.2022.109.026>

5. Специфичность микробиологических препаратов для бобовых культур и особенности их производства / И. А. Тихонович [и др.] // *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2012. № 3. С. 11–17.

6. Волобуева О. Г. Повышение эффективности бобово-ризобияльного симбиоза при участии биопрепарата и регуляторов роста. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2022. № 3(43). С. 26–32. <https://doi.org/10.24412/2309-348X-2022-3-26-3>

7. Кокорина А. Л., Кожемяков А. П. Бобово-ризобияльный симбиоз и применение микробиологических препаратов комплексного действия – важный резерв повышения продуктивности пашни. Санкт-Петербург, 2010. 50 с.

8. Завалин А. А., Соколов О. А. Потoki азота в агроэкосистеме: от идей Д.Н. Прянишникова до наших дней. Москва: ВНИИА, 2016. 591 с.

9. Агротехнологические основы создания усовершенствованных форм микробных биопрепаратов для земледелия / А. П. Кожемяков [и др.] // *Сельскохозяйственная биология*. 2015. Т. 50. № 3. С. 369–376. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2015.3.369rus>

References`

1. Tolkachev NZ. Modifitsirovannyi metod opredeleniya kolichestva kluben'kovykh bakterii soi v pochve [Modified method for determining the number of nodule bacteria of soybeans in the soil]. *Trudy VNIISKHM. – Scientific works of the All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology*. Leningrad, 1990, P. 37–43 (in Russ.).

2. Dorosinsky LM. (Eds.) *Metody issledovaniy kluben'kovykh bakterii : metodicheskie rekomendatsii dlya kursov povysheniya kvalifikatsii nauchnykh sotrudnikov po sel'skokhozyaistvennoi mikrobiologii* [Research methods for nodule bacteria : guidelines for advanced training courses for researchers in agricultural microbiology]. Leningrad, 1981, 48 p. (in Russ.).

3. Volkogon VV (Eds.), Nadkernichna OV, Tokmakova LM. *Ekspymental'na rruntova mikrobiologiya* [Experimental soil microbiology]. Kiev : Agrarna nauka, 2010, 464 p. (in Ukr.).

4. Belyavskaya Y., Belyavskiy M., Kulyk A., et al. Biologization of soybean growing in forest-steppe and steppe zones of Ukraine. Soybean growing under inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* strains in the Forest-steppe and Steppe zones of Ukraine. *Zemdirbyste-Agriculture*, Vol. 109, № 3, P. 203–210. (in Russ.). <https://doi.org/10.13080/z-a.2022.109.026>

5. Tikhonovich IA, Borisov AYu, Vasil'chikov AG., et al. Spetsifichnost' mikrobiologicheskikh preparatov dlya bobovykh kul'tur i osobennosti ikh proizvodstva [Specificity of microbiological preparations for legumes and features of their production]. *Zernobobovye i krupyanye kul'tury. – Leguminous and cereal crops*, 2012 ; № 3 : 11–17.

6. Volobueva OG. Povyshenie effektivnosti bobovo-rizobial'nogo simbioza pri uchastii biopreparata i regulatorov rosta [Improving the efficiency of legume-rhizobium symbiosis with the participation of a biological product and growth regulators]. *Zernobobovye i krupyanye kul'tury. – Legumes and cereal crops*, 2022 ; № 3(43) : 26–32 (in Russ.). <https://doi.org/10.24412/2309-348X-2022-3-26-3>

7. Kokorina AL, Kozhemyakov AP. *Bobovo-rizobial'nyi simbioz i primenenie mikrobiologicheskikh preparatov kompleksnogo deistviya – vazhnyi rezerv povysheniya produktivnosti pashni* [Legume-rhizobium symbiosis and the use of microbiological preparations of complex action – an important reserve for increasing the productivity of arable land]. Sankt-Peterburg, 2010, 50 p. (in Russ.)

8. Zavalin AA, Sokolov OA. *Potoki azota v agroekosisteme: ot idei D.N. Pryanishnikova do nashikh dnei* [Nitrogen flows in the agroecosystem: from the ideas of D. N. Pryanishnikov to the present day]. Moscow : All-Russian Research Institute of Automation named after V.I. N.L. Dukhova, 2016, 591 p.

9. Kozhemyakov AP, Laktionov YuV, Popova TA., et al. Agrotekhnologicheskie osnovy sozdaniya usovershenstvovannykh form mikrobykh biopreparatov dlya zemledeliya [Agrotechnological bases for the creation of improved forms of microbial biological products for agriculture]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya. – Agricultural biology*, 2015 ; Vol. 50, no 3 : 369–376. (in Russ.). <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2015.3.369rus>

Информация об авторах

Т. В. Горгулько – науч. сотр.;
С. В. Дидович – канд. с.-х. наук, вед. науч. сотр.;
А. Н. Пась – мл. науч. сотр.

**Статья поступила в редакцию 01.02.2023;
одобрена после рецензирования 11.05.2023;
принята к публикации 15.05.2023**

Information about the authors

T. V. Gorgulko – Researcher;
S. V. Didovich – Cand. Agr. Sci., Leading Researcher;
A. N. Pas' – Junior Researcher

**The article was submitted 01.02.2023;
approved after reviewing 11.05.2023;
accepted for publication 15.05.2023**