

ВПЛИВ КОМПЛЕКСНОЇ ЕНДОФІТНО-РИЗОБІАЛЬНОЇ ІНОКУЛЯЦІЇ НА РИЗОСФЕРНУ МІКРОБІОТУ ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ СОЇ

Г.О.Іутинська¹, С.П.Голобородько², Л.В.Тимова¹, О.Д.Дубинська²

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

²Інститут зрошуваного землеробства НААН України,
сел. Наддніпрянське, м. Херсон, 73483, Україна
e-mail: galyna.iutynska@gmail.com

Сучасними дослідженнями мікробіому бобових рослин виявлено наявність поряд з бульбочковими бактеріями неризобіальних прокаріотних ендоефітів, які заселяють тканини різних органів. Взаємодію симбіотичних і ендоефітних бактерій, а також їхній сумісний вплив на рослину вивчено недостатньо. **Мета.** Дослідити ризосферну мікробіоту та продуктивність сої за комплексної інокуляції ризобіями разом з неризобіальними ендоефітними бактеріями, виділеними з бульбочок сої. **Методи.** Польові дослідження проведені в умовах зрошення на полях Асканійської дослідної станції Інституту зрошуваного землеробства НААНУ. Насіння сої ультраскоростиглого сорту Діона і середньораннього сорту Аратта інокулювали препаратом Ризобіон^К на основі асоціації ітамів бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6018, УКМ В-6023 і УКМ В-6035, а також Ризобіон^К сумісно з *B. megaterium* УКМ В-5724 або з одним із ітамів ендоефітних бактерій: *Raenibacillus sp.1*, *Bacillus cereus* 4, *Brevibacillus sp.5*, *Pseudomonas brassicacearum* 6. Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп у ризосфері сої визначали методом посіву ґрунтової суспензії на агаризовані поживні середовища. **Результати.** У ризосферному ґрунті сої сортів Діона і Аратта збільшувалась чисельність педотрофних, фосфатмобілізувальних, олігоазототрофних і азотфіксувальних бактерій за інокуляції Ризобіон^К, а також сумісно з одним із ендоефітів – *B. cereus* 4, *Brevibacillus sp.5* або *P.brassicacearum* 6. Ендоефітно-ризобіальна інокуляція сприяла збільшенню кількості бобів і насіння на рослині. За комплексної інокуляції насіння сої сортів Діона і Аратта Ризобіон^К сумісно з *B. cereus* 4 отримано найбільший врожай: відповідно, 3,12 і 2,55 т/га, що перевищувало показники варіантів без обробки насіння на 37,4% і 19,7% з одночасним підвищенням вмісту білка і жиру в насінні. **Висновки.** Дослідження комплексного впливу бульбочкових і ендоефітних бактерій на рослини дадуть можливість розробити стратегію підвищення продуктивності бобових на основі нових ендоефітно-ризобіальних інокулянтів.

Ключові слова: ризобії, ендоефіти, ризосфера, соя, насіннева продуктивність, якість урожаю.

Мікроорганізми відіграють ключову роль у формуванні родючості ґрунтів та розвитку наземних екосистем, вносячи значний вклад у живлення і розвиток рослин, їхню продуктивність, стійкість до стресових факторів. Широко відомі й достатньо добре вивчені азотфіксувальні бобово-ризобіальні системи, які формуються в результаті взаємодії бульбочкових бактерій і бобових рослин. Позитивна взаємодія макро- і мікросимбі-

онтів використовується для підвищення продуктивності бобових рослин шляхом застосування бактеріальних препаратів на основі ефективних штамів ризобій [1, 8, 11].

Останнім часом у літературі з'являється все більше відомостей про те, що бобові рослини взаємодіють не тільки з бульбочковими бактеріями, а й з неризобіальними прокаріотними ендодфітами, які заселяють тканини різних органів, зокрема, бульбочок [18 – 20]. Ендодфіти взаємодіють з рослиною-господарем різноманітними шляхами, зокрема, вони активують ріст рослин, підвищуючи поглинання поживних речовин, синтезуючи біологічно активні сполуки стимулювальної дії, а також збільшують резистентність до патогенів і несприятливих факторів оточуючого середовища [4].

Проте взаємодію симбіотичних й ендодфітних бактерій, а також їхній сумісний вплив на рослину вивчено ще недостатньо. Обмаль даних щодо впливу на бобові рослини комплексної інокуляції бульбочковими бактеріями одночасно з неризобіальними ендодфітами. Практично відсутні дослідження ризосферної мікробіоти рослин, інокульованих бульбочковими та ендодфітними бактеріями.

Мета роботи – вивчити розвиток ризосферної мікробіоти сої та її насінневу продуктивність за комплексної інокуляції бульбочковими бактеріями разом з окремими штамми неризобіальних ендодфітних бактерій, виділених з бульбочок сої.

Матеріали і методи. Вивчення формування і ефективності бобово-ризобіальних систем та розвитку ризосферної мікробіоти сої за умов застосування нових комплексних ендодфітно-ризобіальних інокулянтів проводили в польовому досліді з удосконалення ресурсоощадної технології вирощування в умовах зрошення різних за скоростиглістю сортів сої (ультраскоростиглий Діона і середньоранній Аратта) на Асканійській державній сільськогосподарській дослідній станції Інституту зрошеного землеробства НААН, розташованій в с. Тавричанка Каховського району Херсонської області. Грунти – темно-каштанові середньосуглинкові, з глибиною гумусного шару 45 – 50 см. Вміст гумусу (за Тюрнімом) в орному шарі становив 2,15%; лужногідролізованого азоту (за Корнфілдом) – 50,0 мг/кг ґрунту; рухомого фосфору (за Мачигінімом) – 24,0; обмінного калію – 400 мг/кг ґрунту. Найменша вологоємність 0–50 см шару – 23,2%; 0–100 см – 21,5; 0–150 см – 21,3%; вологість в'янення – 11,4%; 11,6 і 11,9% до маси абсолютно сухого ґрунту відповідно.

Схема польового досліді включала варіанти з інокуляцією насіння комплексним інокулянтом Ризобін^К, Ризобіном^К спільно з фосфатмобілізувальними бацилами *B. megaterium* УКМ В-5724 або з одним із штамів ендодфітних бактерій: *Paenibacillus* sp.1, *Bacillus cereus* 4, *Brevibacillus* sp.5 і *Pseudomonas brassicacearum* 6, а також без обробки насіння (контроль 1) і без інокуляції з обробкою насіння водогінною водою (контроль 2). До складу комплексного інокулянту Ризобін^К входить асоціація штамів бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6018, УКМ В-6023 і УКМ В-6035 (концентрація не менше 2,0 млрд. кл/мл), а також їхні біологічно активні метаболіти – фітогормони, органічні кис-

лоти, амінокислоти та ін. [15]. Взяті у дослід штамми ризобій та ендоефітних бактерій виділені у відділі загальної та ґрунтової мікробіології ІМВ НАНУ. Інокуляцію насіння сої проводили в день посіву, бактеріальне навантаження становило 10^7 клітин на насінину.

Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп, що здійснюють функції трансформації гумусу, сполук азоту і фосфору, у ризосфері сої досліджували у фазі цвітіння-початку утворення бобів. Кількість мікроорганізмів визначали у свіжих зразках ризосферного ґрунту методом посіву ґрунтової суспензії на агаризовані поживні середовища: педотрофних – на ґрунтовому агарі, олігоазотрофних і азотфіксувальних – на середовищі Ешбі, прототрофних – на середовищі Красильникова, фосфатмобілізувальних – на середовищі Муромцева з фенолфталеїнфосфатом натрію [24]. Чисельність мікроорганізмів у ґрунті виражали кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) у 1 г абсолютно сухого ґрунту з урахуванням його вологості.

Статистичну обробку результатів мікробіологічних досліджень проводили за використання програмного забезпечення Microsoft Excel 2017. Двофакторний польовий дослід закладено методом розщеплених ділянок, де головні ділянки (ділянки першого порядку, фактор А) – сорти сої: ультраскоростиглий (Діона) і середньоранній (Аратта). Ділянки другого порядку (субділянки), фактор В – обробка насіння різними інокулянтами.

Результати. У ризосферному ґрунті сої виявлено представників еколого-трофічних груп мікроорганізмів, які беруть участь у трансформації водорозчинних фракцій органічної речовини ґрунту (педотрофи), а також сполук азоту (олігоазотрофні мікроорганізми і вільножитні азотфіксатори), фосфору (фосфатмобілізувальні мікроорганізми) та мікроорганізмів, що синтезують комплекс біологічно активних речовин, необхідних для розвитку як самих бактерій, так і рослин, з якими вони асоційовані (прототрофи).

У кореневій зоні сої ультраскоростиглого сорту Діона найбільш висока чисельність педотрофних, олігоазотрофних і азотфіксувальних бактерій була у ризосфері сої, інокульованої Ризобіном^К сумісно з *Brevibacillus* sp.5 (у 2017 році) та з *B. cereus* 4 (у 2018 році). Кількість педотрофів у цих варіантах перевищувала контрольні показники в 1,4 і 1,8 рази та в 1,3 і 2,2 рази, а олігоазотрофних і азотфіксувальних мікроорганізмів – у 1,2 та в 1,4 і 2,5 рази відповідно (рис.1).

Важливе значення для формування мікробно-рослинних систем мають прототрофні бактерії, які здатні продукувати комплекс біологічно активних сполук стимульовальної дії. У ґрунті ризосфери сої, де застосовували комплексну інокуляцію насіння Ризобіном^К сумісно з *B. cereus* 4, виявлено найбільшу кількість прототрофних мікроорганізмів, причому їх чисельність переважала таку у сорту Аратта в 3,9 та 4,4 рази протягом обох досліджуваних вегетаційних періодів.

Відомо про позитивний вплив фосфатмобілізувальних бактерій на покращення фосфорного живлення рослин завдяки здатності розкладати важкодоступні фосфорвмісні сполуки і переводити їх у засвоювану рослинами форму. У ризосферному мікробіоценозі сої сорту Діона за ко-

інокуляції Ризобіном^К із *B. cereus* 4, як і у варіанті з моноінокуляцією, було виявлено в 1,2 та 2,9 рази більший (порівняно з контролями) вміст фосфатмобілізувальних бактерій (2018 р.).

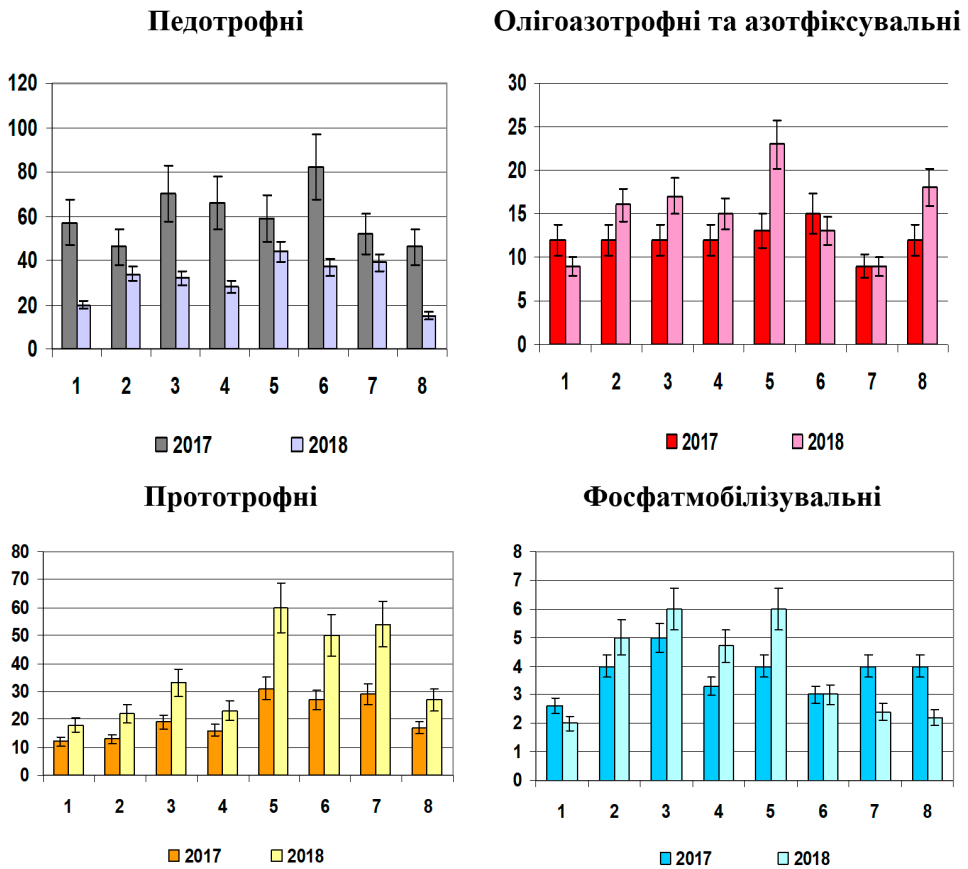


Рис. 1. Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп у ризосфері сої сорту Діона, млн. у 1 г абсолютно сухого ґрунту: 1 – контроль без обробки насіння; 2 – контроль з обробкою насіння водою; 3 – Ризобін^К; 4 – Ризобін^К + *Paenibacillus* sp.1; 5 – Ризобін^К + *Bacillus cereus* 4; 6 – Ризобін^К + *Brevibacillus* sp.5; 7 – Ризобін^К + *Pseudomonas brassicacearum* 6; 8 – Ризобін^К + *Bacillus megaterium* УКМ В-5724.

У кореневій зоні сої середньораннього сорту Аратта чисельність мікроорганізмів дещо різнилася як за роками досліджень, так і за варіантами передпосівної обробки насіння різними інокулянтами (рис. 2).

За даними 2017 р., у фазі цвітіння-початку утворення бобів педотрофічні бактерії найбільш активно розвивались у ризосфері сої за інокуляції насіння бульбочковими бактеріями, що є основою препарату Ризобін^К, де їхня чисельність перевищувала таку у контрольних варіантах у 2,2 і 2,7 рази. Статистично достовірне збільшення кількості педотрофів у 1,5 – 2,2 рази порівняно з контролями спостерігали також за інокуляції насіння Ризобіном^К у комплексі з ендofітними бактеріями *Paenibacillus* sp.1 або *Brevibacillus* sp. 5.

Важливе значення для оптимізації азотного живлення рослин мають олігоазотрофі й вільножитні азотфіксувальні бактерії, чисельність яких

за інокуляції Ризобіном^К була в 1,3 рази вищою порівняно з контрольними варіантами. Проте слід зазначити, що за умов комплексної інокуляції Ризобіном^К разом з ендосфитними бактеріями кількість азотфіксувальних бактерій у ризосфері рослин була нижчою порівняно з контрольними варіантами.

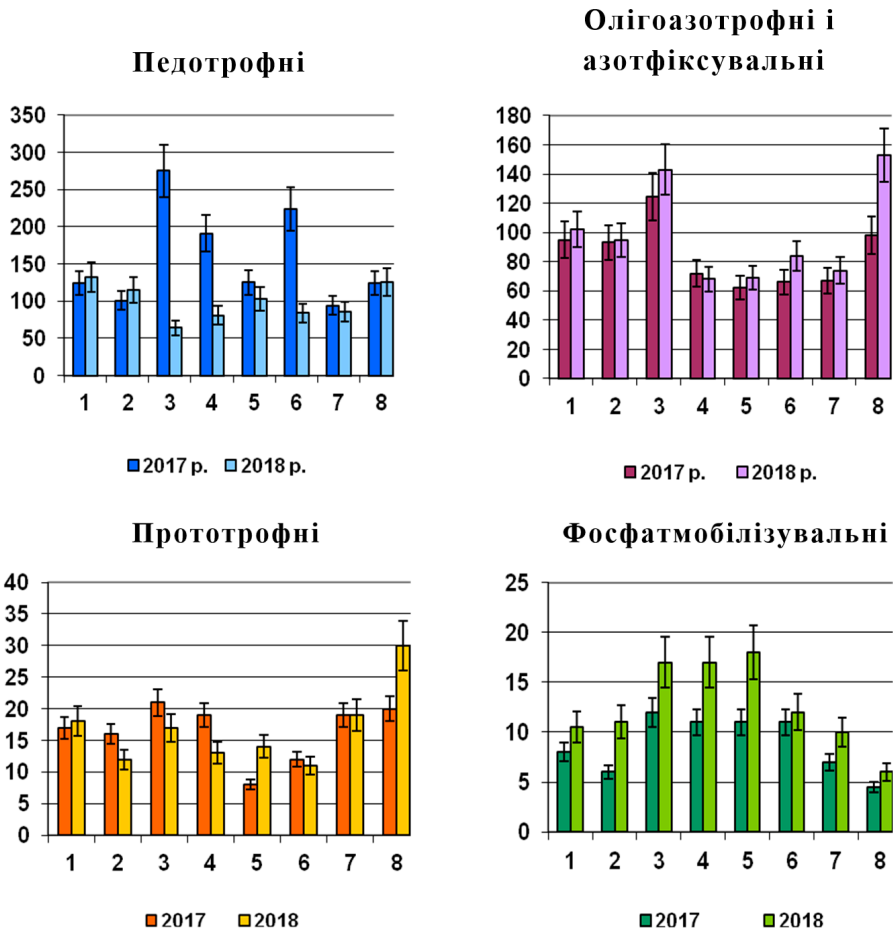


Рис. 2. Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп у ризосфері сої сорту Аратта, млн. у 1 г абсолютно сухого ґрунту: 1 – контроль без обробки насіння; 2 – контроль з обробкою насіння водою; 3 – Ризобіон^К; 4 – Ризобіон^К + *Paenibacillus* sp.1; 5 – Ризобіон^К + *Bacillus cereus* 4; 6 – Ризобіон^К + *Brevibacillus* sp.5; 7 – Ризобіон^К + *Pseudomonas brassicacearum* 6; 8 – Ризобіон^К + *Bacillus megaterium* УКМ В-5724.

Кількість фосфатмобілізувальних бактерій за інокуляції насіння Ризобіон^К, а також у комплексі з *Paenibacillus* sp.1 або *B.cereus* 4 статистично достовірно перевищувала контрольні показники.

Вміст прототрофних бактерій, що синтезують комплекс біологічно активних сполук стимулювальної дії, у ризосфері сої за умов інокуляції Ризобіон^К у 1,3 рази перевищував значення у контрольних рослин, спостерігали також зростання на 15,1 – 24,8% чисельності прототрофів за умов комплексної інокуляції Ризобіон^К з *Paenibacillus* sp.1 або з *Bacillus megaterium* УКМ В-5724.

За результатами досліджень ризосферної мікробіоти сої сорту Аратта, проведених у 2018 році, за інокуляції насіння Ризобіном^К спостерігали достовірне збільшення чисельності ризосферних фосфатмобілізувальних, олігоазототрофних і азотфіксувальних мікроорганізмів порівняно з контрольними варіантами. За сумісної інокуляції Ризобіном^К з *B. megaterium* УКМ В-5724 у ризосфері рослин кількість прототрофних, олігоазототрофних і вільножитних азотфіксаторів була суттєво вищою (в 1,5 – 2,7 рази) порівняно з контрольними варіантами. Слід також відмітити суттєве збільшення кількості фосфатмобілізувальних бактерій у ризосфері рослин, інокульованих Ризобіном^К, а також Ризобіном^К сумісно з *B. cereus* 4 або *Paenibacillus* sp.1.

Отже, за результатами мікробіологічних досліджень ризосферного ґрунту сої ультраскоростиглого сорту Діона і середньораннього сорту Аратта встановлено збільшення чисельності корисної мікробіоти за комплексної інокуляції ризобіями сумісно з одним із штамів ендодітнів – *Paenibacillus* sp.1, *B. cereus* 4 або *Brevibacillus* sp.5. Імовірно, що за умов комплексної ендодітніно-ризобіальної інокуляції зростання чисельності ризосферної мікробіоти було зумовлено кращим розвитком рослин, збільшенням вмісту корневих ексудатів у зоні ризосфери. З іншого боку, збільшення чисельності корисної мікробіоти сприяло постачанню рослинам біологічно активних мікробних метаболітів, які мали стимулювальний вплив на рослини і підвищували супресивність ґрунту до фітопатогенів. Це підтверджується даними щодо продуктивності рослин сої у польовому досліді.

Передпосівна інокуляція насіння різних за скоростиглістю сортів сої бульбочковими й ендодітніними бактеріями сприяла формуванню більшої кількості бобів на рослинах і насінин в одному бобі. Так, у контрольних рослин кількість бобів на рослині сої сорту Діона в середньому за 2017 – 2018 рр. не перевищувала 29 – 30 штук. За інокуляції насіння Ризобіном^К у комплексі з ендодітніними бактеріями *Paenibacillus* sp.1 вона зростала до 38 штук, у комплексі з *Bacillus cereus* 4 або *Brevibacillus* sp.5 – до 42 – 44 штук на 1 рослині (табл. 1).

Відповідно збільшенню формування кількості бобів на рослині зростала й кількість насіння на одній рослині, що суттєво впливало на формування врожаю. В середньому за 2017 – 2018 рр. найвищу врожайність сої отримано за передпосівної комплексної інокуляції насіння бульбочковими та ендодітніними бактеріями. Так, максимальна урожайність сорту Діона формувалася за передпосівної обробки насіння Ризобіном^К з *Bacillus cereus* 4, – 3,12 т/га, сорту Аратта – 2,55 т/га. Високу врожайність сої сорту Діона (2,85 т/га) і сорту Аратта (2,40 т/га) також отримано за комплексної інокуляції насіння Ризобіном^К разом з *Brevibacillus* sp. 5. Найменшу врожайність сорту Діона (2,27 та 2,29 т/га) і сорту Аратта (2,13 та 2,15 т/га) отримано в контрольних варіантах без обробки насіння та з обробкою насіння водою.

За результатами лабораторних аналізів встановлено також і якісні показники насіння сої, які значною мірою залежали від інокуляції бульбочковими та ендодітніними бактеріями. Максимальний вміст білка на рівні 38,59 та 39,46% був у насінні сої сорту Діона у варіантах, де проводили

передпосівну інокуляцію Ризобіном^К сумісно з *Brevibacillus* sp.5 або з *P. brassicacearum* 6 (табл. 2).

Вміст білка в насінні сорту Аратта також був достатньо високим: 37,99 та 38,65% за інокуляції Ризобіном^К і композицією Ризобін^К + *B.cereus* 4 відповідно. Найвищий вміст жиру в насінні сорту Діона досягав 18,53% за інокуляції насіння Ризобіном^К сумісно з *B. cereus* 4; в насінні сорту Аратта – 17,39% за застосування Ризобіну^К з *Brevibacillus* sp.5.

Таблиця 1

Структура урожаю сої сортів Аратта і Діона (у середньому за 2017-2018 рр.)

Варіанти інокуляції (В)	Урожайність, т/га	Кількість на 1 рослині, шт.		Маса зерна, г	
		бобів	насіння	з 1 рослини	1000 насінин
Сорт Діона (A ₁)					
Контроль без обробки насіння	2,27	29	79	10,4	149
Контроль з обробкою насіння водою	2,29	30	84	10,9	150
Ризобін ^К	2,99	38	103	12,7	161
Ризобін ^К + <i>Paenibacillus</i> sp.1	2,97	38	117	16,5	161
Ризобін ^К + <i>Bacillus cereus</i> 4	3,12	44	119	17,7	162
Ризобін ^К + <i>Brevibacillus</i> sp.5	2,85	42	114	16,6	161
Ризобін ^К + <i>P.brassicacearum</i> 6	2,89	33	95	13,1	162
Ризобін ^К + <i>B. megaterium</i> УКМ В- 5724	2,68	37	96	12,1	161
Сорт Аратта (A ₂)					
Контроль без обробки насіння	2,13	59	131	19,7	122
Контроль з обробкою насіння водою	2,15	64	138	20,5	125
Ризобін ^К	2,27	78	191	32,7	144
Ризобін ^К + <i>Paenibacillus</i> sp.1	2,31	82	150	26,3	137
Ризобін ^К + <i>Bacillus cereus</i> 4	2,55	89	193	32,8	136
Ризобін ^К + <i>Brevibacillus</i> sp.5	2,40	75	147	20,7	136
Ризобін ^К + <i>P.brassicacearum</i> 6	2,37	71	153	23,7	137
Ризобін ^К + <i>B. megaterium</i> УКМ В- 5724	2,34	68	140	21,5	136

А. Оцінка істотності змін в урожайності часткових відмінностей:

НІР₀₅ (А) = 0,10 т/га; НІР₀₅ (В) = 0,20 т/га

В. Оцінка істотності змін в урожайності середніх (головних) ефектів:

НІР₀₅ (А) = 0,10 т/га; НІР₀₅ (В) = 0,10 т/га

Обговорення. Ендофітним бактеріям дослідники приділяють все більше уваги, зважаючи на їхню роль у стимуляції росту рослин, захисті від біотичних і абіотичних стресів і шкідників [4, 12, 14]. Особливу зацікавленість викликають роботи з вивчення впливу на бобові рослини інокулянтів, до складу яких поряд з бульбочковими бактеріями входять ендофіти [9, 13]. Дані з літературних джерел вказують на поліпшення формування симбіотичного апарату і підвищення урожайності бобових за інокуляції

ризобіями спільно з ендofітними бактеріями порівняно з моноінокуляцією ризобіями [5, 18, 19]. У вегетаційних дослідах порівнювали дію на рослини нуту сумісної інокуляції бульбочковими бактеріями *Mesorhizobium ciceri* разом з ізолятами ендofітних бактерій, виділених з бульбочок і коренів нуту (*Cicer arietinum*), а також з гороху (*Pisum sativum*), люцерни (*Medicago sativa*) і з небобових рослин – пшениці (*Triticum aestivum*) і вівса (*Avena sativa*) [16]. Сумісна інокуляція *Mesorhizobium ciceri* разом з деякими ендofітними ізолятами покращувала такі показники, як кількість і маса бульбочок на коренях рослин (у 3,9 рази), накопичення азоту у рослинній біомасі (у 5,3 рази) порівняно з моноінокуляцією бульбочковими бактеріями. Найбільш активні ендofітні ізоляти було ідентифіковано як *Bacillus subtilis* і *B. amyloliquefaciens*.

Таблиця 2

Якість насіння різних за скоростиглістю сортів сої залежно від інокуляції (у середньому за 2017-2018 рр.)

Варіанти досліджу	Вміст у насінні, %		Збір з 1 га, кг	
	білка	жиру	білка	жиру
Сорт Діона				
Контроль без обробки насіння	35,09	16,32	796	370
Контроль з обробкою насіння водою	35,21	16,77	806	384
Ризобін ^К	36,54	17,48	1092	523
Ризобін ^К + <i>Paenibacillus</i> sp.1	36,65	18,34	1088	545
Ризобін ^К + <i>Bacillus cereus</i> 4	36,60	18,53	1142	578
Ризобін ^К + <i>Brevibacillus</i> sp.5	38,59	18,29	1100	521
Ризобін ^К + <i>P.brassicacearum</i> 6	39,46	17,57	1140	508
Ризобін ^К + <i>B. megaterium</i> УКМ В- 5724	36,16	17,53	969	470
Сорт Аратта				
Контроль без обробки насіння	35,36	15,35	753	327
Контроль з обробкою насіння водою	35,51	15,48	763	333
Ризобін ^К	37,99	15,58	862	354
Ризобін ^К + <i>Paenibacillus</i> sp.1	37,01	16,22	855	375
Ризобін ^К + <i>Bacillus cereus</i> 4	38,65	16,83	986	429
Ризобін ^К + <i>Brevibacillus</i> sp.5	36,37	17,39	873	417
Ризобін ^К + <i>P.brassicacearum</i> 6	37,29	16,50	884	391
Ризобін ^К + <i>B. megaterium</i> УКМ В- 5724	37,62	16,31	880	382

Зростання урожаю отримано в експериментах з бактеризацією червоної конюшини бульбочковими бактеріями *R. leguminosarum* bv. *trifolii* разом з ендofітними бактеріями *Bacillus insolitus*, *B. brevis* або *A. rhizogenes* [19]. У цих дослідах було зареєстровано варіанти, в яких інокуляція ендofітами окремо від бульбочкових бактерій призводила до інгібування рослин, але сумісно з *R. leguminosarum* bv. *trifolii* – відмічали стимулювання росту. Останнє автори вважають додатковим доказом корисного алелопатичного ефекту штамів для ендofітної екологічної ніші. Отримані нами результати співпадають з наведеними вище даними щодо підвищення

позитивного ефекту сумісної ендоефітно-ризобіальної інокуляції рослин сої порівняно з моноінокуляцією бульбочковими бактеріями. Зокрема, за таких умов нами відмічено більш активний розвиток ризосферної мікробіоти, а також покращення таких показників, як кількість бобів і насіння у рослин та підвищення продуктивності сої на 16,5 – 26,6 % з одночасним покращенням якості урожаю.

Слід зазначити, більшість дослідників підкреслюють, що серед широкого переліку ендоефітних штамів тільки деякі з них проявили синергічну стимулювальну дію разом з бульбочковими бактеріями. Це зумовлює необхідність проведення досліджень з пошуку і підбору ефективних асоціацій ризобій з ендоефітами в одному інокулянті. Раніше нами було показано, що найбільшу здатність проникати у коріння сої виявили штами *B. cereus* 4 і *Brevibacillus* sp.5; ці ж штами проявили найбільшу синергічну дію за сумісної інокуляції з ризобіями, сприяли збільшенню порівняно з контролем кількості бульбочок та підвищенню їхньої нітрогеназної активності [2]. Необхідно звернути увагу, що наші польові дослідження було проведено у посушливій зоні за край несприятливих для формування урожаю погодно-кліматичних умов, таких як мала кількість атмосферних опадів, високі середньодобові температури. Незважаючи на те, що дослідження проведено за умов зрошення, відмічали дефіцит вологозабезпечення та низький коефіцієнт зволоження. Отримані результати продемонстрували ефективність застосування комплексних інокулянтів сої за таких несприятливих умов. Інші дослідники також виявили позитивний ефект ендоефітних бактерій на зменшення стресу від посухи [10, 15, 22], що було доведено на рослинах пшениці, вирощених за знижених норм зрошення [21], а також на рослинах кукурудзи [3], сорго [6], вігні [17]. На рослинах перцю було показано, що кореневі бактеріальні ендоефіти підвищували стійкість рослин до посухи шляхом посилення експресії і активності вакуолярної H^+ - пірофосфатази [23]. У доступній нам літературі не знайдено даних щодо позитивного впливу ендоефітно-ризобіальної інокуляції на посухостійкість сої, що було показано нами вперше у проведених польових дослідженнях.

Враховуючи важливу позитивну роль ендоефітних мікроорганізмів у життєдіяльності рослин, дослідження їх використання у складі інокулянтів є актуальним і перспективним напрямком підвищення ефективності мікробно-рослинних систем.

Таким чином, передпосівна інокуляція насіння різних за скоростиглістю сортів сої бульбочковими й ендоефітними бактеріями, в порівнянні з контрольними варіантами, сприяла підвищенню урожайності і покращенню якості отриманої продукції. Найбільш ефективною за синергізмом дії на рослини сої досліджених сортів виявилась передпосівна обробка насіння Ризобіном^К сумісно з *B. cereus* 4, або з *P. brassicacearum* 6. Подальші дослідження у цьому напрямку дадуть можливість розробити нові підходи до створення стратегії підвищення продуктивності бобових на основі нових ендоефітно-ризобіальних інокулянтів.

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСНОЙ ЭНДОФИТНО-РИЗОБИАЛЬНОЙ ИНОКУЛЯЦИИ НА РИЗОСФЕРНУЮ МИКРОБИОТУ И ПРОДУКТИВНОСТЬ СОИ

Г.А. Иутинская¹, С.П. Голобородько², Л.В. Титова¹, Е.Д. Дубинская²

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина

²Институт орошаемого земледелия НААН Украины,
пос.Надднепрянский, Херсон, 73483, Украина

Резюме

Современными исследованиями микробиома бобовых растений выявлено наличие наряду с клубеньковыми бактериями неризобияльных прокариотных эндофитов, которые заселяют ткани различных органов. Взаимодействие симбиотических и эндофитных бактерий, а также их совместное влияние на растение изучены недостаточно. **Цель.** Исследовать ризосферную микробиоту и продуктивность сои при комплексной инокуляции ризобиями вместе с неризобияльными эндофитными бактериями, выделенными из клубеньков сои. **Методы.** Полевые опыты проведены в условиях орошения на полях Асканийской опытной станции Института орошаемого земледелия УААН. Семена сои ультраскороспелого сорта Диона и среднераннего сорта Аратта инокулировали препаратом Ризобин^К на основе ассоциации штаммов клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6018, УКМ В-6023 и УКМ В-6035, а также Ризобином^К совместно с *B. megaterium* УКМ В-5724 или с одним из штаммов эндофитных бактерий: *Paenibacillus* sp.1, *Bacillus cereus* 4, *Brevibacillus* sp.5, *Pseudomonas brassicacearum* 6. Численность микроорганизмов основных эколого-трофических групп в ризосфере сои определяли методом посева почвенной суспензии на агаризованные питательные среды. **Результаты.** В ризосферной почве сои сортов Диона и Аратта увеличивалась численность педотрофных, фосфатмобилизирующих, олигоазотрофных и азотфиксирующих бактерий при инокуляции Ризобином^К, а также Ризобином^К совместно с одним из эндофитов – *B. cereus* 4, *Brevibacillus* sp.5 или *P.brassicacearum* 6. Эндофитно-ризобияльная инокуляция способствовала увеличению количества бобов и семян на растении. При комплексной инокуляции семян сои сортов Диона и Аратта Ризобином^К совместно с *B. cereus* 4 получен наибольший урожай: соответственно, 3,12 и 2,55 т / га, что превышало показатели контрольных вариантов на 26,6% и 16,5% с одновременным повышением содержания белка и жира в семенах. **Выводы.** Исследования комплексного воздействия на растения клубеньковых и эндофитных бактерий позволят разработать стратегию повышения продуктивности бобовых на основе новых эндофитно-ризобияльных инокулянтов.

Ключевые слова: ризобии, эндофиты, ризосфера, соя, семенная продуктивность, качество урожая.

EFFECT OF COMPLEX ENDOPHYTIC-RHIZOBIAL INOCULATION ON RHIZOSPHERE MICROBIOTA AND PRODUCTIVITY OF SOYBEAN

H.O. Iutyńska¹, S.P. Goloborodko², L.V. Tytova¹, O.D. Dubinska²

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
154 Akad. Zabolotny Str., Kyiv, 03143, Ukraine

²Institute of Irrigated Agriculture of the NAAS of Ukraine,
Naddniprovske, Kherson, 73483, Ukraine

Summary

Modern studies of the microbiome of leguminous plants have revealed nodule bacteria and non-rhizobial prokaryotic endophytes, which inhabit the tissues of various organs. The interactions of symbiotic and endophytic bacteria, as well as their joint effect on the plant are not well studied. **Aim.** To study the rhizosphere microbiota of soybean and its productivity under complex inoculation by nodule bacteria together with non-rhizobial endophytic bacteria isolated from soybean nodules. **Methods.** Field experiments were conducted in the Kherson region under irrigation conditions in the fields of the Askanian Experimental Station of the Institute of Irrigated Agriculture of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine. Seeds of soybean ultra-fast mature cultivar Diona and middle-mature cultivar Aratta were inoculated with Rhizobin^K bioformulation based on the association of nodule bacteria strains *Bradyrhizobium japonicum* UCM B-6018, B-6023 and B-6035, and also with complex of Rhizobin^K with *B. megaterium* B-5724, or with one of the endophytic bacteria strain: *Paenibacillus* sp.1, *Bacillus cereus* 4, *Brevibacillus* sp.5, *Pseudomonas brassicacearum* 6. The number of microorganisms of the main ecological-trophic groups in the rhizosphere of soybean was determined using the method of sowing the soil suspension on nutrient agar media. **Results.** The number of pedotrophic, phosphate-mobilizing, oligoazotrophic and nitrogen-fixing bacteria was increased in the soybean rhizosphere soil of Diona and Aratta cultivars after inoculation with Rhizobin^K alone or together with one of the endophytes – *B. cereus* 4, *Brevibacillus* sp.5, *P. brassicacearum* 6. Endophytic-rhizobial inoculation increases the number of beans and seeds on the plant. The highest yield was obtained after complex inoculation of soybean seeds of Diona and Aratta cultivars with Rhizobin^K and *B. cereus* 4: 3,12 and 2,55 t/ha, respectively, which exceeded the parameters of the control variants by 26,6% and 16,5% respectively with simultaneous increasing of protein and fat in seeds. **Conclusions.** Research of complex effect of nodule and endophytic bacteria on plants will provide an opportunity to develop a strategy to increase the productivity of legumes based on new endophytic-rhizobial inoculants.

Keywords: rhizobia, endophytes, rhizosphere, soybean, seed productivity, yield quality.

1. [Bioregulation of microbial-plant systems] Iutyńska GO, Ponomarenko SP, editors. Kyiv: Nichlava, 2010, 462 p. Russian.
2. Brovko IS, Tytova LV, Iutyńska HO [Influence of endophytic soybean bacteria on the rhizobium-soybean symbiosis and rhizosphere microbial community] Microbiology and Biotechnology. 2015; 4:36–45. Ukrainian.
3. Cohen AC, Travaglia CN, Bottini R, Piccoli PN Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize. Botany. 2009; 87 (5):455–462. <http://dx.doi.org/10.1139/B09-023>.

4. Compant S, Clement C, Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol Biochem.* 2010; 42:669–678.
5. Dudeja SS¹, Giri R, Saini R, Suneja-Madan P, Kothe E. Interaction of endophytic microbes with legumes. *Journal of Basic Microbiology.* 2012; 52(3):248–260. DOI: 10.1002/jobm.201100063.
6. Grover M, Madhubala R, Ali SZ, Yadav SK and Venkateswarlu B. Influence of *Bacillus* spp. strains on seedling growth and physiological parameters of sorghum under moisture stress conditions. *Journal of Basic Microbiology.* 2014; 54(9):951–961.
7. Iutynska GO, Biliavska LO, Tytova LV, et al. [Application of new bioformulations for plant growing. Methodical recommendations]. Kyiv; 2018, 104 p. Ukrainian.
8. Kurdish IK. [Introduction of microorganisms in agroecosystems]. Kyiv: Naukova dumka; 2010. Ukrainian.
9. Le Cocq K, Gurr SJ, Hirsch PR, Mauchline TH. Exploitation of endophytes for sustainable agricultural intensification. *Mol Plant Pathol.* 2017; 18:469–73.
10. Mei C, Flinn BS. The use of beneficial microbial endophytes for plant biomass and stress tolerance improvement. *Recent Patents on Biotechnology.* 2010; 4(1):81–95. <http://dx.doi.org/10.2174/187220810790069523>
11. [Microbial preparations in agriculture. Theory and practice]. Volkohon VV, editor. Kyiv: Agrarian science, 2006. Ukrainian.
12. Miliute I, Buzaitė O, Baniulis D, Stanys V. Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance. *Zemdirbyste-Agriculture.* 2015; 102 (4): 465–478. DOI: 10.13080/z-a.2015.102.060
13. Naveed M, Aziz MZ, Yaseen M. Perspectives of Using Endophytic Microbes for Legume Improvement. In: *Microbes for Legume Improvement.* Springer. Almas Zaidi M, Saghir K, Javed M, editors. 2017. p. 277–299.
14. O’Callaghan M. Microbial inoculation of seed for improved crop performance: issues and opportunities. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016; 100(13):5729–5746. DOI: 10.1007/s00253-016-7590-9
15. Pandey PK, Singh S, Singh AK, Ramkrishna S, Raj Narain SY and M. Chandrakumar S. Inside the plant: Bacterial endophytes and abiotic stress alleviation. *Journal of Applied and Natural Science.* 2016; 8(4):1899–1904.
16. Saini R, Kumar C, Dudeja SS, Pathak DV Beneficial effects of inoculation of endophytic bacterial isolates from roots and nodules in chickpea. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2015; 4(10):207–221.
17. Saravanakumar D, Kavino M, Raguchander T, Subbian P, Samiyappan R. Plant growth promoting bacteria enhance water stress resistance in green gram plants. *Acta Physiologiae Plantarum.* 2011; 33(1):203–209.
18. Stajkovic O, Delic D, Josic D, Kuzmanovic D, Rasulic N, Knezevic-Vukcevic J. Improvement of common bean growth by co-inoculation with *Rhizobium* and plant growth promoting bacteria. *Romanian Biotechnological Letters.* 2011; 16(1):5919–5926.
19. Sturz, AV, Christie BR, Matheson BG, Nowak J. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. *Biol. Fertil. Soils,* 1997; 25:13–19.

20. Taurian T, Ibáñez F, Angelini J, Tonelli ML, Fabr A. Endophytic Bacteria and Their Role in Legumes Growth Promotion. *Bacteria in Agrobiology*. In: *Plant Probiotics*. Springer, Dinesh K. Maheshwari, editor. 2012. p. 141–168.
21. Timmusk S, El-Daim IA, Copolovici L, Tanilas T, Kännaste A, Behers L, Niinemets Ü. Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. *PLoS One*. 2014; 9(5): e96086.
22. Trivedi G, Shah R, Patel P, Saraf M. Role of Endophytes in Agricultural Crops Under Drought Stress: Current and Future Prospects. *Journal of Applied Microbiology*. 2017; 3(4):174–188.
23. Viganì G, Rolli E, Marasco R, Dell'Orto M, Michoud G, Soussi A, Raddadi N, Borin S, Sorlini C, Zocchi G, Daffonchio D. Root bacterial endophytes confer drought resistance and enhance expression and activity of a vacuolar H⁺-pumping pyrophosphatase in pepper plants. *Environ Microbiol*. 2018. May 22. doi: 10.1111/1462-2920.14272. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1462-2920.14272>.
24. Zvyagintsev DH, Alilyeva IV, Babieva IP, Byzov BA et al. [Methods of soil microbiology and biochemistry]. In: Zvyagintsev DH, editor. M: Publishing house of the Moscow University, 1991. Russian.

Отримано 01.07.2019