



ЕФЕКТИВНІСТЬ ІНОКУЛЮЮЧОЇ СУМІШІ "БАЙКАЛ ЕМ-1У"—*Rhizobium phaseoli* НА РОСЛИНАХ КВАСОЛИ ЗВИЧАЙНОЇ (*Phaseolus vulgaris* L.)

О. Б. Конончук*, кандидат біологічних наук
С. В. Піда*, доктор сільськогосподарських наук
І. П. Григорюк**, член-кореспондент НАН України

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
Національний університет біоресурсів і природокористування України

Показано високу ефективність сумісного застосування інокуляції квасоли звичайної бактеріями *Rhizobium phaseoli* штаму 700 з мікробіологічним добривом "Байкал ЕМ-1У" за комплексом ростових і фізіологічних показників та нітрогеназною активністю бульб'ячок рослин.

Вступ. Квасола є однією з основних продовольчих зернобобових культур, яку вирощують на харчові цілі. Її насіння містить до 32 % білка, який за поживністю наближається до білків тваринного походження. Окрім білків, зерно містить 41,0–54,6 % вуглеводів, 0,4–3,6 жирів, 2,2–6,6 % клітковини, вітамінів В, В₂, В₆, В₉, РР, С, пантотенову кислоту, рибофлавін, мінеральні речовини [1].

Нав'язи в Україні посівають на площі (22,6 тис. га) та продуктивність рослин квасоли не можуть забезпечити потреби навіть внутрішнього ринку України [23].

Підвищення продуктивності квасоли, як і інших бобових культур, можна досягти шляхом передпосівної обробки насіння бульб'ячковими бактеріями. За активного симбіозу, до 50 % азоту, що накопичується в урожаї квасоли, може завоювати

тис. з повітря. Водночас у квасолі частіше, ніж в інших бобових культур, зустрічаються рослини з пізнім або незначним утворенням бульб'ячок за рахунок спонтанної інокуляції. У цьому випадку для оптимального росту і розвитку рослин необхідно проводити штучну інокуляцію [1, 15].

Фізіологічні особливості розвитку бобових культур у природних умовах залежать від виду і сорту рослин, штаму ризобій, типу ґрунту, попередника, кліматичних умов, використаних добрив, пестицидів, агротехніки та багатьох інших чинників. Ефективна взаємодія бульб'ячкових бактерій з бобовими рослинами забезпечує активацію низки метаболічних процесів їх життєдіяльності й, наперед, фіксацію атмосферного азоту. В результаті цього поліпшується живлен-



ня, підвищується продуктивність та якість сільськогосподарської продукції [4, 10, 11, 13, 15, 20, 22].

Мікробні препарати, створені на основі монокультури мікроорганізмів, за неаперечною екологічною доцільністю їх застосування, мають такий суттєвий недолік, як нестабільність дії. На ефективність бактеріальних препаратів можуть негативно впливати несприятливі чинники навколишнього середовища. Тому достовірний стимулюючий ефект монопрепаратів забезпечують лише в 60–70% випадків їх використання. Стабілізувати господарський ефект біопрепаратів можна введенням до їх складу мікроорганізмів інших таксонів з доповнючими екологічними функціями. У зв'язку з цим, стратегія створення біопрепаратів змістилася в напрямку розробки біотехнологій на основі асоціації мікроорганізмів [3, 21].

Все більше фактів підтверджує користь дію ґрунтових бактерій, які можуть підвищувати продуктивність симбіотичних ризобій. Високої ефективності слід очікувати від спільної інокуляції рослин такими комбінаціями [1, 4, 9, 18, 20, 24].

У цьому контексті перспективним може виявитися поєднання інітрагізації із ЕМ-препаратами, які включають основні корисні штами мікроорганізмів, що виконують важливі функції за умов живлення рослин, їх захисту від хвороб і шкідників, оздоровлення ґрунтового середовища тощо [2, 8, 9, 17, 19].

ЕМ-технологія (ЕМ – ефективні мікроорганізми), яка започаткована японським вченим Ероу Хіга, в Україні представлена мікробіологічним добривом "Байкал ЕМ-1У". Головними компонентами цього добрива є молочнокислі і фотосинтезуючі бактерії, актиноміцети, дріжджі й інші ферментуючі гриби, які виконують власні їм функції, взаємодіючи з іншими складниками, корисні для

рослин та ґрунту [6, 17]. Застосування добрива "Байкал ЕМ-1У" дозволяє виключити або значно скоротити використання хімічних добрив і пестицидів, відновити корисну мікрофлору ґрунту, рівень гумусу та його родючість, підвищити якість і врожай [2, 17].

З огляду на це, метою наших досліджень було встановити ефективність інокуляції квасоли звичайної сорту Надія висхідної штамом *Rhizobium phaseoli* у поєднанні з обробкою мікробіологічним добривом "Байкал ЕМ-1У" у піщаній та ґрунтовій вегетаційних культурках.

Матеріали і методика досліджень. Об'єктом дослідження обрано кущовий штамовий сорт рослин квасоли звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.) Надія, рекомендований до вирощування в Україні. Для обробки насіння використовували бульб'ячкову бактерію *Rhizobium phaseoli* штаму 700 і мікробіологічне добриво "Байкал ЕМ-1У" (МБД), надані Південною дослідною станцією Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН України.

Вегетаційні досіди проводили в лабораторії фізіології рослин та мікробіології кафедри ботаніки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Рослини вирощували у вегетаційних посудинах з ґрунзором товщиною маломулосиним за 80% польовою вологостям та додаванням розчину Ельрігема з 0,2 нормою азоту. Перед обробкою насіння квасоли стерилізували 70% етиловим спиртом і промивали водопровідною водою. Насіння контролювали варіанту зволожували водою, а дослідне – у розчині МБД (1:100) та додатково або самостійно інокулювали *R. phaseoli*. Норма витрати води при розчині МБД – 2% від маси насіння.

Під час експерименту від фази проростання насіння квасоли до фази п'яти листків досліджували ростові і фізіологічні показ-



ники рослин. Висоту і масу рослин визначали за загальноприйнятими методиками [5]. Загальну площу листової поверхні вимірювали методом висічок [7]. Вміст хлорофілів а, b та основних каротиноїдів у листках визначали за [14]. Нітрогеназну активність бульб'ячок визначали щезні-лендієвським методом [12] на газовому хроматографі.

Повторність дослідів – 4–15-кратно. Статистичне опрацювання експериментальних даних виконували за допомогою програми Excel.

Результати та їх обговорення. Вирощування квасоли звичайної сорту Надія в ґрунтовій вегетаційній культурі показало, що після передпосівної обробки насіння МБД висота рослин наближалась до контролю. Самостійне використання *R. phaseoli* виявило наступні результати: у фазу першого справжнього листка рослин були вищими від контрольних на 8,0%, другого – на 9,4, третього – на 16,2, четвертого – на 19,2 і п'ятого – на 39,9%. Вищий за контроль рівень стимуляції процесів росту рослин зафіксували також після комбінованої обробки насіння МБД з *R. phaseoli*, а у фазі п'ятого листка – і порівнянню з моноінокуляцією. Так, збільшення висоти рослин квасоли по фазах становило 8,7%, 8,1, 17,0, 14,2 і 44,2% відносно контролю.

На рис. 1 показано, що *R. phaseoli* штаму 700 як окремо, так і в поєднанні з МБД, кожної наступною фазою росту і розвитку рослин квасоли посилювали стимулюючий вплив, тоді як при застосуванні лише МБД такий ефект був менш виражений.

Значна кількість дослідників вважає, що інтегральним показником оцінки ростових процесів рослин є не їх лінійний ріст, а процеси накопичення маси [1, 4]. Так, комбіноване застосування МБД і *R. phaseoli* найтісніше збільшувало масу надземної частини рослин квасоли – на

26,9%, тоді як моноінокуляція *R. phaseoli* – на 3,5% відносно контролю. Нижчими були результати після обробки лише МБД – 97,1%. За сумісного застосування МБД і *R. phaseoli* маса сирих листків рослин квасоли зростала на 32,4%, а після моноінокуляції – лише на 3,5%. При цьому значно нижчими від контролю були показники при однокомпонентному використанні МБД (табл. 1).

Площа листової поверхні рослин квасоли змінювалася аналогічно попереднім показникам – найвищий результат забезпечило сумісне застосування МБД і *R. phaseoli*.

Особлива роль у життєдіяльності рослин належить кореневій системі. Корені поглинають з ґрунту вологу та поживні речовини, підвищують стійкість рослин до несприятливих впливів навколишнього середовища, сприяють біосинтезу хлорофілів тощо. Розвиток кореневої системи визначається її біологічною активністю, висотою вузлівовід, за допомогою яких рослина забезпечує зв'язування молекулярного азоту [1].

У фазу бутонізації після застосування МБД відзначено зростання маси сирій і сухої кореневої системи квасоли відповідно на 71,7 і 58,3%, після моноінокуля-

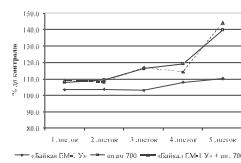


Рис. 1. Динаміка росту рослин квасоли звичайної за дії добрива "Байкал ЕМ-1У" та інокуляції у фазі одного-п'яти листків



Таблиця 1. Ростові показники рослин квасоли звичайної за дії добрива "Байкал ЕМ-1 У" та інокуляції *R. Phaseoli* у фазі бутонізації*

Показник	Контроль	"Байкал ЕМ-1 У"	Шт. 700	"Байкал ЕМ-1 У" + шт. 700
Маса сирій надземної частини, г	6,58±0,34	6,39±0,27	6,81±0,39	8,35±0,61*
Маса сирих листків на рослин, г	8,40±0,25	8,25±0,12	8,47±0,26	4,50±0,31*
Площа листової поверхні, см ²	312,8±22,7	282,1±10,3	332,6±24,7	414,3±28,5*
Маса сирій кореневої системи, г	1,06±0,09	1,82±0,14*	1,29±0,11	1,10±0,10
Маса сухої кореневої системи, мг	107,4±10,35	170,0±11,50*	155,2±5,83*	111,3±10,15
Відношення: маса сирій коренів / маса сирій надземної частини	0,16±0,02	0,30±0,03	0,18±0,02	0,14±0,01

* – порівняно з рослинами контролю

ції – на 21,7 і 44,5% і після бінарного застосування біопрепаратів – на 3,8 і 3,6% до контролю.

Зазначені ростові процеси зумовили коливальні зміни маси кореневої системи та надземної частини рослин квасоли – кореневий індекс [16]. Так, застосування ЕМД підвищувало його значення на 87,5%, інокуляція *R. Phaseoli* – на 12,5%, а комбінована обробка – знижувала на 12,5% до контролю. Суттєве зростання кореневого індексу можна пояснити погіршенням, а зменшення – покращенням азотного живлення рослин [16].

Важливим компонентом фотосинтезу, як процесу трансформації поглинутої

організмів енергії світла в хімічну енергію органічних і неорганічних сполук, є пігменти. Доведено, що передпосівна інокуляція бобових культур ефективними штамми бульб'ячкових бактерій підвищує біосинтез хлорофілу, оскільки він забезпечує рослин азотом [1]. У фазі бутонізації вміст хлорофілів а і b та основних каротиноїдів у листках рослин квасоли був вищим ніж у контролі (табл. 2).

Вміст хлорофілу а був найвищим у варіанті з ЕМД у поєднанні з інокуляцією *R. Phaseoli* – на 35,4% відносно контролю. Така ж закономірність спостерігалась і стосовно хлорофілу b та основних каротиноїдів – відповідно на 37,6 і

Таблиця 2. Вміст властивих пігментів у листках рослин квасоли звичайної за дії добрива "Байкал ЕМ-1 У" та інокуляції *R. Phaseoli* у фазі бутонізації, мг/100 г сирій маси

Показник	Контроль	"Байкал ЕМ-1 У"	Шт. 700	"Байкал ЕМ-1 У" + шт. 700
Хлорофіл а	153,0±6,1	185,3±7,0*	161,7±9,8	207,3±9,5*
Хлорофіл b	90,0±5,3	101,5±7,1	97,7±9,9	124,7±5,7*
Основні каротиноїди	55,9±0,8	60,9±1,2	57,1±3,8	64,2±1,6

* – порівняно з рослинами контролю



14,8% вище від контролю. Після обробки насіння лише БМД вміст пігментів в листках був нижчим, а після інюкуляції лише *R. Phascoli* – ще нижчим.

Отже, в умовах вегетативної досліду найбільш ефективним щодо впливу на комплекс фізіологічних показників виявилось комбіноване застосування БМД з інюкуляцією *R. Phascoli*. Так, середній показник стимулюючого впливу сумісної дії біопрепаратів становив 121,5%, інюкуляцією – 114,31 БМД – 114,1% відносно контролю (табл. 3).

Показники вірентності штамів оцінюють за кількістю та масою бульбочок, що утворюються на коренях рослин [1, 3, 4, 22]. Бобово-ризобіальний симбіоз досліджуваних рослин, незважаючи на спонтанну інюкуляцію азобактеріями штамами, показав, що штучна передпосівна бактеризація насіння *R. phascoli* сприяє інтенсивній нодуляції. Інюкулявані рослини утворювали на коренях найбільшу кількість бульбочок – на 63,2% вище від контрольного варіанту. В результаті зростала маса сирих (на

39,6%) та сухих (на 23,4%) бульбочок і одночасно зменшувалася маса однієї сухої бульбочки (на 71,2%). Обробка БМД сприяла виникненню симбіозу з азобактеріями популяції ризобій ґрунту в посухних, в результаті чого кількість бульбочок на коренях квасоли зростала на 51,9%, їх сира маса – на 50,7, суха – на 4,0 і середня маса однієї сухої бульбочки – на 65,4% порівняно з контролем. Після комбінованої обробки БМД і *R. phascoli* зазначені фізіологічні показники зростали відповідно на 50,3, 6,7 та 6,0% (табл. 4).

Отримані результати засвідчують значну спонтанну інюкуляцію квасоли наявними у ґрунті ризобіями, які інтенсивніше реагували на обробку біодобривом за масою сирих бульбочок і їх нітрогеназною активністю, ніж *R. phascoli* виробничого штаму 700. Вищу ефективність квасоло-ризобіального симбіозу виявлено після моноінюкуляції без додавання БМД за ростовими процесами бульбочок, але їх нітрогеназна активність була нижчою, ніж за комбіновано-

Таблиця 3. Вплив добрива «Байкал EM-1У» та інюкуляції *R. Phascoli* на ростові і фізіологічні показники рослин квасоли звичайної, % до контролю

Фаза росту і розвитку	«Байкал EM-1У»	Шт. 700	«Байкал EM-1У» + шт. 700
Висота рослин у фазі 1 листка	103,3	108,0	108,7
Висота рослин у фазі 2 листка	103,6	109,4	108,1
Висота рослин у фазі 3 листка	102,9	116,2	117,0
Висота рослин у фазі 4 листка	107,8	119,2	114,2
Висота рослин у фазі 5 листка	110,2	139,9	144,2
Маса спрост надземної частини	97,1	103,5	126,9
Маса сирих листків на рослині	95,6	102,1	132,4
Площа листкової поверхні	90,2	106,3	132,4
Маса сирого кореневої системи	171,7	121,7	103,8
Маса сухої кореневої системи	158,3	144,5	103,6
Хлорофіл а	121,1	105,7	135,4
Хлорофіл б	112,0	107,8	137,6
Основні каротиноїди	108,9	102,2	114,8
Середнє	111,1	114,3	121,5

Таблиця 4. Бобово-ризобіальний симбіоз рослин квасоли звичайної за дії добрива «Байкал EM-1У» та інюкуляції *R. Phascoli* у фазу ботанізації

Показник	Контроль	«Байкал EM-1У»	Шт. 700	«Байкал EM-1У» + шт. 700
Кількість бульбочок, шт./рослини	31,8±2,6	48,3±3,0*	51,9±4,1*	47,8±5,5*
Маса сирих бульбочок, мг/рослини	74,3±4,09	112,0±0,47*	103,7±8,00*	79,3±1,83
Маса сухих бульбочок, мг/рослини	15,1±0,23	14,7±0,12*	17,4±0,31*	16,0±0,45*
Маса 1 сухої бульбочки, мг	0,52±0,02	0,34±0,01*	0,37±0,01*	0,35±0,01*
ВНА бульбочок мкг N ₂ /рослини/год	1,42±0,04	2,34±0,16*	1,03±0,08*	1,39±0,09
ВНА бульбочок мкг N ₂ /г, сух.маси/год	95,27±5,11	1,12,0±12,0*	60,90±5,75*	92,14±1,85

Примітка: * – порівняння з контролем

го використання препаратів. Отже, під час сумісного використання мікробних препаратів за відсутності чи низької чисельності в ґрунті популяції комлементарних ризобій, провідну роль відіграє інюкуляція *R. phascoli*, а на ґрунтах з високим природним мікробно-рослинним симбіозом – БМД.

Висновки

Сумісне застосування мікробіологічного добрива «Байкал EM-1У» з бактеріями *Rhizobium phascoli* виробничого штаму

700 сприяє інтенсивнішому підвищенню фізіологічних показників у листках рослин квасоли звичайної ніз їх окрема дії.

Добриво «Байкал EM-1У» притягує утворення та ріст бульбочок *Rhizobium phascoli* штаму 700, а на ґрунтах з високою чисельністю ризобій сприяє підвищенню їх нітрогеназної активності.

Взаємодія рослин квасоли з фоновою ризобіальною мікробіотою стимулюється добривом «Байкал EM-1У» через зростання кількості, сирого маси та азотфіксувальної активності бульбочок.

Література

- Патія В. Ф., Наумов Г. Ф., Подоба Л. В. и др. Агроекологическая роль азотфиксирующих микроорганизмов аллелопатии высших растений / Под ред. В. Ф. Патыки. – К.: Основа, 2004. – 320 с.
- Безарев В. В. ЭМ-технология как фактор экологического земледелия и защиты Территории Малеяца // Надежда планеты. – 2005. – №10. – С. 8-5.
- Биорегуляция микробно-растительных систем / Итинская Е.А., Пономаренко С.П., Андреев Е.И. и др. / Под общей ред. Г.А. Итунской. С.П. Пономаренко. – К.: Ничлава, 2010. – 464 с.
- Биологичний азот / Патія В. П., Коць С. Я., Волгозов В. В. та ін. / За ред. В. П. Патіки. – К.: Світ, 2008. – 424 с.
- Векірчик К.М. Фізіологія рослин: Практикум. – К.: Вища шк., 1984. – 241 с.
- Векірчик К.М., Конончук О.Б., Троцька О. С. Земля просить допомоги: препарати ефективних мікроорганізмів (EM) – найефективніший ліки Землі // Освітання. – 2006. – №4 (82). – С. 37-40.
- Присвино З. М., Грищенко А. О., Карпенко В. П. Методи біологічних та агрохімічних досліджень рослин і ґрунту. – К.: ЗАТ «Нічлава», 2003. – 320 с.



- Конончук О. Б., Векірчик К. М. Результати застосування мікробіологічного біопрепарату «Байкал EM-1У» на квасолі і сої в умовах Тернопільської // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Сер. Біологія. – 2009. – № 1-2 (39). – С. 48-55.
- Конончук О. Б., Пидя С. В., Григорюк І. П. Вплив композиції добрив «Байкал EM-1У» та «Ризобіофит» на сою культури (Glycine max (L.) Merr.) // Біоресурси і природокористування. – 2010. – 2. № 1-2. – С. 12-21.
- Коць С. Я., Патія В. П. Біологічна фіксація азоту та її значення в азотному живленні рослин // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: В 2 т. / За ред. В.В. Моргуна. – К.: Логос, 2009. – Том 1. – С. 344-386.
- Круглюк Д. В. Реакція сорту квасоли на інюкуляцію *Rhizobium phascoli* за наявності в ґрунті численної популяції ризобій // Корні і кормовиробництво. – 2008. – Вип. 61. – С. 78-83.
- Методи вивчення азотфіксації і денітрифікації в почві / Умаров М. М., Кононов Ф. П., Курьова М. Г., Зуєва Л. А. // Мікроорганізми як компонент біогеоценоза. – М.: Наука, 1984. – С. 107-119.
- Надеревична О. В. Азотфіксуючі мікробно-рослинні симбіози // Сільськогосподарська мікробіологія. – 2005. – Вип. 1-2. – С. 105-127.
- Починюк Х. Н. Методи біохімічного аналізу рослин. – К.: Наук. думка, 1976. – 334 с.
- Сортова реакція квасоли на стреси сіби та інюкуляцію насіння / Камінський В. Ф., Голод на А. В., Дупляк О. Т. та ін. // 36. наукових праць Інституту землеробства УААН. – 2000. – Вип. 3-4. – С. 49-55.
- Уманов Н. Ю. Аутологічне адаптації рослин і зміннаємні азотного питаня. – Уфа: БФАН СОСР 1987. – 148 с.
- ЭМ-технология в растениеводстве / Под ред. Паулова К. Н., Елисеева А. М., Пуляев А. Б. – Харьков: АУ «Центр испытательной техники», 2002. – 20 с.
- Vallarini P. I., Diaz Alvarez M. C., Casas J. M. et al. Assessment of soil properties by organic matter and EM-microorganism incorporation. [Електронний документ] // Revista Brasileira de Ciência do Solo. – 2003. – 27 (3). – P. 519-525. – Режим доступу до журн.: <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v27n3/16669.pdf>. Перевірено: 15.02.2012.
- Higa T. Kuznet nature farming. [Електронний документ] – Режим доступу: http://www.lifeforce.co.za/kuznet_nature_farming.htm. Перевірено: 12.02.2012.
- Molina P., Pasolunghi K., Bielefeld T. Symbiotic nitrogen fixation. [Електронний документ] // The Plant Cell. – 1995. – 7. – P. 869-885. Режим доступу: <http://www.plantcell.org/content/7/7/869.full.pdf+html>. Перевірено: 03.03.2012.
- Pini F., Galardini M., Bazzicalupo M., Mengoni A. Plant-Bacteria Association and Symbiosis: Are There Common Genomic Traits in Alphaproteobacteria. [Електронний документ] // Genes. – 2011. – 2. – P. 1017-1032. Режим доступу: www.mdpi.com/journal/genes. Перевірено: 10.03.2012.
- Rhijn P., Vanderleyden J. The Rhizobium-Plant Symbiosis. [Електронний документ] // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 1995. – 59. № 1. – P.124-142. – Режим доступу: <http://mmbr.asm.org/content/59/1/124.full.pdf+html?sid=bfdac65a088841af938b820296867c21>. Перевірено: 23.02.2012.
- Web site «FACTS» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://boast.fao.org/site/967/DesktopDefault.aspx?PageID=967#cont>. Перевірено: 06.03.2012.
- Yadgaril M. Rahmani H. Evaluation of bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds' inoculation with *Rhizobium phascoli* and plant growth promoting *Rhizobacteria* (PGPR) on yield and yield components. [Електронний документ] // African Journal of Agricultural Research. – 2010. – 5(9). – P. 792-799. – Режим доступу: <http://www.academijournals.org/AJAR>. Перевірено: 07.03.2012.

АННОТАЦІЯ

Конончук О.Б., Пидя С.В., Григорюк І.П. Ефективність інюкуляційної суміші «Байкал EM-1У»-*Rhizobium phascoli* на рослинах фазис обиваненої (*Phaseolus vulgaris* L.) // Біоресурси і природокористування. – 2012. – 4. № 5-6. – С. 24-31.

Показано високу ефективність комбінованого застосування інюкуляційної суміші обиваненої бактеріями *Rhizobium phascoli* штаму 700 з мікробіологічним добривом «Байкал EM-1У» по комплексу ростових і фізіологічних показників квасоли звичайної та її окремої активності бульбочок.

SUMMARY

O. Kononchuk, S. Pyda, I. Hrygoriuk. Efficiency of inoculation mixture «Baikal EM-1U»-*Rhizobium phascoli* on plants of *Phaseolus vulgaris* L. // Biological Resources and Nature Management. – 2012. – 4. № 5-6. – P. 24-31.

The high efficiency of general application of inoculation of *Phaseolus vulgaris* L. by the bacteria *Rhizobium phascoli* culture 700 with micro-biological fertilizer «Baikal EM-1U» on the complex of growing and physiological indexes and nibo genetic activity of plant's tubers.