

УДК 579.64:631.461.5:  
633.31/37  
© 2014

## ФОРМУВАННЯ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ *RHIZOBIUM GALEGAE* — КОЗЛЯТНИК

*Л.В. Кириленко*  
*Ю.М. Шкатула*,  
кандидат сільсько-  
господарських наук  
Вінницький національний  
аграрний університет  
*С.Я. Коць*,  
доктор біологічних наук  
*П.М. Маменко*,  
кандидат  
біологічних наук  
Інститут фізіології рослин  
і генетики НАН України  
*В.П. Патица*,  
академік НААН  
Інститут  
мікробіології і вірусології  
ім. Д.К. Заболотного  
НАН України

*Узагальнено дані досліджень щодо взаємодії активних штамів бульбочкових бактерій *Rhizobium galegae* з різними сортами козлятнику. На основі результатів вегетаційних і польових експериментів з 10-ма досліджуваними штамми *Rhizobium galegae* відібрано 4 (0703, 0721, 159 і Л2), які формують найефективніший симбіоз із усіма досліджуваними сортами козлятнику. Встановлено, що передпосівна обробка насіння цими штамми активізує засвоєння молекулярного азоту і забезпечує підвищення врожайності та якості зеленої маси рослин козлятнику ряду сортів, що свідчить про наявність у відібраних ризобій комплементарності до широкого спектра сортів.*

**Ключові слова:** *Rhizobium galegae*, козлятник, симбіотична система, азотфіксація, штам.

Екологічно орієнтоване сільське господарство — це сучасна парадигма, яка має прийти на зміну хіміко-технологічній. Стратегічною культурою для розвитку цього напрямку є козлятник східний (*Galega orientalis* L.).

Ця бобова багаторічна культура росте в чистих посівах 10 років і більше, вирізняється холодо- і морозостійкістю, високим умістом білка (до 30%), вітамінів, каротину, здатністю забезпечувати отримання раннього корму (кінець травня — середина червня), високою врожайністю зеленої маси без застосування мінеральних азотних добрив (за рахунок біологічної азотфіксації), надійною і стабільною врожайністю насіння (до 6 ц/га) і, як наслідок, невисокими матеріально-трудовими витратами на його обробіток. Використовуючи козлятник, можна навесні отримувати ранній корм та косити його одночасно з озимими на зелену масу. Максимальна продуктивність — на 3-й рік вегетації [7, 11, 14]. Оскільки в молодій траві козлятнику високий вміст протеїну, то навесні її можна згодовувати тваринам замість концентрованих кормів. Білок цієї культури містить повний набір незамінних амінокислот, зокрема і лімітувальних. У корінні достатньо вітамінів і мікроелементів [7, 11, 13].

Завдяки добре розвиненій кореневій системі козлятник має ґрунтозахисне значення. Формує велику кількість бульбочок (до 1500 шт. на одну рослину). Добрий попередник для польових культур [5, 6, 14]. За врожайністю козлятник переважає конюшину, люцерну та інші культури. Урожайність зеленої маси становить 30–40 т/га і більше, сіна — 8–15 і більше, насіння — 0,2–0,6 т/га [10–13] (табл. 1).

Мікросимбіотом козлятнику є маловивчена група швидкорослих бульбочкових бактерій *Rhizobium galegae*. Передпосівний обробіток насіння козлятнику ризобіофітом (мікробним препаратом на основі вискоєфективного штаму *Rhizobium galegae*) є обов'язковим агротехнічним заходом. Такий обробіток стимулює ріст рослин у фазі цвітіння, збільшення маси квіткових китиць, а також кількість розвинутих і плодоносних пагонів. Це збільшує зелену масу

### 1. Урожайність козлятнику східного та люцерни посівної, т/га [14]

Кормова культура	Площа, га	Урожайність, т/га
Люцерна посівна	42	3,27
Козлятник східний	6	4,39

**2. Оцінка азотфіксувальної активності та ефективності штамів *Rhizobium galegae* у симбіозі з *Galega orientalis* (вегетаційний дослід)**

Варіант	Сорт козлятнику східного					
	Донецький 90		Кавказький бранець		Салют	
	А	ΔМ	А	ΔМ	А	ΔМ
Без інокуляції	0	0	0	0	0	0
Штам:						
0702	0,31	+11,5	0,98	+16,7	0,53	+16,7
0703	1,70	+31,3	2,64	+41,0	2,19	+36,5
0706	0,32	+12,3	1,12	+19,4	0,77	+18,0
0719	0,77	+15,7	2,01	+35,0	1,60	+22,9
0720	1,42	+27,5	2,41	+40,4	1,97	+24,3
0721	2,01	+35,9	3,28	+47,7	2,73	+26,4
0722	0,14	+0,99	1,01	+9,6	1,55	+13,4
159	1,94	+33,0	3,49	+39,0	2,57	+30,1
Л1	0,45	+7,0	1,21	+17,7	0,97	+16,3
Л2	2,17	+32,9	3,39	+46,5	2,98	+27,5
НІР <sub>05</sub>	0,39	6,00	0,43	7,4	0,40	7,0

Примітка. А — ацетиленредуктазна активність, мкМ С<sub>2</sub>Н<sub>4</sub>/(рослину·год); ΔМ — прибавка врожаю зеленої маси, г/посудину.

рослин (до 65%), підвищує рівень азотфіксації і азотонакопичення в них, урожайність та якість насіння [6, 8–10, 12, 13, 15–17].

**Мета досліджень** — селекція виробничо-цінних штамів бульбочкових бактерій, оцінка їх ефективності в системі *Rhizobium galegae* — козлятник.

**Методика досліджень.** Дослідження проводили впродовж 2011–2013 рр. на спільному дослідному полі Вінницького національного аграрного університету і Вінницької державної сільськогосподарської дослідної станції Інституту кормів та сільського господарства НААН у с. Агрономічне Вінницького району (7 км на південь від м. Вінниці).

За агроґрунтовим районуванням дослідна ділянка належить до Вінницько-Немирівського підрайону Центрального агроґрунтового району, майже на межі з Хмільницько-Погребищенським агроґрунтовим районом, північної підпровінції Лісостепу правобережного [1].

ґрунт на дослідній ділянці — сірий лісовий середньосуглинковий. За даними агрохімічного обстеження, вміст гумусу в орному шарі низький — 3%.

Уміст легкогідролізованого азоту (за Корнфілдом) низький — 7,0–8,0, рухомого фосфо-

ру (за Чиріковим) високий — 16,0–19,4, обмінного калію (за Чиріковим) підвищений — 9,5 мг/100 г ґрунту.

Гідролітична кислотність висока і становить 4,32 мг-екв/100 г ґрунту. За обмінною кислотністю рН<sub>сол</sub> 5,0–5,4 ґрунт середньокислий.

Отже, ґрунт дослідної ділянки та його агрохімічні показники є типовими для цієї зони і придатні для вирощування козлятнику східного на зелену масу і насіння.

Об'єктами досліджень були сорти козлятнику східного Донецький 90, Кавказький бранець і Салют. У роботі використано 7 штамів *Rhizobium galegae* (0702, 0703, 0706, 0719, 0720, 0721, 0722) з Національної колекції Головної наукової установи Всеросійського науково-дослідного Інституту сільськогосподарської мікробіології (С.-Петербург, Росія), 1 штам (159) з колекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України і 2 (Л1 і Л2) виділені нами з бульбочок козлятнику, вирощеного в Оратівському районі Вінницької області.

Симбіотичні властивості штамів вивчено в умовах вегетаційного дослідів в посудинах із 3 кг нестерильного сірого лісового середньосуглинкового ґрунту (агрохімічні показники наведені вище) та польових дослідів. Облікова пло-

**3. Врожай зеленої маси козлятнику східного та вміст у ньому сирого протеїну й азоту (за сортами)**

Варіант	Салют			Кавказький бранець		
	Урожай, т/га	Уміст, %		Урожай, т/га	Уміст, %	
		сирого протеїну	азоту		сирого протеїну	азоту
Без інокуляції	3,79	19,52	1,62	4,10	20,32	1,95
Штам:						
0702	3,97	20,00	1,75	4,23	21,02	2,05
0703	5,35	27,31	2,95	6,56	29,45	3,08
0706	3,85	19,89	1,80	4,44	22,03	2,12
0719	4,02	22,00	1,87	4,34	23,0	1,99
0720	5,12	24,56	2,35	5,25	24,05	2,00
0721	5,90	26,80	2,75	6,34	27,21	2,97
0722	4,02	19,85	1,78	4,69	21,45	2,11
159	6,03	28,05	2,98	6,49	28,00	2,87
Л1	4,23	21,32	2,07	5,56	23,03	2,13
Л2	5,89	27,35	2,79	6,87	28,79	2,54
НІР <sub>05</sub>	1,14			1,25		

ща ділянки — 10 м<sup>2</sup>, повторність досліду — 4-разова.

Виділення бульбочкових бактерій, їх ідентифікацію, вивчення симбіотичних властивостей бульбочкових бактерій і їх чисельності в ґрунті проводили за методиками, наведеними у монографії [3].

Статистичний обробіток даних проводили за допомогою дисперсійного аналізу за Б.О. Доспеховим [2].

**Результати досліджень.** Вивчено азотфіксувальну активність та ефективність симбіотичних систем козлятнику, створених із використанням 10 штамів бульбочкових бактерій (табл. 2).

Під час визначення активності відновлення ацетилену кореневими бульбочками козлятнику різних сортів встановлено, що серед використаних штамів *Rhizobium galegae* 4 є малоактивними — 0702, 0706, 0722 та Л1. Симбіотичні системи, створені за участі цих штамів, мали значно нижчу здатність до засвоєння азоту атмосфери на усіх досліджуваних сортах, порівняно з іншими, залученими до досліду штамми. Інші 6 штамів характеризувалися значно вищою азотфіксувальною активністю. Проте лише штамми 0703, 0721, 159 та Л2 вирізнялися широкою компліментарністю та забезпечували найвищу азотфіксувальну активність симбіотичних систем *Galega orientalis* L. — *Rhi-*

*zobium galegae* на усіх досліджуваних сортах. Варто також зауважити, що рівень азотфіксувальної активності штаму значною мірою залежав від сорту козлятнику. Найвищою вона була у сорту Кавказький бранець.

Ефективність фіксації азоту також впливала на формування вегетативної маси рослинами козлятнику. У рослин *Galega orientalis* L. сортів Донецький 90 і Салют, симбіотичні системи яких мали нижчу ефективність відновлення ацетилену порівняно із сортом Кавказький бранець, за інокуляції штамми 0703, 159 та Л2 приріст зеленої маси становив 26,4–36,5 г/посудину. Водночас інокуляція цими самими штамми рослин козлятнику сорту Кавказький бранець забезпечувала достовірну прибавку врожаю 39–47,7 г/посудину (табл. 2).

Водночас ефективність симбіотичних систем можна достовірно оцінити лише в природних неконтрольованих умовах. Із цією метою було проведено 3-річні польові випробування штамів із двома сортами козлятнику східного — Салют і Кавказький бранець. Визначено продуктивність симбіозу *Galega orientalis* L. — *Rhizobium galegae* (табл. 3).

Як свідчать результати цієї таблиці, завдяки використанню у ролі мікосимбіонтів для обох сортів козлятнику східного штамів *Rhizobium galegae* 0703, 0721, 159 і Л2 істотно

достовірно збільшувався врожай зеленої маси рослин, а також уміст у ній сирого протеїну й азоту. Ефективнішою виявилась інокуляція насіння козлятнику сорту Кавказький бранець.

Обробка цими штамми забезпечила врожай зеленої маси у межах 6,34–6,87 т/га, вміст сирого протеїну — 27,21–29,45 %, азоту — 2,54–3,08%.

## Висновки

У результаті досліджень відібрано 4 високоефективні штамми швидкорослих бульбочкових бактерій *Rhizobium galegae* — 0703, 0721, 159 і Л2, які завдяки відсутності вузької комплексності до рослини-хазяїна забезпе-

чували високу азотфіксувальну активність симбіотичних систем різних сортів козлятнику, формування ним високих урожаїв надземної маси та вмісту у ній сирого протеїну й азоту.

## Бібліографія

1. Грунти України: властивості, генезис, менеджмент родючості/[Купчик В.І., Іваніна В.В., Нестеров Г.І. та ін.]; ред. В.І. Купчик. — К.: Кондор, 2007. — 414 с.

2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1985. — 351 с.

3. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія/В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Л.М. Томакова, Т.М. Мельничук, Л.О. Чайковська, С.П. Надкерничний, М.К. Шерстобоев, С.Ф. Козар, Є.П. Копилов, Д.В. Крутило, Т.Ю. Пархоменко, І.О. Каменєва, Н.І. Адамчук-Чала, Т.М. Ковалевська, С.В. Дідович, К.І. Волкогон, І.М. Пищур, М.В. Волкогон, С.Б. Дімова, М.С. Комок; за наук. ред. В.В. Волкогона. — К.: Аграр. наука, 2010. — 464 с.

4. Заболотна В.П., Бутницький І.М., Коць С.Я. Значення козлятнику східного у симбіотичній фіксації азоту та підвищенні збору білка/Фізіологія і біохімія культ. рослин. — 2004. — Т. 36, № 4. — С.291–300.

5. Заболотна В.П., Бутницький І.М., Коць С.Я., Маліченко С.М. Інокуляція козлятнику східного як засіб підвищення врожаю надземної маси і нагромадження в ній білка/Там само. — 2001. — 33, № 4. — С. 313–318.

6. Заболотна В.П., Коць С.Я., Маліченко С.М., Кірізій Д.А. Активність азотфіксації та інтенсивність фотосинтезу козлятнику східного при різному забезпеченні мінеральним азотом/Там само. — 2001. — 33, № 3. — С. 256–262.

7. Зінченко О.І., Салатенко В.Н., Білоножка М.А. Рослиництво: Підручник; за ред. О.І. Зінченка. — К.: Аграр. освіта, 2001. — 591 с.

8. Коць С.Я., Моргул В.В., Патька В.Ф., Даценко В.К., Кругова Е.Д., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н., Михалків Л.М. Біологічна фіксація азота: бобово-ризобіальний симбіоз: [монографія: в 4-х т.]. — Т. 1. — К.: Логос, 2010. — 508 с.

9. Коць С.Я., Моргул В.В., Патька В.Ф., Маліченко С.М., Маменко П.Н., Кірізій Д.А., Михалків Л.М., Береговенко С.К., Мельникова Н.Н. Био-

логическая фиксация азота: бобово-ризобіальний симбіоз: [монографія: в 4-х т.]. — Т. 2. — К.: Логос, 2011. — 523 с.

10. Коць С.Я., Моргул В.В., Тихонович І.А., Проворов Н.А., Патька В.Ф., Петриченко В.Ф., Мельникова Н.Н., Маменко П.Н. Біологічна фіксація азота: генетика азотфіксації, генетическая инженерия штаммов: [монографія: в 4-х т.]. — Т. 3. — К.: Логос, 2011. — 404 с.

11. Лихочвора В.В., Петриченко В.Ф., Івашук П.В., Корнійчук О.В. Рослиництво. Технології вирощування сільськогосподарських культур; за ред. В.В. Лихочвора, В.Ф.Петриченка. — 3-є вид., випр., допов. — Львів: НВФ «Українські технології», 2010. — 1088 с.

12. Патица В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В., Шерстобоева О.В., Мельничук Т.М., Калініченко А.В., Гриник І.В. Біологічний азот. — К.: Світ, 2003. — 424 с.

13. Патица В.П., Тихонович І.А., Філіп'єв І.Д., Гамаюнова В.В., Андрусенко І.І. Мікроорганізми і альтернативне землеробство; за ред. В.П. Патики. — К.: Урожай, 1993. — С. 64–99.

14. Резніченко В.П. Продуктивність козлятнику східного порівняно з традиційними кормовими культурами в умовах Північного Лісостепу України/Корми і кормовиробництво. — 2013. — Вип. 76. — С. 274–277.

15. Сафронова В.И. Комплексная характеристика и селекция клубеньковых бактерий козлятника *Rhizobium galegae*: автореф. дис. на соиск. науч. степ. канд. биол. наук. — СПб., 1994. — 18 с.

16. Шерстобоева Е.В., Дудинова І.А., Шерстобоев Н.К. Биопрепараты азотфиксирующих бактерий: проблемы и перспективы применения/Микробиол. журн. — 1997. — 58, № 4. — С. 109–117.

17. Шерстобоева О.В., Шерстобоев М.К., Дудинова І.О. та ін. Препаративні форми азотфіксуючих бактерій для підвищення продуктивності основних сільськогосподарських культур/Землеробство. — К.: Урожай, 1996. — Вип. 71. — С. 60–65.

Надійшла 12.11.2013.