

## **ЕФЕКТИВНІСТЬ СПОНТАННОЇ ІНОКУЛЯЦІЇ БУЛЬБОЧКОВИМИ БАКТЕРІЯМИ ВИКИ ПАННОНСЬКОЇ (*VICIA PANNONICA* L.) В УМОВАХ ЗАХІДНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ**

*В умовах Західного Лісостепу України вивчали ефективність симбіозу рослин вики паннонської за спонтанної інокуляції природними штамами бульбочкових бактерій. Встановлено, що суха маса кореневих бульбочок у рослин досліджуваних сімей коливалася в межах 0,09–0,26 г/рослину, при цьому відзначено високу міжсімейну її мінливість ( $V = 37,5\%$ ).*

*Виявлено сильну позитивну кореляційну залежність ( $r = 0,74$ ,  $p \geq 0,99$ ) між масою сухих кореневих бульбочок та сухою масою рослин, яка носить лінійний характер і виражена рівнянням прямої лінії  $y = 1,201 + 12,98x$ .*

**Ключові слова:** *вика паннонська, кореневі бульбочки, симбіоз, суха маса рослин, мінливість.*

**Вступ.** В адаптивному сільському господарстві важливе практичне і екологічне значення має симбіоз бобових рослин з бульбочковими бактеріями, який є однією з найбільш ефективних систем біологічної фіксації атмосферного азоту [1–3, 10, 12–14, 16, 19]. У ґрунтово-кліматичних умовах нашої країни бобово-ризобіальні системи здатні щороку фіксувати з атмосфери 40–300 кг азоту на 1 га посіву [19].

Шляхом селекції бобових рослин та бульбочкових бактерій можна суттєво поліпшити продуктивність симбіозу, зменшити антропогенне навантаження екосистеми та отримувати екологічно чисту продукцію [9]. Крім цього, впровадження у сільськогосподарське виробництво нових сортів та видів культур дозволяє підвищити стійкість агросистеми в цілому.

При конструюванні високопродуктивних і екологічно стійких агробіоценозів важливо використовувати генетичні детермінанти,

які формують гомеостатичні і адаптивні реакції, що забезпечують динамічну рівновагу біоценотичного середовища в агроекосистемах. Оскільки симбіоз бульбочкових бактерій з бобовими рослинами є, по суті, стратегією кооперативної адаптації симбіотичних партнерів, то він має відігравати провідну роль у системі адаптивної селекції [16, 21, 25, 29, 30].

Відомо, що сорти бобових культур інтенсивного типу не завжди здатні вступати в ефективний симбіоз з бульбочковими бактеріями, що могло бути наслідком їх селекції на високих фонах азоту та спонтанного добору генотипів, схильних до енергетично менш затратного автотрофного типу живлення [23, 26]. Вивчення двох видів вики – волохатої (*Vicia villosa* Roth.) та посівної (*Vicia sativa* L.) з використанням ізотопних ( $^{15}\text{N}$ ) методів показало, що зниження активності симбіотичного надходження азоту у вики посівної, яке могло бути спричинене тривалим її вирощуванням на високих фонах азоту та селекцією, було пов'язане з підвищенням чутливості нітрогеназної системи до азотних сполук, утворених у бульбочках при асиміляції фіксованого азоту [17, 31]. А тому відновлення у сортів бобових їх природного симбіотичного потенціалу, втраченого в процесі адаптації до умов агроценозу, є одним з пріоритетів їх селекції [24]. Слід вказати, що сучасним сортам бобових культур притаманна достатньо висока міжсортowa та внутрішньосортowa мінливість за ознаками симбіозу [4, 8]. Характерною рисою внутрішньосортowej мінливості є наявність у переважній більшості сортowych популяцій генотипів з низькою симбіотичною активністю. Однак у популяціях наявні і генотипи з високою симбіотичною активністю [15].

Цінним вихідним матеріалом для селекції за ознаками симбіозу можуть бути місцеві сорти та їх дикорослі співродичі. Гетерогенні популяції місцевих сортів та їх диких співродичів є потенційними донорами корисних ознак онтогенетичних адаптацій, зокрема таких, як симбіотичні взаємовідносини та інші середовищеутворюючі фактори, які реалізуються на біоценотичному рівні.

Показано, що в дикорослих популяціях гороху, люцерни та *T. joenum-graecum* мінливість симбіотичних ознак значно вища, ніж у селектованих сортів [20, 28]. При цьому саме місцеві дикорослі популяції цих культур у цілому переважали сорти за азотфіксуючою активністю.

Досліди з різними бобовими культурами (люцерна, козлятник східний, конюшина лучна, горох, квасоля звичайна) показали, що на основі наявної у них гетерогенності можна отримати лінії, які стабільно підтримують високий рівень азотфіксації і придатні до

використання як донори при селекції на підвищення рівня симбіотичної азотфіксації [6, 10, 11]. Наявність гетерогенності та високий рівень успадкування ознак симбіозу, а також позитивна кореляція між симбіотичною активністю та урожайністю рослин свідчить про те, що селекція з використанням цих показників може бути результативною [5, 6, 15, 18, 27]. У вирішенні проблеми інтенсифікації кормовиробництва в Західному регіоні України особливе місце належить озимим вико-злаковим посівам, які дозволяють отримувати ранньою весною збагачену протеїном зелену масу сумішок вики з житом, пшеницею, ячменем, райграсом. В умовах вказаного вище регіону в озимих вико-злакових посівах традиційно використовують озиму вику мохнату (*Vicia villosa*), яка забезпечує врожайність зеленої маси 400–600 ц/га, проте часто вилягає, що знижує врожайність її насіння.

Нашими дослідженнями встановлено, що для цього виду вики симбіотична азотфіксація відіграє важливу роль у її розвитку та формуванні врожаю. Інокуляція її насіння штамми бульбочкових бактерій підвищує врожайність зеленої маси вико-злакової сумішки на 8,8 %, вики в сумішці – на 15,4 %. Штами-інокулянти сприяли суттєвому збільшенню нагромадження протеїну в сні вики, при цьому формування вмісту протеїну залежало від сорт-штамової комплементарності генотипів макро- і мікросимбіонтів [8]. Вика паннонська, або горошок паннонський, в Україні відома в культурі з 1956 р., досить поширена в Угорщині. Її вирощують у сумішках з озимими і ярими злаковими культурами на зелений корм. В умовах Заходу України в посівах поширена менше ніж вика мохната. Вика паннонська характеризується більшою, ніж озима вика (волохата) скоростиглістю та посухостійкістю. Вона менше уражується хворобами та більш стійка до вилягання. Урожай насіння цієї вики в 1,5–2,0 рази вищий, ніж у вики волохатої, врожай зеленої маси, навпаки, дещо нижчий. Зимостійкість дещо нижча, ніж у вики волохатої. Проте, незважаючи на цінні властивості, ця культура не знайшла широкого використання у виробництві, зокрема і через відсутність у Державному реєстрі сортів, придатних до поширення в Україні.

Мета нашої роботи – оцінити реакцію складових генофонду горошку паннонського на інокуляцію природними штамми бульбочкових бактерій в умовах Західного Лісостепу України.

**Матеріали і методи.** Об'єктом досліджень був місцевий сорт вики паннонської, або горошку паннонського, виду *Vicia rannonica* L. з Криму (UD00900016). Дослідження проводили на польовому

стаціонарі лабораторії селекції зернових і кормових культур Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН. Грунт – сірий лісовий легкосуглинковий, який характеризується середньозваженими агрохімічними показниками: вміст гумусу (за Тюрнімом) – 2,3 %, сума ввібраних основ – 12,4 мкг на 100 г ґрунту, лужногідролізованого азоту (за Корнфілдом) – 89,6 мг/кг ґрунту, рухомого фосфору й обмінного калію (за Кірсановим) – відповідно 69,5 і 68,0 мг/кг. За градацією такий ґрунт має низьке забезпечення азотом і калієм, середнє – фосфором, рН – 5,6. За механічним складом ґрунт крупнопилуватий, після обробітку дуже ущільнюється, утворюючи кірку.

Сім'ї рослин горошку паннонського висівали на ділянках, які складалися з 3 рядків (довжина рядка 1,5 м). Насіння вики висівали вручну під посівну дошку в міжряддя широкорядного (30 см) посіву пшениці озимої (норма висіву пшениці 150 кг/га) з відстанню між насінинами в рядку 10 см. Попередник – ячмінь озимий. Обробіток ґрунту – лущення стерні, оранка на 20–25 см, передпосівна культивация. Мінеральні добрива не вносили.

Ефективність симбіозу рослин вики за спонтанної інокуляції природними штамми бульбочкових бактерій оцінювали за формуванням сухої маси корневих бульбочок та сухої надземної зеленої маси рослин, оскільки відомо, що маса бульбочок, зокрема люцерни, добре корелює з азотфіксуючою активністю і може бути використана як один з методів скринінгу рослин за ознакою симбіотичної активності. Крім цього, ефективність симбіозу звично визначають і як відносне збільшення біомаси рослин за рахунок симбіотичної азотфіксації. Відомо, що за відсутності або дефіциту в поживних середовищах сполук азоту маса рослин позитивно корелює з їх азотфіксуючою активністю.

Аналіз формування маси корневих бульбочок та надземної зеленої маси проводили у фазі початку цвітіння рослин вики. Для цього їх викопували з землі, утворені на коренях рослин бульбочки і вегетативну зелену масу висушували та зважували на аналітичній вазі.

Статистичну обробку даних проводили з використанням методичних вказівок з допомогою стандартних програм Microsoft Excel.

**Результати та обговорення.** Оскільки симбіоз рослин і бульбочкових бактерій є продуктом спряженої еволюції партнерів, то і його ефективність буде визначатися генотипами як рослин, так і мікроорганізмів [22, 25]. Найбільш ефективний симбіоз формується у випадку, коли максимально реалізується специфічність взаємодії

рослини і бактерії [16]. Очевидно, що найбільш висока симбіотична ефективність буде досягнута шляхом пошуку комплементарних поєднань генотипів партнерів [7].

Важливою умовою ефективного функціонування симбіотичних систем є наявність у ґрунті видоспецифічних штамів бульбочкових бактерій, які активно вступають у симбіоз з тією чи іншою культурою. Наші дослідження симбіозу у вики паннонської вказують на наявність в умовах стаціонару місцевих популяцій бульбочкових бактерій, які вступають з нею в симбіоз, утворюючи на коренях бульбочки (табл.).

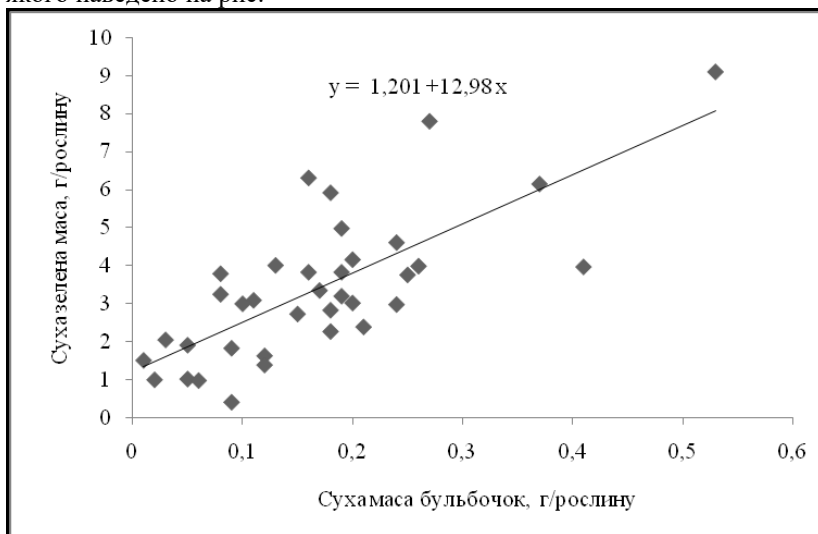
### Формування кореневих бульбочок та вегетативної маси рослинами вики

№ сім'ї	Суха маса бульбочок, г/рослину			Суха зелена маса рослин, г/рослину		
	середнє, $M \pm m$	стандартне відхилення, $\sigma$	коефіцієнт варіації, $V, \%$	середнє, $M \pm m$	стандартне відхилення, $\sigma$	коефіцієнт варіації, $V, \%$
1	0,25 ± 0,08	0,14	53,9	4,7 ± 0,8	1,39	29,6
2	0,18 ± 0,05	0,08	48,1	3,4 ± 0,6	1,12	32,8
3	0,20 ± 0,04	0,07	35,5	2,8 ± 0,6	1,08	38,6
4	0,04 ± 0,01	0,01	35,3	1,5 ± 0,5	0,73	47,4
5	0,17 ± 0,03	0,05	24,6	4,1 ± 0,5	0,95	23,2
6	0,18 ± 0,01	0,02	11,1	4,3 ± 0,9	1,49	35,1
7	0,26 ± 0,01	0,25	96,1	4,7 ± 2,2	3,83	80,9
8	0,18 ± 0,01	0,16	89,2	3,0 ± 1,3	2,57	85,2
9	0,18 ± 0,05	0,08	46,4	4,5 ± 1,6	2,82	62,1
10	0,12 ± 0,02	0,03	25,0	2,0 ± 0,4	0,68	34,4
11	0,12 ± 0,05	0,09	72,7	2,2 ± 0,7	1,18	53,4
12	0,09 ± 0,02	0,04	40,0	2,9 ± 0,9	1,69	57,7
1–12	0,16 ± 0,02	0,06	37,5	3,3 ± 0,3	1,11	33,3

Суша маса кореневих бульбочок у рослин досліджуваних сімей у середньому становила 0,16 г/рослину. Середні значення сухої маси кореневих бульбочок сімей коливалися в межах 0,09–0,26 г/рослину, при цьому виявлено високу їх мінливість ( $V = 37,5 \%$ ). Аналіз мінливості сухої маси бульбочок на коренях рослин у сім'ях вказує на наявність високого її рівня (11 до 96 %). Очевидно, що виявлена висока мінливість кореневих бульбочок може мати селективне значення, забезпечуючи адаптивність і життєздатність рослинної

популяції в симбіозі з місцевими генотипами ризобій. Внутрішньосортовий поліморфізм та наявність генотипів з високим рівнем утворення бульбочок можуть становити селекційний інтерес, оскільки відомі випадки отримання при схрещуванні рослин з високою здатністю до азотфіксації в  $F_1$  гетерозису і високого рівня успадкування в наступних поколіннях [28]. Для з'ясування ефективності функціонування симбіотичних систем вики паннонської з природними популяціями ризобій проведено аналіз впливу кореневих бульбочок на формування рослинами вегетативної сухої зеленої маси. Встановлено, що у фазі початку цвітіння її вага становить у середньому 3,3 г/рослину. Вага сформованої рослинами вики сухої зеленої маси характеризується значною мінливістю, на що вказує високий коефіцієнт варіації, який становить 33,3 % між сім'ями та 23–85 % всередині сімей (табл.).

Для визначення тісноти та форми зв'язку між показниками ваги сухої маси кореневих бульбочок та сформованої рослинами сухої зеленої маси проведено кореляційний і регресійний аналіз, результати якого наведено на рис.



**Рис. Залежність між сухою масою бульбочок і зеленою сухою масою рослин вики**

Виявлено сильну позитиву кореляційну їх залежність ( $r = 0,74$ ,  $p \geq 0,99$ ), яка носить лінійний характер і виражена рівнянням прямої лінії  $y = 1,201 + 12,98x$ .

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено, що в умовах Західного Лісостепу України вика паннонська вступає в симбіоз з природними штамми бульбочкових бактерій, формуючи на кореневій системі активні бульбочки.

Активна фіксація молекулярного азоту бульбочками позитивно впливає на формування рослинами сухої зеленої маси, на що вказує наявність між ними сильної позитивної кореляційної залежності.

### **Висновки**

1. У вики паннонської встановлено високу індивідуальну та міжсмієйну мінливість сухої маси кореневих бульбочок.

2. Виявлено сильну позитивну кореляційну залежність ( $r = 0,74$ ,  $r \geq 0,99$ ) між масою сухих кореневих бульбочок та сухою масою рослин, яка носить лінійний характер і виражена рівнянням прямої лінії  $y = 1,201 + 12,98x$ .

### **Список використаної літератури**

1. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобияльный симбиоз / Коць С. Я. [и др.]. – К. : Логос, 2010. – Т. 1. – 508 с.

2. Биологическая фиксация азота : В 4-х т. / С. Я. Коць [и др.]. – К. : Логос, 2011. – Т. 3. – С. 404.

3. Біологічний азот / В. П. Патики [та ін.] ; за ред. В. П. Патики. – К. : Світ, 2003. – 424 с.

4. Вишнякова М. А. Генофонд зернобобових культур и адаптивная селекция как факторы биологизации и экологизации растениеводства / М. А. Вишнякова // Сельскохозяйственная биология. – 2008. – № 3. – С. 3–23.

5. Галан М. С. Внутрішньосортний та міжсортний поліморфізм вики волохатої за показником нодуляції / М. С. Галан, Н. Ю. Лісова // Наук.-техн. бюл. ІЗІБТ УААН. – 1999. – Вип. 1 (1). – С. 67–70.

6. Галан М. С. Ефективність дивергентного відбору за ознакою симбіотичної азотфіксації в озимій вики / М. С. Галан // Зб. наук. пр. ІЗ УААН. – 1998. – Вип. 1. – С. 195–198.

7. Галан М. С. Ефективність симбіозу колекційних зразків вики ярої (*Vicia sativa* L.) за інокуляції штамом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* ЛН Нg++ / М. С. Галан, О. Б. Калагурка, Р. М. Гук // Передгірне та гірське землеробство і тваринництво. – 2015. – Вип. 57. – С. 62–68.

8. Галан М. С. Підвищення урожайності однорічних кормових культур за використання симбіотрофного азоту / М. С. Галан, Н. Ю. Лісова // Наук.-техн. бюл. ІЗІБТ УААН. – 1999. – Вип. 1 (2). – С. 45–49.

9. Інтенсифікація азотфіксувального потенціалу зернобобових культур шляхом комплементарного добору макро- і мікросимбіонтів / В. І. Січкара [та ін.] // Екологія : Наук. записки Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2014. – № 3 (60). – С. 165–169.

10. Коць С. Я. Современное состояние исследований биологической фиксации азота / С. Я. Коць // Физиология и биохимия культурных растений. – 2011. – Т. 43, № 3. – С. 212–225.

11. Маркова О. В. Отбор перспективных линий фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.) сорта Эльза и особенности их симбиотрофного питания в разных почвенно-климатических условиях Предуралья / О. В. Маркова, С. Р. Гарипова // Вестник Башкирского университета. – 2013. – Т. 18, № 3. – С. 709–715.

12. Мікроорганізми і альтернативне землеробство / В. П. Патики [та ін.] ; за ред. В. П. Патики. – К. : Урожай, 1993. – 176 с.

13. Минеральный и биологический азот в земледелии СССР / отв. ред. Е. Н. Мишустин. – М. : Наука, 1985. – 270 с.

14. Моргун В. В. Симбіотична азотфіксація та її значення в азотному живленні рослин: стан і перспективи досліджень / В. В. Моргун, С. Я. Коць // Физиология и биохимия культ. растений. – 2008. – Т. 40, № 3. – С. 187–205.

15. Онищук О. П. Гены, контролирующие нодуляционную конкурентоспособность клубеньковых бактерий / О. П. Онищук, Б. В. Симаров // Генетика. – 1996. – Вып. 32. – С. 1157–1166.

16. Особенности взаимодействия растений и азотфиксирующих микроорганизмов / С. Я. Коць [и др.]. – К. : Наук. думка, 2007. – С. 315.

17. Оценка фенотипического проявления бактериальных генов, контролирующих эффективность азотфиксирующего симбиоза с растениями / О. П. Онищук, Н. А. Проворов, Н. И. Воробёв, Б. В. Симаров // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 1. – С. 32–43.

18. Пазюк О. А. Генетична мінливість симбіотичних ознак люцерни посівної : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.15 "Генетика" / О. А. Пазюк ; НАН України, Ін-т фізіології рослин і генетики. – К., 2000. – 16 с.

19. Петриченко В. Ф. Симбіотичні системи у сучасному сільськогосподарському виробництві / В. Ф. Петриченко, С. Я. Коць // Вісн. НААН України. – 2014. – № 3. – С. 57–66.

20. Проворов Н. А. Внутрисортная изменчивость люцерны по активности симбиоза с *Rhizobium melliloti* / Н. А. Проворов, Б. В. Симаров // С.-х. биол. – 1986. – № 12. – С. 37–41.



21. Проворов Н. А. Генетические механизмы индивидуальных и кооперативных адаптаций / Н. А. Проворов, С. В. Мыльников // Экологич. генетика. – 2007. – Т. 5, № 1. – С. 23–30.
22. Проворов Н. Ф. Макро- и микроэволюция бактерий в системах симбиоза / Н. Ф. Проворов, Н. И. Воробьёв, Е. Е. Андронов // Генетика. – 2008. – Т. 44, № 1. – С. 12–28.
23. Проворов Н. А. Перспективы использования популяций некоторых видов сем. Fabaceae в селекции на повышение интенсивности симбиотической азотфиксации / Н. А. Проворов // Генетические ресурсы. – 1996. – Вып. 3, т. 32. – С. 124–134.
24. Проворов Н. А. Принципы селекции растений на взаимодействие с симбиотическими микроорганизмами / Н. А. Проворов, И. А. Тихонович // Вестник ВОГиС. – 2005. – Т. 9. – С. 295–305.
25. Проворов Н. А. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум / Н. А. Проворов // Журнал общ. биологии. – 2009. – Т. 70, № 1. – С. 10–34.
26. Проворов Н. А. Соотношение симбиотрофного и автотрофного питания азотом у бобовых растений: генетико-селекционные аспекты / Н. А. Проворов // Физиол. растений. – 1996. – Т. 43. – С. 127–135.
27. Проворов Н. А. Экологические принципы селекции растений на повышение эффективности взаимодействия с микроорганизмами / Н. А. Проворов, И. А. Тихонович // С.-х. биология. – 2003. – № 3. – С. 11–25.
28. Сметанин Н. И. Сортовой полиморфизм люцерны по азотфиксирующей способности / Н. И. Сметанин, И. С. Родынюк, В. К. Шумный // С.-х. биол. – 1987. – № 6. – С. 25–28.
29. Тихонович И. А. Кооперация растений и микроорганизмов: новые подходы к конструированию экологически устойчивых агросистем / И. А. Тихонович, Н. А. Проворов // Успехи соврем. биологии. – 2007. – Т. 127, № 4. – С. 339–357.
30. Тихонович И. А. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агросистем будущего / И. А. Тихонович, Н. А. Проворов. – СПб. : Изд-во СПбУ, 2009. – 210 с.
31. A Potential for Symbiotic Nitrogen Fixation in Hairy Vetch (*Vicia villosa* Roth) as Common Vetch (*Vicia villosa* L.) / O. N. Kurchak [et al.] // New approaches and techniques in breeding sustainable fodder crops and amenity grasses / Provorov N. A., Tikhonovich I. A., Veronesi F., Eds. – St.-Petersburg : Vavilov All-Russia Research Institute of Plant Industry, 2000. – P. 151–155.

Отримано 12.09.2017