

Винахід відноситься до сільськогосподарської мікробіології і біотехнології як засіб підвищення врожайності козлятника східного і стосується використання бульбочкових бактерій роду *Sinorhizobium* при його вирощуванні.

Козлятник східний (*Galega orientalis* Lam.) - багаторічна трав'яниста бобова культура, здатна утворювати ранній корм для тварин та накопичувати в орному шарі ґрунту велику кількість сполук азоту і органічних речовин. Їй властива висока і стабільна насіннева продуктивність. Найважливішою біологічною особливістю козлятника східного як і всіх бобових рослин, є його здатність використовувати атмосферний азот у симбіозі з бульбочковими бактеріями, завдяки чому значну частину потреби у цьому елементі живлення він може задовольняти за рахунок біологічної азотофіксації. Однак при введенні козлятника східного в культуру, коли він вперше висівається у сівозміні, відбувається лише незначне, а часто-густо і зовсім не відбувається інфікування його коріння природною популяцією бульбочкових бактерій. У зв'язку з цим рослини лише частково можуть реалізовувати свій азотофіксуючий потенціал. За даних умов для одержання високих врожаїв необхідно застосовувати мінеральні азотні добрива, що негативно впливає як на собівартість урожаю, так і на його якість та екологічний стан довкілля.

Поряд із цим відомо, що вагомим резервом підвищення продуктивності бобових культур є інтенсифікація в них процесу біологічної азотофіксації шляхом обробки насіння селекційними штамми бульбочкових бактерій *Rhizobium galegae*.

Проте сьогодні сільськогосподарське виробництво має в своєму розпорядженні незначну кількість активних штамів для передпосівної інокуляції козлятника східного. Вважається, що усім їм притаманний високий рівень специфічності, в результаті чого окремі види козлятника (*Galega*) можуть утворювати активні симбіотичні взаємовідносини лише з певними штамми *Rhizobium galegae* (авторське свідоцтво СРСР №16691. 48 кл.С05F11/08 1989).

Метою винаходу був пошук нового штамів бульбочкових бактерій -активного мікосимбіонта козлятника східного для посилення симбіотичної азотофіксації і підвищення продуктивності даної культури. Таким штамом пропонується штам *Sinorhizobium meliloti* 425a. До останнього часу вважалося, що цей штам здатний вступати в ефективний симбіоз лише з люцерною (*Medicago L.*), буркуном (*Melilotus Adans.*) і гуньою (*Trigonella L.*).

Штам *Sinorhizobium meliloti* 425a депонований і зберігається в колекції бульбочкових бактерій Російського науково-дослідного інституту сільськогосподарської мікробіології під номером 1723 (індекс колекції у Всесвітньому каталозі колекцій *Rhizobium* CIAM), а також у колекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України під номером 45.

Оцінку симбіотичних властивостей штамів *Sinorhizobium meliloti* 425a в умовах симбіозу з козлятником східним (сорт Кавказький бранець) - вірулентності, азотофіксуючої активності і ефективності симбіозу здійснювали в умовах вегетаційних і польових дослідів. Вірулентність визначали за кількістю бульбочок, утворених на корінні козлятника при його інокуляції даними бульбочковими бактеріями. Азотофіксуючу активність бульбочок вимірювали за допомогою ацетиленредуктазного методу. Висновок стосовно ефективності симбіозу *S. meliloti* 425a і козлятника східного (сорт Кавказький бранець) робили за нагромадженням зеленої маси і насінневою продуктивністю рослини-господаря.

Контролем слугував специфічний для козлятника східного штам *Rhizobium galegae* CIAM 0703. Як і штам *S. meliloti* 425a, даний штам також зберігається в колекції бульбочкових бактерій Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (під номером 63).

Приклад 1. Вегетаційні досліді (1998 - 1999рр.)

Досліді проводили на промитому водопровідною водою річковому піску в 11-кілограмових посудинах. Повторність досліді 8-кратна. У кожній посудині вирощували по 8 рослин. Добрива вносили за Гельрігелем, г/кг субстрату:

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -0,708;  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -0,025;  $\text{KCl}$ -0,075;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -0,136;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,123;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -0,007;  $\text{H}_3\text{BO}_3$ -0,007;  $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -0,0012;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -0,0025.

Оцінку величини вірулентності і азотофіксуючої активності здійснювали після досягнення козлятником східним фази цвітіння (94-та доба після появи сходів).

Таблиця 1

Вірулентність штамів 425a бульбочкових бактерій люцерни за інокуляції ним козлятника східного

Варіант	Кількість утворених бульбочок на 1 рослині (шт.)					Різниця між стандартним ( <i>R. galegae</i> CIAM 0703) і рекомендованим ( <i>S. meliloti</i> 425a) штамми	
	I	II	III	IV	у середньому	шт/рослину	%
Без інокуляції	-	-	-	-	-	-	-
Інокуляція штамом <i>R. galegae</i> CIAM 0703	226	221	209	222	219,5±3,7	+6,8	+3,2
Інокуляція штамом <i>S. meliloti</i> 425a	201	226	220	204	212,7±6,1	-	-
НІР <sub>05</sub>							

Таблиця 2

Азотофіксуюча активність кореневих бульбочок козлятника східного, інокульованого штамом 425a бульбочкових бактерій люцерни

Варіант	Кількість утвореного етилену, мкмоль C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> /(рослину · год)					Різниця між стандартним (R. galegae CIAM 0703) і рекомендованим (S. meliloti 425a) штамми	
	I	II	III	IV	у середньому	шт/рослину	%
Без інокуляції	-	-	-	-	-	-	-
Інокуляція штамом R. galegae CIAM 0703	2,31	2,40	2,65	2,56	2,48±0,08	+0,03	+1,22
Інокуляція штамом S. meliloti 425a	2,41	2,60	2,43	2,36	2,45±0,05	-	-
НІР <sub>05</sub>							

Отже, результати визначення в умовах вегетаційного дослідів рівня вірулентності і азотофіксувальної активності пропонованого штаму S. meliloti 425a для інокуляції козлятника східного показали, що він здатний успішно інокулювати цю культуру і утворювати активні азотфіксуючі бульбочки.

Приклад 2. Польові дослідів (1998-2000рр.)

Дослідів проводили на опідзоленому середньосуглинковому чорноземі, який вміщував 3,05% гумусу, а також у розрахунку на 100г повітряно-сухого ґрунту N-1,9, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-10,4 і K<sub>2</sub>O-8,1мг. На першому році вегетації козлятника східного у ґрунті дослідних ділянок були відсутні агресивні раси спонтанних форм бульбочкових бактерій, здатних інфікувати дану культуру.

Виявилося, що козлятих східний, інокульований пропонованим штаммом Sinorhizobium meliloti 425a, за врожаєм зеленої маси (дані 1998-2000рр.) (табл.3) і насіння (дані 1999-2000рр.) (табл.4) майже не поступаються козлятникові, бактеризованому виробничим штамом Rhizobium galegae CIAM 0703.

Таким чином, результати польових дослідів свідчать про здатність штаму Sinorhizobium meliloti 425a формувати ефективні симбіотичні взаємовідносини з козлятником східним, про що свідчить достовірне збільшення врожаю зеленої маси і насіння при його застосуванні у порівнянні з контрольним варіантом (без інокуляції).

Таблиця 4

Урожай насіння козлятника східного, ц/га

Варіант	Роки вегетації		Разом за 2 роки	Приріст урожаю в порівнянні з контролем	
	II(1999)	III(2000)		ц/га	%
Без інокуляції	3,08	3,28	6,36	-	-
Інокуляція штамом R. galegae CIAM 0703	4,33	4,29	8,62	2,26	35,53
Інокуляція штамом S. meliloti 425a	4,19	3,83	8,02	1,66	26,10
НІР <sub>05</sub>	0,17 0,12				

Таблиця 3

Урожай зеленої маси козлятника східного, ц/га

Варіант	Роки вегетації			Разом за 3 роки	Приріст урожаю в порівнянні з контролем	
	I(1998)	II (1999)	III (2000)		ц/га	%
Контроль (без інокуляції)	135,6	692,2	768,8	1596,6	-	-
Інокуляція штамом R. galegae CIAM 0703	188,4	831,8	840,3	1860,5	263,9	16,5
Інокуляція штамом S. meliloti 425a	183,9	829,9	809,0	1822,8	226,2	14,2
НІР <sub>05</sub>	3,7	28,4	19,0			