

Е.С. БУТОВЕЦ, Л.М. ЛУКЪЯНЧУК, Е.А. ВАСИНА

## Взаимодействие ризобиальных бактерий с растениями сои сортов приморской селекции

*Представлены результаты исследований симбиотических взаимоотношений клубеньковых бактерий с соей, эффективности искусственной бактериализации ее семян. Доказано, что каждому сорту среди активных форм ризобий необходимо подбирать наиболее совместимый по генотипу штамм, с которым у растений будут складываться комплементарные связи в экологических условиях Приморского края. Установлена корреляционная зависимость между некоторыми хозяйственно ценными признаками и показателями симбиотической деятельности растений сортов сои селекции ФГБНУ «ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки».*

*Ключевые слова: Приморский край, соя, сорт, симбиоз, высоковирулентные штаммы ризобий, азотфиксация, комплементарность, грибные болезни, устойчивость, урожайность.*

**Interaction of rhizobial bacteria with plants of soybean varieties developed in Primorsky Krai.**  
E.S. BUTOVETS, L.M. LUKYANCHUK, E.A. VASINA (Federal Scientific Center of Agrobiotechnology in the Far East named after A.K. Chayka, Primorsky Krai, Timiryazevsky village).

*The article presents the results of studies of symbiotic relationships between nodule bacterium and soybean, the effectiveness of artificial bacterization of its seeds. It is proved that for each variety, among the active forms of rhizobia it is necessary to select the most compatible genotype strain with which plants will develop complementary relationships in the environmental conditions of Primorsky Krai. A correlative dependence between some economically important traits and indicators of symbiotic activity of plants of soybean varieties which were developed in "A.K. Chayka Federal Scientific Center of Agrobiotechnology of the Far East" was determined.*

*Key words: Primorsky Krai, soybean, variety, symbiosis, highly virulent strains of rhizobia, nitrogen fixation, complementarity, fungal diseases, resistance, productivity.*

### Введение

Азот – лимитирующий элемент всей жизни на Земле. Ежегодно около 2 % всей вырабатываемой человечеством электроэнергии тратится на процесс Габера–Боша для создания азотных удобрений [15]. Известно всего несколько родов клубеньковых бактерий симбионтов растений, фиксирующих атмосферный азот и выделяющих аммиак в окружающую среду. Многие представители бобовых способны к симбиотической азотфиксации. Соя является самым важным источником биологически фиксируемого азота среди всех бобовых культур (77 %), при этом она составляет 68 % от мирового производства бобовых

---

\*БУТОВЕЦ Екатерина Сергеевна – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, ЛУКЪЯНЧУК Людмила Михайловна – младший научный сотрудник, ВАСИНА Евгения Александровна – младший научный сотрудник (Федеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки, Приморский край, пос. Тимирязевский, Уссурийск). \*E-mail: ottselsoy@mail.ru

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований ДВО РАН «Дальний Восток» на 2018–2020 гг. (грант № 18-5-032).

культур [3]. В почве после сои остается большая часть фиксированного ризобиями азота, что помогает получить высокие урожаи последующих культур в севообороте [4, 9, 10]. Способность к симбиотической азотфиксации атмосферного азота делает сою идеальной для возделывания сельскохозяйственной культурой ввиду уменьшения потребности в синтетических азотных удобрениях, стоимость которых возрастает. Снижается их отрицательное действие на окружающую среду: прямое загрязнение азотными соединениями, выброс оксида азота и увеличение содержания в атмосфере углекислого газа.

В современных технологиях выращивания сои широко используются биопрепараты на основе высокоэффективных штаммов специфических ризобий. Применение культурных отселектированных, более вирулентных и конкурентоспособных штаммов клубеньковых бактерий является эффективным приемом для повышения иммунного статуса растений [6, 7, 14].

Селекционерами создаются сорта с высоким генетическим потенциалом урожайности, а поскольку соевые семена богаты белком, получение высоких урожаев потребует соответствующего уровня азотного питания. Поэтому возникает необходимость увеличения потенциала азотфиксации. Перспективным направлением является повышение интенсивности биологической азотфиксации за счет подбора наиболее продуктивных симбионтов и внедрения обработки эффективными штаммами ризобий в качестве элемента сортовой агротехники сои [2].

Цель исследований – получение новых знаний и экспериментальных данных о взаимодействии ризобий с растениями сои сортов приморской селекции для совершенствования сортовой технологии возделывания сои в Приморском крае.

Были поставлены следующие задачи:

- изучить влияние штаммов ризобий *Bradyrhizobium japonicum* (Jordan, 1982) и *Sinorhizobium fredii* (Scholla, Elkan, 1984) на урожайность перспективных сортов сои различных групп спелости;
- определить влияние испытываемых штаммов на иммунный статус сортов;
- выявить наиболее комплементарные сорто-штаммовые сочетания для сортов местной селекции в почвенно-климатических условиях Приморья.

## Материал и методы

Изучение симбиотических взаимоотношений клубеньковых бактерий с соей и эффективности искусственной бактериализации ее семян проводили на полях лаборатории селекции сои ФГБНУ «ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки» в 2016–2018 гг. В период проведения опытов метеорологические условия были контрастными, но в основном соответствовали биологическим потребностям сои [13].

Объектами исследований являлись высоковирулентные штаммы ризобий вида *Bradyrhizobium japonicum* (ТМ-464, БМ-88, Вр-1) и *Sinorhizobium fredii* (062, ББ-90, ТБ-589) селекции ФГБНУ ВНИИ сои, предоставленные нам сотрудниками лаборатории биологических исследований указанного института, и районированные сорта сои селекции ФГБНУ «ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки» разных групп спелости: среднеранняя – Приморская 13, средняя – Приморская 4, Сфера и Муссон, среднепоздняя – Приморская 86.

Семена сои перед посевом были обработаны бактериальными препаратами с добавлением прилипателя NaKMЦ в соответствии со схемой опыта и высеваны в почву при норме высева, рекомендованной для производственных посевов, – 450 тыс. всхожих семян на 1 га. Агротехника – общепринятая для Приморского края [12]. Опыт заложен по методике полевого опыта Б.А. Доспехова [5]. Площадь делянки 9 м<sup>2</sup>. Повторность опыта четырехкратная, расположение делянок систематическое.

Учет пораженности грибами болезнями проводили на основе методических указаний по изучению устойчивости сои к грибным болезням [8], подсчет и оценку количества клубеньков и их массы – по методике С.А. Бегун [1], оценку продуктивности и учеты по основным хозяйственно ценным признакам – согласно методическим указаниям [11]. Содержание белка и масла в семенах сои определяли с помощью прибора Inframatic 9200 в лаборатории агрохимических анализов ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки».

Полученные экспериментальные данные обработаны методами дисперсионного и парного корреляционного анализа по методике Б.А. Доспехова с использованием прикладных программ на персональном компьютере [5].

### Результаты исследований

В 2016–2017 гг. изучали симбиотические взаимоотношения штаммов ризобий (062, ТМ-464, ББ-90, ВР-1) и растений сои сортов приморской селекции, а также и связанные с ними продукционные процессы. Установлено, что у среднераннеспелого сорта Приморская 13 максимальная прибавка урожая (1,8 ц/га) получена в варианте с обработкой семян штаммом ВР-1, при этом количество клубеньков на одном растении было на уровне контроля (табл. 1).

Таблица 1

**Влияние инокуляции сои активными штаммами ризобий на иммунный статус и урожайность сортов различных групп спелости, 2016–2017 гг.**

Вариант	Урожайность*, ц/га	Количество клубеньков, шт./раст.	Масса клубеньков, г/раст.	Масса 1000 семян, г	Степень поражения септориозом, %	Степень поражения пероноспорозом, %
Приморская 13						
Контроль (без обработки)	20,9	29,4	0,44	185	46,2	19,3
Обработка семян штаммом 062	19,9	43,1	0,36	180	55,0	20,7
штаммом ТМ-464	20,6	25,9	0,21	190	53,7	21,1
штаммом ББ-90	19,4	37,6	0,46	183	41,2	19,5
штаммом ВР-1	22,7	30,9	0,33	185	38,7	23,0
Приморская 4						
Контроль (без обработки)	17,8	60,3	0,95	155	56,7	19,8
Обработка семян штаммом 062	23,0	26,6	0,21	165	43,7	21,6
штаммом ТМ-464	22,7	25,6	0,26	165	48,0	24,0
штаммом ББ-90	19,5	24,8	0,18	160	37,5	22,0
штаммом ВР-1	20,1	34,1	0,34	155	48,7	20,0
Приморская 86						
Контроль (без обработки)	22,5	52,5	1,13	185	41,2	21,8
Обработка семян штаммом 062	19,8	40,6	0,70	183	40,0	22,9
штаммом ТМ-464	15,6	35,9	0,50	180	53,7	15,6
штаммом ББ-90	24,5	41,9	1,11	190	40,0	23,8
штаммом ВР-1	19,6	24,9	0,30	180	35,0	21,5

\*НСР<sub>0,95</sub> = 1,4.

Среднеспелый сорт Приморская 4 в климатических условиях отчетного периода после обработки штаммом 062 дал максимальную прибавку урожая: урожайность была 23,0 ц/га, что выше контроля на 5,2 ц/га. Во всех вариантах с обработкой штаммами

семян наблюдалось снижение поражения листьев сои сорта Приморская 4 септориозом (до 19,2 %).

При обработке высоковирулентным штаммом ББ-90 отмечено увеличение урожайности на 2,0 ц/га и массы 1000 семян у среднепозднеспелого сорта Приморская 86.

Для повышения эффективности анализа немаловажное значение имеет определение корреляционных отношений между признаками (табл. 2).

Между изучаемыми показателями у сортов Приморская 13 и Приморская 4 присутствует обратная корреляционная зависимость с сильной и средней связью, что свидетельствует о неоднозначном влиянии штаммов на данные растения сои.

На сорте Приморская 86 установлены прямые корреляции количественных признаков с показателями симбиотической деятельности растений (с количеством клубеньков на растении – средняя связь, с массой клубеньков – сильная связь).

Таблица 2

**Корреляционная зависимость количественных признаков от основных показателей симбиотической деятельности растений сои по сортам, 2016–2017 гг.**

Показатели симбиотической деятельности растений	Урожайность, ц/га	Масса 1000 зерен, г
Приморская 13		
Кол-во клубеньков, шт./раст.	-0,52	-0,94
Масса клубеньков, г/раст.	-0,31	-0,65
Приморская 4		
Кол-во клубеньков, шт./раст.	-0,74	-0,70
Масса клубеньков, г/раст.	-0,71	-0,64
Приморская 86		
Кол-во клубеньков, шт./раст.	+0,48	+0,59
Масса клубеньков, г/раст.	+0,78	+0,88

С 2018 г. начато исследование комплементарных связей нового набора штаммов ризобияльных бактерий и сортов сои. В результате изучения влияния штаммов БМ-88, ТБ-589 на сорта сои Сфера и Муссон в природно-климатических условиях Приморского края установлено, что у среднеспелого сорта Сфера максимальная прибавка урожая (1,7 ц/га) получена в варианте с обработкой семян штаммом ТБ-589. Среднепозднеспелый сорт Муссон увеличением урожая отреагировал на обработку штаммом БМ-88. В данном варианте урожайность была 22,8 ц/га, что на 1,3 ц/га выше контроля (табл. 3).

В вариантах с обработкой высоковирулентным штаммом БМ-88 количество клубеньков на корнях сои сортов Сфера и Муссон увеличилось на 18,0 и 57,0 %, а их масса возросла соответственно на 9,0 и 97,0 % по сравнению с контролем.

Показатель «масса 1000 зерен» в опыте был выше в контрольном варианте на двух сортах. На качественный состав семени сои ризобияльные бактерии действовали неоднозначно: штамм ТБ-589 способствовал незначительному увеличению белка и масла у среднеспелого сорта Сфера, БМ-88 – у среднепозднеспелого сорта Муссон.

При проведении статистического анализа у сорта Сфера были обнаружены прямые корреляции: со средней связью – между количеством клубеньков и массой 1000 зерен (коэффициент корреляции  $r = +0,47$ ), с сильной связью – между массой клубеньков и массой 1000 зерен ( $r = +0,69$ ) (табл. 4). У сорта Муссон установлена прямая сильная корреляционная связь ( $r > 0,66$ ) между показателями симбиотической деятельности растений, урожайностью и содержанием белка в семенах. У двух сортов сои присутствует существенная обратная связь между симбиотическими показателями и содержанием масла в семенах.

**Влияние инокуляции сои активными штаммами ризобий  
на некоторые хозяйственно ценные признаки сортов различных групп спелости, 2018 г.**

Вариант	Урожайность*, ц/га	Отклонение от стандарта, ц/га	Количество клубеньков, шт./раст.	Масса клубеньков, г/раст. белка	Масса 1000 зерен, г	Содержание в семенах, %	
						белка	масла
Сфера							
Контроль (без обработки)	20,9	–	66,2	0,75	192	36,6	24,3
Обработка семян штаммом БМ-88	21,2	+0,3	78,9	0,82	180	36,8	24,2
штаммом ТБ-589	22,6	+1,7	49,6	0,43	172	37,0	24,7
Муссон							
Контроль (без обработки)	21,5	–	38,8	0,35	190	38,1	23,7
Обработка семян штаммом БМ-88	22,8	+1,3	61,0	0,69	172	39,1	22,9
штаммом ТБ-589	21,6	+0,1	26,6	0,26	175	38,4	23,5

\*НСР<sub>0,95</sub> = 1,2.

**Корреляционная зависимость количественных и качественных признаков от основных показателей симбиотической деятельности растений сои, 2018 г.**

Показатели симбиотической деятельности растений	Урожайность, ц/га	Масса 1000 зерен, г	Содержание в семенах, %	
			белка	масла
Сфера				
Кол-во клубеньков, шт./раст.	–0,82	+0,47	–0,56	–0,97
Масса клубеньков, г/раст.	–0,94	+0,69	–0,77	–1,0
Муссон				
Кол-во клубеньков, шт./раст.	+0,91	–0,32	+0,79	–0,82
Масса клубеньков, г/раст.	+0,96	–0,46	+0,88	–0,90

Эффективность симбиоза с клубеньковыми бактериями чаще зависит не от количества и массы клубеньков, а от активности продуктивной деятельности ризобий, так как не всегда увеличение количества образовавшихся клубеньков приводит к повышению урожайности. Из данных табл. 4 видно, что коэффициент корреляции между ризобияльными показателями и урожайностью у сорта Сфера составляет –0,82 и –0,94 (характер связи – отрицательная сильная), что в свою очередь подтверждает активную деятельность штаммов.

Соя – культура, для которой повышение устойчивости к болезням всегда актуально. Активно действующая бобоворизобиальная система снижает восприимчивость растений к заражению фитопатогенами (табл. 5) [9].

В вариантах с применением штаммов поражение грибной болезнью – септориозом было ниже, чем в контроле, на 2,5 %. Зависимость между поражением сои болезнями (церкоспороз, пероноспороз) и инокуляцией ризобиями при анализе данных, полученных в условиях 2018 г., не прослеживалась.

Таблица 5

**Воздействие активных штаммов ризобий на иммунный статус сортов сои, 2018 г.**

Вариант	Степень поражения грибными болезнями, %		
	септориозом	церкоспорозом	пероноспорозом
Сфера			
Контроль (без обработки)	36,5	9,5	8,0
Обработка семян штаммом БМ-88	34,0	10,0	10,0
штаммом ТБ-589	34,0	10,0	8,5
Муссон			
Контроль (без обработки)	38,0	10,0	11,5
Обработка семян штаммом БМ-88	35,5	10,0	11,5
штаммом ТБ-589	35,5	10,0	9,5

**Выводы**

1. По результатам исследований установлено, что эффективное функционирование биосистемы симбионтов тесно связано с генотипическими особенностями сорта сои и штамма клубеньковых бактерий. Необходимо для каждого сорта подбирать определенный штамм ризобий, с которым у растений данного сорта в экологических условиях Приморского края будет складываться ковалентная связь.

2. Максимальная прибавка урожая у сорта сои Приморская 13 (1,8 ц/га) отмечена в варианте с обработкой семян штаммом ВР-1, у сорта Приморская 4 (5,2 ц/га) – штаммом 062, Приморская 86 (2,0 ц/га) – штаммом ББ-90.

3. Отмечено присутствие обратной корреляционной зависимости с сильной и средней связью между показателями симбиотической деятельности и количественными признаками растений у сортов Приморская 13 и Приморская 4.

4. Прибавка урожая на среднеспелом сорте сои Сфера (1,7 ц/га) получена в варианте с обработкой семян штаммом ТБ-589, на среднепозднеспелом сорте Муссон (1,3 ц/га) – штаммом БМ-88.

5. В вариантах с обработкой высоковирулентным штаммом БМ-88 количество клубеньков на корнях сои сортов Сфера и Муссон увеличилось на 18,0 и 57,0 %, а их масса возросла на 9,0 и 97,0 % соответственно по сравнению с контролем.

6. Обнаружены прямые корреляции на сорте Сфера между признаками: со средней связью – количество клубеньков и масса 1000 зерен, с сильной – масса клубеньков и масса 1000 зерен. На сорте Муссон установлена прямая сильная корреляционная связь между показателями симбиотической деятельности растений, урожайностью и содержанием белка в семенах.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Бегун С.А., Тильба В.А. Способы, приемы изучения и отбора эффективных штаммов клубеньковых бактерий сои. Методы аналитической селекции. Благовещенск: Зея, 2005. 70 с.
2. Воздействие различных штаммов ризобий на сорта сои селекции Приморского НИИСХ / Л.А. Дега, Л.М. Лукьянчук, Е.С. Бутовец, М.В. Якименко // Дальневост. аграр. вестн. 2017. № 4 (44). С. 18–23.
3. Денисов Я. Одиссея азота. – <https://biomolecula.ru/articles/odisseia-azota> (дата обращения: 29.01.2017).

4. Доросинский Л.М. Клубеньковые бактерии и нитрагин. Л.: Колос, 1970. 192 с.
5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., перераб. и доп. М.: Колос, 1985. 416 с.
6. Испытание штаммов ризобий сои видов *Bradyrhizobium japonicum* и *Sinorhizobium fredii* / Л.А. Дега, О.И. Хасбиуллина, М.В. Якименко, С.А. Бегун // Защита и карантин растений. 2016. № 10. С. 23–24.
7. Крутило Д.В. Эффективность штаммов *Bradyrhizobium japonicum* на фоне местных популяций ризобий сои // Вестн. Алтайского гос. агр. ун-та. 2014. № 4. С. 42–47.
8. Методические указания по изучению устойчивости сои к грибным болезням / сост. Н.И. Корсаков, А.М. Овчинникова, В.М. Мизева; ВАСХНИЛ, ВИР. Л., 1979. 46 с.
9. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. М.: Наука, 1973. 149 с.
10. Проворов Н.А., Онищук О.П., Курчак О.Н. Габитус и продуктивность люцерны (*Medicago sativa* L.) в зависимости от инокуляции штаммами *Sinorhizobium meliloti*, различающимися по солеустойчивости // Сельхоз. биология. 2016. Т. 51, № 3. С. 343–350.
11. Соя. Методические указания по селекции и семеноводству / сост. Н.И. Корсаков, Ю.П. Мякушко. Л.: ВИР, 1975. 159 с.
12. Соя на Дальнем Востоке / А.П. Ващенко, Н.В. Мудрик, П.П. Фисенко и др. Владивосток: Дальнаука, 2010. 435 с.
13. Чирков Ю.И. Агрометеорология. 2-е изд., перераб. и доп. Л.: Гидрометеиздат, 1986. 296 с.
14. Якименко М.В. Совместимость коллекционных штаммов ризобий сои с фунгицидами и ростстимулирующими препаратами // Дальневост. агр. вестн. 2016. № 2. С. 38–41.
15. The Haber Process. – <https://www.chemguide.co.uk/physical/equilibria/haber.html> (дата обращения: 30.01.2017).