

DOI 10.5281/zenodo.10135164

EDN QMFKIP

УДК 579.64:635.65

Дидович С. В., Горгулько Т. В., Пась А. Н., Алексеенко О. П., Бараташвили З. А.

СКРИНИНГ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ПО ЭФФЕКТИВНОСТИ СИМБИОТИЧЕСКОЙ АЗОТФИКСАЦИИ НА БОБОВЫХ КУЛЬТУРАХ

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

Реферат. Бобовые культуры являются экологически безопасным источником растительного белка, служат для поддержания азотного баланса почвы и её плодородия. Нитрагинизация семян микробными препаратами на основе штаммов клубеньковых бактерий обеспечивает формирование бобово-ризобияльного взаимодействия и образование азотфиксирующих корневых клубеньков, в которых запускается процесс симбиотической азотфиксации и питание растений симбиотическим азотом. Для интенсификации симбиотической азотфиксации и повышения продуктивности бобовых культур необходимо проводить селекцию ризобияльных штаммов на высокую эффективность в симбиозе с возделываемыми сортами. Цель исследований – скрининг штаммов клубеньковых бактерий с высокой симбиотической эффективностью для современных сортов сои, нута, гороха. Эксперимент проводили в 2022 г. в условиях вегетационного опыта в сосудах объемом 300 мл на черноземе южном по фону почвенной популяции клубеньковых бактерий специфичных бобовым культурам на сортах сои Марина, Османь, Покровская, нута – Донплаза, гороха – Эстафета, Ягуар. Инокуляцию осуществляли перед посевом семян суспензией штаммов клубеньковых бактерий из коллекции НИИСХ Крыма (<http://skp-rf.ru/usu/507484/>): для сои – *Bradyrhizobium japonicum* Д-2, 36/46, Х-9, *B. ottawaense* М-8; нута – *Mesorhizobium ciceri* Н-12, А-46, 068, НС-6, А-44; гороха – *Rhizobium leguminosarum* К-29, У-1, У-2, 65 и сетевой биоресурсной коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства ФГБНУ ВНИИСХМ: *B. japonicum* 634б, *R. leguminosarum* 261б с инокуляционной нагрузкой 10^6 бактерий/семя. В контроле семена обрабатывали водой. В результате исследований проведен скрининг штаммов клубеньковых бактерий на симбиотическую эффективность с сортами сои, нута, гороха. На трех сортах сои, инокулированной штаммами *B. japonicum* и *B. ottawaense*, достоверное увеличение высоты составило 6,9–11,7 см/растение (23,1–36,7 %), на нуте сорта Донплаза при бактериализации штаммом *M. ciceri* А-46 получена существенная прибавка фитомассы – 1,36 г/растение (38,1 %), у гороха сорта Ягуар при обработке штаммами *R. leguminosarum* У-1, У-2, К-29, 65 – 0,3–0,7 г/растение (17,6–40,2 %) ($p < 0,05$).

Ключевые слова: клубеньковые бактерии, бобовые растения, эффективность, продуктивность.

Для цитирования: Дидович С. В., Горгулько Т. В., Пась А. Н., Алексеенко О. П., Бараташвили З. А. Скрининг штаммов клубеньковых бактерий по эффективности симбиотической азотфиксации на бобовых культурах // Таврический вестник аграрной науки. 2023. № 3 (35). С. 64–73. EDN: QMFKIP. DOI: 10.5281/zenodo.10135164.

For citation: Didovich S. V., Gorgulko T. V., Pas' A. N., Alekseenko O. P., Baratashvili Z. A. Screening of nodule bacteria strains for symbiotic nitrogen fixation efficiency on legumes // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2023. No. 3(35). P. 64–73. EDN: QMFKIP. DOI: 10.5281/zenodo.10135164.

Введение

Важнейшей особенностью экологического земледелия является использование биологического азота, благодаря которому обеспечивается азотный баланс и плодородие почвы, что позволяет получить экологически безопасную, качественную продукцию растениеводства [1–5].

Благодаря биологической фиксации азота воздуха у однолетних бобовых культур (сои, гороха, нута, вики, фасоли, бобов и др.) в результате симбиоза с соответствующими видами клубеньковых бактерий уровень азотфиксации ежегодно составляет от 60 до 200 кг/га [6, 7] и удовлетворяет потребности питания растения в этом элементе на 50–90 %.

Результаты многолетних зарубежных и отечественных исследований свидетельствуют, что для оптимизации азотного питания растений и повышения их продуктивности необходима предпосевная инокуляция семян микробными препаратами на основе высокоэффективных селекционных штаммов клубеньковых бактерий, специфичных для каждой бобовой культуры [8–12]. Благодаря данному агроприему обеспечивается не только формирование бобово-ризобияльных структур – азотфиксирующих корневых клубеньков, где активно проходят процессы биологической азотфиксации, но и отмечается стимуляция роста и развития бобовых культур [13, 14]. Установлено, что бактеризация повышает иммунный статус и устойчивость растений к фитопатогенным микроорганизмам, обеспечивая снижение поражаемости болезнями в 1,5–10 раз, улучшая фитосанитарную обстановку в почве [15]. Экспериментально показано на примере гороха, что бактеризация усиливает устойчивость растений к неблагоприятным условиям (засуха, заморозки, пониженные или повышенные температуры, повышенное содержание солей) [16] и обеспечивает повышение его продуктивности на 10–30 % и содержания белка в зерне на 2–6 %. Кроме того, в зарубежной литературе встречаются данные о повышении резерва азотфиксирующего потенциала бобово-ризобияльной системы до 15–50 % благодаря применению фосфатмобилизирующих и биопротекторных микроорганизмов [17, 18]. Такие перспективы применения микробных препаратов, несомненно, позволят рационально использовать потенциал фундаментальных природных процессов, таких, как азотфиксация, фосфатмобилизация и биостимуляция с участием агрономически ценных микроорганизмов, обеспечить экономию энергии и круговорот веществ в агроценозах и экосистемах, сохранить и улучшить плодородие почв, получить высокое качество и безопасность продуктов питания.

Цель исследований – скрининг штаммов клубеньковых бактерий с высокой симбиотической эффективностью для сортов сои Марина, Османь и Покровская, нута – Донплаза, гороха – Эстафета и Ягуар.

Материалы и методы исследований

В исследовании использованы штаммы клубеньковых бактерий из коллекции ФГБУН «НИИСХ Крыма» (<http://ckp-rf.ru/usu/507484/>): *Bradyrhizobium japonicum* Д-2, 36/46, Х-9, *B. ottawaense* М-8, *Mesorhizobium ciceri* Н-12, А-46, 068, НС-6, А-44, *Rhizobium leguminosarum* К-29, У-1, У-2, 65, а также сетевой биоресурсной коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»: *B. japonicum* 6346, *R. leguminosarum* 2616. Опыты проводили в 2022 г. на современных сортах бобовых культур российской селекции: сое – Марина, Османь, Покровская, нуте – Донплаза, горохе – Эстафета, Ягуар.

В вегетационных опытах растения выращивали в условиях теплицы в сосудах с перфорированным дном, объемом 300 мл на черноземе южном слабогумусированном, характеризующимся средней обеспеченностью обменным калием, подвижным

фосфором и низкой – легкогидролизуемым азотом, с фоном почвенной популяции ризобий 0,1–10 клубенькообразующих единиц/г в слое почвы 0–10 см. Семена поверхностно стерилизовали 96 % этанолом в течение пяти минут, высушивали на воздухе и перед высевом в почву обрабатывали суспензией 5-7-суточного штамма клубеньковых бактерий из расчета 10^6 бактерий/семя. Плотность суспензии клубеньковых бактерий для дозирования инокуляционной нагрузки определяли на фотоэлектроколориметре (КФК-2) в кюветах с рабочей длиной 30,110 мм при зеленом световом фильтре с длиной волны 315 нм. Растения выращивали до фазы «начало цветения» – в зависимости от культуры и сорта – 3–4,5 недели. Эффективность симбиотической азотфиксации оценивали по количеству азотфиксирующих клубеньков, высоте и фитомассе растений. Повторность опыта шестикратная [19–21].

Статистическую обработку результатов исследования проводили согласно общепринятым методам математической статистики при помощи стандартного пакета документов Microsoft Office Excel 2007 [22]. Достоверность отличий оценивали по критерию Стьюдента при $p < 0,05$. В графиках представлены средние значения и их стандартные ошибки.

Результаты и их обсуждение

Наши исследования показали, что на всех изучаемых сортах сои в контроле наблюдали образование азотфиксирующих клубеньков представителями ризобий почвенной популяции в количестве 7,4–13,5 ед./растение.

Бактеризация семян штаммами *V. japonicum* 6346, X-9, Д-2, 36/46 и *V. ottawaense* М-8 сои сорта Марина обеспечила образование азотфиксирующих корневых клубеньков, которое составило 12,0–15,1 ед./растение, существенно больше на 62,2–104,1 % в сравнении с эффективностью почвенной популяции ризобий ($p < 0,05$) (рисунок 1). Инокуляция семян сои сорта Покровская штаммом Д-2 обеспечила формирование азотфиксирующих клубеньков в количестве 13,3 ед./растение, что значительно превысило контроль на 46,2 % ($p < 0,05$). У сорта Османь при обработке штаммом X-9 сформировалось 16,0 ед./растение азотфиксирующих клубеньков, достоверно больше на 18,5 % по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

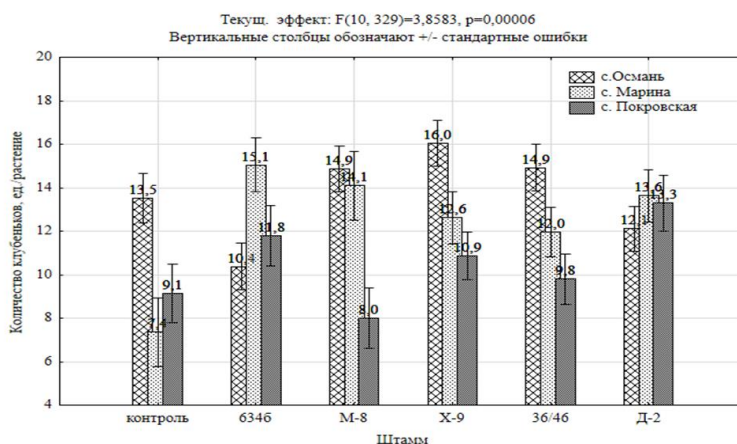


Рисунок 1 – Влияние штаммов рода *Bradyrhizobium* на клубенькообразование на корнях сортов сои (вегетационный опыт)

Бактеризация всеми исследуемыми штаммами *V. japonicum* и *V. ottawaense* достоверно увеличила высоту растений сои сорта Марина на 8,4–11,7 см/растение (26,4–36,7 %) по сравнению с контролем ($p < 0,05$) (рисунок 2). Высота инокулированных штаммами 36/46 и X-9 растений сорта Османь существенно превышала контроль – на 11,6–10,7 см/растение (27,1–24,9 %), у сорта Покровская в

вариантах с инокуляцией штаммами 36/46, Д-2, 6346 и Х-9 – на 6,9–9,7 см/растение (23,1–32,3 %). Показатели фитомассы сортов сои были в пределах ошибки опыта ($p < 0,05$). Однако следует обратить внимание на тенденцию прибавки фитомассы сои сорта Марина на 0,51 г/растение (12,4 %), что может свидетельствовать о вариабельности данного признака и отзывчивости растений на обработку штаммом *B. ottawaense* М-8 по отношению к контролю и эффективности почвенной популяции.

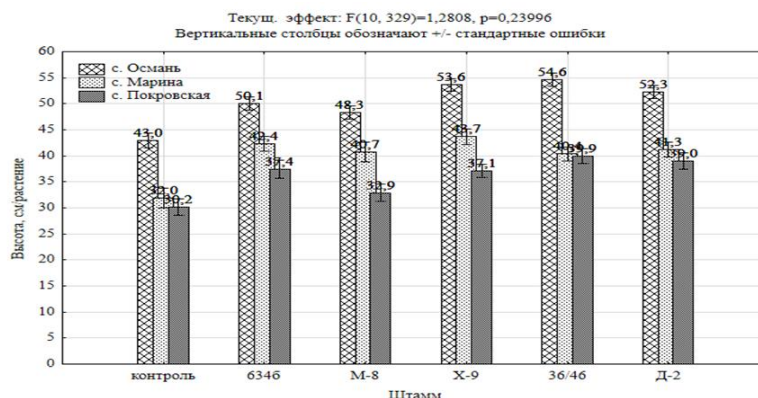


Рисунок 2 – Влияние штаммов рода *Bradyrhizobium* на высоту растений сортов сои (вегетационный опыт)

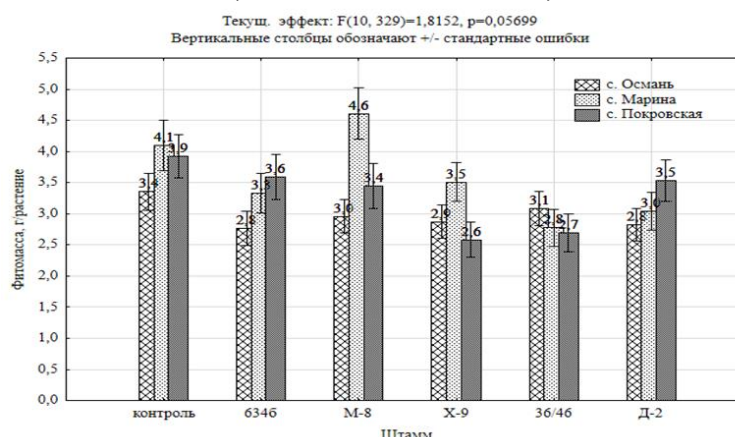


Рисунок 3 – Влияние штаммов рода *Bradyrhizobium* на фитомассу растений сортов сои (вегетационный опыт)

Изучение эффективности симбиотической азотфиксации штаммов на сорте нута Донплаза позволило выявить высокоэффективные штаммы *M. ciceri*. Во всех вариантах с бактеризацией формировались азотфиксирующие клубеньки в количестве 2,8–7,78 ед./растение, в контроле клубеньки практически отсутствовали. Штамм НС-6 обеспечил образование максимального количества азотфиксирующих клубеньков – 7,7 ед./растение, что больше в 77 раз в сравнении с контролем по фону почвенной популяции ризобий ($p < 0,05$) (рисунок 4).

Наши исследования показывают, что бактеризация штаммами *M. ciceri* способствовала достоверному увеличению высоты растений нута во всех варианта опыта на 5,9–11,3 см/растение (в 1,2–1,4 раза или на 19,3–37,1 %) ($p < 0,05$) (рисунок 5), при этом бактеризация штаммом А-46 увеличила фитомассу растений на 1,36 г/растение (38,1 %) в сравнении с контролем, а остальные варианты с бактеризацией по данному показателю были на уровне контрольного варианта (5,5 г/растение) в пределах ошибки опыта ($p < 0,05$). (рисунок 6).

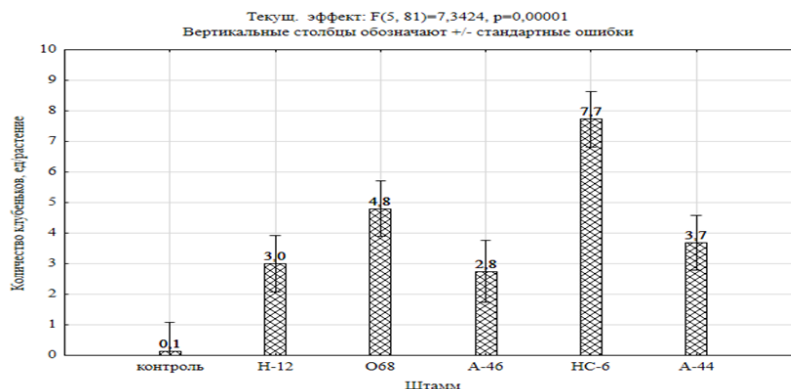


Рисунок 4 – Влияние штаммов *Mesorhizobium ciceri* на клубенькообразование на корнях нута сорта Донплаза (вегетационный опыт)

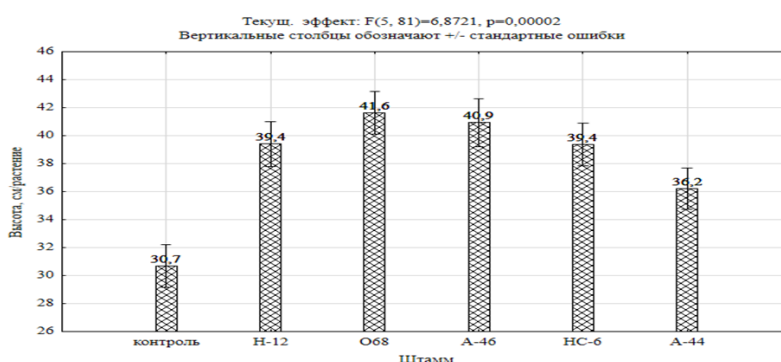


Рисунок 5 – Влияние штаммов *Mesorhizobium ciceri* на высоту нута сорта Донплаза (вегетационный опыт)

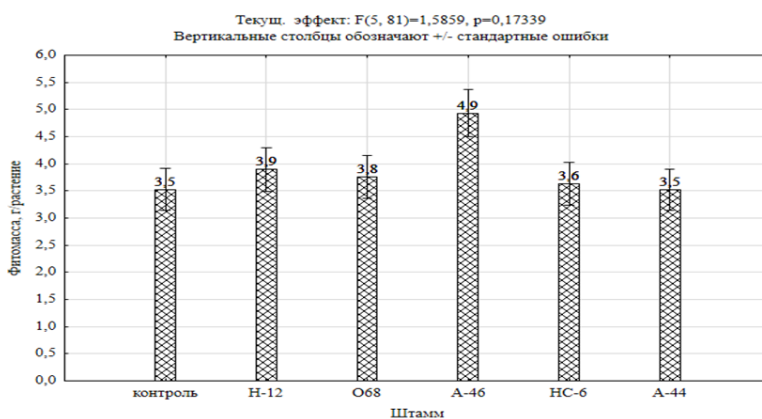


Рисунок 6 – Влияние штаммов *Mesorhizobium ciceri* на фитомассу нута сорта Донплаза (вегетационный опыт)

Исследования, проведенные на двух сортах гороха, позволили установить, что практически на всех сортах сформировались азотфиксирующие клубеньки: на сорте Ягуар в количестве 2,6 ед./растение, на сорте Эстафета – 9,4 ед./растение (рисунок 7). У сорта Ягуар бактеризация штаммами *R. leguminosarum* существенно увеличила количество азотфиксирующих клубеньков – на 3,1–10,3 ед./растение (в 2,2–5,0 раз), у сорта Эстафета при обработке штаммом 2616 и 65 данный показатель был на уровне контроля в пределах ошибки опыта ($p<0,05$).

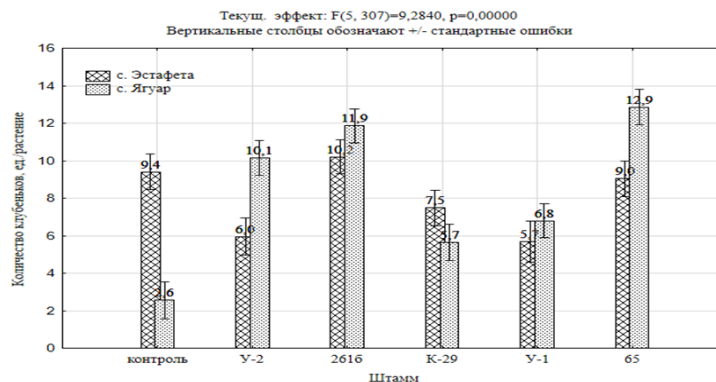


Рисунок 7 – Влияние штаммов *Rhizobium leguminosarum* на клубенькообразование на корнях сортов гороха (вегетационный опыт)

Бактеризация штаммами *R. leguminosarum* 65, У-2, К-29, У-1 способствовала достоверному повышению высоты гороха сортов Эстафета, Ягуар на 3,2–8,0 см/растение (12,7–35,4 %) (рисунок 8) и фитомассы сорта Ягуар на 0,3–0,7 г/растение (17,6–40,2 %) в сравнении с контролем ($p<0,05$) (рисунок 9).

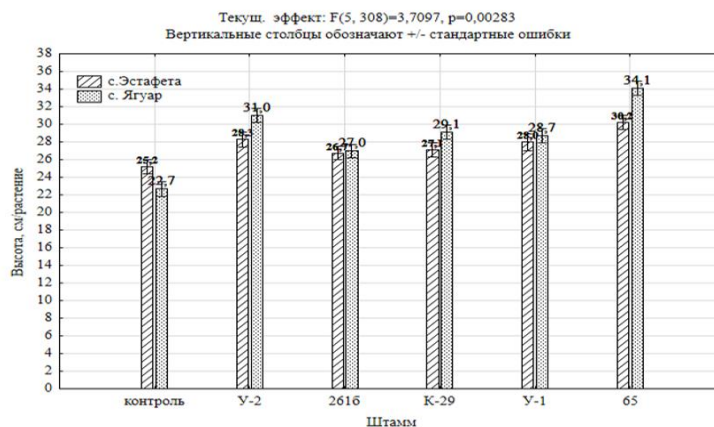


Рисунок 8 – Влияние штаммов *Rhizobium leguminosarum* на высоту растений сортов гороха (вегетационный опыт)

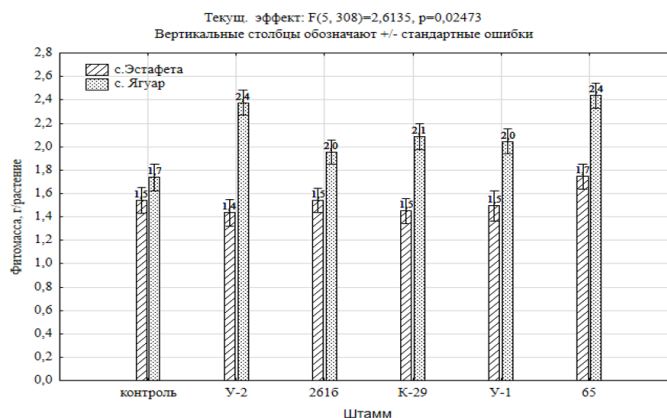


Рисунок 9 – Влияние штаммов *Rhizobium leguminosarum* на фитомассу сортов гороха (вегетационный опыт)

В результате проведенного скрининга штаммов клубеньковых бактерий, специфичных сое, нуту, гороху в условиях вегетационных опытов установлена

избирательная отзывчивость современных сортов изучаемых бобовых культур на бактеризацию и выявлена высокая эффективность применения для предпосевной обработки семян. Высокоэффективные штаммы могут быть рекомендованы для полевых испытаний и в дальнейшем использованы как основа микробных препаратов при выращивании данных бобовых культур.

Выводы

Установлено, что три исследуемых сорта сои по клубенькообразованию были избирательно отзывчивы на бактеризацию коллекционными штаммами *B. ottawaense* и *B. japonicum*, при этом достоверно повысили высоту растений на 6,9–11,7 см/растение (23,1–36,7 %), однако по фитомассе были на уровне контроля ($p < 0,05$). Показана высокая эффективность бактеризации штаммами *M. ciceri* нута сорта Донплаза, обеспечившая формирование азотфиксирующих клубеньков в количестве 2,8–7,7 ед./растение (больше в 28–77 раз в сравнении с контролем) и существенное увеличение высоты растений – на 5,8–11,2 см/растение (19,2–37,0 %), по фитомассе достоверную прибавку – 3,5–4,9 г/растение (38,1 %) получено при бактеризации штаммом *M. ciceri* А-46. Из двух сортов гороха, отзывчивых на бактеризацию штаммами *R. Leguminosarum*, выявлен сорт Ягуар, на котором достоверной и высокоэффективной была инокуляция штаммами *R. leguminosarum* У-1, У-2, К-29, 65, что способствовало формированию азотфиксирующих клубеньков в количестве 2,6–2,9 ед./растение, повысило высоту растений на 1,9–11,4 см/растение (7,5–50,2 %) и их фитомассу – на 0,3–0,7 г/растение (17,2–40,2 %) ($p < 0,05$).

Литература

1. Завалин А. А., Благовещенская Г. Г., Шмырева Н. Я., Чернова Л. С., Соколов О. А., Алферов А. А., Самойлов Л. Н. Современное состояние проблемы азота в мировом земледелии // Агрехимия. 2015. № 5. С. 83–95.
2. Зотиков В. И., Сидоренко В. С., Грядунова Н. В. Развитие производства зернобобовых культур в Российской Федерации // Зернобобовые и крупяные культуры. 2018. № 2 (26). С. 4–9. DOI: 10.24411/2309-348X-2018-10008.
3. Донская М. В., Донской М. М. Использование микробиологических препаратов при возделывании перспективных сортов нута и чины в Орловской области. // Зернобобовые и крупяные культуры. 2023. № 1(45). С. 33–39. DOI: 10.24412/2309-348 X-2023-1-33- 39.
4. Степанов А. Ф., Чибис С. П., Христин В. В., Александрова С. Н., Храмов С. Ю. Азотфиксирующая способность и роль бобовых трав в биологизации земледелия // Земледелие. 2023. № 1. С. 18–22. DOI: 10.24412/0044-3913- 2023-1-18-22.
5. Новиков М. Н. Биологические приемы эффективного использования азота почвы, удобрений, симбиотической азотфиксации в полевых агроценозах // Агрехимия. 2020. № 8. С. 60–69. DOI:10.31857/S0002188120080086.
6. Кокорина А. Л. Бобово-ризобийный симбиоз и применение микробиологических препаратов комплексного действия – важный резерв повышения продуктивности пашни. Санкт-Петербург: СПбГАУ, 2010. 50 с.
7. Завалин А. А., Алферов А. А., Чернова Л. С. Ассоциативная азотфиксация и практика применения биопрепаратов в посевах сельскохозяйственных культур // Агрехимия. 2019. № 8. С. 83–96. DOI: 10.1134/S0002188119080143.
8. Belyavskaya L., Belyavskiy Yu., Kulyk M., Taranenko A., Didovich S. Soybean growing under inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* strains in the forest-steppe and steppe zones of Ukraine // Zemdirbyste-Agriculture. 2022. Vol. 109. No. 3. P. 203–210. DOI: 10.13080/z-a.2022.109.026.
9. Дубинкина Е. А., Шабалкин А. В., Макаров М. Р. Изучение обработки семян и растений сои инокулянтами и микробиологическими удобрениями в Центральном Черноземье // Зернобобовые и крупяные культуры. 2023. № 1(45). С. 50–58. DOI: 10.24412/2309-348X-2023-1-50-58.
10. Smirnova I. E., Babaeva Sh. A., Fayzulina E. R., Tatarkina L.G., Spankulov G.A. Isolation of nodule bacteria promising for growing soybean culture // Microbiology virology. 2022. No. 2(37). P. 32–40. DOI: 10.53729/MV-AS.2022.
11. Mathenge C., Thuita M., Masso C., Gweyi-Onyango J., Vanlauwe B. Variability of soybean response to rhizobia inoculant, vermicompost, and a legume-specific fertilizer blend in Siaya County of Kenya // Soil and Tillage Research. 2019. Vol. 194(1). Art. No. 104290. DOI: 10.1016/j.still.2019.06.007.

12. Han Q., Ma Q., Chen Y., Tian B., Xu L., Bai Y., Chen W., Li X. Variation in rhizosphere microbial communities and its association with the symbiotic efficiency of rhizobia in soybean // *The ISME Journal*. 2020. Vol. 14(8). P. 1915–1928. DOI: 10.1038/s41396-020-0648-9.
13. Garcia M. V. C., Nogueira M. A., Hungria M. Combining microorganisms in inoculants is agronomically important but industrially challenging: case study of a composite inoculant containing *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* for the soybean crop. // *AMB Expr*. 2021. Vol. 11. No. 71. DOI: 10.1186/s13568-021-01230-8.
14. Nguyen H. P., Miwa H., Obirih-Opareh J., Suzaki T., Yasuda M., Okazaki S. Novel rhizobia exhibit superior nodulation and biological nitrogen fixation even under high nitrate concentrations. // *FEMS Microbiology Ecology*. 2020. Vol. 96(2). Art. No. fiz184. DOI: 10.1093/femsec/fiz184.
15. Куликенов Р. А., Давлетов З. А. Эффективное применение биопрепаратов биогенного происхождения на овощных культурах в целях повышения высоких урожаев и повышения качества продукции // *Наука и современное общество: взаимодействие и развитие*. 2016. № 1(3). С. 113–114.
16. Базасева Л. М., Гаппоев Х. А. Эффективность применения биопрепаратов при возделывании гороха // *АгроФорум*. 2022. № 3. С. 58–61.
17. Faligowska A., Kalembasa S., Kalembasa D., Panasiewicz K., Szymańska G., Ratajczak K., Skrzypczak G. The nitrogen fixation and yielding of pea in different soil tillage systems // *Agronomy*. 2022. Vol. 12(2). Art. No. 352. DOI: 10.3390/agronomy12020352.
18. Mayer J., Burger F., Jensen E. S., Michael S., Heß Jür. Residual nitrogen contribution from grain legumes to succeeding wheat and rape and related microbial process // *Plant and Soil*. 2003. Vol. 255. P. 541–554. DOI: 10.1023/A:1026081015076.
19. Толкачёв Н. З. Модифицированный метод определения количества клубеньковых бактерий сои в почве // *Труды ВНИИСХМ*. 1990. Т. 60. С. 37–43.
20. Методы исследований клубеньковых бактерий: Методические рекомендации для курсов повышения квалификации научных сотрудников по сельскохозяйственной микробиологии // Под ред. Доросинского Л.М. Л.: ВИР, 1981. 48 с.
21. Експериментальна ґрунтова мікробіологія // За ред. Вовкогона В.В. К.: Аграрна наука, 2010. 464 с.
22. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта: с основами статистической обработки результатов исследований. М.: Книга по требованию, 2013. 349 с.

References

1. Zavalin A. A., Blagoveshchenskaya G. G., Shmyreva N. Ya., Chernova L. S., Sokolov O. A., Alferov A. A., Samoilov L. N. Current state of the problems of nitrogen in world agriculture // *Agrohimia*. 2015. No. 5. P. 83–95.
2. Zotikov V. I., Sidorenko V. S., Gryadunova N. V. Development of production of leguminous crops in the Russian Federation // *Legumes and Groat Crops*. 2018. No. 2 (26). P. 4–9. DOI: 10.24411/2309-348X-2018-10008.
3. Donskaya M. V., Donskoy M. M. Use of microbiological preparations in the cultivation of promising varieties of chickpeas and lathyrus in the Oryol region. // *Legumes and Groat Crops*. 2023. No. 1(45). P. 33–39. DOI: 10.24412/2309-348 X-2023-1-33-39.
4. Stepanov A. F., Chibis S. P., Khristich V. V., Aleksandrova S. N., Khramov S. Yu. Nitrogen-fixing ability and the role of legumes in the biologisation of agriculture // *Zemledelie*. 2023. No. 1. P. 18–22. DOI: 10.24412/0044-3913- 2023-1-18-22.
5. Novikov M. N. Biological methods of effective use of nitrogen of soil, fertilizers, symbiotic fixation in field agrocenoses // *Agrohimia*. 2020. No. 8. P. 60–69. DOI: 10.31857/S0002188120080086.
6. Kokorina A. L. Bean-rhizobial symbiosis and the use of microbiological preparations of complex action is an important reserve for increasing the productivity of arable land. St. Petersburg: St. Petersburg State Agrarian University, 2010. 50 p.
7. Zavalin A. A., Alferov A. A., Chernova L. S. Associative nitrogen fixation and the practice of application of biological products in agricultural crops // *Agrohimia*. 2019. No. 8. P. 83–96. DOI: 10.1134/S0002188119080143.
8. Belyavskaya L., Belyavskiy Yu., Kulyk M., Taranenko A., Didovich S. Soybean growing under inoculation by *Bradyrhizobium japonicum* strains in the forest-steppe and steppe zones of Ukraine // *Zemdirbyste-Agriculture*. 2022. Vol. 109. No. 3. P. 203–210. DOI: 10.13080/z-a.2022.109.026.
9. Dubinkina E. A., Shabalkin A. V., Makarov M. R. Study of the treatment of soybean seeds and plants with inoculants and microbiological fertilizers in the Central Chernozem region // *Legumes and Groat Crops*. 2023. No. 1(45). P. 50–58. DOI: 10.24412/2309-348X-2023-1-50-58.

10. Smirnova I. E., Babaeva Sh. A., Fayzulina E. R., Tatarkina L.G., Spankulov G.A. Isolation of nodule bacteria promising for growing soybean culture // *Microbiology virology*. 2022. No. 2(37). P. 32–40. DOI: 10.53729/MV-AS.2022.
11. Mathenge C., Thuita M., Masso C., Gweyi-Onyango J., Vanlauwe B. Variability of soybean response to rhizobia inoculant, vermicompost, and a legume-specific fertilizer blend in Siaya County of Kenya // *Soil and Tillage Research*. 2019. Vol. 194(1). Art. No. 104290. DOI: 10.1016/j.still.2019.06.007.
12. Han Q., Ma Q., Chen Y., Tian B., Xu L., Bai Y., Chen W., Li X. Variation in rhizosphere microbial communities and its association with the symbiotic efficiency of rhizobia in soybean // *The ISME Journal*. 2020. Vol. 14(8). P. 1915–1928. DOI: 10.1038/s41396-020-0648-9.
13. Garcia M. V. C., Nogueira M. A., Hungria M. Combining microorganisms in inoculants is agronomically important but industrially challenging: case study of a composite inoculant containing *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* for the soybean crop // *AMB Expr*. 2021. Vol. 11. No. 71. DOI: 10.1186/s13568-021-01230-8.
14. Nguyen H. P., Miwa H., Obirih-Opareh J., Suzaki T., Yasuda M., Okazaki S. Novel rhizobia exhibit superior nodulation and biological nitrogen fixation even under high nitrate concentrations. // *FEMS Microbiology Ecology*. 2020. Vol. 96(2). Art. No. fiz184. DOI: 10.1093/femsec/fiz184.
15. Kulikenov R. A., Davletov Z. A. Effective application of biogenic biologics on vegetable crops in order to increase high yields and improve product quality // *Science and modern society: interaction and development*. 2016. No. 1(3). P. 113–114.
16. Bazaeva L. M., Gappoev Kh. A. The effectiveness of the use of biological products in the cultivation of peas // *AgroForum*. 2022. No. 3. P. 58–61.
17. Faligowska A., Kalembasa S., Kalembasa D., Panasiewicz K., Szymańska G., Ratajczak K., Skrzypczak G. The nitrogen fixation and yielding of pea in different soil tillage systems // *Agronomy*. 2022. Vol. 12(2). Art. No. 352. DOI: 10.3390/agronomy12020352.
18. Mayer J., Burger F., Jensen E. S., Michael S., Heß Jür. Residual nitrogen contribution from grain legumes to succeeding wheat and rape and related microbial process // *Plant and Soil*. 2003. Vol. 255. P. 541–554. DOI: 10.1023/A:1026081015076.
19. Tolkachev N. Z. Modified method for determining the number of soybean nodule bacteria in the soil // *Proceedings of All-Union Research Institute for Agricultural Microbiology (VNIISHM)*. 1990. Vol. 60. P. 37–43.
20. Methods of research of nodule bacteria: methodological recommendations for advanced training courses for researchers in agricultural microbiology // Edited by Dorosinsky L.M. Leningrad: N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 1981. 48 p.
21. Experimental soil microbiology // Ed. by Volkogon V.V. Kyiv: Agrarna Nauka, 2010. 464 p.
22. Dospekhov B. A. Methods of field research: with the basics of statistical processing of research results. Moscow: Kniga po trebovaniyu, 2013. 349 p.

UDC 579.64:635.65

Didovich S. V., Gorgulko T. V., Pas' A. N., Alekseenko O. P., Baratashvili Z. A.

SCREENING OF NODULE BACTERIA STRAINS FOR SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION EFFICIENCY ON LEGUMES

Summary. *Legumes are an ecologically safe source of plant protein. They maintain soil nitrogen balance and fertility. Nitraginization of seeds with microbial preparations based on nodule bacteria strains ensures the formation of legume-rhizobial interaction, as well as nitrogen-fixing root nodules, in which the process of symbiotic nitrogen fixation and plant nutrition with symbiotic nitrogen is started. To intensify symbiotic nitrogen fixation and increase legumes productivity, it is necessary to select rhizobial strains that are highly efficient in symbiosis with cultivated varieties. The purpose of the research was to screen strains of nodule bacteria with high symbiotic efficiency with modern varieties of soybean, chickpea, and pea. The experiment was carried out in 2022 under conditions of vegetation trial in 300 ml pots on chernozem southern on the background of the soil population of nodule bacteria specific to legumes on soybean varieties 'Marina', 'Osman', 'Pokrovskaya', chickpea – 'Donplaza', pea – 'Estafeta', 'Yaguar'. Before sowing, seeds were inoculated with suspensions of nodule bacteria strains from two collections: 1) Crimean Collection of Microorganisms of Research Institute of Agriculture of Crimea (<http://ckp-rf.ru/usu/507484/>): for soybean – *Bradyrhizobium japonicum* D-2, 36/46, X-9, *B. ottawaense**

M-8; for chickpea – *Mesorhizobium ciceri* H-12, A-46, 068, HC-6, A-44; for pea – *Rhizobium leguminosarum* K-29, U-1, U-2, 65; 2 Network Bioresource Collection in the field of genetic technologies for agriculture of All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology: *B. japonicum* 634b, *R. leguminosarum* 261b with an inoculation load of 10^6 bacteria/seed. Control – seeds treated with water. As a result of the research, strains of nodule bacteria were screened for symbiotic efficiency with varieties of soybean, chickpea, and pea. A significant increase in height (6.9–11.7 cm/plant or 23.1–36.7 %) was observed in all studied soybean varieties inoculated with *B. japonicum* and *B. ottawaense* strains. In chickpea and pea, a significant increase in phytomass was obtained: ‘Donplaza’ – 1.36 g/plant or 38.1 % when bacterized with strain *M. ciceri* A-46; ‘Yaguar’ – 0.3–0.7 g/plant (17.6–40.2 %) when treated with *R. leguminosarum* U-1, U-2, K-29, 65 strains ($p < 0.05$).

Keywords: nodule bacteria, legumes, efficiency, productivity.

Дидович Светлана Витальевна, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, лаборатории растительно-микробного взаимодействия, отдела сельскохозяйственной микробиологии, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: sv-alex.68@mail.ru.

Горгулько Татьяна Владимировна, научный сотрудник, лаборатории растительно-микробного взаимодействия, отдела сельскохозяйственной микробиологии, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: t.gorgulko@gmail.com.

Пась Анна Николаевна, младший научный сотрудник, лаборатория растительно-микробного взаимодействия, отдела сельскохозяйственной микробиологии, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: annapass@mail.ru.

Алексеенко Ольга Петровна, ведущий микробиолог, лаборатория растительно-микробного взаимодействия, отдела сельскохозяйственной микробиологии, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: olya.alekseenko1975@gmail.com.

Бараташвили Зинеп Асановна, микробиолог, лаборатория растительно-микробного взаимодействия, отдела сельскохозяйственной микробиологии, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»; 295493, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: zinepb@bk.ru.

Didovich Svetlana Vitalievna, Cand. Sc. (Agr.), leading researcher, Laboratory of plant-microbial interaction, Department of agricultural microbiology, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: sv-alex.68@mail.ru.

Gorgulko Tatiana Vladimirovna, researcher, Laboratory of plant-microbial interaction, Department of agricultural microbiology, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: t.gorgulko@gmail.com.

Pas' Anna Nikolaevna, junior researcher, Laboratory of plant-microbial interaction, Department of agricultural microbiology, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: annapass@mail.ru.

Alekseenko Olga Petrovna, leading microbiologist, Laboratory of plant-microbial interaction, Department of agricultural microbiology, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: olya.alekseenko1975@gmail.com.

Baratashvili Zinep Asanovna, microbiologist, Laboratory of plant-microbial interaction, Department of agricultural microbiology, FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”; 150, Kievskaya str., Simferopol, 295493, Russia; e-mail: zinepb@bk.ru.

Дата поступления в редакцию – 02.08.2023.

Дата принятия к печати – 21.09.2023.