

SYMBIOTIC ACTIVITY OF NODULE BACTERIA OF PEA PLANTS AT THE TERRITORY OF THE FOREST-STEPPE OF UKRAINE

V. PYLYPENKO, postgraduate student*

L. HONCHAR, Candidate of Agricultural Sciences

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

e-mail: vpylypenko@nubip.edu.ua, honchar@nubip.edu.ua

Abstract. *The basic results of research conducted in the northern part of Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine for 2014-2016 years on the typical black soils are described in the article. The most favorable conditions for the formation of symbiotic system was created due to the combination of sowing seed inoculation with fertilizer $C_1 + N_{10} P_{10} BBCH\ 13-19 + N_{10} P_{10} BBCH\ 55-59 + N_{10} P_{10} BBCH\ 61-65$. Application of mineral fertilizers $N_{30} P_{90} K_{90}$ increases the formation and performance of the symbiotic apparatus of pea plants. The mentioned rate of mineral fertilizers is efficient while sowing seeds, which are not inoculated.*

Key words: *variety, leafless peas, nodules bacteria, inoculation of seeds, fertilizer.*

Introduction. The problem of global agriculture in the past and the beginning of this century is the problem of protein production. I had dressing to the important problem of increasing of plant protein production, the special place here belongs to leguminous, including peas [8].

Analysis of recent researches and publications. According to many researchers, one of the most objective criteria for the best use of chemicals in growing technologies, is microbiological testing [2, 12]. However, according to the researchers of the Institute of Agricultural Microbiology NAAS, considering the close interaction of certain types of microorganisms of cultivated plants and chances of forming close plant-bacterial associations in the soil, only rhizospheric (root microorganisms) can display the system response to certain factors, closest to response of a plant it self [11]. This perspective is highlighted in the works of many authors of the last century, and in more modern materials of foreign and domestic scholars [5, 8].

Among many advantages of the pea, the most important its feature is the ability of plants to associate with nodule bacteria. In addition, thanks to symbiotic nitrogen fixation, they play an important role in maintaining the balance of nitrogen in soils [2, 6, 7].

We know, that productivity of legumes, including peas, is determined by many factors, and oxygen plays a primary role to. In order to obtain high yields of crops one should constantly take care of the replenishment of nitrogen in the soil by nitrogen-fixing bacteria [9]. Based on the lack of studies about the impact of mineral fertilization on the formation and activity of symbiotic nodule bacteria, the practical value of this work was established [1, 10].

* Director of dissertation – Doctor of Agricultural Sciences, professor S. Kalenska

The aim of the study. One of the directions of our research is to determine the features of symbiotic apparatus of nodule bacteria of leafless pea plants at the territory of Steppes of Ukraine depending on fertilization and seed inoculation with bio-fertilizer.

Materials and methods of the study. The object of the study is the processes of growth and development, and the formation of symbiotic apparatus activity of nodule bacteria based on inoculation of seeds and fertilizer.

The subject of the research: varieties of leafless pea (Tsarevych and Deviz), inoculation of seeds, fertilizers and crop yield of peas in the northern Forest-Steppe of Right-Bank Ukraine.

The studies, had been conducted in 2014 - 2016 years in the SS "Agronomic Research Station" of the national University of Life and Environmental sciences of Ukraine (v. Phenychne, Vasylkiv district, Kyiv region). It was set up 3-factor field experiment to achieve this goal (Table.1).

Sowing area –30 m², accounting area – 25 m². Repetition – quadruple, accommodation options consistent. The main fertilizing was made before cultivation [3, 4]. Seeding rate amounted 1.2 million of seeds per 1 ha. On the day of sowing, they carried out the bacterization with ryzohumin suspension. Suspension in amount of 900 g per1 t of seeds was diluted in 8-10 l of water, and then immediately treated.

The study was performed on pea plants in the stages of plant growth and development, BBCH 13-19 (3 leaves or tendrils (with stipules) developed); BBCH 55-59 (separated flower buds visible beyond the leaves, but flowers are still closed); BBCH 61-65 (start flowering: 10-50% of flowers open) [13]. Hydrothermal conditions of a growing season of a pea were different during the studies. It allows us to determine the efficiency of the factors under study.

1. Scheme field experiment

Factor S: Sort	Factor D: Fertilization	Factor I: Inoculation of seeds
S ₁ - Deviz	D ₁ - Control(C ₁) D ₂ - N ₃₀ P ₆₀ K ₆₀ (C ₂)	I ₁ -Without inoculation of seeds
S ₂ - Tsarevych	D ₃ - N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀ D ₄ - N ₃₀ P ₉₀ K ₆₀ D ₅ - N ₉₀ P ₉₀ K ₆₀ D ₆ - N ₃₀ P ₉₀ K ₉₀ D ₇ - C ₁ + N ₁₀ BBCH13-19 + N ₁₀ BBCH 55-59+ N ₁₀ BBCH61-65 D ₈ - C ₁ + P ₁₀ BBCH13-19+ P ₁₀ BBCH55-59 + P ₁₀ BBCH61-65 D ₉ - C ₁ +N ₁₀ P ₁₀ BBCH13-19 +N ₁₀ P ₁₀ BBCH55-59 + +N ₁₀ P ₁₀ BBCH61-65 D ₁₀ - C ₂ + N ₁₀ BBCH13-19 + N ₁₀ BBCH 55-59 + N ₁₀ BBCH61-65 D ₁₁ - C ₂ + P ₁₀ BBCH13-19+ P ₁₀ BBCH55-59 + P ₁₀	I ₂ – Inoculation of seeds

Winter rape preceded the pea crop rotation. Laboratory studies had been conducted in educational and scientific laboratories of "Analytical Researches in Crop Growing" of the Department of Plant Science of the NULES of Ukraine.

The results of the study. Seed Inoculation with ryzohumin had a positive influence on the formation of symbiotic apparatus of the leafless pea. The number and weight of nodules mg /100 plants varied during the study (Table. 2-3) depending on the use of technological measures, fertilization and varietal characteristics.

Conditions for the formation of symbiotic apparatus of Deviz pea variety were the most favorable while sowing inoculated seeds after mineral fertilizing with N₃₀P₉₀K₉₀, and foliar feeding C₁ + N₁₀P₁₀ BBCH 13-19 + N₁₀P₁₀ BBCH 55-59 + N₁₀P₁₀ BBCH 61-65. Thus, the number and weight of nodules were the highest and ranged from 52,4 to 54,8 pc / plant, and from 26,2 to 27,4 g / 100 plants (Table. 2).

Applying of high rates of mineral nitrogen had a negative impact on the size of symbiotic apparatus. This was observed while applying N₉₀P₉₀K₆₀, as the number and weight of nodules were at the control or even less, i.e. they observed the inhibition of symbiotic apparatus.

2. Symbiotic activity of nodules pea plants variety Deviz depending of fertilizer, foliar application and seed inoculation (average for 2014-2016)

Variant of fertilizing	Stages of plant growth and development											
	BBCH 13-19				BBCH 55-59				BBCH 61-65			
	Presowing seed treatment Ryzohumin											
	w/i ¹	i ²	w/i	i	w/i	i	w/i	i	w/i	i	w/i	i
	Number of nodules, units/p.		The weight of nodules, g/100 p.		Number of nodules, units/p.		The weight of nodules, g/100 p.		Number of nodules, units/p.		The weight of nodules, g/100 p.	
D ₁	7,1	13,2	3,6	6,6	18,1	25,5	9,1	12,8	22,2	33,9	11,1	17,0
D ₂	10,3	17,4	5,2	8,7	23,4	36,1	11,7	18,1	39,1	50,6	19,6	25,3
D ₃	5,2	10,5	2,6	5,3	17,3	27,3	8,7	13,7	24,3	34,3	12,2	17,2
D ₄	7,2	20,1	3,6	11,6	27,6	38,1	13,8	19,1	41,5	51,1	20,8	25,6
D ₅	3,0	13,1	1,5	6,6	16,1	23,3	8,1	11,7	23,1	32,8	11,6	16,4
D ₆	11,6	18,0	5,8	9,0	27,7	39,5	13,9	19,8	42,8	52,4	21,4	26,2
D ₇	7,5	17,3	3,8	8,7	27,4	30,6	13,7	15,3	31,4	41,2	15,7	20,6
D ₈	8,5	17,2	4,3	8,6	26,8	31,1	13,4	15,6	34,2	45,1	17,1	22,6
D ₉	7,5	18,5	3,8	9,3	21,2	32,4	10,6	16,2	37,1	54,8	18,6	27,4
D ₁₀	11,1	17,4	5,6	8,7	20,4	27,5	10,2	13,8	30,9	39,4	15,5	19,7
D ₁₁	10,2	18,3	5,1	9,2	20,3	33,8	10,2	16,9	36,5	44,2	18,3	22,1
D ₁₂	11,3	17,1	5,7	8,6	25,1	35,3	12,6	17,7	39,2	46,3	19,6	23,2
HIP ₀₅ for factor «fertilization»									1,2		1,3	
HIP ₀₅ for factor «inoculation of seeds»									0,6		0,6	

Notes*: ¹—without inoculation of seeds; ² – inoculation of seeds

3. Symbiotic activity of nodules pea plants variety Tsarevych depending of fertilizer, foliar application and seed inoculation (average for 2014-2016)

Variant of	Stages of plant growth and development											
	BBCH 13-19				BBCH 55-59				BBCH 61-65			
	Presowing seed treatment Ryzohumin											
	w/i ¹	i ²	w/i	i	w/i	i	w/i	i	w/i	i	w/i	i
	Number of nodules, units/p.		The weight of nodules, g/100 p.		Number of nodules, units/p.		The weight of nodules, g/100 p.		Number of nodules, units/p.		The weight of nodules, g/100 p.	
Д ₁	8,6	14,1	4,3	7,1	19,5	27,2	9,8	13,6	25,2	34,9	12,6	17,5
Д ₂	11,2	18,6	5,6	9,3	24,3	38,6	12,2	19,3	42,6	53,1	21,3	26,6
Д ₃	6,4	11,2	3,2	5,6	18,8	29,4	9,4	14,7	27,9	37,4	14,0	18,7
Д ₄	8,7	13,6	4,4	6,8	28,5	40,7	14,3	20,4	44,1	54,7	22,1	27,4
Д ₅	4,2	14,3	2,1	7,2	17,2	25,4	8,6	12,7	26,4	35,8	13,2	17,9
Д ₆	12,5	19,6	6,3	9,8	28,6	41,8	14,3	20,9	45,7	55,2	22,9	27,6
Д ₇	8,8	18,8	4,4	9,4	28,8	32,5	14,4	16,3	34,5	44,4	17,3	22,2
Д ₈	9,5	18,3	4,8	9,2	27,5	33,2	13,8	16,6	37,2	48,8	18,6	24,4
Д ₉	8,7	19,5	4,4	9,8	22,3	34,7	11,2	17,4	40,9	57	20,5	28,5
Д ₁₀	12,7	18,9	6,4	9,5	21,6	29,2	10,8	14,6	33,2	42,2	16,6	21,1
Д ₁₁	11,5	19,3	5,8	9,7	21,1	35,6	10,6	17,8	39,5	47,5	19,8	23,8
Д ₁₂	12,9	18,8	6,5	9,4	26,7	37,2	13,4	18,6	42,7	49,7	21,4	24,9
HIP ₀₅ for factor «fertilization»									1,2		1,3	
HIP ₀₅ for factor «inoculation of seeds»									0,6		0,6	

Notes*: ¹—without inoculation of seeds; ² – inoculation of seeds

Applying the nitrogen fertilizer C₂ + N₁₀ BBCH 13-19 + N₁₀ BBCH 55-59 + N₁₀ BBCH 61-65 promotes the formation of nodules on the roots of pea plants, but it is not as intense as using C₁ + N₁₀P₁₀ BBCH 13-19 + N₁₀P₁₀ BBCH 55-59 + N₁₀P₁₀ BBCH 61-65. While applying phosphorus fertilizers P₁₀ BBCH 13-19 + P₁₀ BBCH 55-59 + P₁₀ BBCH 61-65, we had found, that it increased the number of nodules compared to the control, and usage of C₂ + N₁₀ BBCH 13-19 + N₁₀ BBCH 55-59 + N₁₀ BBCH 61-65, showed that nodules were smaller in size and weight.

It had been established, that the varietal characteristics also have an impact on the formation and symbiotic activity of nodule bacteria. After a comparative analysis of the studied varieties, we have noted, that Tsarevych variety had formed more nodules and greater weight, respectively (Table 3).

Symbiotic activity of nodules of pea plants of Tsarevych variety was the most favorable during inoculated seeds sowing while applying mineral fertilizer N₃₀ P₉₀ K₉₀ and C₁ + N₁₀P₁₀ BBCH13-19 + N₁₀P₁₀ BBCH55-59 + N₁₀P₁₀ BBCH61-65. The number and the weight of nodules were the highest and amounted 55,2-57,0 units / plant and 27,6-28,5 g / 100 plants. Higher rates of nitrogen had a negative impact on the number and weight of nodules.

It should be noted, that the application of fertilizers during primary tillage has a positive effect on the formation of nodules and their size. But not all the rates of fertilizers promote symbiotic activity of nodule bacteria of pea plants, and it is evidenced by the data. Thus, increased rates of nitrogen usage in the amount of 90kg/ha, the destruction of symbiotic activity was observed (even lower than the control). The least number of nodules at the roots of pea plants was observed on

the stage BBCH 13-19 – 4,2 unit / plant while adding $N_{90}P_{90}K_{60}$. During the stages of growth and development, a similar trend was observed.

Conclusions. The most favorable conditions for the formation of symbiotic apparatus had been created by the combination of inoculated seed sowing with application of $C_1 + N_{10} P_{10}$ BBCH 13-19 + $N_{10} P_{10}$ BBCH 55-59 + $N_{10} P_{10}$ BBCH 61-65 fertilizer. Adding of mineral nitrogen has a negative impact the symbiotic association between pea plants and nodule bacteria. While applying mineral fertilizers $N_{30}P_{90}K_{90}$, the formation and performance of the device symbiotic apparatus of pea plants increase. The mentioned rate of mineral nutrition is effective during seed sowing, which are not inoculated.

List of literature

1. Біологічний азот: [моногр.] / [В. П. Патики, С. Я. Коць, В. В. Волкогон та ін.]; за ред. В. П. Патики. – К.: Світ, 2003. – 424 с.
2. Волкогон В. В. Мікробіологічні аспекти оптимізації азотного удобрення сільськогосподарських культур: Монографія / В. В. Волкогон. – К.: Аграрна наука, 2007. – 144 с.
3. Дослідна справа в агрономії. Книга друга. Статистична обробка результатів агрономічних досліджень [навчальний посібник] / А. О. Рожков, С. М. Каленська, Л. М. Пузік та ін. – Х.: Майдан, 2016. – 298 с.
4. Дослідна справа в агрономії: навч. посібник: у 2 кн. – Кн.1. Теоретичні аспекти дослідної справи / А. О. Рожков, В. К. Пузік, С. М. Каленська та ін.; за ред. А. О. Рожкова. – Х.: Майдан, 2016. – 316 с.
5. Каленська С. М. Формування асиміляційної поверхні листя гороху залежно від рівня мінерального живлення та інокуляції насіння / В. Пилипенко, С. Каленська, Л. Гончар // Техніко-технологічні аспекти розвитку та випробування нової техніки і технологій для сільського господарства України: збірник наук. пр. Дослідницьке, 2016. – Вип. 20 (34). – С. – 364-371.
6. Каленська С. М. Новицька Н. В., Андрієць Д. В., Холодченко Р. М. Використання біологічно-активних препаратів на основі нанорозмірних частинок металів в технології вирощування сої. // Вісник Харківського НАУ. – Серія Біологія. – 2010. – Ч.2, С. 24-32.
7. Каленська С. М. Формування врожаю нуту під впливом елементів технології вирощування / С. М. Каленська, І. Т. Нетупська, Н. В. Новицька // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2012. – №2. – С. 21–25.
8. Каленська С. М., Лопатько К. Г., Новицька Н. В. Ефективність застосування біогенних металів та біоактивних препаратів при вирощуванні сої [Електронний ресурс] // Наукові доповіді Наукового вісника НУБіП. – 2011 – №5 (27) Режим доступу: http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_5/11ksm.pdf
9. Мікробні препарати в землеробстві. Теорія і практика: Монографія / [В. В. Волкогон, О. В. Надкернична, Т. М. Ковалевська та ін.]; за ред. В.В. Волкогона. – К.: Аграрна наука, 2006. – 312 с.
10. Пилипенко В. С. Формування та симбіотична активність бульбочкових бактерій рослин гороху вусатого в Лісостепу України / В. С. Пилипенко // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – Вип. №3 (82). – 2016. – С.89-93.
11. Colloidal Nanomolybdenum Influence upon the Antioxidative Reaction of Chickpea Plants (*Cicer arietinum* L.) / N. Taran, L. Batsmanova, O. Kosyk and other // Nanoscale Research Letters – Т. 11(1), 2016. – P. 476-480.

12. Shibairo Solomin I. Effect of Rhizobium inoculation and nitrogen fertilizer application on growth, nodulation and yield of two garden pea genotypes. Jour. Anim. and Plant Sci, 2012. – 15(2). – P. 2147 – 2156.

13. Stauss R., Bleiholder H., Van Den Boom T., Buhr L., Hack H., Hess M., Klose R., Meier U. und Weber E. Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. Erweiterte BBCH-Skala: Allgemein. Ciba-Geigy AG, Basel, 1994. – 58 p.

References

1. Patyka, V. P. ed. (2003). Biologichnyi azot [Biological nitrogen]. Kyiv, Ukraine: Svit, 424.

2. Volkohon, V. V. (2007). Mikrobiologichni aspekty optymizatsii azotnoho udobrennia silskohospodarskykh kultur [Microbiological aspects of optimizing nitrogen fertilization of crops]. Ahrarna nauka, 144.

3. Rozhkov, A. O. ed. (2016). Doslidna sprava v ahronomii. Kharkiv, Ukraine: Maidan, 298.

4. Rozhkov, A. O. ed. (2016). Doslidna sprava v ahronomii. Kharkiv, Ukraine: Maidan, 316.

5. Kalenska, S. M., Pylypenko, V. S., Honchar, L. M. (2016). Formuvannia asymiliatsiinoi poverkhni lystia horokhu zalezno vid rivnia mineralnoho zhyvlennia ta inokuliatsii nasinnia [Formation of assimilation leaf surface peas depending on the mineral nutrition and inoculation seed]. Technical and technological aspects of the development and testing of new techniques and technologies for agriculture Ukraine, 20 (34), P. 364-371.

6. Kalenska, S. M. Novytska, N. V., Andriiets, D. V., Kholodchenko R. M. (2010). Vykorystannia biolohichno-aktyvnykh preparativ na osnovi nanorozmirnykh chastynok metaliv v tekhnolohii vyroshchuvannia soi . [The use of biologically-active drugs based on nanosized particles of metals in soybean growing technology]. Journal of Kharkov NAU: Biology, 2, 24-32.

7. Kalenska, S. M., Netupska, I. T., Novytska, N. V. (2012). Formuvannia vrozhaiu nutu pid vplyvom elementiv tekhnolohii vyroshchuvannia [Formation chickpea crop under the influence of growing technology elements]. Journal of Poltava State Agrarian Academy. 2, 21–25.

8. Kalenska, S. M., Lopatko, K. H., Novytska, N. V. (2011). Efektyvnist zastosuvannia biohennykh metaliv ta bioaktyvnykh preparativ pry vyroshchuvanni soi. [The effectiveness of nutrient metals and bioactive agents in growing soybeans]. Naukovi dopovidi NULES. Available at: http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_5/11.

9. Volkohon, V. V. ed. (2006). Mikrobni preparaty v zemlerobstvi. Teoriia i praktyka. [Microbial preparations in agriculture. Theory and practice]. Ahrarna nauka, 312.

10. Pylypenko, V. S. (2016). Formuvannia ta symbiotychna aktyvnist bulbochkovykh bakterii roslyn horokhu vusatoho v Lisostepu Ukrainy [Formation and symbiotic activity of nodule bacteria of leafless pea plants at the territory of the forest – steppe of Ukraine]. Journal of Poltava State Agrarian Academy, 3 (82). P.82 - 93.

11. Taran N., Batsmanova L., Kosyk O. and other (2016) Colloidal Nanomolybdenum Influence upon the Antioxidative Reaction of Chickpea Plants (Cicer arietinum L.). Nanoscale Research Letters, T. 11(1), 476-480.

12. Shibairo Solomin I. (2012). Effect of Rhizobium inoculation and nitrogen fertilizer application on growth, nodulation and yield of two garden pea genotypes. Jour: Anim and Plant Sciences, 15(2), 2147-2156.

13. Stauss, R., Bleiholder, H., Van Den Boom, T., Buhr, L., Hack, H., Hess, M., Klose, R., Meier, U. und Weber E. (1994). Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. Erweiterte BBCH-Skala: Allgemein. Ciba-Geigy AG, Basel, 58.

СИМБІОТИЧНА АКТИВНІСТЬ БУЛЬБОЧКОВИХ БАКТЕРІЙ РОСЛИН ГОРОХУ В ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

В. С. Пилипенко, Л. М. Гончар

Анотація. Наведені основні результати дослідження, проведені в північній частині Правобережного Лісостепу України протягом 2014-2016 рр. на чорноземі типовому. Встановлено, що сортові особливості культури, передпосівна обробка насіння ризогуміном та удобрення, мали позитивний вплив на формування кількості і маси бульбочок у рослин гороху. Найбільш сприятливі умови для формування симбіотичного апарату створюються за поєднання посівної інокуляції насіння з внесенням мінеральних добрив у варіанті $K_1 + N_{10}P_{10}$ ВВСН13-19 + $N_{10}P_{10}$ ВВСН55-59 + $N_{10}P_{10}$ ВВСН61-65. На фоні внесення мінеральних добрив $N_{30}P_{90}K_{90}$ посилюється формування та продуктивність симбіотичного апарату рослин гороху. Вказаний рівень мінерального живлення є ефективним і за сівби насінням, яке не підлягало інокуляції. Внесення високих рівнів мінерального азоту негативно впливає на симбіотичний зв'язок між рослинами гороху і бульбочковими бактеріями.

Ключові слова: сорт, горох, бульбочкові бактерії, інокуляція насіння, удобрення.

СИМБИОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ РАСТЕНИЙ ГОРОХА В ЛЕСОСТЕПИ УКРАИНЫ

В. С. Пилипенко, Л. М. Гончар

Аннотация. Приведены основные результаты исследования, сделаны в северной части Правобережной Лесостепи Украины в течение 2014-2016 гг. на черноземе типичном. Установлено, что сортовые особенности культуры, предпосевная обработка семян ризогумином и удобрения, положительно повлияли на формирование количества и массы клубеньков у растений гороха. Наиболее благоприятные условия для формирования симбиотического аппарата создаются в сочетании посевной инокуляции семян с внесением минеральных удобрений в варианте $K_1 + N_{10}P_{10}$ ВВСН13-19 + $N_{10}P_{10}$ ВВСН55-59 + $N_{10}P_{10}$ ВВСН61-65. На фоне внесения минеральных удобрений $N_{30}P_{90}K_{90}$ усиливается формирования и производительность симбиотического аппарата растений гороха. Указанный уровень минерального питания является эффективными и при посеве семенами, которое не подлежало инокуляции. Внесение высоких уровней минерального азота отрицательно влияет на симбиотическую связь между растениями гороха и клубеньковыми бактериями.

Ключевые слова: сорт, горох, клубеньковые бактерии, инокуляция семян, удобрения.