

## ВПЛИВ ПРОТРУЙНИКІВ НАСІННЯ НА ФОРМУВАННЯ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНИХ СИСТЕМ СОЇ ЗІ СТІЙКИМИ ДО ФУНГІЦИДІВ РИЗОБІЯМИ

**К. П. КУКОЛ**, кандидат біологічних наук, науковий співробітник

<https://orcid.org/0000-0002-2889-9957>

E-mail: [katerinakukol@gmail.com](mailto:katerinakukol@gmail.com)

**Н. А. ВОРОБЕЙ**, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник

<https://orcid.org/0000-0002-6039-5409>

E-mail: [n-vorobey@ukr.net](mailto:n-vorobey@ukr.net)

**П. П. ПУХТАЄВИЧ**, кандидат біологічних наук, науковий співробітник

<https://orcid.org/0000-0002-6179-6239>

E-mail: [azotfixation@gmail.com](mailto:azotfixation@gmail.com)

**С. Я. КОЦЬ**, доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН

України, провідний науковий співробітник

<https://orcid.org/0000-0002-3477-793X>

E-mail: [azot@ifrg.kiev.ua](mailto:azot@ifrg.kiev.ua)

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України*

<https://doi.org/10.31548/dopovidi2022.01.003>

**Анотація.** Високою біологічною та господарською ефективністю характеризується застосування у технологіях вирощування сої бактеріальних добрив, виготовлених на основі активних, конкурентоздатних штамів мікроорганізмів-азотфіксаторів і протруйників фунгіцидної дії для передпосівної обробки насіння. У зв'язку із цим актуальним є пошук таких композицій хімічних і мікробних препаратів, за комплексного використання яких буде збережено їх основні властивості. Тому метою нашої роботи було дослідити процеси формування та функціонування симбіотичних систем сої із стійкими у чистій культурі до фунгіцидів бульбочковими бактеріями *Bradyrhizobium japonicum* PC09 і B144 за впливу протруйників Стандак Топ і Февер.

У результаті проведених досліджень встановлено відмінності у дії хімічних засобів захисту рослин на формування симбіотичних систем сої сорту Алмаз та азотфіксуючих мікроорганізмів. Виявлено зниження кількості сформованих на коренях бульбочок упродовж вегетації сої за комбінованого застосування Феверу з бактеризацією ризобіями штаму PC09 на 9,2–24,1 %. За інокуляції насіння Tn5-мутантом B144 на фоні застосування цього ж препарату зменшення досліджуваного показника порівняно із контрольними рослинами становило 6,5–32,8 %. Встановлено підвищення маси кореневих бульбочок на 10,3–36 % за дії Стандак Топу та бактеризації обома штамами ризобій. Відмічено зниження інтенсивності асиміляції N<sub>2</sub> порівняно з рослинами контролю на 24,2 та 42,3 % у фазу трьох справжніх листків за комплексного

Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

застосування Феверу з інокуляцією і поступове зменшення токсичної дії пестициду на функціонування симбіотичних систем у фазу бутонізації-початку цвітіння. За сумісної обробки насіння ризобіями штамів В144 і РС09 та Стандак Топом виявлено підвищення інтенсивності азотфіксації на 6,2–25 % у фазу трьох справжніх листків, 12,5–58 % у фазу бутонізації-початку цвітіння та на 28,1–42,3 % у фазу утворення бобів. Збереження високого рівня нітрогеназної активності бобово-ризобіального симбіозу, сформованого за участю стійких до пестицидів штамів бульбочкових бактерій на фоні застосування протруйників, дозволить забезпечити рослини доступними формами азоту, захист висіяного насіння від ґрунтової та насінневої інфекцій та створить передумови для підвищення зернової продуктивності сої.

**Ключові слова:** соя, фунгіциди, інокуляція, протруювання насіння, кількість і маса бульбочок, азотфіксувальна активність

**Актуальність.** Соя є однією з найцінніших сільськогосподарських культур світового землеробства. Її унікальний хімічний склад в якому поєднано високий вміст білка, жиру, вуглеводів, ферментів, вітамінів та мінеральних речовин, доповнюється здатністю у симбіозі з бульбочковими бактеріями асимілювати молекулярний азот [1].

Широке використання біологічної фіксації  $N_2$  у практиці сучасного агропромислового виробництва – це безальтернативний шлях забезпечення рослин азотом, який не порушує екологію природного середовища. Тому обробка насіння бобових культур бактеріальними препаратами, виготовленими на основі вискоєфективних штамів мікроорганізмів-азотфіксаторів є одним із важливих агротехнічних прийомів у технологіях їх вирощування [2].

Важливою складовою отримання стабільно високих врожаїв зерна сої є

захист посівів від збудників хвороб на всіх етапах органогенезу. З подальшим зростанням посівних площ під соєю та інтенсифікацією сільського господарства можна очікувати збільшення ураження цієї культури хворобами, особливо за сприятливих погодних умов [3]. Високу ефективність у захисті рослин від патогенів різної етіології має протруювання насіння хімічними препаратами фунгіцидної дії [4].

Враховуючи економічну і практичну сторони доцільності суміщення процесів бактеризації та протруювання посівного матеріалу, актуальними є дослідження впливу хімічних засобів захисту рослин (ЗЗР) на формування та функціонування симбіотичних систем соя – *Bradyrhizobium japonicum*.

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** У багатьох країнах світу передпосівне протруювання насіння інсекто-фунгіцидними препаратами набуло значного поширення у зв'язку з тим, що за такого способу

Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

застосування норми витрат пестицидів на порядок менші, ніж при обприскуванні рослин. При цьому така обробка забезпечує захист насіння від комплексу шкідливих організмів у період проростання і сприяє збереженню густоти посіву [5].

Після потрапляння пестицидів у ґрунт там проходять процеси розпаду їх молекул, характер і швидкість яких залежить від хімічної природи препаратів, а також від водно-фізичних характеристик середовища. Розрізняють небіотичний та біотичний розпад пестицидів у ґрунті. При чому небіотичний відбувається за рахунок гідролізу і регулюється показником рН середовища, його температури, вологості та мінерального складу [6].

Значна увага в наш час у світі приділяється вивченню впливу протруйників насіння на мікроорганізми-біоагенти мікробних препаратів. У літературі є експериментальні дані про відсутність токсичного впливу Фундазолу і Гезагарду на формування та функціонування симбіозу рослин гороху (*Pisum sativum* L.) і вики (*Vicia sativa* L.) із комплементарними їм ризобіями, що свідчить про можливість сумісного застосування інокулянтів і хімічних ЗЗР у технологіях вирощування вказаних культур [7]. У дослідженнях із визначення впливу ряду фунгіцидів, гербіцидів та інсектицидів на

функціонування симбіозу ризобій з рослинами квасолі (*Phaseolus vulgaris* L.) виявлено, що залучені у роботу сполуки карбарил, діазинон, дікофол, малатіон, ендосульфат, фенвалерат, беноміл, каптан, манеб, тіабендазол, гідроокис міді, трифлураніл, бентазон, діносеб, алахлор та ін. не мали негативного впливу на рівень фіксації азоту кореневими бульбочками за винятком бентазону, який належить до післясходових гербіцидів. Однак, і у рослин цього варіанту інтенсивність асиміляції N<sub>2</sub> через 6 діб після застосування бентазону була на рівні контрольних рослин [8].

Доведено ефективність комплексного застосування протруйників ТМТД, Скарлет, Максим, Фундазол із мікробними препаратами. При цьому обробку насіння ТМТД доцільно проводити завчасно (за 1,5 місяці до посіву), Фундазол, Скарлет або Максим застосовують за 3–5 діб, а бактеризують насіння безпосередньо у день посіву. Такі обробки дозволять захистити рослини на початкових етапах росту і розвитку від фітопатогенів, зберегти азотфіксуючу активність бульбочкових бактерій і підвищити урожайність зерна на 10–20 % [9]. Високий захисний і господарський ефект досягався також при застосуванні комбінованої обробки з використанням хімічного протруйника Максим XL 035 FS та

Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

біологічного препарату, виготовленого на основі *B. japonicum* УКМ В-6023 [10].

Згідно даних Zilli J.E. [11] зі співавторами, обробка насіння сої фунгіцидами на основі карбендазиму і тираму є несумісною з інокуляцією *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587, що виражається у пригніченні нодуляційної активності ризобій і зменшенні урожаю зерна. При цьому не було відмічено негативного впливу протруйника на кількість симбіотичних утворень і асиміляцію ними азоту у варіантах з інокуляцією насіння сої *B. japonicum* SEMIA 5079 та SEMIA 5080, що свідчить про можливість добору композицій фунгіциду і бульбочкових бактерій, при застосуванні яких азотфіксувальна активність не зменшується.

Необхідно також враховувати, що результати лабораторного тестування штамів на резистентність до фунгіцидів не завжди корелюють з їх ефективністю при формуванні бобово-ризобіальних систем за умов застосування хімічних ЗЗР. Тому **мета роботи** – дослідити процеси формування та функціонування симбіотичних систем сої зі стійкими у чистій культурі до пестицидів штамми бульбочкових бактерій за впливу протруйників насіння.

**Матеріали і методи досліджень.** Вегетаційний дослід проводили з рослинами сої (*Glycine max* (L.) Merr.) сорту Алмаз, що

занесений до Реєстру сортів рослин України з 2007 року, є ранньостиглим, має нейтральну фотоперіодичну реакцію та рекомендований для вирощування у Лісостепу [12].

У дослідженні використовували протруйники з різними діючими речовинами:

1) Стандак Топ т. к. (BASF, Німеччина) – протруйник для контролю основних хвороб та шкідників сої з діючими речовинами: фіпроніл, 250 г/л + тіофанат-метил, 225 г/л + піраклостробін, 25 г/л; норма витрати препарату складає 1–2 л/т, робочого розчину – 10 л/т насіння;

2) Февер т. к. с. (Bayer CropScience AG, Німеччина) – протруйник із активною діючою речовиною протіокназол, 300 г/л; норма витрати препарату становить 0,2–0,4 л/т, робочого розчину – 10 л/т насіння [13].

Після обробки насіння протруйниками через 1 годину його інокулювали (упродовж 60 хвилин) суспензією клітин штаму *B. japonicum* PC09 та Tn5-мутантом B144, отриманим методом транспозонового мутагенезу *B. japonicum* 646 з *Escherichia coli* S17-1, що містить плазмиду pSUP5011::Tn5mob.

Схема досліду включала такі варіанти передпосівної обробки насіння сої:

- 1) *B. japonicum* PC09;
- 2) Стандак Топ + *B. japonicum* PC09;
- 3) Февер + *B. japonicum* PC09;

Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

4) *B. japonicum* B144;

5) Стандак Топ + *B. japonicum* B144;

6) Февер + *B. japonicum* B144.

Залучені у роботу штамми *B. japonicum* PC09 та B144 із колекції азотфіксуючих мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України за результатами проведених нами лабораторних дослідів проявили стійкість до фунгіцидів у чистій культурі [14].

Сою вирощували по 10 рослин у 15-ти кілограмових пластикових посудинах за природного освітлення та оптимального (60% ПВ) водозабезпечення на спеціально обладнаному майданчику ІФРГ НАН України. У якості субстрату для вирощування рослин використовували річковий пісок. Джерелом мінерального живлення була поживна суміш Гельрігеля [15]. Обробку насіння протруйниками та інокулянтами здійснювали у день посіву. Робочі розчини хімічних препаратів готували згідно рекомендацій виробників. Титр клітин бульбочкових бактерій *B. japonicum* у мікробному препараті становив  $10^9$  кл/мл. У контролі інокульоване насіння не обробляли хімічними ЗЗР. Повторність у варіантах досліду шестиразова.

Нодуляційну здатність бульбочкових бактерій оцінювали за кількістю та масою корневих бульбочок, азотфіксувальну активність (АФА) – ацетиленовим

методом [16] на газовому хроматографі «Agilent GC System 6850» (США) з полуменево-іонізаційним детектором. Розділення газів проводили за температури термостата 55°C і детектора – 150°C. Газом-носієм був гелій (20 мл за 1 хвилину). Об'єм аналізованої проби газової суміші становив 1 см<sup>3</sup>. Вимірювання показників АФА проводили у 5-кратній повторності. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали із залученням пакету програм Microsoft Excel 2019. У таблицях наведено середньоарифметичні дані та їх стандартні похибки.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Бульбочкові бактерії проникають у корінь рослини-хазяїна через кореневі волоски. У коренях ризобії значно збільшуються у розмірах та перетворюються на особливі симбіотичні форми – бактероїди. Навколо них формуються капсули з рослинної тканини і утворюються бульбочки здатні на фіксувати молекулярний азоту [2].

У результаті проведеного досліду, згідно схеми якого здійснювали інокуляцію насіння бульбочковими бактеріями двох штамів на фоні протруєння, було встановлено, що бульбочки на коренях сої сорту Алмаз утворилися на рослинах усіх варіантів, проте їх кількість та маса істотно відрізнялися



Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

залежно від впливу діючих речовин пестицидів (рис. 1).



**Рис. 1. Бульбочки на коренях сої сорту Алмаз інокульованої *B. japonicum* B144 за обробки насіння протруйниками: А – контроль (без хімічних ЗЗР); Б – Стандак Топ; В – Февер (фаза трьох справжніх листків).**

Згідно отриманих результатів, незалежно від використаного для інокуляції штаму *B. japonicum*, за впливу протіоконазолу, що є діючою речовиною Феверу, кількість бульбочок на коренях сої була меншою порівняно з рослинами інших варіантів дослідження впродовж усієї вегетації. При формуванні симбіозу між рослинами сої сорту Алмаз та бактеріями *B. japonicum* PC09 кількість бульбочок за дії Феверу була меншою порівняно з рослинами у контрольному варіанті на 24,1 % (фаза трьох справжніх листків), 23,9 % (бутонізація-початок цвітіння) та 9,2 % (утворення бобів); у варіанті з інокуляцією насіння сої штамом B144 зазначений препарат спричинив зменшення кількості бульбочок на 32,8, 6,5 та 20 % відповідно. Як наслідок, маса

кореневих бульбочок сформованих штамми *B. japonicum* PC09 та B144 зменшилася у фазу трьох справжніх листків на 13,8 та 26,3 %, у фазу бутонізації-початку цвітіння – на 34,6 % і 21,0 %. Лише у фазу утворення бобів маса кореневих бульбочок у рослин, інокульованих культурами PC09 та B144 на фоні протруювання Февером перевищила аналогічний показник у контрольних рослин.

Інноваційний протруйник Стандак Топ чинив менш виражений токсичний вплив на формування бобово-ризобіального симбіозу порівняно з Февером. Так, у варіанті з протруюванням Стандак Топом та бактеризацією насіння сої *B. japonicum* PC09 у фазу трьох справжніх листків кількість бульбочок на коренях у рослин була

Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

на 11,9 % меншою порівняно з контрольними. Надалі впродовж вегетації відмічено перевищення кількості кореневих бульбочок за дії Стандак Топу порівняно з показниками контрольних рослин на 7,1 % у фазу бутонізації-початку цвітіння та на 64,4 % у фазу утворення бобів.

У варіанті з бактеризацією насіння сої транспозоновим мутантом В144 дія протруйника Стандак Топ не

призводила до зменшення кількості корневих бульбочок у рослин. Встановлено збільшення маси бульбочок за використання цього протруйника та бактеризації насіння обома штамми ризобій РС09 та В144 відповідно на 10,3 і 21,2 % у фазу трьох справжніх листків, 18,1 і 19,6 % у фазу бутонізації-початку цвітіння та на 17,7 і 36 % у фазу утворення бобів (табл. 1).

### 1. Загальна кількість і маса бульбочок на коренях рослин сої сорту Алмаз за обробки протруйниками та інокуляції *B. japonicum* РС09 і В144 (у розрахунку на 1 рослину)

| Варіант                    | Штам-інокулянт           | Фаза розвитку рослин:   |             |                              |             |                 |             |
|----------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------|------------------------------|-------------|-----------------|-------------|
|                            |                          | трьох справжніх листків |             | бутонізації-початку цвітіння |             | утворення бобів |             |
|                            |                          | к-ть, шт                | маса, г     | к-ть, шт                     | маса, г     | к-ть, шт        | маса, г     |
| Контроль (без протруйника) | <i>B. japonicum</i> РС09 | 27,0±1,6                | 0,116±0,006 | 28,0±2,1                     | 0,171±0,010 | 16,3±1,0        | 0,305±0,012 |
| Стандак Топ                |                          | 23,8±1,2                | 0,128±0,008 | 30,0±1,6                     | 0,202±0,011 | 26,8±1,5        | 0,359±0,019 |
| Февер                      |                          | 20,5±1,0                | 0,100±0,004 | 21,3±1,5                     | 0,112±0,006 | 14,8±0,96       | 0,325±0,013 |
| Контроль (без протруйника) | <i>B. japonicum</i> В144 | 29,0±1,5                | 0,137±0,006 | 30,1±1,8                     | 0,204±0,010 | 25,0±1,2        | 0,275±0,015 |
| Стандак Топ                |                          | 30,0±2,0                | 0,166±0,007 | 34,5±2,5                     | 0,244±0,014 | 32,0±2,0        | 0,374±0,021 |
| Февер                      |                          | 19,5±0,9                | 0,101±0,005 | 29,0±1,6                     | 0,193±0,011 | 20,0±1,0        | 0,293±0,016 |

На підставі отриманих результатів з'ясовано, що рослини сої сорту Алмаз, інокульовані бульбочковими бактеріями *B. japonicum* РС09 та В144 за дії протруйників відрізнялися за інтенсивністю азотфіксації. На фоні обробки рослин Стандак Топом інтенсивність асиміляції N<sub>2</sub>

бульбочок сої сформованих РС09 та В144 перевищувала показники контрольних рослин протягом усього періоду досліджень (табл. 2).

На фоні обробки насіння Февером навпаки відмічено зниження показників АФА бульбочок сої сформованих за участю штамів РС09 та В144 відповідно на 24,2 і 42,3 % у

Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

фазу трьох справжніх листків і на 15,6 % та 11,4 % у фазу бутонізації-початку цвітіння у порівнянні з контрольними рослинами, що обумовлено меншою масою бульбочок у рослин цих варіантів досліду (табл. 1).

У фазу утворення бобів найвищою азотфіксувальною

активністю (4,81 та 5,92 мкмоль  $C_2H_4$ /(росл•год)) характеризувалися симбіотичні системи сої сформовані за участю *B. japonicum* PC09 на фоні застосування протруйників. У рослин варіанту з бактеризацією B144 найвищий рівень АФА відмічено на фоні обробки Стандак Топом (табл. 2).

## 2. Азотфіксувальна активність рослин сої (мкмоль $C_2H_4$ /(росл•год)) за обробки протруйниками та інокуляції *B. japonicum* PC09 і B144

| Варіант                    | Штам-інокулянт           | Фаза розвитку рослин:   |                                |                 |
|----------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------------|-----------------|
|                            |                          | трьох справжніх листків | бутонізації - початку цвітіння | утворення бобів |
| Контроль (без протруйника) | <i>B. japonicum</i> PC09 | 2,64±0,15               | 4,24±0,20                      | 3,38±0,13       |
| Стандак Топ                |                          | 3,30±0,17               | 6,70±0,31                      | 4,81±0,25       |
| Февер                      |                          | 2,00±0,06               | 3,58±0,22                      | 5,92±0,28       |
| Контроль (без протруйника) | <i>B. japonicum</i> B144 | 3,05±0,11               | 3,60±0,20                      | 2,92±0,16       |
| Стандак Топ                |                          | 3,24±0,09               | 4,05±0,19                      | 3,74±0,24       |
| Февер                      |                          | 1,76±0,07               | 3,19±0,16                      | 2,32±0,14       |

Зниження активності симбіотичного апарату у фазу утворення бобів можна пояснити тим, що в цей період уповільнюється процес фотосинтезу і надходження поживних речовин до кореневої системи. У бобах, які утворюються, накопичуються пластичні речовини, при цьому в самій рослині міститься значний запас азоту і вільних амінокислот, які в подальшому при необхідності можуть реутилізуватися у боби [17].

Дослідники вивчаючи вплив передпосівної обробки насіння сої фунгіцидами Максим XL 035 FS і Стандак Топ на процеси нодуляції,

азотфіксації та інтенсивність виділення етилену у різних за ефективністю симбіотичних системах на ранніх етапах онтогенезу встановили, що, незалежно від ефективності соєво-ризобіального симбіозу, найвищий рівень виділення етилену рослинами спостерігається у фази примордіальних листків та першого справжнього листка, що пов'язано із закладкою бульбочкових примордіїв та активним формуванням бульбочок на коренях сої. Таким чином, за дії фунгіцидів відбуваються зміни синтезу етилену рослинами сої, а також процесів нодуляції та азотфіксації, які залежать від



Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

здатності бобово-ризобіальних систем реалізувати свій симбіотичний потенціал за відповідних умов вирощування [18].

В останні роки для передпосівної обробки насіння сої все ширше використовуються протруйники нового покоління [13, 19]. Із метою всебічного вивчення можливості сумісного застосування нових штамів ризобій сої та інноваційних препаратів із різними діючими речовинами були проведені численні дослідження. Зокрема, оцінено вплив протруйників Віалтраст, Фундазол, Максим, Скарлет у виробничих нормах і стимуляторів ЕкоЛарікс, Арабіногалактан, Дигідрокверцетин, Премікс у концентрації 10 мг/л на інтенсивність росту штриха чистих культур бульбочкових бактерій двох видів *Bradyrhizobium japonicum* і *Sinorhizobium fredii*. В цілому, колекційні штами *S. fredii* виявилися більш стійкими до досліджуваних препаратів, ніж штами повільнорослих *B. japonicum*. Залучені у роботу препарати з фунгіцидним ефектом не чинили бактерицидної дії на життєздатність клітин бульбочкових бактерій. Автори дійшли висновку, що біологічні препарати ЕкоЛарікс, Арабіногалактан, Дигідрокверцетин, Премікс, які мають стимулюючу дію на ріст і розвиток рослин, можна вводити до складу поживних середовищ культивування ризобій

різних видів або використовувати для комплексних обробок насіння [19].

Вітчизняними науковцями встановлено, що обробка насіння сої фунгіцидами Стандак Топом і Февером у день посіву з подальшою інокуляцією бульбочковими бактеріями *B. japonicum* 643б суттєво пригнічувала функціонування симбіотичного апарату у фазі бутонізації (на 55 та 62 %) та масового цвітіння (на 46 та 51 %). Окрім цього було виявлено дисбаланс у синтезі зелених фотосинтетичних пігментів та каротиноїдів, а також у їх співвідношенні у першу половину вегетації сої, який практично вирівнявся до рівня контрольних рослин у фазу масового цвітіння і характеризувався дещо зниженим вмістом хлорофілу *a* (на 15 та 7 %), хлорофілу *b* (на 10 та 4 %) та каротиноїдів (на 11 та 8 %) [20]. Тобто, літературні дані та отримані нами результати підтверджують думку про наявність залежності між інтенсивністю токсичного впливу пестицидів на рослинно-мікробну взаємодію від властивостей біологічних об'єктів та застосованих хімічних речовин, а також вказують на роль адаптаційної здатності бобово-ризобіального симбіозу до дії цього антропогенного фактору.

Досліджуючи ефективність інокуляції сої бактеріальними препаратами на основі *B. japonicum* із додаванням альгілату та обробкою фунгіцидами з діючими речовинами

Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

карбендазим і флудіоксоніл, науковці виявили зниження життєздатності ризобій уже через добу після обробки посівного матеріалу. При цьому флудіоксоніл проявив більш сильний інгібуючий вплив на ризобії порівняно з карбендазимом. Крім того, було показано, що альгінат сприяє прилипанню до насіння сої біопрепарату на твердому носії та захисту бактерій, зменшуючи токсичну дію фунгіциду на мікроорганізми. Враховуючи отримані дані, дослідники припускають, що застосування полімерів у інокулянтах є перспективною альтернативою зменшенню негативного впливу фунгіцидів на життєздатність бактерій-азотфіксаторів [21]. Таким чином, вплив пестицидів на формування та функціонування бобово-ризобіального симбіозу в кожному окремому випадку залежить від діючих речовин препаратів, наявності додаткових речовин протекторної дії в їх складі та властивостей штамів бульбочкових бактерій, якими інокують насіння. Окрім цього, перед застосуванням

пестицидів у виробничих умовах важливо проаналізувати наявні дані щодо їх стійкості у навколишньому середовищі та впливу на корисну мікробіоту.

**Висновки і перспективи.** На підставі отриманих результатів в умовах вегетаційних дослідів встановлено, що для забезпечення високих показників азотфіксувальної активності рослинами сої доцільно здійснювати протруєння насіння препаратами Стандак Топ і Февер сумісно з бактеризацією стійкими до пестицидів бульбочковими бактеріями *B. japonicum* PC09 або обробку посівного матеріалу препаратом Стандак Топом із інокуляцією *B. japonicum* B144. Застосування комплексного, науково та практично обґрунтованого добору селекціонованих мікроорганізмів-азотфіксаторів для виготовлення бактеріальних добрив і протруйників із різними діючими речовинами у їх складі, дозволить суттєво зменшити токсичний вплив хімічно синтезованих сполук на формування та функціонування бобово-ризобіальних симбіотичних систем.

### Список використаних джерел

1. Kulkarni K.P., Tayade R., Asekova S., Song J.T., Shannon J.G., Lee J.D. Harnessing the potential of forage legumes, alfalfa, soybean, and cowpea for sustainable agriculture and global food security. *Frontiers in plant science*, 2018. 9, 1314. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01314>
2. Коць С.Я., Воробей Н.А., Кириченко О.В. та ін. Мікробіологічні

препарати для сільського господарства. Інститут фізіології рослин і генетики НАН України. Київ: Логос, 2016. 48 с.

3. Поспелова Г.Д., Коваленко Н.П., Нечипоренко Н.І., Кочерга В.Я. Вплив агрокліматичних факторів на розвиток основних хвороб сортів сої. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*. 2020. 3(107). С. 45–52. DOI: 10.31521/2313-092X/2020-3(107)

Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

4. Munkvold G.P., Watrin C., Scheller M., Zeun R., Olaya G. (2014) Benefits of Chemical Seed Treatments on Crop Yield and Quality. In: Gullino M., Munkvold G. (eds) *Global Perspectives on the Health of Seeds and Plant Propagation Material. Plant Pathology in the 21st Century (Contributions to the 9th International Congress)*, vol 6. *Springer*, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-94-017-9389-6\_7
5. Трибель С.О., Стригун О.О. Захист рослин – реальний напрям збільшення виробництва рослинницької продукції. *Захист і карантин рослин*. 2013. 59. С. 324–336.
6. Садовникова Л.К., Орлов Д.С., Лозановская И.Н. Экология и охрана окружающей среды при химическом загрязнении. Москва: *Высшая школа*, 2006. 334 с.
7. Сафронова Г.В., Суховицкая Л.А. Короленок Н.В. Влияние инокулянтов и пестицидов на развитие бобово-ризобияльного симбиоза и продуктивность зернобобовых растений. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2007. № 5. С. 61–73.
8. Schnelle M.A., Hensley D.L. Effects of pesticides upon nitrogen fixation and nodulation by dry bean. *Pest Management Science*. 1990. Т. 28. №. 1. Р. 83–88. <https://doi.org/10.1002/ps.2780280110>
9. Борзенкова Г.А. Оптимизация технологии предпосевного протравливания и возможность его сочетания с инокуляцией для защиты сои от семенной инфекции. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2014. 1 (9). С. 22–30.
10. Миколаєвський В.П., Сергієнко В.Г., Титова Л.В. Розвиток хвороб та продуктивність сої різних сортів за обробки насіння мікробними препаратами. *Агробіологія*. 2016. 2. С. 96–103.
11. Zilli J.É., Ribeiro K.G., Campo R.J., Hungria M. Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2009. 33(4). Р. 917–923. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000400016>
12. Білявська Л.Г., Білявський Ю.В. Новий ранньостиглий сорт сої Алмаз. Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2007. № 2. С. 56–57.
13. Ящук В.У., Іванов Д.В., Кривошея Р.М., Цибульняк Ю.О., Корецький А.П. Перелік пестицидів і агрохімікатів дозволених до використання в Україні. Київ: *Юніверс Медіа*, 2018. 1040 с.
14. Воробей Н.А., Кукол К.П., Коць С.Я. Оцінка токсичності впливу фунгіцидів на бульбочкові бактерії *Bradyrhizobium japonicum* у чистій культурі. *Мікробіол. журн*. 2020. Т. 82, № 3. С. 45–54. doi: 10.15407/microbiolj82.03.045
15. Гродзинский А.М., Гродзинский Д.М. Краткий справочник по физиологии растений. Киев: *Наук. Думка*, 1964. 388 с.
16. Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K., Burns R.C. The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub>fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol*. 1968. 42, N 8. Р. 1185–1207. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>
17. Kaur S., Kaur G. Morphological and physiological aspects of symbiotic plant–microbe interactions and their significance. *Root Biology*. 2018. Р. 367–407. *Springer*, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-75910-4\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-319-75910-4_15)
18. Mamenko T.P., Kots S.Ya., Khomenko Y.O. The intensity of ethylene release by soybean plants under the influence of fungicides in the early stages of legume-rhizobial symbiosis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2020. 11, No 1. Р. 98–104. <https://doi.org/10.15421/022014>
19. Якименко М.В., Бегун С.А., Сорокина А.И. Совместимость коллекционных штаммов ризобий сои с фунгицидами и ростстимулирующими препаратами. *Дальневосточный аграрный вестник*. 2016. 2 (38). С. 38–41.
20. Кириченко Е., Павлице А., Омельчук С., Жемойда А., Коць С. Физиологические аспекты ответа соево-ризобияльного симбиоза на действие фунгицидов Стандак Топ и Февер. *Știința Agricolă*. 2020. 2. С. 59–72. DOI: 10.5281/zenodo.4320984
21. Romero-Perdomo F.A., Camelo M., Bonilla R. Response of *Bradyrhizobium japonicum* to alginate in presence of pelleted fungicides on soybean seeds. *Revista U.D.C.A*

*Actualidad & Divulgación Científica*. 2015. 18(2). P. 359–364.

## References

1. Kulkarni, K.P., Tayade, R., Asekova, S., Song, J. T., Shannon, J.G. & Lee, J.D. (2018). Harnessing the potential of forage legumes, alfalfa, soybean, and cowpea for sustainable agriculture and global food security. *Frontiers in plant science*. 9. 1314. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01314>
2. Kots, S.Ya., Vorobey, N.A., Kyrychenko, O.V. та in. (2016). *Mikrobiolohichni preparaty dlia silskoho hospodarstva*. Instytut fiziologii roslyn i genetyky NAN Ukrainy [Microbiological preparations for agriculture. Institute of Plant Physiology and Genetics NAS of Ukraine]. Kyiv: Logos, 48 p. [in Ukrainian].
3. Pospelova, G.D., Kovalenko, N.P., Nechyporenko, N.I. & Kocherga, V.Ya. (2020). Vplyv agroklimatychnykh faktoriv na rozvytok osnovnykh khvorob sortiv soi [Influence of agroclimatic factors on the development of common soybean diseases]. *Visnyk agrarnoi nauky Prychornomia*. 3(107). p. 45-52. [in Ukrainian]. DOI: 10.31521/2313-092X/2020-3(107)
4. Munkvold, G.P., Watrin, C., Scheller, M., Zeun, R. & Olaya, G. (2014) Benefits of Chemical Seed Treatments on Crop Yield and Quality. In: Gullino M., Munkvold G. (eds) *Global Perspectives on the Health of Seeds and Plant Propagation Material*. Plant Pathology in the 21st Century (Contributions to the 9th International Congress), vol 6. Springer, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-94-017-9389-6\_7
5. Trybel, S.O. & Strygun, O.O. (2013). Zakhyst roslyn – realnyi napriam zbilshennia vyrobnytstva roslynnytskoi produktsii [Protection of plants – real trend of increasing crop production]. *Zakhyst i karantyn roslyn*. 59. p.324-336. [in Ukrainian].
6. Sadovnikova, L.K., Orlov, D.S. & Lozanovskaya, I.N. (2006). *Ekologiya i ohrana okruzhayushchey sredy pri himicheskoy zagryaznenii* [Ecology and environmental protection in case of chemical pollution]. Moskva: Vysshaya shkola, 334 p. [in Russian].
7. Safronava, G.V., Sukhovitskaya, L.A. & Karalenak, N.V. (2007). Vliyanie inokulyantov i pestitsidov na razvitie bobovo-rizobialnogo simbioza i produktivnost zernobobovykh rasteniy [The effect of inocula and pesticides on development of legume-rhizobial symbiosis and productivity of grain-legume crops]. *Silskohospodarska mikrobiolohiia*. № 5. p. 61-73. [in Russian].
8. Schnelle, M.A. & Hensley, D.L. (1990). Effects of pesticides upon nitrogen fixation and nodulation by dry bean. *Pest Management Science*. T. 28. №. 1. P. 83-88. <https://doi.org/10.1002/ps.2780280110>
9. Borzenkova, G.A. (2014). Optimizatsiya tehnologii predposevnogo protravlivaniya i vozmozhnost ego sochetaniya s inokulyatsiey dlya zaschityi soi ot semennoy infektsii [Optimization of the technology of preseeding treatment and possibility of its combination with inoculation for protection of soya against contamination with seed infection]. *Zernobobovyie i krupyanyie kulturyi*. 1(9). p. 22-30. [in Russian].
10. Mikolaievsky, V.P., Sergienko, V.G. & Tytova, L.V. (2016). Rozvytok khvorob ta produktyvnist soi riznykh sortiv za obrobky nasinnia mikrobnymi preparatamy [Diseases development and productivity of soybean at the seeds treatment by microbial formulations]. *Agrobiologiya*. 2. p. 96-103. [in Ukrainian].
11. Zilli, J.E., Ribeiro, K.G., Campo, R.J. & Hungria, M. (2009). Influence of fungicide seed treatment on soybean nodulation and grain yield. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*. 33(4). p. 917-923. <https://doi.org/10.1590/S0100-06832009000400016>
12. Biliavska, L.H. & Biliavskyi, Yu.V. (2007). Novyi rannostyhllyi sort soi Almaz [New early-style soya variety Almaz]. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahrarnoi akademii*. 2. p. 56-57. [in Ukrainian].
13. Yaschuk, V.U., Ivanov, D.V., Krivosheya, R.M., Tsibulnyak, Yu.O. & Koretskiy, A.P. (2018). *Perelik pestydydiv i agrokhimikativ dozvolenykh do vykorystannya v Ukrayini* [The list of pesticides and agrochemicals permitted for use in Ukraine]. Kyiv: Yunivest Media [in Ukrainian].
14. Vorobey, N.A., Kukul, K.P. & Kots, S.Ya. (2020). Otsinka toksychnosti vplyvu funhitsydiv na bulbochkovi bakterii *Bradyrhizobium japonicum* u chystii kulturi [Fungicides toxicity assessment on



Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

*Bradyrhizobium japonicum* nodule bacteria in pure culture]. Mikrobiol. Z., 82(3), p. 45-54. doi: 10.15407/mikrobiolj82.03.045 [in Ukrainian].

15. Grodzinskij A.M., Grodzinskij D.M. (1964). Kratkij spravocnik po fiziologii rastenij. [A short guide to plant physiology]. Kiev: Nauk. Dumka. [in Russian]

16. Hardy, R.W.F., Holsten, R.D., Jackson, E.K. & Burns, R.C. (1968). The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub>fixation: laboratory and field evaluation. Plant Physiol. 42, N 8. P. 1185-1207. <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>

17. Kaur, S. & Kaur, G. (2018). Morphological and physiological aspects of symbiotic plant-microbe interactions and their significance. In Root Biology. P. 367-407. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-75910-4\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-319-75910-4_15)

18. Mamenko, T.P., Kots, S.Ya. & Khomenko, Y.O. (2020). The intensity of ethylene release by soybean plants under the influence of fungicides in the early stages of legume-rhizobial symbiosis. Regulatory

Mechanisms in Biosystems. 11, No 1. P. 98-104. <https://doi.org/10.15421/022014>

19. Yakimenko, M.V., Begun, S.A. & Sorokina, A.I. (2016). Sovmestimost kolleksiionnyih shtammov rizobiy soii s fungitsidami i rostimuliruyuschimi preparatami [Compatibility of collection strains of soy Rhizobia with fungicides and growth stimulants]. Dalnevostochniy agrarniy vestnik. 2 (38). p. 38-41. [in Russian].

20. Kirichenko E., Pavlyshche, A., Omelchuk, S., Zhemojda, A. & Kots S. (2020). Fiziologicheskie aspekty otveta soevorizobial'nogo simbioza na dejstvie fungicidov Standak Top i Fever [Physiological aspects of the response of soybean-rhizobial symbiosis to the action of fungicides Standak Top and Fever]. *Știința Agricolă*. 2. p. 59-72. DOI: 10.5281/zenodo.4320984

21. Romero-Perdomo, F.A., Camelo, M. & Bonilla, R. (2015). Response of *Bradyrhizobium japonicum* to alginate in presence of pelleted fungicides on soybean seeds. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgaciyn Científica. 18(2). p. 359-364.

## THE INFLUENCE OF SEED DRESSINGS ON THE FORMATION AND FUNCTIONING OF SYMBIOTIC SOYBEAN SYSTEMS WITH FUNGICIDE-RESISTANT RHIZOBIA

K. P. Kukul, N. A. Vorobey, P. P. Pukhtaievyh, S. Ya. Kots

**Abstract.** The application of bacterial fertilizers, prepared on the basis of active, competitive strains of nitrogen-fixing microorganisms and fungicidal dressings for pre-sowing seed treatment in soybean cultivation technologies is characterized by high biological and economic efficiency. Therefore, it is important to find such combination of chemicals and microbial preparations, for the complex use of which will be maintained their main purpose. The aim of the work was to investigate the formation and functioning of symbiotic soybean systems with fungicide-resistant nodule bacteria *Bradyrhizobium japonicum* PC09 and B144 under the influence of Standak Top and Fever seed dressings.

Differences in the effect of chemical plant protection products on the formation of symbiotic systems of soybean variety Almaz and nitrogen-fixing microorganisms have been established. A decrease by 9.2–24.1 % in the number of nodules formed on the roots during the soybean growing season with the combined use of Fever with rhizobia bacterization of PC09 strain was revealed. At inoculation the seed with Tn5-mutant B144, use of the same preparation, the decrease of this indicator compared to control plants was 6.5–32.8 %. An increase in the weight of root nodules by 10.3–36 % was found under the effect of Standak Top and bacterization by both strains of rhizobia.



Кукол К. П., Воробей Н. А., Пухтаєвич П. П., Коць С. Я.

*There was a decrease in the intensity of  $N_2$  assimilation compared to control plants by 24.2 and 42.3 % in the stage of three true leaves with the combined use of Fever with inoculation and a gradual decrease of the toxic effect of pesticides on the functioning of symbiotic systems in the budding-flowering stage. At shared treatment of seeds with rhizobia strains B144 and PC09 and Standak Top revealed an increase in nitrogen fixation intensity by 6.2–25 % in the stage of three true leaves, 12.5–58 % in the stage of budding-beginning of flowering and by 28.1–42.3 % in the stage of bean formation. Maintaining high level of nitrogenase activity of legume-rhizobial symbiosis, formed with the participation of pesticide-resistant nodule bacteria with using of seed dressings, will provide plants with available forms of nitrogen, protect sown seeds from soil and seed infections and create conditions for grain production.*

**Keywords:** soybeans, fungicides, inoculation, seed dressing, number and weight of nodules, nitrogen-fixing activity