

**УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА**

**Кириленко Людмила Василівна**

**УДК 579.64:631.461.5: 633.31/37**

**ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ  
*RHIZOBIUM GALEGAE* – КОЗЛЯТНИК ЗА ДІЇ  
ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ**

**03.00.07 – мікробіологія**

**Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата сільськогосподарських наук**

**Умань – 2017**

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано на кафедрі екології Вінницького національного аграрного університету та у відділі фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

**Науковий керівник:** доктор біологічних наук, професор, академік НААН **Патика Володимир Пилипович**, Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, завідувач відділу фітопатогенних бактерій

**Офіційні опоненти:** доктор сільськогосподарських наук, професор, член-кореспондент НААН

**Волкогон Віталій Васильович**, Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН, директор

кандидат біологічних наук,

**Юмина Юлія Михайлівна**, ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, викладач кафедри мікробіології та імунології

Захист відбудеться «16» \_\_03\_\_ 2017 р. об 11<sup>00</sup> на засіданні спеціалізованої вченої ради К 74.844.02 в Уманському національному університеті садівництва Міністерства освіти і науки України за адресою: аудиторія 178, вул. Інститутська, 1, м. Умань, Черкаська обл.

З дисертацією можна ознайомитися у науковій бібліотеці Уманського національного університету садівництва за адресою: вул. Інститутська, 1, м. Умань, Черкаська обл., 20305.

Автореферат розіслано «14» \_\_02\_\_ 2017 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради к. с.-г. наук



Р.М. Притуляк

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Козлятник східний є надзвичайно перспективною культурою в сучасному екологічно орієнтованому сільському господарстві. Цінність його полягає не тільки у здатності до багаторічного зростання, резистентності до мінливих кліматичних умов, високому вмісті білка, вітамінів, поживних речовин, амінокислот, а й у здатності фіксувати біологічний азот великими кількостями, нагромаджуючи понад 300 кг/га його в орному шарі за вегетаційний період (І.В. Артемов та ін., 1994; В.С. Савенко, 2000; О.І. Зінченко та ін., 2001; В.П. Патика та ін., 2016).

Розв'язанню проблеми ефективності функціонування бобово-ризобіальної системи у різні часи було приділено багато уваги (В.П. Заболотна, 2001, 2004; С.Я. Коць та ін., 2010, 2011). На формування та функціонування бобово-ризобіального симбіозу величезний вплив мають абіотичні, біотичні, та антропогенні фактори зовнішнього середовища. Серед біотичних особливу роль відіграють ґрунтові мікроорганізми, зокрема, фітопатогенні гриби, бактерії, які є збудниками хвороб козлятнику. Нагромаджуючись у ґрунті, вони пригнічують ріст рослин і знижують врожайність сільськогосподарських культур (О.А. Берестецкий та ін., 1979; В.И. Билай, 1980; Р.І. Гвоздяк та ін., 2011). Проте, вплив фітопатогенних мікроорганізмів на азотфіксуючий потенціал козлятнику досліджено недостатньо.

Щоб підвищити резистентність рослин до впливу фітопатогенних мікроорганізмів потрібно досконало вивчити і зрозуміти механізм взаємодії в системі бобові рослини – бульбочкові бактерії – фітопатогенні мікроорганізми. Це дасть змогу навіть регулювати цими процесами, що значно покращить функціонування цієї системи.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Роботу виконано відповідно до угоди про творчу науково-технічну співдружність між Вінницьким національним аграрним університетом та Інститутом мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (від 24.03. 2009 р.) у межах науково-дослідної роботи відділу фітопатогенних бактерій за темами: «Моніторинг і генетична різноманітність фітопатогенних бактерій в системі органічного землеробства» (ДР № 0112U002751, 2012–2016 рр.) та «Метаболічні профілі сапрофітних бактерій родів *Pantoea* і *Pseudomonas* при формуванні асоціативних взаємодій у системах мікроорганізм – рослина» (ДР № 0112U002747, 2012–2016 рр.).

**Мета і завдання дослідження.** Мета роботи полягала у дослідженні ефективності симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник східний за дії фітопатогенних мікроорганізмів.

Відповідно до поставленої мети було визначено такі завдання:

– виділити високоефективні штами бульбочкових бактерій з кореневої системи козлятнику, вивчити їхні культурально-морфологічні властивості і вплив на ростові процеси, функціонування симбіотичного апарату та кормову і насінневу продуктивність козлятнику;

– визначити чисельність та родовий склад фітопатогенних бактерій і

грибів козлятнику, дослідити їхній вплив на процес формування бульбочок та активність симбіотичної фіксації азоту;

– вивчити взаємодію штамів *Rhizobium galegae* з фітопатогенними грибами і бактеріями, що спричиняють хвороби козлятнику;

– дослідити вплив інокуляції насіння козлятнику бульбочковими бактеріями на підвищення резистентності рослин до збудників хвороб та на амоніфікуючу і нітрифікуючу здатність ґрунту;

– дати економічну та енергетичну оцінку застосуванню передпосівної інокуляції насіння козлятнику активними штамми бульбочкових бактерій.

*Об'єкт досліджень* – дія фітопатогенних мікроорганізмів на азотфіксуючий потенціал у симбіотичній системі козлятник – бульбочкові бактерії.

*Предмет досліджень* – роль системи *Rhizobium galegae* – козлятник у підвищенні врожайності та якості і збереження високого азотфіксуючого потенціалу за дії фітопатогенних мікроорганізмів.

*Методи дослідження* – мікробіологічні, біохімічні, біотехнологічні, фізико-хімічні, статистичні, розрахунково-порівняльні – для визначення економічної та енергетичної ефективності технології вирощування козлятнику.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше визначено градацію штамів бульбочкових бактерій для створення ефективно функціонуючого бобово-ризобіального симбіозу *Rhizobium galegae* – козлятник східний за дії фітопатогенних бактерій і грибів.

Розширено уявлення про можливість формування високопродуктивної симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник східний шляхом координованої селекції макро- та мікросимбіонтів в умовах Лісостепу України.

Науково обґрунтовано та експериментально доведено, що за умов ефективної взаємодії макро- та мікросимбіонтів інокуляція насіння козлятнику активними штамми ризобій сприяє підвищенню урожайності та резистентності рослин до збудників хвороб.

Виділено новий штам *Rhizobium galegae* П2, який за впливом на ефективність приросту зеленої маси козлятнику східного та її якість значно перевершував виробничий штам *Rhizobium galegae* CIAM 0703 і еталонний штам *Rhizobium galegae* МС-1 №159.

**Практичне значення одержаних результатів.** До макросимбіонту козлятнику (*Galega orientalis* Lam.) підібрано комплементарний йому високоактивний штам *Rhizobium galegae* П2, який захищено патентом України (№ 95714, 2015 р.). Доведено можливість застосування цього штаму для підвищення урожайності насіння і поліпшення його якості за дії фітопатогенних мікроорганізмів. Отримані дані є потенційно важливими для скринінгу вискоефективних штамів бульбочкових бактерій в процесі створення мікробних препаратів для рослинництва.

Основні результати досліджень хвороб козлятнику східного, заходів захисту його від фітопатогенних мікроорганізмів та застосування біологічно

активних препаратів природного походження використано у методичних рекомендаціях «Хвороби козлятнику східного: моніторинг, діагностика, профілактика», Вінниця, 2016. Результати дисертації рекомендовано використовувати при викладанні курсів «Фітопатологія», «Бактеріози рослин», «Біологічні методи захисту рослин», «Загальна мікробіологія» тощо у вищих навчальних закладах сільськогосподарського та біологічного профілю.

Основні результати наукових досліджень пройшли у 2014–2015 рр. виробничу перевірку в господарствах Оратівського району Вінницької області: СФГ «Надія М.В.» на площі 25 га, у СФГ «Ескіт» – на площі 23 га та у ТОВ «Скоморошківське» – на площі 35 га. Впроваджена технологія вирощування козлятнику забезпечила приріст урожаю 4,5 т/га, 4,2 і 5,3 т/га відповідно.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є самостійною роботою автора. Здобувачем самостійно проаналізовано відповідну наукову літературу, розроблено програми досліджень, сплановано і проведено лабораторні, вегетаційні та польові дослідження, здійснено фенологічні спостереження. Експериментальні дослідження, статистичне оброблення одержаних результатів, підготовку наукових праць до друку, формулювання висновків проведено за безпосередньої участі здобувача під керівництвом д.б.н., професора, академіка НААН В.П. Патики, якому автор висловлює особливу подяку.

Вивчення культурально-біохімічних властивостей фітопатогенних бактерій, грибів та їхню ідентифікацію проведено спільно із співробітниками відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України д.б.н. Л.А. Пасічник і провідним інженером Н.В. Житкевич, за що автор висловлює їм щирі подяки.

Дослідження нових штамів *Rhizobium galegae* проведено спільно з д.б.н., професором, чл.- кор. НАН України С.Я. Коцем, якому автор щиро вдячна.

Ефективність нових штамів у вегетаційних і польових умовах визначено спільно з к.с.-г.н. Ю.М. Шкатулою, за що автор висловлює йому щирі подяки.

Висловлюємо щирі подяки к.с.-г.н. В.І Циганському за консультативну підтримку в розрахуванні економічної ефективності використання *Rhizobium galegae* Л2 для інокуляції насіння козлятнику східного.

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертаційної роботи оприлюднені, обговорені та отримали позитивну оцінку на щорічних засіданнях вченої ради Вінницького національного аграрного університету (Вінниця, 2012–2014 рр.); на Всеукраїнській науково-практичній конференції: «Екологічні проблеми природокористування та охорона навколишнього середовища», (Рівне, 2013 р.); XIII з'їзді Товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського (Ялта, 2013); Міжнародній науковій конференції «Збереження біологічного різноманіття природних і аграрних ландшафтів та розбудова заповідних територій степового

Придністров'я» (Дніпропетровськ, 2014 р.); Міжнародній науковій конференції «Проблеми і перспективи біологічного землеробства» (с. Рассвет (Росія), 2014 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Біологічна фіксація азоту» (Тернопіль, 2014 р.).

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 15 наукових праць, з них 2 монографії, 6 статей у фахових виданнях (у тому числі 2 в зарубіжних виданнях, що включено до міжнародної наукометричної бази Scopus), 1 стаття у зарубіжній монографії, 3 – у матеріалах і тезах конференцій, 2 методичні рекомендації, 1 патент.

**Обсяг та структура роботи.** Дисертаційну роботу викладено на 164 сторінках комп'ютерного тексту. Робота складається зі вступу, огляду наукової літератури, опису матеріалів, методів та умов проведення досліджень, чотирьох розділів експериментальної частини, висновків, рекомендацій виробництву, додатків. Робота містить 22 таблиці, 10 рисунків. Список використаної літератури становить 305 джерел, з яких 83 латиною.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Основні напрями досліджень з формування симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник та впливу екологічних факторів на розвиток і продуктивність бобово-ризобіального симбіозу (огляд літератури).** Перший розділ дисертації складається з п'яти підрозділів, у яких викладено огляд вітчизняної та зарубіжної літератури щодо біологічних особливостей і використання козлятнику, формування симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник, ролі генотипів макро- і мікросимбіонтів за утворення симбіотичних систем, селекції високоефективних штамів бульбочкових бактерій, біологічної фіксації азоту, зокрема видів азотфіксаторів та розповсюдження їх природі, впливу екологічних факторів на розвиток і продуктивність бобово-ризобіального симбіозу. На основі аналізу літературних даних обґрунтовано актуальність проведення досліджень за темою дисертаційної роботи, визначено напрями та основні завдання роботи.

**Умови, об'єкти та методи проведення досліджень.** Експериментальну частину роботи виконували впродовж 2011 – 2016 рр. у вегетаційних та лабораторних умовах відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України і відділу симбіотичної азотфіксації Інституту фізіології рослин і генетики НАН України, у польових умовах дослідного поля Вінницького національного аграрного університету і Вінницької державної сільськогосподарської дослідної станції Інституту кормів та сільського господарства НААН у с. Агрономічне Вінницького району за 7 км на південь від м. Вінниця.

Ґрунт на дослідній ділянці Вінницького національного аграрного університету – сірий лісовий середньосуглинковий. За даними агрохімічного обстеження вміст гумусу в орному шарі – 3%; вміст легкогідролізованого азоту (за Корнфілдом) – 7,0–8,0 мг/кг; рухомого фосфору (за Чириковим) – 16,0–19,4 мг/кг; обмінного калію (за Чириковим) – 9,5 мг/кг ґрунту.

Гідролітична кислотність становить 4,32 мг-екв/100 г ґрунту. За обмінною кислотністю рН сол. 5,0–5,4.

Характеристика ґрунту дослідної ділянки Інституту фізіології рослин і генетики НАН України: вміст гумусу (за Тюріним) – 1,75%; гідролітична кислотність (за Каппеном)–1,6–1,8 мг-екв/100 г ґрунту; рН (за методом ЦІНАО) – 5,5; легкогідролізований азот (за Тюріним – Коновою) – 80 мг/кг;

P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (за Чириковим) – 96 мг/кг; K<sub>2</sub>O (за Масловою) – 140 мг/кг ґрунту; валовий азот – 0,2 – 0,5%; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 0,15 – 0,3%; K<sub>2</sub>O – 2,0 – 2,5%.

Об'єктами досліджень було: 6 штамів *Rhizobium galegae* Л1, Л2, Л3, Л4, Л5, Л6, виділених нами у різні роки з бульбочок козлятнику східного; еталонний виробничий штам *Rhizobium galegae* СІАМ 0703 (зберігається у Колекції культур бульбочкових бактерій (ВНДІСГМ РАН); еталонний штам *Rhizobium galegae* МС–1 №159 української селекції; 55 штамів збудників бактеріозу козлятнику східного, виділених нами з уражених бактеріозами рослин у різні періоди з досліджуваних регіонів України; 14 колекційних штамів *Xanthomonas campestris* рв. *Campestris*; 7 колекційних штамів *Pseudomonas fluorescens*, колекційні штами *Pseudomonas marginalis* рв. *marginalis*, *Pseudomonas syringae* рв. *syringae* з колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

У дослідженнях використовували 3 сорти козлятнику східного: Салют, Донецький 90, Кавказький бранець.

Польові дослідження з вивчення впливу бульбочкових бактерій на функціонування бобово-ризобіального симбіозу, ростові процеси, формування урожаю надземної маси та насінневу продуктивність козлятнику східного проводили у 2012 – 2014 рр. на трьох зазначених сортах козлятнику за такою схемою: фактор А – сорти Салют, Донецький 90, Кавказький бранець; фактор В – інокуляція (контроль; *Rh. galegae* СІАМ 0703; *Rh. galegae* №159).

Вплив зазначених факторів на кількість і масу бульбочок та їхню азотофіксуючу активність визначали впродовж перших трьох років онтогенезу козлятнику, беручи проби три – чотири рази під час першого року вегетації, а також у фазах стеблуння, бутонізації, цвітіння та відростання надземної маси і стеблуння рослин другого укосу на другий і третій роки вегетації.

Повторність польових дослідів 4-разова. Облікова площа ділянок 30 м<sup>2</sup>.

Структуру врожаю козлятнику східного сорту Кавказький бранець за інокуляції бульбочковими бактеріями та дії фітопатогенних мікроорганізмів визначали за схемою: контроль (інокуляція *Rh. galegae* Л2); культуральна рідина *Ps. syringae* рв. *syringae*; культуральна рідина *Ps. syringae* рв. *syringae*+*Rh. galegae* Л2; культуральна рідина *Xanthomonas* sp. P14; культуральна рідина *Xanthomonas* sp. P14 + *Rh. galegae* Л2; культуральна рідина *U. galegae* P15; культуральна рідина *U. galegae* P15 + *Rh. galegae* Л2.

Амінокислотний склад протеїну зеленої маси зазначених сортів козлятнику східного у фазі стеблуння за передпосівної інокуляції *Rh. galegae* Л2 та дії фітопатогенної бактерії *Ps. syringae* pv. *syringae* визначали за схемою: контроль; інокуляція *Rh. galegae* Л2; інокуляція *Ps. syringae* pv. *syringae*; інокуляція *Ps. syringae* pv. *syringae* + *Rh. galegae* Л2.

Виробничі дослідження ефективності застосування для передпосівної інокуляції насіння козлятнику східного сорту Кавказький бранець штаму *Rh. galegae* Л2, тобто удосконаленої технології вирощування козлятнику східного, проведено на агрополях Оратівського району Вінницької області у 2014 – 2015 рр. за схемою: контроль (інокуляція штамом - еталоном №159); запропонований штам *Rh. galegae* Л2.

Бактеріологічний аналіз відібраних нами зразків уражених надземних органів рослин козлятнику східного здійснювали за існуючими методиками (К.Г. Бельтюкова и др., 1968; В.П. Патица та ін., 2014).

Вивчення культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних ознак *Rhizobium galegae* проводили згідно з методиками в ґрунтовій мікробіології (Н.А. Красильников, 1966; К.Г. Бельтюкова и др., 1968; Ф.Герхард, 1983; Bergey's manual., 2005).

Мікробіологічні аналізи проводили за методикою розведення ґрунтових суспензій з використанням живильних селективних середовищ (Т.В. Аристовская, 1972; В.В. Волкогон та ін., 2010).

Мікробну біомасу обраховували на основі даних за кількістю і розміром клітин, приймаючи їх питому вагу за  $1,08 \text{ г/см}^3$  (В.В. Волкогон та ін., 2010). Продуктивність бактеріальних клітин та біомаси бактерій визначали, підсумовуючи всі достовірні підвищення чисельності або, відповідно, біомаси бактерій за період спостережень (В.В. Волкогон та ін., 2010).

Якісний склад бактерій визначали відповідно до характеристик, наведених у визначнику Берджі (Bergey's manual., 2005), мікроскопічні гриби – за стандартними методиками (В.В. Волкогон та ін., 2010; Н.Д. Tresner, 1954). Неспороутворюючі бактерії визначали за В.В. Смірновим та Е.А. Кіпріановою (1990), стрептоміцети – за Е.В. Валагуровою зі співав. (2003).

Виділення і культивування фітопатогенних бактерій, визначення патогенних властивостей ізолятів та агресивності штамів, їхніх культурально-фізіологічних властивостей досліджували за класичними методами (В.П. Патица та ін., 2014).

Активність азотфіксації (нітрогеназної активності) в бульбочках козлятнику східного визначали ацетиленовим методом, який базується на низькій субстратній специфічності нітрогеназного ферментного комплексу здатного відновлювати ацетилен до етилену. Проби аналізували на газовому хроматографі «Chromatograf 504» (Польща) у режимі полум'яно-іонізаційного детектування (В.В. Волкогон та ін., 2010). Визначення специфічності, вірулентності та конкурентоспроможності бульбочкових



бактерій проводили за методикою, описаною у монографії за редакцією В.В. Волкогона (В.В. Волкогон та ін., 2010).

Накопичення азоту культурами і загального азоту в сухому рослинному матеріалі визначали мікрометодом Кьельдаля (А.И. Ермаков, 1987).

Для визначення амінокислотного складу аналізовані зразки гідролізували з 6 N HCl впродовж 24 год при 105°C за загальноприйнятою методикою (А.И. Ермаков, 1987). Амінокислотний склад зразків визначали на автоматичному аналізаторі ААА-81 (Чехія), сірковмісні амінокислоти – в гідролізатах з попередньою оксидацією над мурашиною кислотою.

Визначення амоніфікуючої нітрифікуючої здатності ґрунту здійснювали за методикою, описаною у монографії за редакцією В.В. Волкогона (В.В. Волкогон та ін., 2010).

Інтенсивність «дихання» ґрунту визначали за виділенням CO<sub>2</sub> газохроматографічним методом у системі ґрунт – атмосфера (В.В. Волкогон та ін., 2010).

Економічну ефективність застосування нового штаму *Rhizobium galegae* Л2 розраховували відповідно до «Економіки сільського господарства» (В.К. Збарський, В.І Мацибора, А.А. Чалий, 2009) на основі технологічних карт, складених за існуючими нормативами витрат на створення та використання травостоїв козлятнику східного. Перехідні затрати на прийоми створення травостоїв подано в сумі за три роки. Ціну на вартість насіння, добрив, біопрепаратів, пально-мастильних матеріалів, тарифну сітку на оплату праці взято станом на 01.01.2014 р. Під час розрахунків економічної ефективності визначали вартість продукції за виходом сіна відповідно до його класу за діючим стандартом (ДСТУ 4674 – 2006).

Енергетичне оцінювання досліджуваних технологічних прийомів проводили згідно методики О. К. Медведовського та П. І. Іваненка (О.К. Медведовський, П.І. Іваненко, 1988 р.). Оцінку на інтенсивність досліджуваних моделей технології для визначення напрямку їх розвитку оцінювали за методикою А.Д. Гарькавого, В.Ф. Петриченка та А.В. Спіріна (А.Д. Гарькавий, В.Ф. Петриченко та А.В. Спірін, 2003).

Математичне оброблення експериментальних даних проводили за методикою Б.О. Доспехова (Б.О. Доспехов, 1985) за t-критерієм Стьюдента (p=0,05) із застосуванням програми Excel.

**Формування високоефективної симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник.** У період 2011–2012 рр. проаналізовано близько 300 зразків рослин козлятнику східного з відносно великою кількістю бульбочок на корінні. Найефективнішими виявилися 6 штамів *Rh. galegae*, виділених нами у різні роки з бульбочок козлятнику східного і залучених до досліджень, виробничий штам *Rh. galegae* CIAM 0703 ВНДІСГМ РАН, еталонний штам *Rh. galegae* МС–1 №159 української селекції.

Як свідчать дані, наведені в табл. 1, усі досліджувані штами ризобій утворювали на коренях рослин справжні бульбочки різної кількості та маси. Найменша кількість бульбочок сформувалась на коренях дослідних рослин,

насіння яких було оброблено штамами *Rh. galegae*

Таблиця 1

**Утворення справжніх бульбочок та нітрогеназна активність штамів *Rhizobium galegae* у симбіозі з козлятником східним сорту Кавказький бранець (вегетаційний дослід, пісок)**

Варіант, штами	Кількість бульбочок, шт/рослину	Маса бульбочок, мг/рослину	Активність азотфіксації, мкмоль $C_2H_4 \times \text{росл}^{-1} \times \text{год}^{-1}$	Суша надземна маса	
				мг/рослину	приріст до контролю, %
Контроль (без інокуляції)	–	–	–	524,3	–
Інокуляція штамом <i>Rh. galegae</i> Л1	16,9±1,25	108,8±5,80	2,55±0,24	697,3	33,0
<i>Rh. galegae</i> Л2	26,9±2,08	153,5±7,10	3,07±0,29	793,9	51,4
<i>Rh. galegae</i> Л3	20,1±0,99	125,0±3,03	2,84±0,40	699,8	33,5
<i>Rh. galegae</i> Л4	16,1±0,57	87,1±5,28	2,02±0,12	610,4	16,4
<i>Rh. galegae</i> Л5	13,3±0,75	83,4±4,07	1,95±0,20	617,7	17,8
<i>Rh. galegae</i> Л6	18,7±2,01	103,0±4,2	2,25±0,15	715,0	36,4
Штам-еталон виробничий <i>Rh. galegae</i> CIAM 0703	14,9±1,40	194,0±5,80	1,08 ± 0,08	711,8	35,6
Штам-еталон №159	16,0±1,24	127,0±5,0	1,83 ± 0,20	720,0	37,3
НІР <sub>0,5</sub>				38,24	

Л4, Л5.

У контрольному варіанті на коренях рослин бульбочки не утворились. Сформовані у дослідних варіантах бульбочки мали в розрізі рожеве забарвлення, що свідчить про наявність у них леггемоглобіну та можливість активного функціонування симбіотичної системи. Встановлено, що інтродуковані штами бульбочкових бактерій утворили з козлятником східним сорту Кавказький бранець бобово-ризобіальні симбіози, які вирізнялись різною азотфіксуючою активністю 2,55–3,07 мкг/год азоту на рослину. Найвищим цей показник був за інокуляції рослин штамом Л2 – 3,07.

Урожай зеленої маси козлятнику зростав при цьому на 54,9 – 67,5% порівняно з контролем і на 14,1 й 38,4 – порівняно зі штамом-еталоном виробничим CIAM 0703 та №159 відповідно.

Результати ефективності запропонованого штаму Л2 у польових дослідах наведено в табл. 2.

Як свідчать дані табл. 2, використання штамів *Rh. galegae* 0703, 159 і Л2 в якості мікросимбіонтів для козлятнику східного сорту Кавказький бранець сприяло істотному і достовірному збільшенню вмісту сирого протеїну і азоту в сухій речовині.

Таблиця 2

**Вміст сирого протеїну і азоту у сухій речовині козлятнику східного сорту Кавказький бранець, 2011 р.**

Варіант, штами	Вміст, %	
	сирого протеїну	азоту
Контроль (без інокуляції)	20,32	1,95
0703	26,87	2,68
159	27,80	2,87
Л2	29,79	3,00
НІР <sub>0,5</sub>	1,67	0,75

Дослідження з визначення біологічної цінності білків, зокрема амінокислотного складу, показали, що передпосівне оброблення насіння козлятнику досліджуваними штамми *Rh. galegae* 0703, 159 і Л2 сприяло різкому збільшенню у зеленій масі глютамінової кислоти та деяких інших амінокислот. Різниця між амінокислотними гідролізатами проб отриманими за інокуляції насіння козлятнику, і контролем (без інокуляції) була особливо відчутною, зокрема за оброблення штамом *Rh. galegae* Л2.

Отже, передпосівне оброблення насіння козлятнику східного азотфіксуючими мікробними штамми дасть можливість розробити екологічно безпечні технології вирощування цієї багаторічної бобової культури, що сприятиме не тільки одержанню високих сталих урожаїв, а й збалансованому забезпеченню рослин азотом, зменшенню витрат мінеральних добрив, зниженню вмісту нітратів у зеленій масі, відтворенню родючості ґрунтів (Л.В. Кириленко, В.П. Патики, 2014).

**Вплив біопрепаратів на мікробні угруповання ґрунту ризосфери козлятнику східного.** Важливою функціональною ланкою системи ґрунт – мікроорганізм – рослина є мікробіоценоз ризосфери – складне угруповання різноманітних мікроорганізмів, які взаємодіють на основі екологічних і трофічних потреб і зв'язків (Я.М. Гадзало та ін., 2014; М.В. Патики, В.П. Патики 2014; L. Symochko et al., 2015).

У наших дослідженнях біомаса бактерій при застосуванні мінеральних добрив збільшувалася порівняно з варіантом без добрив у понад 1,42 рази, при застосуванні ризобофіту та ризобофіту з N<sub>60</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub> – в 1,84 і 1,78 рази відповідно. Чисельність олігонітрофільних бактерій, що беруть участь у трансформуванні рештків органічної речовини в 1,56, а стрептоміцетів – у 2,9 рази. Слід також зазначити, що ґрунт варіанта з ризобофітом та ризобофітом сумісно з мінеральним добривом характеризувався максимальним вмістом целюлозоруйнівних мікроорганізмів у 8,5 і 8,7 рази вищим, порівняно з контролем відповідно. Вміст мікроскопічних грибів мав тенденцію до збільшення від контролю до мінерального фону і до варіантів із застосуванням ризобофіту (табл. 3).

Таблиця 3

**Кількість і біомаса мікроорганізмів у сірому лісовому середньосуглинковому ґрунті при вирощуванні *Galega oritntalis* L. за різних видів добрив і норм їх унесення (середні дані за 2012–2014 рр.)**

Варіант	Біомаса бактерій, т/га	Бактерії				Мікроскопічні гриби	Стрептоміцети	Целюлозоруйнівні
		амоніфікуючі	спороутворюючі	педотрофні	олігонітрофільні			
		МПА	МПА + СА	ГА	Середовище Ешбі			
10 <sup>6</sup> КУО/г сухого ґрунту							тис/г сухого ґрунту	
Контроль (без добрив)	5,0	12	4,2	92	223	3,9	52	4,8
N <sub>30</sub> P <sub>30</sub> K <sub>30</sub>	6,2	21	8,1	168	288	4,8	85	12,2
N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	7,1	30	8,2	180	302	4,9	102	25,3
N <sub>90</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	7,4	34	8,9	184	299	4,1	116	26,9
ризобофіт	9,2	48	10,2	242	341	4,7	143	40,8
Ризобофіт + N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	8,9	51	10,9	253	350	5,1	151	41,7
НІР <sub>0,5</sub>	1,0	3,5	1,5	17	25	0,5	21	2,1

Підвищення чисельності бацил і стрептоміцетів у ґрунті із застосуванням ризобофіту і мінеральних добрив свідчить про глибшу деструкцію органічної речовини. Ці групи мікроорганізмів засвоюють сполуки, які часто недоступні для неспорних бактерій, а розвиваються на субстраті бідному на доступні сполуки.

Показником мобілізаційних процесів у ґрунті є також целюлозоруйнівні мікроорганізми. Вміст цих мікроорганізмів порівняно з контролем у 8,5 і 8,7 раза вищий за внесення різних добрив і норм. Внесення різних норм мінеральних добрив значно поступається за кількістю целюлозоруйнівних мікроорганізмів варіантам з використанням ризобофіту.

Отримані результати досліджень підтверджують, що мобілізаційні процеси у ґрунті при внесенні добрив та ризобофіту позитивно впливають на життєдіяльність ґрунтових мікроорганізмів.

Аналогічні зміни виявлено і в динаміці чисельності мікрофлори, що зумовлено певними процесами надходження і розкладання органічної речовини. Найчисленніша група сапрофітних мікроорганізмів – бацили переважають у ґрунті за сумісного застосування мінеральних добрив і ризобофіту у фазі цвітіння козлятнику на 2-й та 3-й рік вирощування, проте

кількість олігонітрофільних бактерій водночас зменшується. Для стрептоміцетів і грибів різниця у варіантах досліду незначна.

Дослідження амоніфікуючої та нітрифікуючої здатності ґрунту при вирощуванні козлятнику східного показали, що використання ризобію позитивно впливає на цей показник. ґрунту Порівняно з контролем амоніфікуюча здатність зросла на 158 мг NH<sub>3</sub>/100 г ґрунту, а нітрифікуюча – на 24 мг NO<sub>3</sub>/100 г ґрунту.

Результати досліджень показали, що застосування ризобію за вирощування козлятнику східного сприяє збільшенню виділення CO<sub>2</sub> у 2 рази порівняно з контролем (табл. 4). Такі самі закономірності спостерігали і за визначення поглинання O<sub>2</sub>.

Таблиця 4

**Інтенсивність виділення CO<sub>2</sub> і поглинання O<sub>2</sub> сірим лісовим середньосуглинковим ґрунтом при вирощуванні *Galega oritntalis* L. за різних видів добрив**

Варіант	Інтенсивність, мкг/г·год	
	виділення CO <sub>2</sub>	поглинання O <sub>2</sub>
Контроль (без добрив)	2,8	2,3
N <sub>30</sub> P <sub>30</sub> K <sub>30</sub>	4,1	4,5
Ризобію	5,7	5,9

Вивчення видового складу бактерій показало, що здебільшого ті самі види зустрічались при вирощуванні козлятнику східного без добрив. При вирощуванні сільськогосподарських культур з використанням ризобію у ґрунті складаються сприятливіші умови для життєдіяльності мікроорганізмів, у результаті чого підвищується його біологічна активність.

**Вплив фітопатогенних бактерій та грибів на ефективність функціонування симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник.**

Різноманітні шкідники та збудники хвороб рослин, зокрема гриби, бактерії, можуть завдавати істотної шкоди посівам козлятнику. Якщо не вживати заходів за появи перших ознак хвороб, їх патогенна дія спричиняє істотне зниження приросту зеленої маси козлятнику на 32–42%, а урожайності насіння на 15–30% (Ю.А. Утеуш, М.Г. Лобас, 1996; В.П. Патица та ін., 2014).

Характеристику виділених ізолятів наведено у табл. 5.

Виявлено і охарактеризовано штами *Pseudomonas* sp. За біохімічними показниками виділені ізоляти можуть бути ідентифіковані як *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

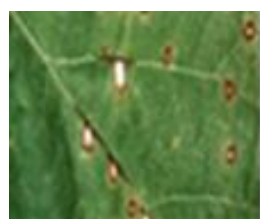
**Фітопатологічний аналіз зразків козлятнику (бактеріальні ізоляти з посівів Вінницької області)**

Роки	Кількість, шт.			Колонії ізолятів на агаризованому середовищі за морфологічними ознаками, шт.			
	зразків рослини		штами	жовтопігментні		сіро-білі, напів-прозорі, типу <i>Pseudomonas</i>	білі, непрозорі, типу <i>Bacillus</i>
	проаналізовані	з яких ізольовані бактерії		типу <i>Pantoea agglomerans</i>	типу <i>Xanthomonas</i>		
2011	17	11	9	2	2	3	2
2012	17	13	10	4	2	3	1
2013	15	12	9	4	1	2	2
2014	10	3	8	3	2	2	1
2015	9	7	7	3	1	1	2
Усього	68	46	43	16	8	11	8

Передбачено, що також й інші потенційні збудники бактеріальних хвороб бобових культур – *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans*, *Pseudomonas syringae* pv. *vignae*, *Curtobacterium flaccumfaciens*, *Xanthomonas heterocea*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pectobacterium carotovora*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, *Ralstonia solanacearum* та бактерії, які виявлено деякими авторами у поодиноких випадках – *Pseudomonas viridiflava*, *Xanthomonas heterocea*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (В.П. Патики та ін., 2016), можуть уражувати і козлятник східний.

Нами встановлено, що основним збудником бактеріозу козлятнику, який уражує усі надземні частини рослини, є *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* – поліфаг, що спричинює чорно-коричневі некротичні плями, тому назва хвороби має такі синоніми: бактеріальна плямистість, чорна плямистість, коричнева дрібна плямистість.

Встановлено, охарактеризовано і проілюстровано найрозповсюдженіші грибні хвороби козлятнику східного (рис. 1), якими виявилися іржа, бура плямистість, рамуляріоз, церкоспороз, хоча козлятник вважають достатньо резистентною рослиною.



а



б



в



г

**Рис. 1. Грибні хвороби козлятнику східного: а – церкоспороз; б – рамуляріоз; в – бура плямистість (філостикоз); г – іржа**

Основною функцією бобово-ризобіальної системи є процес азотфіксації, тому важливо було з'ясувати вплив бактеріальних й грибних метаболітів на нітрогеназну активність бульбочок (табл. 6).

Дослідження безпосереднього впливу фільтратів культуральних рідин *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas* sp. P14 та *Uromyces galegae* P15 на симбіотичну систему козлятник східний – бульбочкові бактерії показали, що під їхньою дією знижувалась нітрогеназна активність бульбочок порівняно з контрольним варіантом, а при замочуванні бульбочок у культуральній рідині *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* і *Uromyces galegae* P15 азотфіксація взагалі була відсутня.

Таблиця 6

**Вплив культуральної рідини фітопатогенних бактерій і грибів на нітрогеназну активність бульбочок козлятнику східного сорту Кавказький бранець**

Варіант, штами	Нітрогеназна активність, мкмоль C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> / год	
	на 1 рослину	на 1г бульбочок
Контроль (поживне середовище для бактерій)	4,45 ± 0,39	5,03 ± 0,43
Контроль (поживне середовище для грибів)	3,14 ± 0,28	3,57 ± 0,15
Культуральна рідина <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	0,09 ± 0,04	відсутня
Культуральна рідина <i>Xanthomonas</i> sp. P14	0,29 ± 0,10	0,12 ± 0,01
Культуральна рідина <i>Uromyces galegae</i> P15	0,04 ± 0,01	відсутня

Інокуляція насіння козлятнику східного активним штамом бульбочкових бактерій *Rh. galegae* Л2 пом'якшувала негативний вплив фітопатогенів на рослини козлятнику.

Показано позитивний вплив інокуляції на ріст здорових рослин козлятнику східного другого року життя (табл.7).

Таблиця 7

**Вплив інокуляції *Rhizobium galegae* Л2 на ріст рослин козлятнику східного другого року життя, см**

Фаза	Довжина коренів		Висота надземних органів	
	контроль (без інокуляції)	з інокуляцією	контроль (без інокуляції)	з інокуляцією
Повна бутонізація	25,4	33,1	91,0	101,5
Повне цвітіння	46,7	55,9	142,1	163,9

НІР <sub>0,5</sub>	3,1	1,9	2,8	3,5
--------------------	-----	-----	-----	-----

Інокульовані рослини мали в 1,5 раза і більше бульбочкових бактерій. Передпосівна інокуляція насіння біологічним препаратом бульбочкових бактерій також підвищувала урожайність насіння козлятнику на 52,7% щодо контролю. Приріст зеленої маси був на 45,3% більше порівняно з контролем (табл. 8). Наші дослідження щодо ефективності інокуляції підтверджують дані інших дослідників (В.С. Воробей, 2008; В.П. Заболотна, 2004; Г.С. Посыпанов, 2006).

Таблиця 8

**Вплив передпосівної інокуляції на урожайність зеленої маси та насіння козлятнику східного, г/м<sup>2</sup>**

Варіант	Урожайність насіння, г	Приріст		Урожайність зеленої маси, г	Приріст	
		г	%		г	%
Сівба неінокульованим насінням	61,1	–	–	4832	–	–
Сівба інокульованим насінням	93,3	32,2	52,7	7023	2191	45,3
НІР <sub>0,5</sub>	1,4			5,5		

У дослідженнях з визначення біологічної цінності протеїну зеленої маси козлятнику східного нами було ідентифіковано 18 амінокислот. Показано, що за передпосівного оброблення насіння козлятнику східного *Rh. galegae* Л2 різко зростала кількість глютамінової кислоти всіх досліджуваних сортів, але найбільше виділявся сорт Кавказький бранець.

Отже, за умов жорсткого інфекційного навантаження знижується ефективність функціонування бобово-ризобіальної системи. Це призводить до пригнічення розвитку рослин, про що свідчить зниження надземної маси козлятнику східного, її якості та маси коренів порівняно з контрольним варіантом.

**Економічна ефективність передпосівної інокуляції насіння козлятнику східного штамом *Rhizobium galegae* Л2**

Найважливішим показником, що характеризує економічну доцільність будь-якого виробництва, є рівень рентабельності (В.В. Гришко та ін. 1996; В.В. Гришко, 1997; О.А. Грішнова, 2011). Нами встановлено, що вирощування козлятнику східного із застосуванням передпосівної інокуляції насіння штамом *Rhizobium galegae* Л2 економічно вигідніше, оскільки рівень рентабельності сягає 118,1%, тобто на 34,1 % більше порівняно з контролем і на 14,6% порівняно з варіантом застосування штаму-еталону 153 (табл. 9).

Використання штаму *Rh. galegae* Л2 сприяло зростанню прибутковості виробництва. Адже розмір умовно чистого прибутку із розрахунку на 1 га посіву становив 10 992,5 грн., що на 1507,5 грн. більше ніж варіант зі штамом-еталоном, і на 3468,3 більше порівняно з контрольним варіантом.



Таблиця 9

**Економічна ефективність створення і використання агрофітоценозу козлятнику східного залежно від оброблення насіння різними штамми бульбочкових бактерій, 2012–2014 рр.**

Варіант, штами	Урожайність зеленої маси, т/га	Вихід, т/га		Виробничі витрати, грн./га	Вартість вирощеної продукції, грн./га	Умовно чистий прибуток грн./га	Окупність 1 грн. витрат, грн.	Собівартість 1 т повітряно-сухої речовини, грн.	Рівень рентабельності, %
		сухої речовини	повітряно-сухої речовини, (сіно)						
Контроль (без інокуляції)	68,1	14,6	17,3	8953,8	16478,0	7524,2	1,8	516,2	84,0
<i>Rh. galegae</i> 0703	75,6	16,2	19,3	9137,9	18344,0	9206,1	2,0	473,2	100,7
<i>Rh. galegae</i> 159	77,4	16,5	19,6	9164,4	18649,4	9485,0	2,0	466,8	103,5
<i>Rh. galegae</i> Л2	82,3	18,0	21,4	9308,1	20300,6	10992,5	2,2	435,6	118,1

Нині необхідним є визначення енергії врожаю сільськогосподарських культур, загальних затрат енергії виробництва продукції рослинництва та проведення біоенергетичного оцінювання технологій (В.Т. Маткевич, 2006; А.А. Кутузова, 2000).

Нами визначено, що за 2012–2014 рр. сукупні енерговитрати за варіантами дослідів становили 41,1 – 41,4 ГДж/га. Накопичення енергії в урожаї козлятнику східного під впливом інокуляції у всіх варіантах перевищує витрати енергії на її застосування. Що підтверджено показниками енергетичного коефіцієнта та коефіцієнта енергетичної ефективності, які становили 6,46 і 3,58 відповідно у контролі, збільшуючись до 7,95 і 4,42 у варіанті із застосуванням штаму *Rh. galegae* Л2. Отримані результати свідчать про високу енергетичну ефективність насіння за передпосівної інокуляції козлятнику східного, що вивчали у досліді.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано та експериментально розв'язано наукову проблему з ефективності симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник за дії біотичних факторів, зокрема фітопатогенних бактерій і грибів.

1. Виділено та ідентифіковано високоактивний і конкурентоспроможний штам *Rhizobium galegae* Л2 для підвищення урожайності козлятнику східного, який формує ефективний симбіотичний апарат із сортом Кавказький бранець.

2. Встановлено, що штам *Rhizobium galegae* Л2 сприяв не тільки підвищенню приросту зеленої маси козлятнику східного сорту Кавказький

бранець, а й підвищував її якість. Так, передпосівне оброблення насіння козлятнику цим штамом забезпечило вміст в зеленій масі сирого протеїну – 29,79, азоту – 3,00%, а у контролі 20,32 і 1,95% відповідно, а також сприяло різкому збільшенню глютамінової кислоти та деяких інших амінокислот.

3. Показано, що передпосівне оброблення насіння козлятнику східного *Rhizobium galegae* Л2 підвищувало у ризосфері ґрунту біомасу бактерій порівняно з варіантом без інокуляції в 1,84 раза, чисельність олігонітрофільних бактерій, що беруть участь у трансформуванні рештків органічної речовини в 1,56, стрептоміцетів – у 2,9, целюлозоруйнівних мікроорганізмів у 8,5 раза. Зазначені дані свідчать про позитивний вплив *Rhizobium galegae* Л2 на процеси формування мікробного оточення, що сприяє ефективній взаємодії козлятнику східного з асоціативними мікроорганізмами.

4. Виявлено, що використання біопрепарату на основі *Rhizobium galegae* Л2 позитивно вплинуло на амоніфікуючу та нітрифікуючу здатність ґрунту: амоніфікуюча порівняно з контролем зросла на 158 мг NH<sub>3</sub>/100 г ґрунту, а нітрифікуюча – на 24 мг NO<sub>3</sub>/100 г ґрунту. Вирощування козлятнику східного з використанням ризобіофіту сприяє збільшенню виділення CO<sub>2</sub> та поглинання O<sub>2</sub> в 2 рази порівняно з контролем.

5. Встановлено, що домінуючим фітопатогенним мікроорганізмом – збудником хвороб козлятнику бактеріальної природи, що уражує всі надземні частини рослини виявився *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, тоді як серед ідентифікованих фітопатогенних грибів переважали збудники: іржі (*Uromyces galegae*), бурі плямистості (*Phyllosticta galegae*), рамуляріозу (*Ramularia galegae*) та церкоспорозу (*Cercospora galegae*).

6. Досліджувані фітопатогенні мікроорганізми значно знижували азотфіксуючу активність, а при замочуванні бульбочок у культуральній рідині *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* і *Uromyces galegae* P15 азотфіксація була відсутня.

7. Встановлено, що інокуляція насіння козлятнику східного штамом *Rhizobium galegae* Л2 підвищує резистентність рослин до збудників бактеріальних і грибних хвороб. Так, висота рослин при інокуляції збільшувалась на 31,9% і більше, надземна маса рослин у перерахунку на суху речовину – на 25,7, а маса кореневої системи – на 24,6 % порівняно з ураженими рослинами.

8. Передпосівна інокуляція насіння козлятнику східного штамом *Rhizobium galegae* Л2 сприяє підвищенню енергетичної та економічної ефективності виробництва, зростанню урожайності без використання мінеральних добрив і затрат ресурсів, дає можливість збільшити рентабельність на 34,1 % порівняно з контролем і на 14,6% – порівняно із варіантом застосування штаму-еталону 153 та підвищити енергетичний коефіцієнт виробництва на 1,46 %.

### **ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

Штам *Rhizobium galegae* Л2 рекомендовано сільськогосподарському

виробництву як біоагент препарату ризобіфіт для підвищення урожайності козлятнику східного. За даними польових дослідів інокуляція насіння козлятнику сорту Кавказький бранець штамом *Rhizobium galegae* Л2 сприяла підвищенню урожайності на 14,2 т/га, тобто на 20,8 % порівняно з контролем, та зниженню розповсюдження корневих гнилей на 50 % і більше порівняно з варіантом без інокуляції. Результати виробничих впроваджень показали, що застосування ризобіфіту, виготовленого на основі *Rh. galegae* Л2 для передпосівного оброблення насіння, забезпечує приріст урожаю козлятнику східного сорту Кавказький бранець 14 – 30 %, порівняно з варіантом без інокуляції.

Аграрному виробництву, науковим і освітнім закладам рекомендовано методичні рекомендації: «Хвороби козлятнику східного: моніторинг, діагностика, профілактика» (Вінниця, 2016) для захисту козлятнику східного від фітопатогенних мікроорганізмів.

### **СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ Монографії**

1. Біотехнологія ризосфери овочевих рослин: [монографія] / [Патика В.П., Мельничук Т.М., Шерстобоев М.К., **Л.В. Кириленко** та ін.]; За ред. В.П. Патики. Вінниця «ПП«ТД Едельвейс і К» – 2015. – 266 с/ ISBN 978-617-7237-04-3.

2. Хвороби сої: моніторинг, діагностика, захист: [монографія] / [Петриченко В.Ф., Патика В.П., Пасічник Л.А., **Л.В. Кириленко** та ін.]; За ред. академіків НААН В.Ф. Петриченка, В.П. Патики. – Вінниця: «Віндрук», 2016. – 106 с.

### **Статті у наукових фахових виданнях**

3. **Кириленко Л.В.** Урожайність козлятника східного залежно від сортових особливостей / Л.В. Кириленко, В.П. Патика – Вісник Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету. – 2014. – №2. – 34. – С.107–109.

4. **Кириленко Л.В.** Формування високоефективної симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник/ Л.В. Кириленко, Ю.М. Шкатула, С.Я. Коць [та ін.] // Вісник аграрної науки – 2014 – №1. – 731.– С. 22–25.

5. Патика В.П. Біологічний азот у системі землеробства / В.П. Патика, Т.Т. Гнатюк, Н.М. Булеца, **Л.В. Кириленко** // Землеробство. – 2015. – №2. – 89. – С.12–20.

6. **Kirilenko L.** Influence of biological products on the microbiocenosis soil in the rhizosphere of *Galega oritntalis* L / Lyudmyla Kirilenko, Volodymyr Patyka // Science and World, International scientific journal. – Volgograd, 2016. – № 12 (40). – P. 61 – 64.

7. **Кириленко Л.В.** Фітопатогенні бактерії козлятнику східного / Л.В. Кириленко, В.П. Патика // Вісник Уманського національного університету садівництва. – 2016. – №2. – С.18–21.

8. **Kirilenko L.** Influence plant pathogenic bacteria and fungi on the efficiency of the symbiotic system *Rhizobium galegae* – *Galega oritntalis* L / Lyudmyla Kirilenko, Antonina Kalinichenko, Volodymyr Patyka //Wybrane zagadnienia Rolnictwa i ekologii: [monografia]. – Opole, 2016. – P. 51 – 64.

#### Патенти

9. Пат. 95714 Україна, 51МПК (2015.01) C05F 11/08(2006.01), C12N 1/20(2006.01), C12R 1/41(2006.01), A01N 63/02(2006.01), A01P 21/00 Штам бактерій *Rhizobium galegae* Л2 (колекція ІМІВ НАН України) для одержання бактеріального добрива під козлятник східний / [Кириленко Л.В., Коць С.Я., Маменко П.М., та ін.]. – оубл. 12.01.2015, Бюл. №1.

#### Науково-методичні праці та рекомендації виробництву

10. Патица В.П. Діагностика фітопатогенних бактерій. Методичні рекомендації / [Патица В.П., Пасічник Л.А., Данкевич Л.А., Кириленко Л.В. та ін.]; За ред. В.П. Патики. – Київ, 2014. – 76 с.

11. Хвороби козлятника східного: моніторинг, діагностика, профілактика. Методичні рекомендації. / [Патица В.П., Пасічник Л.А., Житкевич Н.В., Гуляєва Г.Б., Токовенко І.П., Гнатюк Т.Т., Захарова О.М., Кириленко Л.В.]; За редакцією академіків НААН В.П.Патики, В.Ф. Петриченка. – «Віндрук», 2016. – 48 с.

#### Статті в інших наукових виданнях

12. **Кириленко Л.В.** Ефективність симбіотичної фіксації в агроценозах козлятника східного / Л.В. Кириленко, Ю.М. Шкатула // Наукові записки Тернопільського національного університету імені Володимира Гнатюка – 2014 – №3. – 60. – С.87–90.

#### Матеріали та тези доповідей, з'їздів, конференцій

13. **Кириленко Л.В.** Вплив екологічних факторів на процес біологічної азотфіксації / Л.В. Кириленко // XIII з'їзд Товариства Мікробіологів України ім. С.М. Виноградського – 01 – 06 жовтня 2013 р. – С. 163

14. Шкатула Ю.М. Роль багаторічних бобових трав в сталому розвитку Вінницької області / Ю.М. Шкатула, **Л.В. Кириленко** // Всеукраїнська науково-практична конференція за участю молодих вчених: «Екологічні проблеми природокористування та охорона навколишнього середовища» – 7–9 листопада 2013. – С. 252–254.

15. **Кириленко Л.В.** Симбиотическая система козлятника восточного – *Rhizobium galegae* в течение первого и второго лет выращивания / Л.В. Кириленко // Материалы международной научной конференции: «Проблемы и перспективы биологического земледелия» – 23–25 сентября 2014 . – С. 213 – 218.

## Анотація

**Кириленко Л.В. Функціонування симбіотичної системи *Rhizobium Galegae* – козлятник за дії фітопатогенних мікроорганізмів. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. – Уманський національний університет садівництва, Умань, 2016.

Отримано нові результати щодо впливу козлятнику східного на формування ґрунтової мікробіоти. Виділено і описано домінуючі фітопатогенні бактерії і гриби козлятнику східного та з'ясовано їхній вплив на симбіотичну систему *Rh. galegae* – козлятник, продуктивність, якість рослинного матеріалу і стійкість до хвороб. Проаналізовано низку штамів симбіотів з яких виділено новий найперспективніший *Rh. galegae* Л2. Проаналізовані результати досліджень покладено в основу рекомендацій щодо застосування створеного на основі високоефективного штаму *Rh. galegae* Л2 нового високоефективного біологічного препарату ризобофіт, що сприяє високому рівню розкриття генетичного потенціалу козлятнику східного при вирощуванні в зоні Лісостепу України за реалізації ефективної взаємодії у бобово-ризобіальному симбіозі.

Встановлено, що застосування зазначеного штаму в технологіях вирощування козлятнику у зоні Лісостепу України сприятиме підвищенню врожаю насіння і поліпшенню його якості. Показано позитивний вплив інокуляції рослин виділеним штамом бульбочкових бактерій на активність агрономічно корисних мікроорганізмів у ґрунті та здатність зазначеного штаму до активнішої фіксації азоту у симбіозі з рослиною. Перспективність застосування отриманого препарату зі штамом *Rhizobium Galegae* Л2 підтверджується найвищою енергетичною і економічною ефективністю його застосування, що дає змогу знизити собівартість і підвищити рентабельність отримуваної продукції.

**Ключові слова:** бобово-ризобіальний симбіоз, *Rh. galegae* Л2, козлятник східний, фітопатогенні мікроорганізми, біопрепарати, інокуляція

## Аннотация

**Кириленко Л.В. Функционирование симбиотической системы *Rhizobium Galegae* – козлятник при действии фитопатогенных микроорганизмов. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.00.07 – микробиология. – Уманский национальный университет садоводства, Умань, 2016.

Получены новые результаты о влиянии козлятника восточного на формирование почвенной микробиоты. Выделены и описаны доминирующие фитопатогенные бактерии и грибы козлятника восточного и выяснено их влияние на симбиотическую систему *Rh. galegae* – козлятник, производительность, качество растительного материала и резистентность к болезням. Проанализирован ряд штаммов симбиоты из которых выделен новый наиболее перспективный *Rh. galegae* Л2. Проанализированные

результаты исследований положены в основу рекомендаций по применению созданного на основе высокоэффективного штамма *Rh. galegae* Л2 нового высокоэффективного биологического препарата Ризобофит, способствующего высокому уровню раскрытия генетического потенциала козлятника восточного при выращивании в зоне Лесостепи Украины по реализации эффективного взаимодействия в бобово-ризобиальном симбиозе.

Установлено, что применение указанного штамма в технологиях выращивания козлятника в зоне Лесостепи Украины будет способствовать повышению урожая семян и улучшению их качества. Отмечено положительное влияние инокуляции растений выделенным штаммом клубеньковых бактерий на активность агрономически полезных микроорганизмов в почве и способность этого штамма более активно фиксировать азот в симбиозе с растением. Перспективность полученного препарата со штаммом *Rh. galegae* Л2 подтверждается самой высокой энергетической и экономической эффективностью его применения, что позволяет снизить себестоимость и повысить рентабельность получаемой продукции.

**Ключевые слова:** бобово-ризобиальный симбиоз, *Rh. galegae* Л2, козлятник восточный, фитопатогенные микроорганизмы, штаммы, биопрепараты, инокуляция.

#### Annotation

**Kirilenko L.V. The functioning of a symbiotic system *Rhizobium Galegae* – *Galega oritntalis* L. under pathogenic microorganisms. – The manuscript.**

The dissertation for the degree of Candidate of agricultural sciences in the specialty 03.00.07 – microbiology. – Uman National University of Horticulture, Uman, 2016.

The results of the analysis of scientific sources put some problems concerning the biological characteristics of plants *Galega oritntalis* L., forming of symbiotic system between it and *Rh. galegae*, genotype role of each of these symbionts in the formation of symbiotic systems and selection of highly efficient strains of rhizobia. Special focus was on the issue of biological nitrogen fixation, nitrogen detent species diversity and distribution in the nature and impact of environmental factors on the development and performance of legume symbiosis.

New results on the effect of a *Galega oritntalis* L. on the formation of soil microbiota obtained. Identified and described the dominant phytopathogenic bacteria and fungi of *Galega oritntalis* L. and studied out their influence on the symbiotic system *Rhizobium Galegae* – *Galega oritntalis* L., performance, the quality of plant material and resistance to disease. The number of symbiotic strains analyzed, the most promising of which, the new *Rh. galegae* Л2, highlighted. Analyzed research results were used as recommendations for the application created on the basis of high-performance strain *Rhizobium Galegae* L new highly efficient biological preparation

Rhizobofit that facilitates the elucidation of genetic potential of *Galega oritntalis* L. at cultivation in forest-steppe zone of Ukraine on the implementation

of effective cooperation in the rhizobium-legume symbiosis. According to field experiments, inoculation seed of *Galega oritntalis* L. by strain of *Rh. galegae* L2 contributed to increased productivity of 14,2 tons per ha or 20,8% compared to control samples and reduce the spread of root rot by 50% or more compared to the version without inoculation. The results of production implementations showed that the use of Rhizobofit produced from *Rh. galegae* L2 for preplant treatment of seeds, provides crop growth with *Galega oritntalis* L. from 14% to 30% compared to the version without inoculation.

It was found that the use of this strain in the technology of cultivation of *Galega oritntalis* L. in the forest-steppe zone of Ukraine will increase the seed harvest and improve quality. Mentioned a positive effect of inoculation of plants with selected strain of nodule bacteria on the activity of agronomically useful microorganisms in the soil and the ability of this strain to a more active nitrogen fixation in symbiosis with the plant. The prospect of the resulting product with the strain *Rh. galegae* L2 confirmed by the most energy and economic efficiency of its application, which allows to reduce the cost and increase the profitability of the product obtained.

**Keywords:** rhizobium-legume symbiosis, *Rh. galegae* L2, *Galega oritntalis* L., phytopathogenic microorganisms, strains, biological preparations, inoculation.