

Агросистемы будущего

Растение и почва

УДК 633.34:579.64:631.847.211:631.811

doi: 10.15389/agrobiology.2018.5.977rus

СОРТОВАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЭФФЕКТОВ РИЗОБАКТЕРИЙ
В ОТНОШЕНИИ АЗОТФИКСИРУЮЩЕГО СИМБИОЗА И
МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ СОИ В УСЛОВИЯХ АГРОЦЕНОЗА*Ю.В. БЕРЕГОВАЯ¹, И.Л. ТЫЧИНСКАЯ¹, С.Н. ПЕТРОВА¹, **Н.В. ПАРАХИН**¹,
Я.В. ПУХАЛЬСКИЙ², Н.М. МАКАРОВА², А.И. ШАПОШНИКОВ²,
А.А. БЕЛИМОВ²

Для бобовых растений важным механизмом взаимодействия с ризобактериями служит их способность стимулировать формирование азотфиксирующего симбиоза с клубеньковыми бактериями. В то же время мало известно о внутривидовой (сортовой) изменчивости бобовых растений в реакциях на инокуляцию ризобактериями. Наши недавние модельные исследования с проростками сои на гидропонике показали способность ризобактерии *Pseudomonas oryzae* Er4, продуцирующей ауксина и содержащей АЦК дезаминазу, активнее стимулировать рост и колонизировать корни у сортов Красивая Меча и Свапа, чем у сорта Бара. Целью настоящей работы было изучение сортоспецифичных ответных реакций растений сои *Glycine max* (L.) Merr. на инокуляцию ризосферными бактериями при различном минеральном питании в условиях агроценоза. Исследования выполняли на трех раннеспелых районированных сортах сои северных экотипов — Красивая Меча, Свапа и Бара. Использовали штаммы ризобактерий *Ps. oryzae* Er4 и *Variovorax paradoxus* 3-P4. Для образования азотфиксирующего симбиоза применяли био-препарат ризоторфин, содержащий клубеньковую бактерию *Bradyrhizobium japonicum* 634b. Полевые опыты проводили в 2013-2015 годах (НОПЦ «Интеграция» Орловского ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н) на темно-серой лесной среднесуглинистой почве. Минеральное удобрение вносили в виде диамофоски за 7 сут до посева. Сравнивали два фона минерального питания: N₃₀P₈₁K₈₁ и N₄₄P₁₁₆K₁₁₆. Во всех вариантах с применением ризоторфина масса клубеньков и их число повышались, за исключением варианта с инокуляцией сорта Бара на фоне N₃₀P₈₁K₈₁. В фазу цветения на низком фоне минерального питания при использовании ризоторфина инокуляция *Ps. oryzae* Er4 приводила к увеличению числа (на 140 %) и массы (на 176 %) клубеньков, а также азотфиксирующей активности (на 69 %) у сорта Свапа. На высоком фоне минерального питания влияние *Ps. oryzae* Er4 на бобово-ризобактериальный симбиоз проявилось в повышении числа клубеньков у сорта Свапа (на 55 %) и азотфиксирующей активности у сорта Бара (на 205 %), а штамм *V. paradoxus* 3-P4 повысил азотфиксацию у сортов Красивая Меча (на 231 %) и Бара (на 205 %). В фазу цветения на фоне N₃₀P₈₁K₈₁ надземная масса у растений сортов Красивая Меча и Свапа увеличивалась как при использовании монокультур ризобактерий, так и при комбинировании штаммов с ризоторфином. Однако сорт Бара положительно отреагировал только на моноинокуляцию ризоторфином. На фоне N₄₄P₁₁₆K₁₁₆ совместная инокуляция сорта Бара ризоторфином и *Ps. oryzae* Er4, а также сорта Красивая Меча ризоторфином и *V. paradoxus* 3-P4 оказалась достоверно эффективнее (соответственно p = 0,015 и p = 0,039), чем моноинокуляция ризоторфином. Как правило, положительное действие обоих штаммов ризобактерий на рост растений в фазу цветения, а также на содержание питательных элементов (Mg, Ca, B, Fe, Zn и Mo) в листьях в большей степени проявлялось на сортах Красивая Меча и Свапа на низком и/или высоком фонах минерального питания. Максимальное влияние ризобактерий на урожай семян и показатели его качества (содержание белка и жира) также получены при инокуляции сортов Красивая Меча и Свапа. Сорт Бара характеризовался более высокой отзывчивостью на минеральные удобрения. Обнаруженные различия между сортами сои в реакциях на инокуляцию ризобактериями свидетельствуют о более высокой степени интеграции сортов Красивая Меча и Свапа с ассоциативными микроорганизмами по сравнению с сортом Бара. Результаты исследований указывают на перспективность создания растительно-микробных систем, сочетающих высокую симбиотрофность и активную ассимиляцию питательных элементов из удобрений и почвы.

Ключевые слова: *Glycine max*, *Pseudomonas*, *Variovorax*, внутривидовая изменчивость, минеральное питание, ризосфера, симбиотическая азотфиксация, фитогормоны, агроценоз.

* Работа выполнена при поддержке РНФ (подготовка и проверка чистоты бактериальных инокулятов и биопрепаратов — грант № 16-16-00080; постановка полевых опытов — грант № 14-16-00137; элементный анализ растений — грант № 17-76-10039) и РФФИ (изучение образования клубеньков и азотфиксации — грант № 15-04-09023). Депонирование штаммов выполнено в рамках Программы ФАНО России по ревизии и инвентаризации биоресурсных коллекций научными организациями.

В настоящее время накоплен значительный экспериментальный материал о положительном действии ассоциативных ризосферных бактерий (ризобактерий) на рост, питание и адаптацию сельскохозяйственных растений к неблагоприятным климатическим и почвенным факторам с помощью фиксации атмосферного азота, продукции или утилизации биологически активных веществ, мобилизации питательных элементов в ризосфере, индукции системной устойчивости и биоконтроля фитопатогенов (1-5). Для бобовых растений важным механизмом взаимодействия с ризобактериями служит их способность стимулировать формирование азотфиксирующего симбиоза с клубеньковыми бактериями (6-8). Так, число клубеньков на корнях сои увеличивается при совместной инокуляции клубеньковыми бактериями *Bradyrhizobium japonicum* и ризобактериями *Pseudomonas fluorescens* (9-11), *Azospirillum brasilense* (12), *Bacillus subtilis* (13-17), *B. thuringiensis* (13, 14, 18), *B. megaterium* (19), *Paenibacillus lautus* (19), а также неидентифицированными фосфатмобилизующими бактериями (20). Действие ризобактерий может быть связано со снижением биосинтеза стрессового фитогормона этилена (к которому очень чувствительно клубенькообразование) за счет утилизации ризобактериями его предшественника 1-аминоциклопропан-1-карбоксилата (АЦК) с помощью фермента АЦК дезаминазы (19, 21-23). Предполагается, что продукция ризобактериями ауксинов, стимулирующих рост корней и клубенькообразование, вовлечена в активацию азотфиксирующего симбиоза (4, 8, 24). Однако в большинстве перечисленных работ механизмы положительного действия ризобактерий на симбиоз сои с ризобиями не изучали.

Так же мало известно о внутривидовой (сортовой) изменчивости бобовых растений в реакциях на инокуляцию ризобактериями. У четырех сортов гороха Показаны значительные различия эффектов *Ps. brassicacearum* Am3 при поглощении питательных веществ (N, P, K, Ca, S, Fe) из загрязненной тяжелыми металлами почвы (25). Влияние ризобактерии *Az. brasilense*, которая фиксирует азот и продуцирует ауксины, на рост сорго (26), пшеницы (27) и фасоли (28) существенно варьировало в зависимости от сорта. Похожие результаты получены для близкого к ней вида *Az. lipoferum* в опытах с сортами кукурузы (29). Выявлена сортовая специфичность в эффектах ризобактерий на бобово-ризобияльный симбиоз у сои (15, 30), гороха (31-32) и нута (33). Различия в экспрессии генов, связанных с сигналингом ауксинов и этилена, описаны у двух сортов риса при инокуляции *Az. lipoferum* (34). Варьирование способности интродуцируемых популяций ризобактерий колонизировать корни растений в зависимости от сорта описано и в других работах (27, 35). Однако причины внутривидовой изменчивости взаимодействия растений и ризобактерий пока не изучены, что существенно сдерживает применение последних в качестве биопрепаратов (36).

Основная бобовая культура в России — соя. Ее рост и питание в значительной степени зависят от симбиоза с клубеньковыми бактериями и ризобактериями. Для расширения ареала этой культуры нужны сорта, устойчивые к низким температурам и адаптированные к бедным почвам. Для самого северного района возделывания сои в России — Орловской области созданы раннеспелые сорта северных экотипов Красивая Меча, Свапа и Бара. Однако об их симбиотических особенностях и потенциале известно мало. Можно предположить, что ризобактерии, продуцирующие ауксины и содержащие АЦК дезаминазу, должны способствовать лучшей адаптации растений к неблагоприятным для сои почвенно-климатическим условиям.

Ранее в модельных опытах с проростками сои на гидропонике мы показали, что ризобактерия *Ps. oryzihabitans* Ep4, продуцирующая ауксины и содержащая АЦК дезаминазу, активнее стимулирует рост и колонизирует

корни у сортов Красивая Меча и Свапа, чем у сорта Бара. Это связано с интенсивной корневой экссудацией органических кислот, сахаров и аминокислот и их эффективной утилизацией и трансформацией ризобактериями (32). Тесную интеграцию штамма *Ps. oryzihabitans* Ep4 с сортами Красивая Меча и Свапа частично подтвердили результаты полевого опыта при совместной инокуляции растений клубеньковыми бактериями (37).

В этом сообщении мы впервые описываем положительное влияние ризосферных бактерий, содержащих АЦК дезаминазу, на разные сорта сои северных экотипов и их симбиоз с клубеньковыми бактериями.

Цель работы — выявление зависимости сортоспецифичных ответных реакций растений сои от штамма ризобактерий и минерального питания в условиях агроценоза.

Методика. Семена суперэлиты раннеспелых районированных сортов сои *Glycine max* (L.) Merr. Красивая Меча и Свапа получены во Всероссийском НИИ бобовых и крупяных культур (г. Орел.), сорта Бара — в ООО «Соевый комплекс» (г. Краснодар).

При инокуляции использовали штаммы ассоциативных бактерий, содержащих АЦК дезаминазу и продуцирующих ауксины: *Pseudomonas oryzihabitans* Ep4 (38) и *Variovorax paradoxus* 3-P4 (39). Для приготовления инокулюма ассоциативные бактерии культивировали в разработанной ранее жидкой питательной среде (40) в течение 4 сут при 28 °С и 180 об/мин. Полученную суспензию разбавляли стерильной водопроводной водой до конечной концентрации 10⁷ кл/мл. Для образования азотфиксирующего симбиоза использовали биопрепарат ризоторфин («ЭКОС», г. Санкт-Петербург), содержащий клубеньковую бактерию *Bradyrhizobium japonicum* 634b в стерилизованном торфе в качестве носителя (10⁹ кл/г торфа). Чистоту инокулюмов и биопрепарата проверяли микробиологическими методами. Все штаммы были депонированы в Ведомственную коллекцию полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург).

Почва участков, на которых проводили полевые опыты (НОПЦ «Интеграция» Орловского ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н, 2013-2015 годы), темно-серая лесная среднесуглинистая, содержание гумуса — 3,4±0,1 %, подвижного азота — 57±8 мг /кг, подвижного фосфора — 100±8 мг/кг, подвижного калия — 136±9 мг/кг, рН 5,0±0,06 (средние данные за 3 года). Почвенные характеристики определяли стандартными методами (41).

Растения выращивали в семипольном севообороте зернового типа с полной рендомизацией делянок (площадь делянки 10 м²) в 4-кратной повторности для каждого варианта, предшественник — черный пар. Минеральное удобрение (диаммофоска) вносили за 7 сут до посева в дозах N₃₀P₈₁K₈₁ и N₄₄P₁₁₆K₁₁₆ (соответственно 70 и 100 % из расчета на планируемый урожай 3 т/га). Непосредственно перед посевом семена протравливали фунгицидом Максим КС (флудиоксонил, 2 мл/кг семян; ООО «Сингента», Россия) в рабочей концентрации (изучаемые штаммы, по данным предварительных экспериментов, к ней устойчивы), часть семян обработали ризоторфином (штамм *B. japonicum* 634b, 2 г/кг семян). Норма высева для всех семян — 70 шт/м² (селекционная сеялка Plotseed XL, «Wintersteiger», Австрия). Инокулюм *Ps. oryzihabitans* Ep4 и *V. paradoxus* 3-P4 (200 мл/м²) вносили прикорневой обработкой на 10-е и 27-е сут после посева (соответственно в фазы проростков и 2-3 настоящих листьев), контроль — варианты без инокуляции (для оценки эффектов ризобактерий по интегральным параметрам при коинокуляции контролем служил вариант с ризоторфином). Во всех вариантах перед посевом применяли почвенный препарат Дуал

Голд, КЭ (1,6 л/га; ООО «Сингента», Россия), в фазу 3 настоящих листьев — Базагран, ВР (2 л/га; ООО «БАСФ», Россия). Для борьбы с вредителями использовали инсектицид Карате Зеон, МКС (0,4 л/га; ООО «Сингента», Россия). За 2 нед до уборки проводили десикацию препаратом Реглон Супер, ВР (1,5 л/га; ООО «Сингента», Россия). Семена собирали объединителем TERRION-SAMPO SR2010 («Агротехмаш», Россия).

В фазу цветения оценивали нитрогеназную (азотфиксирующую) активность на корнях ацетиленовым методом (42). Для этого у 5 растений с каждой делянки корни промывали водопроводной водой, подсчитывали число клубеньков, помещали корни в герметичные флаконы (250 мл) и инкубировали в атмосфере 10 % ацетилена 1 ч при 25 °С. Реакцию останавливали раствором формалина (2,5 %), содержание этилена определяли на газовом хроматографе ФГХ-1 (ООО НПП «ЭКАН», Россия). Затем клубеньки отделяли от корней, высушивали и взвешивали. Листья растений с каждого участка высушивали и использовали для элементного анализа.

В семенах измеряли содержание белка и жира, используя инфракрасный анализатор зерна Infratec™ 1241 («FOSS», Дания) в соответствии с инструкциями производителя. Количество В, Са, Со, Си, Фе, К, Мг, Мп, Мо, Ni, Р, S, Zn в листьях оценивали на эмиссионном спектрометре ICPE-9000 («Shimadzu», Япония). Для этого сухие листья измельчали и сжигали в смеси концентрированной HNO₃ и 38 % H₂O₂ (1:1) при 70 °С (система DigiBlock, «LabTech», Италия). Общий азот в листьях определяли на автоматическом анализаторе Kjeltec 2300 («FOSS Analytical», Дания).

Статистическую обработку данных проводили в программе STATISTICA 10 («StatSoft, Inc.», США). Использовали дисперсионный анализ (тест наименьшей средней разницы Фишера), *t*-критерий Стьюдента и корреляционный анализ. Рассчитывали средние (*M*) и ошибки средних (\pm SEM).

Результаты. При применении ризоторфина в варианте с N₃₀P₈₁K₈₁ число клубеньков увеличивалось по сравнению с контролем у всех сортов, с N₄₄P₁₁₆K₁₁₆ — у сортов Красивая Меча и Свапа (табл. 1). Совместная инокуляция со ризобактериями также приводила к более интенсивному образованию клубеньков, при этом у сорта Свапа их число было достоверно выше ($p < 0,001$), чем в варианте с моноинокуляцией ризоторфином (см. табл. 1). Во всех вариантах с ризоторфином повышалась масса клубеньков. У сорта Свапа совместная обработка ризоторфином и *Ps. oryzae* Er4 увеличивала массу клубеньков на обоих фонах минерального питания и активность азотфиксации при N₃₀P₈₁K₈₁ по сравнению с контролем и применением ризоторфина. При использовании *V. paradoxus* 3-P4 на 70 % фоне минерального питания у инокулированных ризоторфином растений сортов Свапа и Бара достоверно возрастала масса клубеньков (соответственно $p < 0,001$ и $p = 0,044$). Повышенную азотфиксацию у всех сортов на 100 % фоне минерального питания отмечали только при совместной инокуляции клубеньковыми и ассоциативными бактериями (см. табл. 1).

При N₃₀P₈₁K₈₁ в фазу цветения увеличилась надземная масса растений у сортов Красивая Меча и Свапа как в случае монокультур бактерий, так и при сочетании штаммов с ризоторфином, но сорт Бара положительно отреагировал только на моноинокуляцию ризоторфином (табл. 2). При N₄₄P₁₁₆K₁₁₆ ризоторфин повышал надземную массу только у сортов Красивая Меча и Свапа. Для сорта Бара совместная инокуляция со штаммом *Ps. oryzae* Er4, а для сорта Красивая Меча — с *V. paradoxus* 3-P4 оказалась достоверно эффективнее (соответственно $p = 0,015$ и $p = 0,039$) (см. табл. 2), чем моноинокуляция ризоторфином. Штаммы *Ps. oryzae* Er4 и *V. paradoxus* 3-P4 достоверно (p от 0,045 до 0,0012) повысили мас-

1. Симбиотические показатели растений в фазу цветения у сортов сои *Glycine max* (L.) Merr. под влиянием клубеньковой бактерии *Bradyrhizobium japonicum* 634b (ризоторфин) и ассоциативных бактерий *Pseudomonas oryzae* Ер4 и *Variovorax paradoxus* ЗР-Р4 при разном минеральном питании ($M \pm SEM$, НОПЦ «Интеграция» Орловского ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н, 2013-2015 годы)

Вариант	Число клубеньков, шт/растение			Масса клубеньков, мг/растение			Нитрогеназная активность, мкмоль C_2H_4 /(растение · ч)		
	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара
	$N_{30}P_{81}K_{81}$ (70 %)								
Без инокуляции	3±1 ^a	2±1 ^a	2±1 ^a	56±23 ^a	41±11 ^a	28±13 ^a	0,34±0,14 ^a	0,57±0,16 ^a	0,08±0,03 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	18±3 ^b	10±2 ^b	16±4 ^b	603±120 ^{bc}	339±86 ^b	288±78 ^b	1,15±0,27 ^{bc}	1,13±0,21 ^{ab}	0,37±0,05 ^b
<i>Ps. oryzae</i> Ер4	4±1 ^a	4±1 ^a	1±0 ^a	124±49 ^a	124±58 ^{ab}	41±15 ^a	0,43±0,21 ^a	0,63±0,13 ^a	0,20±0,07 ^{ab}
<i>V. paradoxus</i> ЗР-4	12±5 ^{ab}	2±1 ^a	3±1 ^a	288±121 ^{ab}	108±43 ^{ab}	48±23 ^a	0,80±0,32 ^{ab}	0,40±0,16 ^a	0,41±0,15 ^{ab}
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzae</i> Ер4	21±3 ^b	24±3 ^c	12±4 ^b	707±145 ^c	937±166 ^c	357±115 ^{bc}	0,88±0,15 ^b	1,91±0,32 ^c	0,55±0,13 ^b
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> ЗР-4	15±2 ^b	23±3 ^c	12±2 ^b	696±137 ^c	581±81 ^c	469±90 ^c	1,69±0,46 ^c	1,68±0,35 ^{bc}	0,61±0,16 ^b
	$N_{44}P_{116}K_{116}$ (100 %)								
Без инокуляции	4±1 ^a	1±0,3 ^a	1±0 ^a	144±45 ^a	44±17 ^a	22±7 ^a	0,05±0,01 ^a	0,43±0,19 ^a	0,22±0,10 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	20±6 ^b	11±2 ^b	5±1 ^{ab}	685±170 ^{bc}	363±107 ^{bc}	173±42 ^b	0,64±0,04 ^b	1,03±0,21 ^{ab}	0,35±0,06 ^a
<i>Ps. oryzae</i> Ер4	11±4 ^{ab}	3±1 ^a	3±1 ^{ab}	629±230 ^{bc}	156±69 ^b	43±18 ^a	0,47±0,08 ^{ab}	0,78±0,27 ^{ab}	0,37±0,14 ^a
<i>V. paradoxus</i> ЗР-4	7±4 ^a	1±0 ^a	1±0 ^a	344±224 ^{ab}	51±14 ^a	13±4 ^a	0,47±0,10 ^{ab}	0,42±0,14 ^a	0,47±0,20 ^{ab}
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzae</i> Ер4	19±6 ^b	17±3 ^c	8±1 ^b	1025±379 ^c	439±113 ^c	189±25 ^b	1,07±0,27 ^{bc}	1,15±0,24 ^b	1,07±0,31 ^c
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> ЗР-4	13±2 ^b	11±2 ^b	6±1 ^b	835±117 ^c	373±94 ^{bc}	173±24 ^b	2,12±0,58 ^c	1,33±0,26 ^b	0,77±0,17 ^{bc}

Примечание. Для каждой дозы удобрений разными латинскими буквами обозначены статистически значимо различающиеся варианты (тест НСР Фишера, $p < 0,05$, $n = 12$).

су корней у сорта Красивая Меча при моно- и совместной с ризоторфином инокуляции на обоих фонах минерального питания (см. табл. 2). Инокуляция *V. paradoxus* 3-P4, а также смесью этого штамма или *Ps. oryzi-habitans* Ер4 с ризоторфином положительно влияла на массу корней у сортов Свапа и Бара.

2. Биомасса растений в фазу цветения у сортов сои *Glycine max* (L.) Merr. под влиянием клубеньковой бактерии *Bradyrhizobium japonicum* 634b (ризоторфин) и ассоциативных бактерий *Pseudomonas oryzihabitans* Ер4 и *Variovorax paradoxus* 3-P4 при разном минеральном питании ($M \pm SEM$, НОПЦ «Интеграция» ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н, 2013-2015 годы)

Вариант	Сухая масса, г/растение					
	надземная часть			корни		
	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара
	N ₃₀ P ₈₁ K ₈₁ (70 %)					
Без инокуляции	39±2 ^a	35±4 ^a	44±2 ^a	3,5±0,1 ^a	3,9±0,2 ^a	3,8±0,3 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	45±2 ^b	46±3 ^b	55±4 ^b	4,1±0,3 ^{ab}	5,1±0,4 ^{ab}	4,1±0,2 ^{ab}
<i>Ps. oryzihabitans</i> Ер4	49±3 ^{bc}	45±2 ^{ab}	43±2 ^a	4,3±0,2 ^{bc}	5,1±0,4 ^{ab}	4,6±0,5 ^b
<i>V. paradoxus</i> 3P-4	48±1 ^{bc}	47±5 ^b	44±4 ^a	4,5±0,1 ^{bc}	5,8±0,6 ^b	4,3±0,4 ^{ab}
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzihabitans</i> Ер4	48±2 ^{bc}	46±5 ^b	47±4 ^{ab}	4,1±0,3 ^b	6,1±0,5 ^b	4,2±0,2 ^{ab}
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> 3P-4	52±1 ^c	50±3 ^b	41±4 ^a	4,8±0,2 ^c	5,0±0,3 ^{ab}	4,7±0,4 ^b
	N ₄₄ P ₁₁₆ K ₁₁₆ (100 %)					
Без инокуляции	27±3 ^a	46±1 ^a	47±2 ^a	3,5±0,1 ^a	4,8±0,3 ^a	3,7±0,2 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	36±1 ^b	57±3 ^b	49±3 ^{ab}	3,9±0,3 ^{ab}	6,1±0,6 ^{ab}	4,0±0,2 ^{ab}
<i>Ps. oryzihabitans</i> Ер4	35±1 ^b	48±4 ^{ab}	59±4 ^{bc}	4,2±0,2 ^b	5,5±0,5 ^{ab}	3,9±0,2 ^{ab}
<i>V. paradoxus</i> 3P-4	33±1 ^{ab}	52±4 ^{ab}	53±5 ^{abc}	4,5±0,2 ^b	5,2±0,4 ^{ab}	3,8±0,2 ^{ab}
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzihabitans</i> Ер4	39±0 ^{bc}	57±5 ^b	61±3 ^c	4,2±0,2 ^b	6,4±0,8 ^b	4,5±0,1 ^b
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> 3P-4	42±1 ^c	52±4 ^{ab}	58±5 ^{bc}	4,1±0,1 ^b	6,3±0,8 ^b	4,0±0,2 ^{ab}

Примечание. Для каждой дозы удобрений разными латинскими буквами обозначены статистически значимо различающиеся варианты (тест НСР Фишера, $p < 0,05$, $n = 12$).

Во всех вариантах с ризоторфином содержание N в листьях увеличивалось (табл. 3). На фоне 70 % минерального питания оба штамма ризобактерий при моно- и смешанной инокуляции с ризоторфином повышали содержание P в листьях у сорта Красивая Меча (см. табл. 3). У сорта Свапа этот показатель возрастал при инокуляции смесью ризоторфина и *Ps. oryzihabitans* Ер4 на обоих фонах удобрений, у сорта Бара — только на 70 % фоне. Содержание Mg, Ca, B, Fe, Zn и Mo (см. табл. 3) в листьях у растений сортов Красивая Меча и Свапа при использовании смеси ризоторфина и *Ps. oryzihabitans* Ер4 на обоих фонах, как правило, было выше. Похожий, но менее выраженный результат для этих двух сортов получили при инокуляции смесью ризоторфина и *V. paradoxus* 3-P4: при N₃₀P₈₁K₈₁ бактерии не влияли на содержание Mg, Ca, B и Zn, а при N₄₄P₁₁₆K₁₁₆ не повышалось количество P. У сорта Бара (в отличие от двух других) контрольные и инокулированные растения по элементному составу листьев часто различались несущественно что проявилось для Mg, B, Zn, Mo на 70 % фоне и для P, Fe и Zn — на 100 % фоне (см. табл. 3, 4). Положительное влияние совместной инокуляции на содержание макро- и микроэлементов во многих случаях было достоверным по отношению как к контролю без инокуляции, так и к варианту с применением ризоторфина (см. табл. 3, 4).

Ризоторфин и ризобактерии не повышали содержание Co, Cu, K, Mn, Ni и S в листьях. Исключением был рост количества Co у сортов Красивая Меча (на 15 %, $p = 0,015$, $n = 12$) и Свапа (на 26 %, $p = 0,015$, $n = 12$), а также S — у сорта Свапа (на 23 %, $p = 0,016$, $n = 12$) при инокуляции смесью ризоторфина и *Ps. oryzihabitans* (данные не представлены).

На обоих фонах минерального питания ризоторфин повысил урожай семян у всех сортов (максимально — при смешанных инокуляциях с ризобактериями) (табл. 5). На сорте Свапа достоверный рост урожайности

3. Содержание макроэлементов в листьях в фазу цветения у сортов сои *Glycine max* (L.) Merr. под влиянием клубеньковой бактерии *Bradyrhizobium japonicum* 634b (ризоторфин) и ассоциативных бактерий *Pseudomonas oryzae* Ер4 и *Variovorax paradoxus* 3-Р4 при разном минеральном питании ($M \pm SEM$, НОПЦ «Интеграция» Орловского ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н, 2013-2015 годы)

Вариант	N, мг/г			P, мг/г			Mg, мг/г			Ca, мг/г		
	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара
	N ₃₀ P ₈₁ K ₈₁ (70 %)											
Без инокуляции	25,5±0,6 ^a	26,3±0,6 ^a	26,3±1,0 ^a	10,1±0,4 ^a	10,7±0,4 ^a	10,3±0,3 ^a	5,0±0,4 ^{ab}	4,0±0,2 ^a	4,2±0,2 ^a	18,0±0,9 ^a	16,2±0,9 ^a	17,6±0,8 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	29,4±0,7 ^c	31,2±1,0 ^{bc}	30,9±1,1 ^b	10,8±0,3 ^a	11,8±0,3 ^{ab}	10,4±0,3 ^a	4,9±0,4 ^a	4,4±0,2 ^{ab}	4,7±0,2 ^a	19,0±0,9 ^a	16,6±1,0 ^a	19,1±0,4 ^{ab}
<i>Ps. oryzae</i> Ер4	27,6±0,8 ^{bc}	27,8±1,0 ^a	27,6±0,9 ^a	11,3±0,5 ^b	11,7±0,5 ^{ab}	11,0±0,6 ^{ab}	5,2±0,4 ^{ab}	4,5±0,3 ^{ab}	4,5±0,3 ^a	20,2±0,8 ^{ab}	17,2±1,3 ^a	17,8±0,8 ^{ab}
<i>V. paradoxus</i> 3P-4	27,1±0,7 ^{ab}	28,1±0,8 ^{ab}	27,6±0,9 ^a	11,1±0,4 ^b	11,2±0,5 ^{ab}	10,7±0,3 ^a	5,3±0,4 ^{ab}	4,4±0,2 ^{ab}	4,2±0,2 ^a	18,5±0,8 ^a	16,0±0,5 ^a	18,5±0,8 ^{ab}
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzae</i> Ер4	30,7±0,6 ^c	32,6±1,0 ^c	32,6±0,9 ^b	11,8±0,4 ^b	12,5±0,4 ^b	12,0±0,5 ^b	5,9±0,4 ^b	5,0±0,3 ^c	4,7±0,2 ^a	21,7±1,1 ^b	20,1±1,3 ^b	19,6±0,7 ^b
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> 3P-4	29,9±0,9 ^c	31,2±1,2 ^{bc}	31,3±1,2 ^b	11,7±0,3 ^b	12,0±0,6 ^{ab}	10,7±0,5 ^a	5,1±0,4 ^{ab}	4,9±0,2 ^{bc}	4,7±0,2 ^a	19,3±1,0 ^{ab}	17,2±1,0 ^a	19,2±0,5 ^{ab}
	N ₄₄ P ₁₁₆ K ₁₁₆ (100 %)											
Без инокуляции	28,9±0,7 ^a	30,4±1,3 ^a	29,4±1,3 ^a	11,7±0,2 ^a	12,3±0,5 ^a	11,6±0,4 ^a	4,4±0,1 ^a	4,7±0,3 ^{ab}	4,2±0,1 ^a	17,9±1,0 ^a	16,1±0,6 ^a	15,8±0,3 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	32,5±0,8 ^{bc}	33,9±1,2 ^{bc}	32,2±1,0 ^b	12,1±0,2 ^a	12,2±0,4 ^a	11,8±0,4 ^a	4,9±0,1 ^{ab}	4,6±0,3 ^a	4,1±0,2 ^a	21,6±0,9 ^{bc}	16,9±0,6 ^a	17,3±0,6 ^{ab}
<i>Ps. oryzae</i> Ер4	30,0±1,1 ^a	32,2±1,5 ^{ab}	31,3±1,1 ^a	12,6±0,3 ^{ab}	13,2±0,6 ^{ab}	11,8±0,5 ^a	5,3±0,2 ^{ab}	4,6±0,2 ^a	4,3±0,2 ^{ab}	22,7±1,1 ^c	17,1±0,6 ^a	16,4±0,8 ^a
<i>V. paradoxus</i> 3P-4	30,5±1,1 ^{ab}	31,7±1,7 ^a	30,1±1,1 ^a	12,1±0,5 ^a	12,4±0,6 ^a	11,9±0,4 ^a	4,9±0,2 ^{ab}	4,7±0,2 ^{ab}	4,1±0,2 ^a	19,5±0,9 ^{ab}	16,8±0,4 ^a	17,0±0,7 ^{ab}
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzae</i> Ер4	33,5±0,6 ^c	35,4±1,1 ^c	34,1±0,9 ^b	13,4±0,1 ^b	14,5±0,6 ^b	12,8±0,6 ^a	5,5±0,3 ^b	5,3±0,2 ^{bc}	5,1±0,4 ^c	24,1±1,4 ^c	21,7±1,7 ^b	18,9±0,7 ^b
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> 3P-4	32,0±0,6 ^{bc}	35,2±1,2 ^{bc}	33,5±0,9 ^b	12,0±0,4 ^a	13,1±0,6 ^{ab}	12,0±0,6 ^a	5,4±0,5 ^{ab}	5,5±0,2 ^c	4,9±0,5 ^{bc}	22,4±1,3 ^{bc}	17,3±1,1 ^a	18,6±0,7 ^b

П р и м е ч а н и е. Для каждой дозы удобрений разными латинскими буквами обозначены статистически значимо различающиеся варианты (тест НСР Фишера, $p < 0,05$, $n = 12$).

4. Содержание микроэлементов в листьях в фазу цветения у сортов сои *Glycine max* (L.) Merr. под влиянием клубеньковой бактерии *Bradyrhizobium japonicum* 634b (ризоторфин) и ассоциативных бактерий *Pseudomonas oryzae* Ер4 и *Variovorax paradoxus* 3-Р4 при разном минеральном питании ($M \pm SEM$, НОПЦ «Интеграция» Орловского ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н, 2013-2015 годы)

Вариант	В, мкг/г			Fe, мкг/г			Zn, мкг/г			Mo, мкг/г		
	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара
	$N_{30}P_{81}K_{81}$ (70 %)											
Без инокуляции	45±2 ^a	39±2 ^a	50±5 ^a	109±3 ^{ab}	112±4 ^a	108±7 ^a	30±3 ^a	35±3 ^a	39±3 ^a	9,3±0,4 ^a	8,7±0,2 ^a	9,4±0,3 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	54±4 ^{ab}	45±3 ^a	52±5 ^a	102±5 ^a	112±5 ^a	122±11 ^a	31±3 ^a	41±3 ^{ab}	37±2 ^a	9,6±0,3 ^a	9,1±0,3 ^a	9,7±0,2 ^a
<i>Ps. oryzae</i> Ер4	49±5 ^{ab}	46±4 ^a	50±4 ^a	125±8 ^b	137±17 ^b	130±10 ^{ab}	35±2 ^{ab}	40±3 ^a	37±3 ^a	10,1±0,3 ^{ab}	8,8±0,3 ^a	9,7±0,3 ^a
<i>V. paradoxus</i> 3Р-4	55±4 ^b	46±4 ^a	52±4 ^a	123±13 ^b	126±13 ^{ab}	112±7 ^a	34±2 ^{ab}	37±3 ^a	35±3 ^a	9,8±0,3 ^{ab}	8,9±0,3 ^a	9,4±0,3 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzae</i> Ер4	53±3 ^{ab}	58±4 ^b	56±5 ^a	143±8 ^b	137±7 ^b	145±12 ^b	39±3 ^b	49±4 ^b	38±3 ^a	10,6±0,3 ^b	10,3±0,5 ^b	10,0±0,4 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> 3Р-4	54±5 ^{ab}	48±4 ^a	51±4 ^a	126±8 ^b	126±4 ^{ab}	139±12 ^b	34±3 ^{ab}	36±3 ^a	36±3 ^a	10,2±0,4 ^b	9,3±0,4 ^a	9,6±0,2 ^a
	$N_{44}P_{116}K_{116}$ (100 %)											
Без инокуляции	55±1 ^a	42±1 ^a	42±2 ^a	121±4 ^a	103±5 ^a	112±6 ^a	42±1 ^a	34±3 ^a	39±2 ^a	9,7±0,1 ^a	8,6±0,3 ^a	9,0±0,2 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	55±2 ^a	44±2 ^{ab}	55±5 ^b	130±8 ^{ab}	117±8 ^{ab}	118±10 ^a	45±2 ^a	45±3 ^b	40±2 ^a	10,7±0,2 ^b	9,1±0,3 ^{ab}	8,7±0,3 ^a
<i>Ps. oryzae</i> Ер4	57±3 ^a	47±3 ^{ab}	55±4 ^b	132±6 ^{ab}	116±5 ^{ab}	114±5 ^a	42±3 ^a	39±3 ^{ab}	37±2 ^a	11,1±0,2 ^{bc}	9,0±0,2 ^{ab}	8,6±0,2 ^a
<i>V. paradoxus</i> 3Р-4	56±2 ^a	50±2 ^{ab}	55±3 ^b	123±4 ^a	128±6 ^{bc}	115±5 ^a	41±2 ^a	41±2 ^{ab}	41±3 ^a	10,2±0,3 ^{ab}	9,2±0,1 ^{ab}	9,0±0,2 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzae</i> Ер4	62±5 ^a	60±5 ^c	74±6 ^c	164±8 ^c	144±12 ^c	133±4 ^a	47±2 ^a	47±3 ^b	43±2 ^a	11,9±0,4 ^c	9,3±0,2 ^{ab}	10,1±0,4 ^b
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> 3Р-4	61±4 ^a	53±4 ^{bc}	52±3 ^b	150±9 ^{bc}	130±6 ^{bc}	131±5 ^a	45±2 ^a	43±3 ^b	40±2 ^a	11,6±0,4 ^c	9,5±0,4 ^b	10,0±0,4 ^b

Пр и м е ч а н и е. Для каждой дозы удобрений разными латинскими буквами обозначены статистически значимо различающиеся варианты (тест НСР Фишера, $P < 0,05$, $n = 12$).

5. Продуктивные показатели у сортов сои *Glycine max* (L.) Merr. под влиянием клубеньковой бактерии *Bradyrhizobium japonicum* 634b (ризоторфин) и ассоциативных бактерий *Pseudomonas oryzae* Ер4 и *Variovorax paradoxus* 3-Р4 при разном минеральном питании ($M \pm SEM$; НОПЦ «Интеграция» ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н; 2013-2015 годы)

Вариант	Урожайность, г/м ²			Содержание белка в семенах, %			Содержание жира в семенах, %		
	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара	Красивая Меча	Свапа	Бара
	N ₃₀ P ₈₁ K ₈₁ (70 %)								
Без инокуляции	217±10 ^a	200±14 ^a	204±6 ^a	34,2±2,0 ^a	31,6±0,7 ^a	33,0±0,8 ^a	21,0±0,8 ^a	23,2±0,9 ^a	23,7±1,2 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	262±8 ^b	264±16 ^b	258±9 ^{bc}	38,1±0,7 ^b	34,4±0,4 ^b	34,6±1,0 ^a	22,8±0,4 ^b	24,5±0,8 ^b	24,0±0,8 ^{ab}
<i>Ps. oryzae</i> Ер4	250±11 ^{ab}	258±10 ^b	240±10 ^{bc}	38,1±0,9 ^b	33,7±0,9 ^a	34,5±1,7 ^a	21,8±0,5 ^{ab}	24,7±0,6 ^{ab}	23,3±0,9 ^a
<i>V. paradoxus</i> 3P-4	260±14 ^b	229±6 ^{ab}	226±11 ^{ab}	38,2±0,6 ^b	35,9±0,3 ^b	34,6±0,3 ^a	21,7±0,7 ^{ab}	23,9±0,8 ^{ab}	24,3±1,1 ^{ab}
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzae</i> Ер4	249±12 ^{ab}	313±15 ^c	251±10 ^c	39,0±1,0 ^b	41,1±0,7 ^c	35,1±0,8 ^{ab}	23,2±0,7 ^b	23,9±0,3 ^{ab}	25,9±1,1 ^b
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> 3P-4	270±14 ^b	280±17 ^{bc}	270±15 ^c	38,3±0,6 ^b	36,4±0,9 ^b	37,8±0,9 ^b	21,8±0,9 ^{ab}	24,9±0,6 ^b	22,5±0,3 ^a
	N ₄₄ P ₁₁₆ K ₁₁₆ (100 %)								
Без инокуляции	204±26 ^a	237±11 ^a	266±21 ^a	34,6±2,4 ^a	32,7±1,3 ^a	33,3±0,8 ^a	19,8±0,5 ^a	23,0±0,3 ^a	22,6±0,4 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b	249±12 ^b	299±10 ^b	312±6 ^{bc}	39,3±1,2 ^b	35,4±1,1 ^{bc}	35,8±1,4 ^{ab}	21,8±0,7 ^b	22,5±0,3 ^a	22,7±0,9 ^a
<i>Ps. oryzae</i> Ер4	219±26 ^{ab}	267±12 ^{ab}	290±13 ^a	40,1±1,1 ^b	35,6±0,9 ^c	35,0±0,8 ^a	21,4±0,7 ^{ab}	23,3±0,3 ^{ab}	23,0±0,2 ^a
<i>V. paradoxus</i> 3P-4	235±18 ^{ab}	272±17 ^{ab}	293±15 ^a	40,3±0,3 ^b	33,2±1,3 ^{ab}	35,7±0,7 ^{ab}	21,8±0,3 ^b	24,7±0,4 ^b	23,2±0,2 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>Ps. oryzae</i> Ер4	251±13 ^b	277±9 ^b	343±7 ^c	39,7±0,8 ^b	37,9±0,5 ^d	36,9±1,8 ^b	22,0±0,5 ^b	23,9±0,5 ^{ab}	24,2±1,0 ^a
<i>B. japonicum</i> 634b + <i>V. paradoxus</i> 3P-4	253±10 ^b	301±12 ^b	313±15 ^c	38,1±1,0 ^b	36,3±0,6 ^c	36,9±0,5 ^b	22,9±0,3 ^b	24,8±0,5 ^b	23,4±0,4 ^a

Примечание. Для каждой дозы удобрений разными латинскими буквами обозначены статистически значимо различающиеся варианты (тест НСР Фишера, $p < 0,05$, $n = 12$).

($p = 0,008$) относительно варианта с ризоторфином получили при его комбинации с *Ps. oryzihabitans* Ep4 при 100 % минерального питания. Содержание белка в семенах повышалось во всех вариантах инокуляции у сорта Красивая Меча, а также во всех вариантах у сорта Свапа (кроме моноинокуляций *Ps. oryzihabitans* Ep4 и *V. paradoxus* 3-P4 на фоне соответственно $N_{30}P_{81}K_{81}$ и $N_{44}P_{116}K_{116}$) (табл. 5). У сорта Бара этот эффект наблюдали только для комбинаций ризоторфина с *V. paradoxus* 3-P4 при $N_{30}P_{81}K_{81}$ и с обоими ризосферными штаммами при $N_{44}P_{116}K_{116}$. Содержание жира в семенах инокулированных растений тоже чаще было выше у сорта Красивая Меча, реже — у сорта Свапа и только в одном случае (смесь ризоторфина и *Ps. oryzihabitans* Ep4 на 70 % фоне) — у сорта Бара (см. табл. 5).

Проведенные нами полевые опыты показали, что ризобактерии положительно влияют на азотфиксирующий симбиоз, рост и питание ранне-спелых сортов сои северных экотипов. Это расширяет имеющиеся представления о взаимодействиях ризобактерий с бобовыми растениями при коинокуляции (11, 12, 14, 16), сравнении других сортов (15-19), разном азотном и фосфорном питании (20) в традиционных районах возделывания сои. Подтвердились данные о специфичности реакций изучаемых сортов на инокуляцию ризобактериями, которые указывали на более эффективную интеграцию штамма *Ps. oryzihabitans* Ep4 с сортами Красивая Меча и Свапа, обусловленную особенностями корневой экссудации (37). У этих сортов корни растений более интенсивно выделяют органические кислоты и сахара, которые служат питательным субстратом для ризобактерий и способствуют колонизации ризосферы. Ризобактерии, в свою очередь, хуже используют корневые экссудаты у сорта Бара (вероятно, из-за присутствия антибактериальных веществ). Еще один важный компонент экссудатов — триптофан (предшественник при биосинтезе ауксинов бактериями) (34) не усваивается в ризосфере у растений сорта Бара (37). Полученные результаты согласуются с данными о важной роли корневых экссудатов в сортовой специфичности эффектов ризобактерий, описанной для роста растений гороха (32), бобово-ризобиального симбиоза сои (15, 30), а также роста у *Arabidopsis thaliana* (45) и сорго (46).

Более эффективные взаимодействия между изучаемыми ризобактериями и сортами Красивая Меча и Свапа по сравнению с сортом Бара также подтверждается оценкой бактериальных эффектов по интегрированным параметрам (рис. 1). Они позволяют суммировать показатели, относящиеся к определенным аспектам реакции растений на инокуляцию, но не зависят от эффекта использования ризоторфина. Во всех случаях (за исключением влияния *V. paradoxus* 3-P4 на симбиоз) минимальные значения эффектов ризобактерий наблюдались для сорта Бара (см. рис. 1). При этом эффекты обоих штаммов на минеральное питание и штамма *V. paradoxus* 3-P4 — на биомассу растений у сорта Свапа оказались достоверно выше, чем для сорта Бара. Отметим, что максимальные относительные величины ризобактериальных эффектов получены для параметров азотфиксирующего симбиоза (см. табл. 1, рис. 1). Это указывает на важность взаимодействий микроорганизмов в ризосфере не только для обеспечения активного роста за счет эффективного функционирования симбиоза, но и для интенсивного минерального питания растений. Действительно, по содержанию питательных элементов в листьях при совместной инокуляции ризобактериями и ризоторфином наблюдались аддитивные и синергические эффекты.

Положительное действие ризобактерий на азотфиксирующий симбиоз сои (повышение образования клубеньков и ацетилен-редуктазной активности) могло быть связано с наличием фермента АЦК дезаминазы

(38, 39). Известно, что АЦК-утилизирующие ризобактерии уменьшают количество АЦК в корнях, способствуя снижению биосинтеза растениями фитогормона этилена, который служит ингибитором образования симбиотических клубеньков (23, 48). В наших экспериментах ранее описана стимуляция клубенькообразования у гороха штаммом *V. paradoxus* 5С-2 (21), а также у сои сорта Свапа штаммом *Ps. oryzihabitans* Ер4 (37).

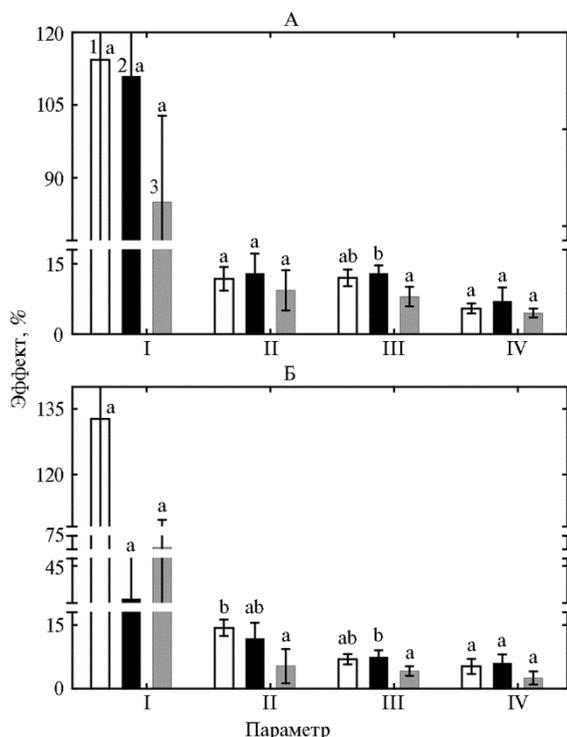


Рис. 1. Зависимость эффекта ризобактерий *Pseudomonas oryzihabitans* Ер4 (А) и *Variovorax paradoxus* 3P-4 (Б) от сорта сои *Glycine max* (L.) Merr., оцененная по интегрированным параметрам: I — симбиоз (число клубеньков, масса клубеньков, нитрогеназная активность), II — биомасса (надземная масса, масса корней в фазу цветения, урожайность), III — питание (содержание N, P, K, Mg, Ca, B, Fe, Zn и Mo в листьях), IV — качество (содержание белка и жира в семенах); 1 — Красивая Меча, 2 — Свапа, 3 — Бара. Эффект ризобактерий рассчитан как среднее значение эффектов компонентов параметра относительно соответствующего контролю (без инокуляции или с инокуляцией *B. japonicum* 634b) на каждом из двух фонов удобрений (N₃₀P₈₁K₈₁ или N₄₄P₁₁₆K₁₁₆). Вертикальными отрезками обозначены ошибки средних (\pm SEM). Статистически значимые различия между сортами для каждого параметра обозначены разными латинскими буквами (*t*-тест Стьюдента, $p < 0,05$) (НОПЦ «Интеграция» Орловского ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н, 2013-2015 годы).

Полученные результаты согласуются с данными исследователей, изучавших влияние совместной инокуляции клубеньковыми и ризосферными бактериями на азотфиксирующий симбиоз у различных бобовых культур. Так, показано, что инокуляция нута ризобиями *Mesorhizobium ciceri* и ризобактериями *Ps. fluorescens* (49) или *Bacillus* sp. (50) приводила к увеличению числа и массы клубеньков. Эти показатели повышались также при совместной инокуляции фасоли ризобиями *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* с разными видами ризобактерий рода *Bacillus* (51-52), *Ps. fluorescens* или *Az. lipoferum* (53). Ризобактерии *Az. brasilense*, *Azotobacter chroococcum*, *B. cereus*, *Ps. putida* и *Ps. fluorescens* стимулировали образование клубеньков и азотфиксирующую активность у голубиногороха (*Cajanus cajan*) при применении биопрепарата клубеньковых бактерий *Rhizobium* sp. (54). Похожие результаты получены при использовании ризобактерий и ризобий для инокуляции гороха (55, 56), чечевицы (56), маша (57) и люцерны (58). Как правило, в этих экспериментах стимуляция образования клубеньков приводила к повышению биомассы надземной части растений и урожая семян.

Влияние изучаемых штаммов ризобактерий на растения сои было во многом сходно, о чем свидетельствовала положительная корреляция между эффектами *Ps. oryzihabitans* Ер4 и *V. paradoxus* 3-P4 на измеряемые параметры на фоне N₃₀P₈₁K₈₁ ($r = +0,60$, $p < 0,001$, $n = 48$) и N₄₄P₁₁₆K₁₁₆ ($r = +0,70$, $p < 0,001$, $n = 48$). Это могло быть связано с общностью механизмов их взаимодействия с растениями, поскольку оба штамма обладают высокой активностью АЦК дезаминазы и продуцируют ауксины и

сидерофоры (37-39). Но *Ps. oryzihabitans* Ep4 в большей степени, чем *V. paradoxus* 3-P4, повышал содержание питательных элементов в листьях, особенно при совместной инокуляции с клубеньковыми бактериями (см. табл. 3, 4, рис. 1). Известно, что ризобактерии рода *Pseudomonas* мобилизуют питательные элементы в почве и их положительное действие на минеральное питание служит важным механизмом улучшения роста растений (4, 25, 43, 44). Однако имеются лишь фрагментарные сведения о способности ризобактерий рода *Variovorax* влиять на потребление растениями питательных элементов. Так, ранее мы показали, что инокуляция штаммом *V. paradoxus* 5C-2 гороха повышала потребление N, P, K, Ca и Mg растениями (25, 59). Представленные в настоящей работе результаты указывают на то, что *V. paradoxus* усиливает потребление питательных элементов соей и этот эффект зависит от сорта и дозы минеральных удобрений.

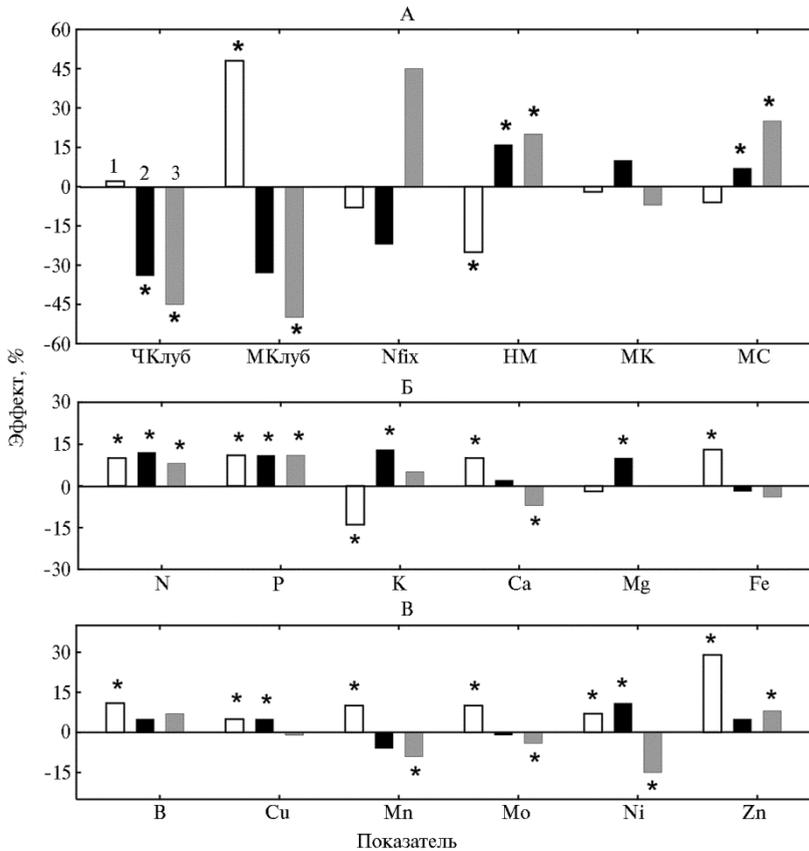


Рис. 2. Реакция сортов сои *Glycine max* (L.) Merr. Красная Меча (1), Свапа (2) и Бара (3) на минеральные удобрения: ЧКлуб — число клубеньков, МКлуб — масса клубеньков, Nfix — ацетилен-редуктазная активность клубеньков, НМ — надземная масса сухих растений в фазу цветения, МК — масса сухих корней в фазу цветения, МС — масса семян в фазу полной спелости; N, P, K, Ca, Mg, Fe, B, Cu, Mn, Mo, Ni и Zn — содержание элементов в листьях в фазу цветения. Эффект фона удобрений представлен как отношение средних для всех вариантов инокуляции абсолютных величин показателя при N₃₀P₈₁K₈₁ к средней величине этого показателя при N₄₄P₁₁₆K₁₁₆. Звездочками обозначены статистически значимые различия между фонами удобрений (тест НСР Фишера, $p < 0,05$, $n = 72$) (НОПЦ «Интеграция» Орловского ГАУ, п. Лаврово, Орловский р-н, 2013-2015 годы).

Наблюдаемые на растениях эффекты для каждого из двух штаммов ризобактерий также были схожи на обоих фонах минерального питания. Мы обнаружили положительную корреляцию эффектов на этих фонах по измеряемым параметрам для *Ps. oryzihabitans* Ep4 ($r = +0,61$, $p < 0,001$, $n = 48$) и

V. paradoxus 3-P4 ($r = +0,49$, $p < 0,001$, $n = 48$). Результаты свидетельствуют о способности изучаемых ризобактерий положительно и относительно стабильно влиять на ростовые и питательные характеристики растений сои при разных дозах минерального питания. В то же время в реакции сортов сои на минеральные удобрения обнаружены существенные различия, которые показаны как усредненные эффекты фактора удобрений для всех вариантов инокуляции (рис. 2). Во-первых, на 100 % фоне минерального питания у сортов Свапа и Бара число и масса клубеньков были меньше, а у сорта Красивая Меча второй показатель повышался. То есть оптимальная доза удобрений (наиболее вероятно, азотных) для образования азотфиксирующего симбиоза индивидуальна для сорта. Во-вторых, положительная ростовая реакция на повышение дозы минеральных удобрений была в большей степени характерна для сорта Бара с относительно низким симбиотическим потенциалом в отношении ризобактерий, что привело к наибольшему увеличению надземной массы и массы семян (см. рис. 1). Отзывчивость на минеральные удобрения и эффективность симбиоза могут быть взаимосвязаны, поскольку у растений существует эволюционная детерминанта, направленная на компенсацию низкой адаптации к неблагоприятным почвенным условиям за счет интенсификации симбиотических взаимодействий с микроорганизмами. Этот феномен впервые был описан нами при изучении корреляций между эффективностью взаимодействия 99 генотипов гороха с грибами арбускулярной микоризы и их устойчивостью к тяжелым металлам (60). В-третьих, при повышении дозы удобрений только у сорта Бара снижалось содержание питательных элементов (Ca, Mn, Mo, и Ni) в листьях, за исключением уменьшения количества K у сорта Красивая Меча (см. рис. 1). Это, вероятно, было связано с разбавлением элементов биомассой, которая наиболее значительно повышалась у сорта Бара на 100 % фоне минерального питания.

Таким образом, ризобактерии *Pseudomonas oryzae* Ep4 и *Variovorax paradoxus* 3-P4, которые продуцируют ауксины и обладают АЦК-дезаминазной активностью, способны активизировать бобово-ризобиальный симбиоз и потребление корнями питательных элементов из почвы, повышать продуктивность и улучшать качество семян раннеспелых сортов сои северного экотипа. Это указывает на стабильность и значимость наблюдаемых эффектов и, следовательно, на перспективность использования таких микроорганизмов в качестве биопрепаратов для улучшения адаптации сои к северным регионам возделывания. Существенные генотипические различия между сортами сои в реакциях на инокуляцию ризобактериями свидетельствуют о более высокой степени интеграции ризобактерий с сортами Красивая Меча и Свапа по сравнению с сортом Бара в условиях агроценоза. Возможно, недостаток симбиотического потенциала сорта Бара компенсируется его способностью более эффективно использовать минеральные удобрения. В этой связи представляет интерес изучение возможностей создания сортов и растительно-микробных систем, сочетающих высокую симбиотрофность и активную ассимиляцию питательных элементов из удобрений и почвы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vessey J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 2003, 255(2): 571-586 (doi: 10.1023/A:1026037216893).
2. Bashan Y., Holguin G., de-Bashan L.E. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Can. J. Microbiol.*, 2004, 50(8): 521-577 (doi: 10.1139/w04-035).
3. Glick B.R., Cheng Z., Czarny J., Duan J. Promotion of plant growth by ACC deaminase-

- producing soil bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.*, 2007, 119(3): 329-339 (doi: 10.1007/s10658-007-9162-4).
4. *Plant growth and health promoting bacteria* /D.K. Maheshwari (ed.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2010 (doi: 10.1007/978-3-642-13612-2).
 5. Nascimento F.X., Rossi M.J., Soares C.R.F.S., McConkey B.J., Glick B.R. New insights into 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase phylogeny, evolution and ecological significance. *PLoS ONE*, 2014, 9(6): e99168 (doi: 10.1371/journal.pone.0099168).
 6. Korir H., Mungai N.W., Thuita M., Hamba Y., Masso C. Co-inoculation effect of rhizobia and plant growth promoting rhizobacteria on common bean growth in a low phosphorus soil. *Front. Plant Sci.*, 2017, 8: 141 (doi: 10.3389/fpls.2017.00141).
 7. Medeot D.B., Paulucci N.S., Albornoz A.I., Fumero M.V., Bueno M.A., Garcia M.B., Woelke V.R., Okon Y., Dardanelli M.S. Plant growth promoting rhizobacteria improving the legume-rhizobia symbiosis. In: *Microbes for legume improvement* /M.S. Khan, A. Zaidi, J. Musarrat (eds.). Springer-Verlag, Vienna, 2010: 473-494 (doi: 10.1007/978-3-211-99753-6_19).
 8. Pérez-Montaco F., Alías-Villegas C., Bellogin R.A., del Cerro P., Espuny M.R., Jiménez-Guerrero I., López-Baena F.J., Ollero F.J., Cubo T. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. *Microbiol. Res.*, 2014, 169(5-6): 325-336 (doi: 10.1016/j.micres.2013.09.011).
 9. Polonenko D.R., Scher F.M., Kloepper J.W., Singleton C.A., Laliberte M., Zaleska I. Effects of roots colonizing bacteria on nodulation of soybean roots by *Bradyrhizobium japonicum*. *Can. J. Microbiol.*, 1987, 33(6): 498-503 (doi: 10.1139/m87-083).
 10. Zhang F., Dashti N., Hynes R.K., Smith D.L. Plant growth promoting rhizobacteria and soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperatures. *Annals of Botany*, 1996, 77(5): 453-460 (doi: 10.1006/anbo.1996.0055).
 11. Chebotar V.K., Asis C.A., Akao S. Production of growth-promoting substances and high colonization ability of rhizobacteria enhance the nitrogen fixation of soybean when coinoculated with *Bradyrhizobium japonicum*. *Biol. Fert. Soils*, 2001, 34(6): 427-432 (doi: 10.1007/s00374-001-0426-4).
 12. Hungria M., Nogueira M., Araujo R. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. *Biol. Fert. Soils*, 2013, 49(7): 791-801 (doi: 10.1007/s00374-012-0771-5).
 13. Bai Y., D'Aoust F., Smith D.L., Driscoll B.T. Isolation of plant-growth-promoting *Bacillus* strains from soybean root nodules. *Can. J. Microbiol.*, 2002, 48(3): 230-238 (doi: 10.1139/w02-014).
 14. Bai Y., Zhou-Xiao M., Smith D.L. Enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum*. *Crop Sci.*, 2003, 43(5): 1774-1781 (doi: 10.2135/cropsci2003.1774).
 15. Atieno M., Herrmann L., Okalebo R., Lesueur D. Efficiency of different formulations of *Bradyrhizobium japonicum* and effect of co-inoculation of *Bacillus subtilis* with two different strains of *Bradyrhizobium japonicum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, 28(7): 2541-2550 (doi: 10.1007/s11274-012-1062-x).
 16. Tsigie A., Tilak K.V.B.R., Anil K.S. Field response of legumes to inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. *Biol. Fert. Soils*, 2012, 47: 971-974 (doi: 10.1007/s00374-011-0573-1).
 17. Masciarelli O., Llanes A., Luna V. A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. *Microbiol. Res.*, 2014, 169: 609-615 (doi: 10.1016/j.micres.2013.10.001).
 18. Mishra P.K., Mishra S., Selvakumar G., Kundu S., Gupta H.S. Enhanced soybean (*Glycine max* L.) plant growth and nodulation by *Bradyrhizobium japonicum*-SB1 in presence of *Bacillus thuringiensis*-KR1. *Acta Agr. Scand. B-S. P.*, 2009, 59(2): 189-196 (doi: 10.1080/09064710802040558).
 19. Diep C.N., My N.T.X., Nhu V.T.P. Isolation and characterization of endophytic bacteria in soybean root nodules. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2016, 5(6): 222-241.
 20. Shiri-Janagard M., Raei Y., Gasemi-Golezani G., Aliasgarzad N. Influence of *Bradyrhizobium japonicum* and phosphate solubilizing bacteria on soybean yield at different levels of nitrogen and phosphorus. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 2012, 3(11): 544-549.
 21. Belimov A.A., Dodd I.C., Hontzeas N., Theobald J.C., Safronova V.I., Davies W.J. Rhizosphere bacteria containing ACC deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signaling. *New Phytol.*, 2009, 181: 413-423 (doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02657.x).
 22. Gamalero E., Glick B.R. Bacterial modulation of plant ethylene levels. *Plant Physiol.*, 2015, 169: 13-22 (doi: 10.1104/pp.15.00284).
 23. Nascimento F.X., Brígido C., Glick B.R., Rossi M.J. The role of rhizobial ACC deaminase in the nodulation process of leguminous plants. *International Journal of Agronomy*, 2016, 2016: Article ID 1369472 (doi: 10.1155/2016/1369472).
 24. Remans R., Beebe S., Blair M., Manrique G., Tovar E., Rao I., Croonenborghs A., Torres-Gutierrez R., El-Howeity M., Michiels J., Vanderleyden J. Physiological and genetic analysis of root responsiveness to auxin-producing plant growth-promoting bacteria in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Soil*, 2008, 302(1-2): 149-161 (doi: 10.1007/s11104-007-9462-7).
 25. Safronova V.I., Stepanok V.V., Engqvist G.L., Alekseyev Y.V., Belimov A.A. Root-associated bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase improve growth and nutrient

- uptake by pea genotypes cultivated in cadmium supplemented soil. *Biol. Fert. Soils*, 2006, 42(3): 267-272 (doi: 10.1007/s00374-005-0024-y).
26. Das S.K., Sharma K.L., Neelam S., Srinivas K. Effect of cultivars, nitrogen sources and soil types on response of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) to *Azospirillum* inoculation. *Ann. Agric. Sci.*, 1997, 18(3): 313-317.
 27. Saubidet M.I., Barneix A.J. Growth stimulation and nitrogen supply to wheat plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. *J. Plant Nutr.*, 1998, 21(12): 2565-2577 (doi: 10.1080/01904169809365588).
 28. Burdman S., Kigel J., Okon Y. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Soil Biol. Biochem.*, 1997, 29(5-6): 923-929 (doi: 10.1016/S0038-0717(96)00222-2).
 29. Walker V., Bertrand C., Bellvert F., Mënne-Loccoz Y., Bally R., Comte G. Host plant secondary metabolite profiling shows a complex, strain-dependent response of maize to plant growth-promoting rhizobacteria of the genus *Azospirillum*. *New Phytol.*, 2011, 189(2): 494-506 (doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03484.x).
 30. Dashti N., Zhang F., Hynes R., Smith D.L. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] under short season conditions. *Plant Soil*, 1998, 200(2): 205-213 (doi: 10.1023/A:1004358100856).
 31. Белимов А.А., Демчинская С.В., Сафронова В.И. Реакция гороха на инокуляцию ризосферными АЦК-утилизирующими бактериями в присутствии эндомикоризного гриба *Glomus intraradices*. *Сельскохозяйственная биология*, 2012, 3: 90-97.
 32. Кузмичева Ю.В., Шапошников А.И., Азарова Т.С., Петрова С.Н., Наумкина Т.С., Борисов А.Ю., Белимов А.А., Кравченко Л.В., Парахин Н.В., Тихонович И.А. Состав корневых экзометаболитов высокосимбиотрофного сорта гороха Триумф и его родительских форм. *Физиология растений*, 2014, 61(1): 121-128.
 33. Imran A., Mirza M.S., Shah T.M., Malik K.A., Hafeez F.Y. Differential response of kabuli and desi chickpea genotypes toward inoculation with PGPR in different soils. *Front. Microbiol.*, 2015, 6: 859 (doi: 10.3389/fmicb.2015.00859).
 34. Drogue B., Sanguin H., Chamam A., Mozar M., Llauro C., Panaud O., Prigent-Combaret C., Picault N., Wisniewski-Dye F. Plant root transcriptome profiling reveals a strain-dependent response during *Azospirillum*-rice cooperation. *Front. Plant. Sci.*, 2014, 5: 607 (doi: 10.3389/fpls.2014.00607).
 35. Okubara P.A., Kornoely J.P., Landa B.B. Rhizosphere colonization of hexaploid wheat by *Pseudomonas fluorescens* strains Q8r1-96 and Q2-87 is cultivar-variable and associated with changes in gross root morphology. *Biol. Control*, 2004, 30(2): 392-403 (doi: 10.1016/j.biocontrol.2003.11.003).
 36. Smith K.P., Goodman R.M. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 1999, 37: 473-491 (doi: 10.1146/annurev.phyto.37.1.473).
 37. Kuzmicheva Y.V., Shaposhnikov A.I., Petrova S.N., Makarova N.M., Tychinskaya I.L., Puhalsky J.V., Parahin N.V., Tikhonovich I.A., Belimov A.A. Variety specific relationships between effects of rhizobacteria on root exudation, growth and nutrient uptake of soybean. *Plant Soil*, 2017, 419(1-2): 83-96 (doi: 10.1007/s11104-017-3320-z).
 38. Belimov A.A., Safronova V.I., Sergeeva T.A., Egorova T.N., Matveyeva V.A., Tsyganov V.E., Borisov A.Y., Tikhonovich I.A., Kluge C., Preisfeld A., Dietz K.J., Stepanok V.V. Characterisation of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can. J. Microbiol.*, 2001, 47(7): 642-652 (doi: 10.1139/cjm-47-7-642).
 39. Belimov A.A., Hontzeas N., Safronova V.I., Demchinskaya S.V., Piluzza G., Bullitta S., Glick B.R. Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biol. Biochem.*, 2005, 37(2): 241-250 (doi: 10.1016/j.soilbio.2004.07.033).
 40. Лактионов Ю.В., Попова Т.А., Андреев О.А., Ибатуллина Р.П., Кожемяков А.П. Создание стабильной формы ростстимулирующих микробиологических препаратов и их эффективность. *Сельскохозяйственная биология*, 2011, 3: 116-118.
 41. Arinushkina E.V. *Guidelines for the chemical analysis of soils*. Moscow State University Press, Moscow, 1970.
 42. Hardy R.W.F., Bums R.C., Holsten R.D. Application of the C₂H₂-C₂H₄ assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.*, 1973, 5(1): 47-82 (doi: 10.1016/0038-0717(73)90093-X).
 43. Preston G.M. Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Philos. T. Roy. Soc. B*, 2004, 359(1446): 907-918 (doi: 10.1098/rstb.2003.1384).
 44. Patten C.L., Glick B.R. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.*, 1996, 42(3): 207-220 (doi: 10.1139/m96-032).
 45. Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2007, 31(4): 425-448 (doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x).
 46. Badri D.V., Quintana N., El-Kassis E.G., Kim H.K., Choi Y.H., Sugiyama A., Verpoorte R., Martinoia E., Manter D.K., Vivanco J.M. An ABC transporter mutation alters root exudation

- of phytochemicals that provoke an overhaul of natural soil microbiota. *Plant Physiol.*, 2009, 151: 2006–2017 (doi: 10.1104/pp.109.147462).
47. Saleem M., Arshad M., Hussain S., Bhatti A.S. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *J. Ind. Microbiol. Biot.*, 2007, 34(10): 635–648 (doi: 10.1007/s10295-007-0240-6).
 48. Krotzky A., Bergold R., Werner D. Plant characteristics limiting associative N₂ fixation with two cultivars of sorghum mutants. *Soil Biol. Biochem.*, 1988, 20(2): 157–162 (doi: 10.1016/0038-0717(88)90032-6).
 49. Verma J.P., Yadav J., Tiwari K.N. Enhancement of nodulation and yield of chickpea by co-inoculation of indigenous *Mesorhizobium* spp. and plant growth-promoting rhizobacteria in Eastern Uttar Pradesh. *Commun. Soil Sci. Plan.*, 2012, 43(3): 605–621 (doi: 10.1080/00103624.2012.639110).
 50. Wani P.A., Khan M.S., Zaidi A. Co-inoculation of nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria to promote growth, yield and nutrient uptake in chickpea. *Acta Agron. Hung.*, 2007, 55(3): 315–323 (doi: 10.1556/AAgr.55.2007.3.7).
 51. Elkoca E., Turan M., Donmez M.F. Effects of single, dual and triple inoculations with *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* on nodulation, nutrient uptake, yield and yield parameters of common bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. 'ELKOCA-05'). *J. Plant Nutr.*, 2010, 33(14): 2104–2119 (doi: 10.1080/01904167.2010.519084).
 52. Figueiredo M.V.B., Martinez C.R., Burity H.A., Chanway C.P. Plant growth-promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *World J. Microb. Biot.*, 2008, 24(7): 1187–1193 (doi: 10.1007/s11274-007-9591-4).
 53. Yadegari M., Asadi Rahmani H., Noormohammadi G., Ayneband A. Plant growth promoting rhizobacteria increase growth, yield and nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris*. *J. Plant Nutr.*, 2010, 33(12): 1733–1743 (doi: 10.1080/01904167.2010.503776).
 54. Tilak K.V.B.R., Ranganayaki N., Manoharachari C. Synergistic effects of plant-growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Eur. J. Soil Sci.*, 2006, 57(1): 67–71 (doi: 10.1111/j.1365-2389.2006.00771.x).
 55. Dileep Kumar B.S., Berggren I., Mertensson A.M. Potential for improving pea production by co-inoculation with fluorescent *Pseudomonas* and *Rhizobium*. *Plant Soil*, 2001, 229(1): 25–34 (doi: 10.1023/A:1004896118286).
 56. Mishra P.K., Mishra S., Selvakumar G., Bisht J. K., Kundu S., Gupta H.S. Co-inoculation of *Bacillus thuringiensis*-KR1 with *Rhizobium leguminosarum* enhances plant growth and nodulation of pea (*Pisum sativum* L.) and lentil (*Lens culinaris* L.). *World J. Microb. Biot.*, 2009, 25(5): 753–761 (doi: 10.1007/s11274-009-9963-z).
 57. Qureshi M.A., Shakir M.A., Iqbal A., Akhtar N., Khan A. Co-inoculation of phosphate solubilizing bacteria and rhizobia for improving growth and yield of mungbean (*Vigna radiata* L.). *J. Anim. Plant Sci.*, 2012, 21(3): 491–497.
 58. Guinazu L.B., Andres J.A., Del Papa M.F., Pistorio M., Rosas S.B. Response of alfalfa (*Medicago sativa* L.) to single and mixed inoculation with phosphate-solubilising bacteria and *Sinorhizobium meliloti*. *Biol. Fert. Soils*, 2010, 46(2): 185–190 (doi: 10.1007/s00374-009-0408-5).
 59. Wang Q., Dodd I.C., Belimov A.A., Jiang F. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase growth and photosynthesis of pea plants under salt stress by limiting Na⁺ accumulation. *Funct. Plant Biol.*, 2016, 43(2): 161–172.
 60. Belimov A.A., Puhalsky I.V., Safronova V.I., Shaposhnikov A.I., Vishnyakova M.A., Semenova E.V., Zinovkina N.Y., Makarova N.M., Wenzel W., Tikhonovich I.A. Role of plant genotype and soil conditions in symbiotic plant-microbe interactions for adaptation of plants to cadmium polluted soils. *Water Air Soil Poll.*, 2015, 226(8): 1–15 (doi: 10.1007/s11270-015-2537-9).

¹ФГБОУ ВО Орловский государственный аграрный университет им. Н.В. Парахина,

302019 Россия, г. Орел, ул. Генерала Ролина, 69,
e-mail: juliemons@yandex.ru, pridotko1990@mail.ru, svet-orl@yandex.ru;

²ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии,

196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: jankiss88@gmail.com, nm_makarova@yahoo.com,
ai-shaposhnikov@mail.ru, belimov@rambler.ru ✉

Поступила в редакцию
29 ноября 2017 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 5, pp. 977–993

CULTIVAR SPECIFICITY OF THE RHIZOBACTERIAL EFFECTS ON NITROGEN-FIXING SYMBIOSIS AND MINERAL NUTRITION OF SOYBEAN UNDER AGROCENOSIS CONDITIONS

Yu. V. Beregovaya¹, I. L. Tychinskaya¹, S. N. Petrova¹, N. V. Parahin¹, J. V. Puhalsky²,

¹Parakhin Orel State Agrarian University, 69, ul. Generala Rodina, Orel, 302019 Russia, e-mail juliemons@yandex.ru, pridatko1990@mail.ru, svet-orl@yandex.ru;

²All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Federal Agency for Scientific Organizations, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail jankiss88@gmail.com, nm_makarova@yahoo.com, ai-shaposhnikov@mail.ru, belimov@rambler.ru (✉ corresponding author)

ORCID:

Beregovaya Yu.V. orcid.org/0000-0001-7853-326X

Tychinskaya I.L. orcid.org/0000-0002-9805-8432

Petrova S.N. orcid.org/0000-0003-4482-3458

Puhalsky J.V. orcid.org/0000-0001-5233-3497

Makarova N.M. orcid.org/0000-0003-4781-328X

Shaposhnikov A.I. orcid.org/0000-0003-0771-5589

Belimov A.A. orcid.org/0000-0002-9936-8678

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Science Foundation (grant № 16-16-00080 for characterization of bacterial inoculum and biologicals, grant № 14-16-00137 for field trials, grant № 17-76-10039 for plant chemical composition assay) and Russian Foundation for Basic Research (grant № 15-04-09023 for nodulation and nitrogen fixation study). Strain deposition was fulfilled within the frame of FANO Russia Program of development and inventory of bio resources

Received November 29, 2017

doi: 10.15389/agrobiology.2018.5.977eng

Abstract

Stimulation of nitrogen-fixing symbiosis by is an important mechanism of interaction between rhizobacteria and leguminous plants. At the same time, little is known about intraspecific (varietal) variability of leguminous when responding to inoculation with rhizobacteria. Our recent model studies of hydroponic soybean seedlings showed that rhizobacteria *Pseudomonas oryzihabitans* Ep4 can better stimulate growth and colonize the roots of Nice Mecha and Swapa soybean plants when compared to Bara variety. The purpose of this work was to study the variety-specific responses of soybeans plants to inoculation with rhizosphere bacteria (rhizobacteria) producing auxins and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase at various levels of plant mineral nutrition under agrocenosis conditions. The subject plants were three early ripening soybean *Glycine max* (L.) Merr. varieties of the northern ecotypes Nice Mecha, Swapa and Bara. Rhizobacterial strains *Pseudomonas oryzihabitans* Ep4 and *Variovorax paradoxus* 3-P4 were used for inoculation. Biopreparation rizotorfin containing a nodule bacterium *Bradyrhizobium japonicum* strain 634b was used for the formation of nitrogen-fixing symbiosis. Three-year field experiments were conducted in 2013-2015 years in the northernmost area of soybean cultivation (Orel region) on a dark gray forest medium-loamy soil. Mineral fertilizer 'diamofoska' was applied 7 days before sowing. Two mineral nutrition levels of N₃₀P₈₁K₈₁ and N₄₄P₁₁₆K₁₁₆ were used. In all treatments with rizotorfin there was an increase in nodule biomass and nodule number, except the treatment of cultivar Bara at N₃₀P₈₁K₈₁. In using lower mineral nutrition with rizotorphin, the strain *Ps. oryzihabitans* Ep4 increased number (by 140 %) and weigh (by 176 %) of nodules and nitrogen-fixing activity (by 69 %) of Swapa plants at flowering. At a higher mineral nutrition the influence of *Ps. oryzihabitans* Ep4 on the legume-rhizobia symbiosis manifested by the increased nodule number on Swapa roots (by 55 %) and nitrogen-fixing activity of Bara variety (by 205 %), whereas the strain *V. paradoxus* 3-P4 increased nitrogen fixation of Nice Mecha (by 231 %) and Bara (by 205 %). The positive effects of both rhizobacterial strains on the plant growth at the flowering stage, as well as on the content of nutrients (Mg, Ca, B, Fe, Zn and Mo) in leaves were more pronounced on varieties Nice Mecha and Swapa at lower and/or higher mineral nutrition. At N₃₀P₈₁K₈₁ the increase of shoot biomass at the flowering stage in cultivars Nice Mecha and Swapa was obtained after inoculation with monocultures of the studied rhizobacteria and after combination of rhizobacteria with rizotorfin as well. However cultivar Bara has a positive response to mono-inoculation with rizotorfin. At N₄₄P₁₁₆K₁₁₆ a combined inoculation of cultivar Bara with rizotorfin and strain *Ps. oryzihabitans* Ep4, as well as cultivar Nice Mecha with rizotorfin and strain *V. paradoxus* 3-P4, was significantly more efficient as compared to mono-inoculation with rizotorfin. As a rule, the positive effects of both rhizobacterial strains on plant growth at flowering, as well as on the content of nutrient elements (Mg, Ca, B, Fe, Zn and Mo) in leaves, were more pronounced on cultivars Nice Mecha and Swapa at a lower and/or a higher level of mineral nutrition. The maximum effect of rhizobacteria on seed yield and seed quality (protein and fat content) is also obtained by inoculation of varieties Nice Mecha and Swapa. However, variety Bara has the highest response to mineral fertilizers. The differences found between soybean varieties in the response to inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria indicate a higher degree of integration between associative microorganisms and varieties Nice Mecha and Swapa compared to variety Bara. The results of this study indicate the promise for creating plant-microbe systems that combine a high degree of symbiotrophy and assimilation of nutrients from fertilizers and soil.

Keywords: *Glycine max*, *Pseudomonas*, *Variovorax*, intraspecies variability, mineral nutrition, rhizosphere, symbiotic nitrogen fixation, phytohormones, agrocenosis.