

Д.М. Сытник^{1,2}

¹Институт ботаники имени Н.Г. Холодного НАН Украины, ул. Терещенковская, 2, Киев, 01601, Украина

²Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, тел.: +38 (068) 322 90 44, e-mail: sytnikov@list.ru

ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ РИЗОБИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ГОМОЛОГИЧНЫМ ЛЕКТИНОМ

Произведён расчет экономической целесообразности применения различных препаративных форм клубеньковых бактерий сои (жидкие, на твердом носителе, модифицированные гомологичным лектином). Результаты многолетних исследований и экономический расчет указывают на перспективность использования бактериальных препаратов, модифицированных гомологичным лектином, как жидких, так и изготовленных на твердом носителе. Показано, что различные препаративные формы ризобий достоверно повышают эффективность симбиотической системы сои и продуктивность растений, в связи с чем могут быть рекомендованы аграрному производству.

Ключевые слова: бобово-ризобиальный симбиоз, *Bradyrhizobium japonicum*, бактериальные препараты, гомологичный лектин.

Установление положительного влияния почвенной микрофлоры на растительные организмы привело к необходимости поиска условий практического применения отдельных ее представителей. Так, первый бактериальный препарат — нитрагин, содержащий несколько видов клубеньковых бактерий, был изготовлен в 1896 году, в Германии. В СССР, например, был широко распространен ризоторфин — торфяной субстрат с питательными добавками, содержащий определенный штамм активных клубеньковых бактерий для конкретного вида бобовых культур. В наши дни применение биологических препаратов на основе азотфиксирующих микроорганизмов является одним из основных приемов повышения продуктивности растений, а также качества их урожая. При этом естественным путём удаётся сохранять плодородие почв без ухудшения экологического состояния окружающей среды. Использование различных бактериальных препаратов позволяет регулировать численность и активность полезной микрофлоры в ризосфере возделываемых культур и

в значительной степени обеспечивать растения азотом, фиксированным из атмосферы [1, 10].

Ключевая роль в решении проблемы дефицита полноценного белка принадлежит сое, однако в почвах, на которых эта культура выращивается впервые, обычно отсутствуют специфические для нее клубеньковые бактерии, или же их количество крайне незначительно (до 20 ед./г почвы) [11]. Исследования последних лет показали, что внедрение технологий, основанных на биологической фиксации молекулярного азота, дает возможность получать качественное соевое сырье, не содержащее вредных химических соединений [10].

Изучение взаимоотношений бобовых растений и клубеньковых бактерий является одним из ключевых звеньев в решении обозначенных вопросов. В соответствии с существующими представлениями о механизмах взаимодействия растений с ризобиями полисахариды последних являются фактором, который обеспечивает "узнавание" бактериями соответствующего растения-хозяина путем комплементарного связывания с растительным лектином. Лектины — это белки, обладающие способностью обратимо и избирательно связываться с углеводами и углеводными частями биополимеров без изменения ковалентной структуры последних. Наряду с другими биологически активными веществами лектины бобовых уже при прорастании семян секретируются во внешнюю среду [7, 13]. Эти белки стимулируют размножение и активное движение к корням почвенных микроорганизмов, оказывают влияние на рост микросимбионтов и синтез ими экзогликанов [6]. Лектины растений рассматривают в качестве одного из факторов эффективного симбиоза, который предложено учитывать при разработке и внедрении новых подходов к управлению продукционным процессом у бобовых растений [7]. Известно, что обработка ризобий лектином специфического растения положительно влияет на их вирулентность и конкурентоспособность [15], а также повышает азотфиксирующую активность корневых клубеньков, что связывают с действием лектина на биосинтез нитрогеназы [2] в бактериальной клетке. Как следствие, предварительная инкубация ризобий с гомологичным лектином усиливает ростовые процессы растения и повышает продуктивность симбиоза [7].

Цель настоящей работы состояла в оценке экономической эффективности применения бактериальных препаратов для инокуляции сои при их модификации гомологичным лектином на примере проводившихся ранее испытаний.

Материалы и методы исследования

В экспериментах использовали растения сои *Glycine max* (L.) Мегг. сорта «Марьяна», совместной селекции Института физиологии растений и генетики НАН Украины (ИФРГ), Селекционно-генетического института и Института земледелия НААН. Для получения биопрепаратов использо-



вали клубеньковые бактерии *Bradyrhizobium japonicum* (штаммы 6346 и 646) из музейной коллекции азотфиксирующих микроорганизмов ИФРГ. В работе применяли лектин семян сои (SBA), приобретенный в НПК «Лектинотест» (Львов, Украина).

Полевые испытания проводили на агробиологической станции Уманского государственного педагогического университета (УГПУ) имени Павла Тычины (Черкасская область) и на опытном участке ИФРГ (г. Киев) [14]. Подготовка, стерилизация микробиологической посуды и питательных сред для выращивания ризобий, работа в ламинарном боксе с культурами бактерий, определение жизнеспособности и количественная оценка интенсивности роста микроорганизмов проводились по общепринятым в микробиологии правилам.

Процедура выращивания бактериальных культур, а также процесс получения жидких и твердых форм биопрепаратов были описаны ранее [14]. В соответствии со схемами опытов в суспензию клубеньковых бактерий вносили водные растворы гомологичного лектина семян сои. Конечная концентрация используемого белка в бактериальной суспензии с титром клеток $1 \cdot 10^7$ составляла 100 или 300 мкг/мл. Препараты были использованы через 10 или 30 дней после изготовления. Перед посевом семена инокулировали жидкой бактериальной суспензией или смывом с бактеризованного перлита.

Все результаты обрабатывались статистически [4], в таблицах представлены средние арифметические и их стандартные ошибки.

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты проведенных нами ранее исследований [14] продемонстрировали перспективность применения бактериальных препаратов, модифицированных гомологичным лектином, как жидких, так и изготовленных на твердом носителе (табл. 1).

Более высокая эффективность бактериальных препаратов на твердом носителе, очевидно, обусловлена благоприятными условиями используемой среды для ризобий и внесением питательных добавок. Можно было предположить, что в жидком препарате бактерии больше контактируют с лектином, однако известно, что после 10 мин инкубации ризобий с лектином агглютинирующая активность белка в суспензии уменьшается на 50–75% и остается постоянной в течение 20 ч независимо от вида лектина и штамма ризобий. Следовательно, в первые минуты инкубации происходит частичное связывание лектина ризобиями, которое и оказывает влияние на метаболизм бактериальной клетки, активируя ее и подготавливая к процессу кооперирования с растением-хозяином [9]. Поскольку значительная часть лектина, оставаясь несвязанной, сохраняла свою активность, последнее обстоятельство позволило нам предположить механизм положительного влияния различных концентраций лектина, вносимого в бактериальную суспензию [14].



Кроме того, установлено, что экзогенная обработка семян лектином без инокуляции способна увеличивать продуктивность сои, что позволяет рассматривать растительный лектин как биологически активное вещество, механизм действия которого направлен на повышение урожая [5]. Таким образом, лектин, вносимый в бактериальную суспензию перед инокуляцией, способен не только оказывать влияние на бактерии, путем связывания с их поверхностью, а и непосредственно стимулировать растения.

Таблица 1

Урожай семян сои при использовании различных препаративных форм клубеньковых бактерий с различными концентрациями гомологичного лектина (среднее из двух опытов, 2005 г.)

Table 1

Soybean seeds harvest with the application of various preparations forms of nodule bacteria with different homologous lectin concentrations (average from two experiments in 2005)

Препаративная форма	Концентрация лектина, мкг/мл бактериальной суспензии	Урожай семян, ц/га	Прирост урожая	
			ц/га	%
Жидкая культура	0	$29,3 \pm 2,7$	—	—
	100	$36,6 \pm 1,5$	7,3	24,9
	300	$32,5 \pm 1,8$	3,2	10,9
Перлит	0	$34,6 \pm 1,2$	—	—
	100	$43,1 \pm 1,1$	8,5	24,5
	300	$40,3 \pm 1,7$	5,6	16,4
НСР _{0,05}		4,6		

Нами было установлено [14], что использование данного белка дает возможность повышать эффективность симбиотической системы сои и увеличивать ее продуктивность. При этом проведенные испытания 2006 года подтвердили (табл. 2), что концентрация гомологичного лектина 100 мкг/мл бактериальной суспензии *Bradyrhizobium japonicum* является оптимальной в физиологическом и экономическом отношении дозой при изготовлении ризобияльных препаратов с использованием перлита в качестве твердого носителя. В более поздних работах [12] была установлена эффективность применения бактериальных препаратов, модифицированных гомологичным лектином, как на основе активных производственных штаммов ризобий, так и некоторых Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* (штаммы T66 и T3-11).



Таблица 2

Продуктивность сои, инокулированной ризобияльными биопрепаратами на твердом носителе (перлит), при модификации гомологичным лектином

Table 2

Productivity of soybean inoculated with biological rhizobial preparation on the solid carrier (perlite) and modified with homologous lectin

Концентрация лектина, мкг/мл бактериальной суспензии	Урожай семян, ц/га			
	I	II	III	Среднее из трех опытов
0	36,2 ± 0,7	33,1 ± 1,8	22,5 ± 0,7	30,6 ± 1,1
100	45,1 ± 1,4	41,2 ± 0,8	25,8 ± 1,1	37,4 ± 1,1
300	41,9 ± 1,5	38,8 ± 2,0	27,3 ± 1,0	36,0 ± 1,5
НСР _{0,05}	4,2	5,1	2,5	

Примечание: полевые испытания на агробиологической станции УГПУ – I (2005 г.), III (2006 г.); на опытном участке ИФРГ – II (2005 г.)

Исходя из результатов испытаний, проведенных на протяжении ряда лет был произведен расчет ряда экономических показателей. Известно, что экономическая эффективность применения бактериальных препаратов для инокуляции семян бобовых растений перед посевом зависит от прироста урожая, его стоимости и дополнительных затрат. Расчет данных для оценки основных экономических показателей (1) и расчет показателей экономической эффективности используемых нами бактериальных препаратов (2) по отношению к контролю производили по следующим формулам [3, 8]:

(1) Себестоимость = затраты на выращивание : урожай;

Чистая прибыль = урожай × цена урожая – затраты на выращивание;

Рентабельность = (чистая прибыль : затраты на выращивание) × 100%.

(2) Себестоимость = $\frac{\text{затраты на выращивание} + \text{затраты на препарат}}{\text{урожай}}$;

Чистая прибыль = урожай × цена урожая – (затраты на выращивание + затраты на препарат);

Рентабельность = $\frac{\text{чистая прибыль}}{\text{затраты на выращивание} + \text{затраты на препарат}} \times 100\%$.

Себестоимость одного центнера семян сои, чистый доход и рентабельность вычисляли по формулам исходя из затрат на производство по типовой технологической карте выращивания сои (контроль) без



применения бактериальных удобрений на примере одного из хозяйств Киевской области (1):

$$\begin{aligned}\text{Себестоимость} &= 2066,87 : 20,0 = 103,34 \text{ грн/ц} \\ \text{Чистая прибыль} &= 20,0 \times 120,0 - 2066,87 = 333,13 \text{ грн/га} \\ \text{Рентабельность} &= 333,13 : 2066,87 \times 100\% = 16,1\%\end{aligned}$$

Многолетними производственными испытаниями бактериальных препаратов клубеньковых бактерий сои установлено, что в среднем по Украине прибавка урожая при их использовании составляет около 12%. Расчет же экономической эффективности производства сои по типовой технологической карте в выбранном нами хозяйстве имел приблизительно следующие показатели (2):

$$\begin{aligned}\text{Себестоимость} &= (2066,87 + 18,0^* + 18,0^{**}) : 22,4 = 93,88 \text{ грн/ц} \\ \text{Чистая прибыль} &= 22,4 \times 120,0 - (2066,87 + 18,0^* + 18,0^{**}) = 585,13 \text{ грн/га} \\ \text{Рентабельность} &= 585,13 : (2066,87 + 18,0^* + 18,0^{**}) \times 100\% = 27,82\%\end{aligned}$$

* Стоимость гектарной порции препарата.

** Затраты на обработку семян препаратом.

Применение бактериальных препаратов, модифицированных гомологичным лектином в условиях наших полевых испытаний приводило к приросту урожая не менее 9,8% в сравнении с обычной инокуляцией [12, 14]. Исходя из этого экономическая оценка использования биопрепаратов с учетом затрат на производство (по типовой технологической карте выращивания сои) выглядит так (2):

$$\begin{aligned}\text{Себестоимость} &= (2066,87 + 35,0^* + 18,0^{**}) : 24,6 = 86,17 \text{ грн/ц} \\ \text{Чистая прибыль} &= 24,6 \times 120,0 - (2066,87 + 35,0^* + 18,0^{**}) = 832,13 \text{ грн/га} \\ \text{Рентабельность} &= 832,13 : (2066,87 + 35,0^* + 18,0^{**}) \times 100\% = 39,2\%\end{aligned}$$

* Стоимость гектарной порции препарата содержащего лектин.

** Затраты на обработку семян препаратом содержащим лектин.

Сравнительный анализ различных показателей экономической эффективности возделывания сои указывает на целесообразность применения бактериальных препаратов для инокуляции семян (табл. 3). Рентабельность производства при этом увеличивалась на 11,7%. Максимальная же рентабельность (39,2%) наблюдалась при использовании бактериальных препаратов, модифицированных гомологичным лектином, что указывает на перспективность их применения. Из таблицы 3 также следует, что использование бактериальных препаратов снижало себестоимость и увеличивало чистый доход. Так, при возделывании сои в условиях Лесостепи Украины на 1 гривну затрат можно было получить приблизительно 0,4 гривны чистой прибыли.



Таблица 3

Экономическая эффективность применения бактериальных препаратов, модифицированных гомологичным лектином, при производстве семян сои (по состоянию на 2006 год)

Table 3

Economic effect of bacterial preparations application while producing soybean seeds (the condition of 2006), the preparations being modified with homologous lectin

Показатель	Единица измерения	Контроль	Применение инокуляции	Биопрепарат с лектином
Урожайность семян	ц/га	20,0	22,4	24,6
Дополнительный урожай	ц/га	—	2,4	4,6
Стоимость урожая	грн/га	2400,0	2688,0	2952,0
Затраты на применение бактериальных препаратов	грн/га	—	36,0	53,0
Себестоимость производства	грн/ц	103,34	93,88	86,17
Чистая прибыль	грн/га	333,13	585,13	832,13
Рентабельность производства	%	16,1	27,8	39,2

Таким образом, расчет экономической эффективности различных препаративных форм азотфиксирующих микроорганизмов (жидкие, на твердом носителе, модифицированные гомологичным лектином) демонстрирует их эффективность, в связи с чем они могут быть рекомендованы аграрному производству. Применение бактериальных препаратов ведет к незначительному удорожанию производства продукции при этом экономический эффект применения азотфиксирующих бактерий и растительного лектина достигается за счёт стоимости дополнительного урожая, экономии минеральных удобрений и снижения других производственных энергозатрат.

Существующие биологические препараты на основе полезных микроорганизмов являются отличной альтернативой минеральным удобрениям, тем не менее, все они еще не получили достаточно широкого применения, что, естественно, не способствует решению ряда существующих экологических и экономических проблем.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Агроэкология* / Под ред. В.А. Черникова, А.И. Черкеса. — М.: Колос, 2000. — 536 с.
2. *Антонюк Л.П., Игнатов В.В.* О роли агглютинаина зародыша пшеницы в растительно—бактериальном взаимодействии: гипотеза и экспериментальные данные в ее поддержку // *Физиология растений*. — 2001. — 48, № 3. — С. 427—433.
3. *Букин В.П., Букин А.В., Букина-Хрунык А.В.* Научные основы интродукции красильных растений юга Украины. — К.: «РК Мастер-принт», 2008. — 208 с.
4. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
5. *Кириченко Е.В., Титова Л.В., Коць С.Я. и др.* Влияние лектина из семян сои на продуктивность сои // *Агрохимия*. — 2004. — № 11. — С. 58—62.
6. *Косенко Л.В., Мандровская Н.М.* Влияние лектина гороха на рост микросимбионтов гороха и биосинтез ими экзогликанов // *Микробиология*. — 1998. — 67, № 5. — С. 626—630.
7. *Коць С.Я., Сытников Д.М.* Лектины бобовых растений как фактор эффективного симбиоза // *Физиология и биохимия культ. растений*. — 2007. — 39, № 6. — С. 463—475.
8. *Кузьменко А.С., Дем'янюк О.С., Смолка О.О. та ін.* Рекомендації по застосуванню бактеріальних препаратів: діазофіту та поліміксобактерину на нагідках лікарських в умовах лівобережного Лісостепу України. — Полтава: РВВ Полтавської державної аграрної академії, 2004. — 22 с.
9. *Маліченко С.М., Даценко В.К., Маменко П.М., Коць С.Я.* Участь лектинів специфічних і неспецифічних до бульбочкових бактерій бобових рослин у формуванні і функціонуванні азотфіксуючого симбіозу // *Наук. зап. Тернопільського пед. ун-ту*. — 2002. — № 3 (18). — С. 49—57.
10. *Патика В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В. та ін.* Біологічний азот. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
11. *Патика В.П., Крутило Д.В., Ковалевська Т.М.* Вплив аборигенних популяцій бульбочкових бактерій сої на симбіотичну активність інтродукованого штаму *Bradyrhizobium japonicum* 6346 // *Мікробіол. журн.* — 2004. — 66, № 3. — С. 14—21.
12. *Сытников Д.М., Воробей Н.А., Береговенко С.К.* Эффективность биопрепаратов на основе Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum*, модифицированных гомологичным лектином // *Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия Биология*. — 2008. — № 3 (15). — С. 46—52.



13. Ситников Д.М., Коць С.Я. Участие лектинов в различных физиологических процессах растений // Физиология и биохимия культ. растений. — 2009. — 41, № 4. — С. 279—296.

14. Ситников Д.М., Коць С.Я., Даценко В.К. Эффективность биопрепаратов клубеньковых бактерий сои, модифицированных гомологичным лектином // Прикладная биохимия и микробиология. — 2007. — 43, № 3. — С. 304—310.

15. Lodeiro A.R., Lopez-Garsia S.L., Vazquez T.E.E., Favelukes G. Stimulation of adhesiveness, infectivity, and competitiveness for nodulation of *Bradyrhizobium japonicum* by its pretreatment with soybean seed lectin // FEMS Microbiol. Lett. — 2000. — 188, № 2. — P. 177—184.

УДК 579.66:631.461.5

Д.М. Ситніков^{1,2}

¹Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України, вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна

²Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна, тел.: +38 (068) 322 90 44, e-mail: sytnikov@list.ru

ЕКОНОМІЧНА ДОЦІЛЬНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ РИЗОБІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ, МОДИФІКОВАНИХ ГОМОЛОГІЧНИМ ЛЕКТИНОМ

Реферат

Виконано розрахунок економічної доцільності застосування різних препаративних форм бульбочкових бактерій сої (рідкі, на твердому носії, модифіковані гомологічним лектином). Результати багаторічних випробувань вказують на перспективність використання бактеріальних препаратів, модифікованих гомологічним лектином, як рідких, так і виготовлених на твердому носії. Показано, що різні препаративні форми ризобій достовірно підвищують ефективність симбіотичної системи сої та продуктивність рослин, у зв'язку з чим можуть бути рекомендовані аграрному виробництву.

Ключові слова: бобово-ризобіальний симбіоз, *Bradyrhizobium japonicum*, бактеріальні препарати, гомологічний лектин.



УДК 579.66:631.461.5

D.M. Sytnikov^{1,2}

¹N.G. Kholodny Institute of Botany, NASU,
2, Tereschenkovska str., Kyiv, 01601, Ukraine

²Odesa National Mechnykov University, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +38 (068) 322 90 44, e-mail: sytnikov@list.ru

ECONOMIC EFFECT AND APPLICATION OF RHIZOBIAL PREPARATIONS MODIFIED WITH HOMOLOGOUS LECTIN

Summary

The calculations as to economic advantages of various preparation forms of nodule bacteria (liquid, on the solid carrier, modified with homologous lectin) were made. The compiled data accumulated for many years of research demonstrate the perspectiveness of bacterial preparations modified with homologous lectin, both liquid and produced on a solid carrier. Different preparation forms of rhizobia vividly increase the efficiency of soybean symbiotic system and plant productivity, thus the above mentioned rhizobial preparations can be recommended to the agrarian production.

Key words : soybean-rhizobial symbiosis, *Bradyrhizobium japonicum*, bacterial preparations, homologous lectin.

Одержано 30.11.2011.

