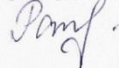


На правах рукописи



РАПИНА Ольга Геннадьевна

**ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН ПЕРСПЕКТИВНЫМИ
ШТАММАМИ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ
(*Sinorhizobium meliloti*) НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ЛЮЦЕРНЫ
ИЗМЕНЧИВОЙ В УСЛОВИЯХ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ**

06.01.01 – Общее земледелие, растениеводство

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Санкт-Петербург, Пушкин – 2019

Работа выполнена на кафедре растениеводства им. И.А. Стебута ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»

**Научный
руководитель:**

Анна Георгиевна Орлова

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,
декан факультета агротехнологий, почвоведения
и экологии ФГБОУ ВО СПбГАУ

**Официальные
оппоненты:**

Валентина Валентиновна Осипова

доктор сельскохозяйственных наук, доцент,
заведующий кафедрой агрономии Октёмского
филиала федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Якутская государственная
сельскохозяйственная академия» (ФГБОУ ВО
Якутская ГСХА)

Марина Львовна Румянцева

кандидат биологических наук, ведущий научный
сотрудник лаборатории генетики и селекции
микроорганизмов федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский
институт сельскохозяйственной микробиологии»
(ФГБНУ ВНИИСХМ)

**Ведущая
организация:**

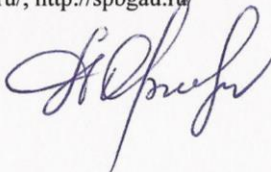
Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Новгородский научно-
исследовательский институт сельского
хозяйства» (ФГБНУ «Новгородский НИИСХ»)

Защита состоится «27» июня 2019 года в 14 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 220.060.07 в ФГБОУ ВО СПбГАУ по адресу: 196601, Санкт-Петербург, г. Пушкин, Петербургское ш., д.2 (СПбГАУ, 9 корпус, 3 этаж, ауд.330)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»

Автореферат разослан « » 2019 года и размещён на сайтах: <http://vak.ed.gov.ru/>, <http://spbgau.ru/>

Учёный секретарь
диссертационного совета



Орлова
Анна Георгиевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Ведущей отраслью АПК Северо-Западного региона является животноводство. Его доля в общей стоимости всей сельскохозяйственной продукции в 2016 г. составила 65,2%, при этом в среднем по России – 43,6% (Синицына и др., 2018). Одной из целей Государственной программы развития сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия на 2013 – 2020 годы (Государственная программа..., 2012) является развитие подотраслей молочного и мясного скотоводства за счет увеличения поголовья скота и повышения его продуктивности, что невозможно без прочной кормовой базы. Решить данную задачу можно при разработке наименее энергозатратных направлений развития отрасли кормопроизводства, одним из которых является ликвидация имеющегося дефицита переваримого протеина в кормах за счет увеличения посевных площадей многолетних бобовых трав, в том числе – люцерны. Её возделывание позволит снизить экстремальную экологическую нагрузку на сельскохозяйственные угодья: устранить катастрофическое снижение плодородия, деградацию пахотных земель и иметь лучшего предшественника для зерновых, овощных и технических культур.

Люцерна, как и другие бобовые культуры, способна к фиксации атмосферного азота и накоплению биологического азота в почве при наличии симбиотических взаимоотношений с клубеньковыми бактериями (Дегунова, Шкодина, 2017).

Важным шагом по усилению симбиотической азотфиксации является рациональное использование отобранных штаммов клубеньковых бактерий. Некоторые сорта являются слабо отзывчивыми на инокуляцию бактериальными препаратами, поэтому одним из перспективных направлений селекционно-генетической работы является, с одной стороны, подбор сортов, способных противостоять заражению дикими штаммами ризобий, с другой, придать им способность заражаться интродуцируемыми вирулентными штаммами бактерий, имеющих высокий азотфиксирующий потенциал (Воробейков, Бредихин, 2018). В связи с этим методом сопряженной селекции созданы новые сорта люцерны (Липовцына и др., 2013, Степанова и др., 2013), которые обладают вышеперечисленными свойствами. Создание наиболее специфических комбинаций сорт-штамм позволит повысить конкурентоспособность промышленных штаммов, достигнуть максимальной эффективности симбиотической азотфиксации и продуктивности травостоев.

Степень разработанности. Изучением растительно-микробных взаимодействий клубеньковых бактерий и бобовых трав занимались многие

российские и зарубежные ученые: J.C. Burton (1939, 1972), К.А. Тимирязев (1957), Е.Н. Мишустин (1962, 1973, 1982, 1987), А.Н. Gibson (1962), G.J. Leach (1968), Л.М. Доросинский (1970), G.D. Bowen (1976), Н.И. Мильто (1982), Н.А. Проворов, Б.В. Симаров (1986), Ю.Б. Саимназаров (1991), И.А. Тихонович (1998), А.П. Кожемяков (1998, 2005), Г.А. Воробейков (1998, 2018), J.K. Whipps (2001), А.А. Завалин, Г.Г. Благовещенская (2007), Б.Х. Жеруков (2010), Г.Н. Чуркина (2012), Л.Г. Атласова (2015) и др.

В настоящее время детальное изучение механизмов взаимодействия растений с клубеньковыми бактериями, по словам И.А. Тихоновича и др. (2012), открывает возможности для создания наиболее специфических комбинаций сорт-штамм с целью повышения конкурентоспособности промышленных штаммов, а также для достижения максимальной эффективности симбиотической азотфиксации в полевых условиях. Исследования в данном направлении немногочисленны. Такие ученые как И.А. Устюжанин (2003), Н.В. Новик (2004), И.В. Елифанова (2004), И.В. Рашевская (2005) занимались подбором штаммов клубеньковых бактерий к сортам бобовых культур. На люцерновых травостоях исследования проводили М.Т. Яковлева (2007), В.С. Бжеумыхов (2008), Н.Б. Дегунова (2011, 2013, 2017), Ю.Б. Данилова (2011, 2013), Г.В. Степанова и др. (2013), Е.П. Шкодина (2017). В условиях Ленинградской области подбором растительно-микробных систем на люцерне изменчивой занимались А.П. Кожемяков, С.Н. Белоброва, А.Г. Орлова (2011).

Научные исследования были выполнены в соответствии с планом НИР ФГБОУ ВО СПбГАУ 2012-2016 гг. по теме: «Разработка и усовершенствование современных агротехнологических приёмов возделывания сельскохозяйственных культур и методов их защиты от вредителей и болезней для оздоровления агроэкосистем при разных формах собственности на земельные ресурсы в РФ» в разделе: «Разработка ресурсосберегающих агроприёмов и технологий возделывания полевых культур с целью получения стабильно высоких урожаев хорошего качества в условиях Северо-Запада Нечерноземной зоны РФ», подраздел: «Разработка ресурсосберегающих агроприёмов возделывания кормовых культур на основе создания микробно-растительных систем, обеспечивающих получение планируемой урожайности».

Цель исследований: создание продуктивного бобово-ризобияльного симбиоза люцерны изменчивой сортов Агния и Таисия со штаммами клубеньковых бактерий 415⁶, А-4, А-5 и А-6 с целью получения максимально возможной урожайности сухой массы.

Задачи:

- определить побегообразовательную способность растений люцерны при инокуляции семян штаммами клубеньковых бактерий (*Sinorhizobium meliloti*);
- установить влияние штаммов клубеньковых бактерий (*Sinorhizobium meliloti*) на развитие симбиотического аппарата и азотфиксирующую способность люцерны изменчивой;
- оценить эффективность влияния штаммов клубеньковых бактерий (*Sinorhizobium meliloti*) на урожайность и качество растительного сырья из люцерны изменчивой;
- рассчитать агроэнергетическую эффективность возделывания люцерны изменчивой при инокуляции семян штаммами клубеньковых бактерий (*Sinorhizobium meliloti*).

Научная новизна. Впервые в условиях Ленинградской области для новых сортов люцерны изменчивой Агния и Таисия выявлена эффективность штаммов клубеньковых бактерий А-5 и А-6, с которыми был сформирован продуктивный бобово-ризобиальный симбиоз, и получена прибавка урожайности сухой массы 4,2%-161,5% в зависимости от сорта и года жизни травостоя.

Установлено положительное влияние инокуляции семян перспективными штаммами клубеньковых бактерий на побегообразовательную способность, симбиотическую активность, азотфиксирующую способность, урожайность люцерны изменчивой и выход сырого протеина с единицы площади. Построены уравнения регрессии для двух сортов люцерны изменчивой, показывающие зависимость урожайности сухой массы от высоты осевых побегов и их количества, от года жизни травостоя и массы клубеньков. Дана оценка агроэнергетической эффективности инокуляции семян люцерны изменчивой перед посевом перспективными штаммами клубеньковых бактерий.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установлено, что в почвенно-климатических условиях Ленинградской области применение перспективных штаммов клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* А-5 и А-6 для инокуляции семян люцерны при посеве увеличивает побегообразовательную способность культуры, способствует повышению азотфиксирующей способности клубеньков на корнях растений, увеличивает урожайность люцерны и снижает агроэнергетические затраты при ее возделывании.

Построены уравнения регрессии, показывающие количественную зависимость урожайности сухой массы люцерны изменчивой от высоты

осевых побегов и их количества, от года жизни травостоя и массы клубеньков.

Результаты экспериментальных данных проверены в производственных условиях в ОАО «РосАгро» Волосовского района Ленинградской области на площади 26 гектаров, получена прибавка урожайности зеленой массы люцерны изменчивой при инокуляции семян клубеньковыми бактериями штамма А-6 на травостоях сорта Агния – 11,6 т/га, сорта Таисия – 11,3.

На основании проведенных исследований и производственных испытаний рекомендуем производителям микробиологических препаратов включить в список производственных штаммов штаммы клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* А-5 и А-6, депонированные в ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, для инокуляции семян люцерны изменчивой сортов Агния и Таисия с последующей регистрацией препаратов на их основе в государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ.

Методология и методы исследования. Методология научных опытов сформирована с учетом анализа научной литературы, заключается в разработке цели, задач и программы исследований, постановке полевых и лабораторных опытов, учётах и наблюдениях, математической обработке экспериментальных данных и обобщении полученных результатов.

Положения диссертации, выносимые на защиту:

– инокуляция семян перспективными штаммами *Sinorhizobium meliloti* А-4, А-5 и А-6 увеличивает побегообразовательную способность люцерны изменчивой сортов Агния и Таисия;

– перспективные штаммы *Sinorhizobium meliloti* А-4, А-5 и А-6 положительно влияют на формирование симбиотического аппарата и азотфиксирующую активность люцерны изменчивой;

– предпосевная обработка семян изучаемыми штаммами клубеньковых бактерий способствует увеличению урожайности люцерны изменчивой обоих сортов и выхода сырого протеина с единицы площади;

– инокуляция семян люцерны изменчивой изучаемых сортов штаммами клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* является агроэнергетически эффективным приемом.

Степень достоверности. Исследования выполнены в условиях учебно-опытного поля кафедры растениеводства им. И.А. Стебута СПбГАУ в 2012-2015 годах. Экспериментальные данные статистически обработаны методами дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализов, сопоставлены с результатами научных изысканий других учёных.

Апробация работы. Результаты исследований ежегодно (2012-2018 гг.) докладывались на заседаниях кафедры растениеводства им. И.А.

Стебута СПбГАУ; на Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Научный вклад молодых исследователей в инновационное развитие страны» 27-28 марта 2014 г. (СПбГАУ); на Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Научный вклад молодых исследователей в сохранение традиций и развитие АПК» 26-27 марта 2015 г. (СПбГАУ); на Всероссийском конкурсе молодых ученых, апрель-май 2015 г. (I этап – Санкт-Петербург, II – Великие Луки, III – Самара); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию основания Пермской ГСХА и 150-летию со дня рождения Д.Н. Прянишникова (Пермь, 11-13 ноября 2015 г.); на Международной научной конференции молодых ученых и специалистов «Наука молодых – агропромышленному комплексу», июнь 2016 г. (РГАУ МСХА им. К.А. Тимирязева); на Международной научно-практической конференции «Наука и образование как основа устойчивого развития агропромышленного комплекса», 25-27 января 2018 г. (СПбГАУ).

Публикации. По материалам исследований опубликовано 9 печатных работ, в том числе 2 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Структура и объём диссертации. Работа состоит из введения, 6 глав, заключения, предложений производству, списка литературы (100 источников, из которых 11 иностранных авторов), включает 12 таблиц, 14 рисунков и 12 приложений. Общий объём работы составляет 124 страницы компьютерного текста, в том числе без приложений – 91 страница.

Личный вклад соискателя. О.Г. Рапиной осуществлена работа по закладке полевых опытов, проведению учётов и наблюдений за ростом и развитием растений, проведены количественные и качественные исследования в лабораторных условиях, проанализированы полученные результаты, сделана статистическая обработка данных.

ОБЪЕКТЫ, МЕТОДЫ И УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объект проведения исследований: люцерна изменчивая сортов Агния (оригинаторы сорта – Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса и ООО «Научно-технологический центр травы Сибири») и Таисия (оригинаторы сорта – Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса и ООО «Грин Дир»). В качестве инокулянтов использовались штаммы клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* 415^o, А-4, А-5, А-6, предоставленные лабораторией экологии симбиотических и

ассоциативных ризобактерий Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии.

Схема и методика проведения исследований. Исследования проводились на учебно-опытном поле кафедры растениеводства им. И.А. Стебута ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет» в 2012-2015 гг.

Экспериментальные данные, представленные в работе, были получены на посевах люцерны первого года жизни (2012, 2013, 2014 гг.), второго года жизни (2013, 2014, 2015 гг.) и третьего года жизни (2014, 2015 гг.).

Варианты опыта: 1. Без инокуляции семян (контроль);
2. Инокуляция семян штаммом 415⁶; 3. Инокуляция семян штаммом А-4;
4. Инокуляция семян штаммом А-5; 5. Инокуляция семян штаммом А-6.

Опыт дфухфакторный, фактор А – сорт, фактор В – штамм клубеньковых бактерий. Площадь опытной делянки – 6 м². Повторность четырехкратная, размещение делянок систематическое. Предшественник – озимая рожь. Агротехника посева и ухода рекомендованная для кормовых трав (Минина, 1972; Посыпанов, 2006; Коломейченко, 2007; Федотов и др., 2015). Посев проведен в 2012 году 23 мая, в 2013 году – 21 мая, в 2014 – 7 июля (пересев). Норма высева 2,4 млн. шт./га, семена перед посевом обработали водой (контроль) и штаммами клубеньковых бактерий. Норма расхода штаммов – 250 мл жидкого препарата для обработки 1 гектарной нормы семян. Посев рядовой с шириной междурядий 0,3 м. Удобрения не вносили.

При проведении исследований использовались общепринятые методики:

1. Структура урожая укосной массы определяется по методике ВИК в фазу бутонизации – начало цветения (Методические указания..., 1997).

2. Учет симбиотической деятельности растений люцерны изменчивой проводился методом монолитов (0,25×0,25 м на глубину 30 см) по методике Г.С. Посыпанова (Посыпанов, 1983).

3. Сырую массу активных клубеньков определяли весовым методом на электронных весах. Количество активных клубеньков – методом подсчета клубеньков розового и светло-розового цвета.

4. Особенности побегообразования изучались методом сравнительно-морфологического анализа растений по годам жизни, а в пределах каждого года по укосам. При описании растений применяли терминологию, предложенную И.Г. Серебряковым (1962) и П.Л. Гончаровым, П.А. Лубенцом (1985). Для определения данного показателя

рассматривали растения, выкопанные для учета симбиотической активности.

5. Содержание сухого вещества в надземной массе – весовым методом (в трехкратной повторности) с последующим высушиванием взятых навесок в термостате при температуре 1050С до постоянной массы (Методические указания по проведению полевых опытов ..., 1987).

6. Азотфиксирующую активность определяли ацетиленовым методом по методике С.М. Алисовой и С.М. Чундеровой (1982).

7. Общий азот в растительных образцах определяли методом Къельдаля, сырой протеин – умножением процента содержания общего азота на коэффициент 6,25 (Петухова, Бессарабова и др., 1989).

8. Статистическая обработка результатов исследований проведена методом дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализов (Доспехов, 2011) на ПЭВМ с использованием программ Excel 07.

9. Расчет агроэнергетической эффективности возделывания люцерны при инокуляции семян перспективными штаммами клубеньковых бактерий проводили по методике оценки агроэнергетической эффективности технологий возделывания полевых культур (Методическое пособие по агроэнергетической и экономической оценке..., 1995; Методические указания к лабораторно-практическим занятиям ..., 2009).

Агрометеорологические и почвенные условия в годы проведения исследований. Засушливыми были вегетационные периоды 2014 и 2015 года, тогда как в 2012 и 2013 годах осадков выпало достаточно.

В годы проведения исследований температурный режим был благоприятный для роста и развития люцерны изменчивой – суммы активных температур по месяцам вегетации были значительно выше 310 °С. Тогда как влагообеспеченность была неравномерной.

В годы исследований по месяцам вегетации люцерны изменчивой показатель ГТК сильно варьировал. В 2012 году в начале вегетации условия увлажнения были удовлетворительные, в июле же показатель ГТК был 0,7 – засушливый период, в августе и сентябре была избыточная влажность – гидротермический коэффициент здесь составил 3,2 и 2,1. Май 2013 можно охарактеризовать достаточной влагообеспеченностью, июне же был очень засушливым (ГТК=0,6), за июль и август осадков выпало с избытком, сентябрь был засушливым, как и в последующие годы исследований. Влагообеспеченность вегетационного периода 2014 года можно охарактеризовать как удовлетворительную, но можно отметить засушливые месяцы – июль и сентябрь. В 2015 году этот показатель сильно варьировал по месяцам, большую часть вегетации влаги было недостаточно – за июнь, август и сентябрь осадков выпало недостаточно.

В целом по годам исследований гидротермический коэффициент за вегетационный период составил от 1,0 до 1,7, что позволило травостоям люцерны изменчивой сформировать достаточно высокий урожай.

Почва опытного участка дерново-карбонатная выщелоченная, залегает на толще элюво-делювых карбонатных пород, среднесуглинистая. Профиль типичный для карбонатной почвы. Состоит из гумусового горизонта мощностью от 10-15 до 30-40 см и подстилающей его карбонатной породы, окрашен в темно-серый цвет, вскипает от кислоты с поверхности. Водный режим – промывного типа. Содержание гумуса составляет 3,3 %, почва хорошо насыщена основаниями (87%), обладает слабокислой реакцией ($pH_{KCl} - 6,3$) и не нуждаются в известковании. Содержание подвижных форм фосфора очень высокое – 392,3, обменного калия высокое – 213,3 мг на 1 кг почвы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Побегообразование люцерны изменчивой в зависимости от инокуляции семян клубеньковыми бактериями

При анализе данных по формированию осевых побегов люцерны изменчивой в среднем по годам (рис. 1) было выявлено положительное влияние инокуляции семян штаммами клубеньковых бактерий на данный показатель. Более отзывчива на инокуляцию в первом и втором году жизни была люцерна с. Агния – прибавка количества осевых побегов к контролю в первом году жизни составила от 136 до 295 шт./м², во второй год жизни – от 72 до 284 шт./м². На люцерне с. Таисия эти цифры составили соответственно 108-162 шт./м² и 74-221 шт./м². На третий год жизни травостоя более продуктивными по формированию осевых побегов были растения люцерны изменчивой с. Таисия.

Не все штаммы положительно повлияли на образование побегов ветвления (рис.2). В среднем по годам исследований отрицательно себя проявил по этому показателю в первый год жизни люцерны производственный штамм 415^б на обоих сортах – при его применении сформировалось на 8 и 57 шт./м² меньше, чем на варианте без инокуляции. На второй и третий год жизни травостоев люцерны изменчивой обоих сортов отмечено положительное влияние всех штаммов клубеньковых бактерий на образование боковых побегов на растениях.

На основании полученных данных построены уравнения регрессии для растений люцерны второго и третьего года жизни, показывающие зависимость урожайности сухой массы (Y) от высоты осевых побегов (X_1) и их количества (X_2):

$$Y=4,7 - 0,078X_1+0,0087X_2 \quad (1)$$

$$r_{yx1}=0,50; D=25\% \quad r_{yx2}=0,93; D=86,5\% \quad R=0,93; D=0,87$$

$$Y=5,5 - 0,065X_1+0,0081X_2 \quad (2)$$

$$r_{yx1}=0,18; D=3,2\% \quad r_{yx2}=0,89; D=79,2\% \quad R=0,89; D=79\%$$

где R – коэффициент множественной корреляции,
D – коэффициент детерминации,
r – парные коэффициенты корреляции.

Доля влияния высоты осевых побегов на формирование урожайности люцерны изменчивой второго года жизни (уравн. 1) обоих сортов составляет 25%, но большее влияние на урожайность оказывает их количество – 86,5%. На формирование урожайности люцерны изменчивой третьего года жизни (уравн. 2) большое влияние оказывает количество сформировавшихся осевых побегов на растениях – 79,2%, влияние же высоты уже незначительное – коэффициент детерминации составляет 3,2%.

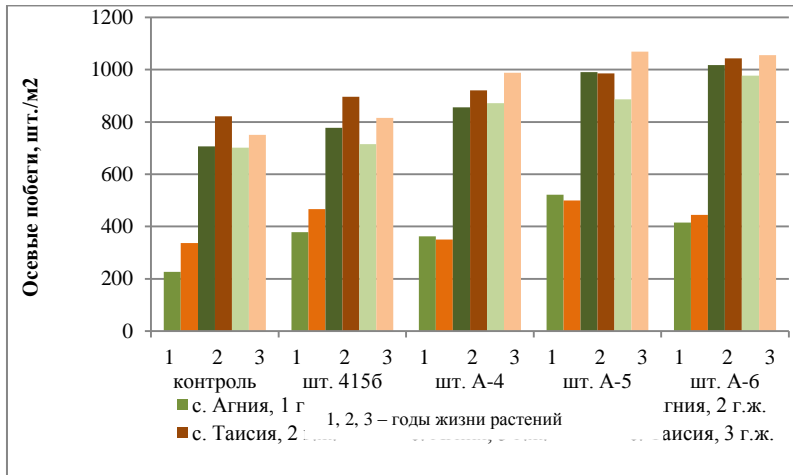


Рисунок 1 – Влияние инокуляции семян клубеньковыми бактериями на формирование осевых побегов по годам жизни люцерны изменчивой, шт./м² (среднее за годы исследований)

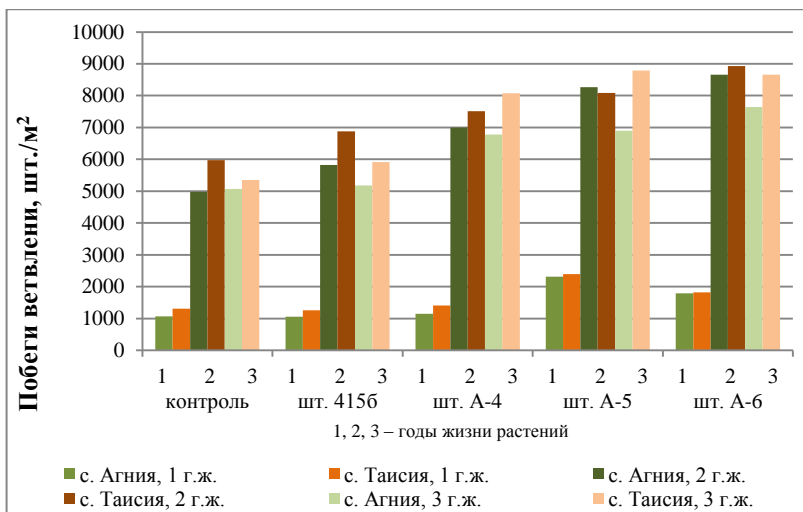


Рисунок 2 – Влияние инокуляции семян клубеньковыми бактериями на формирование побегов ветвления по годам жизни люцерны изменчивой, шт./м² (среднее за годы исследований)

Формирование симбиотического аппарата люцерны изменчивой в зависимости от инокуляции семян клубеньковых бактерий

Применение клубеньковых бактерий оказало положительное влияние на формирование симбиотического аппарата у люцерны изменчивой (табл. 1). На всех вариантах опыта у люцерны были сформированы активные клубеньки. Растения контрольного варианта, без инокуляции, образовали клубеньки благодаря аборигенной микрофлоре.

Большое значение в работе симбиотического аппарата имеет масса клубеньков, образовавшихся на корнях растений люцерны (табл. 1). Оценивая этот показатель по годам, видно, насколько он варьирует: в первый год жизни растений максимальная масса клубеньков отмечена на люцерне с. Таисия, инокулированной шт. А-6 – 7,7 мг/раст., на третий год жизни травостоя самая большая масса клубеньков получена на этом же варианте – 143,5 мг/раст. Это связано с ростом и развитием корневой системы люцерны, и, следовательно, увеличением на ней как количества клубеньков, так и массы одного клубенька.

Для люцерны изменчивой были построены уравнения регрессии, которые показывают зависимость урожайности сухой массы (Y) от года жизни травостоя (X_3) и массы клубеньков (X_4):

Таблица 1 – Влияние клубеньковых бактерий на формирование симбиотического аппарата люцерны изменчивой (среднее за годы исследований)

Вариант опыта (фактор В)	Сорт (фактор А)	1 год жизни				2 год жизни				3 год жизни			
		количество активных клубеньков, шт.		масса активных клубеньков, мг/раст.		количество активных клубеньков, шт.		масса активных клубеньков, мг/раст.		количество активных клубеньков, шт.		масса активных клубеньков, мг/раст.	
		шт./раст.	+/- к контролю	шт./раст.	+/- к контролю	шт./раст.	+/- к контролю	шт./раст.	+/- к контролю	шт./раст.	+/- к контролю	шт./раст.	+/- к контролю
контроль	Агния	3	–	1,8	–	15	–	45,2	–	23	–	74,5	–
	Таисия	7	–	2,9	–	21	–	59,6	–	32	–	68,8	–
шт. 415 ⁶	Агния	27	+24	1,4	-0,4	66	+51	46,9	+1,7	119	+96	77,4	+2,9
	Таисия	14	+7	0,8	-2,1	61	+40	45,8	-13,8	143	+111	118,7	+49,9
шт. А-4	Агния	38	+35	1,9	+0,1	78	+63	55,4	+10,2	119	+96	91,6	+17,1
	Таисия	35	+28	2,5	-0,4	82	+61	74,6	+15,0	79	+47	70,3	+1,5
шт. А-5	Агния	49	+46	3,4	+1,6	152	+137	137,7	+92,5	103	+80	95,8	+21,3
	Таисия	51	+44	3,1	+0,2	103	+82	89,6	+30,0	93	+61	84,6	+15,8
шт. А-6	Агния	45	+42	4,1	+2,3	120	+105	104,4	+59,2	132	+1009	130,7	+56,2
	Таисия	64	+57	7,7	+4,8	126	+105	124,7	+65,1	151	+119	143,5	+74,7
для фактора А НСР ₀₅		3		0,3		4		4,9		5		7,0	
для фактора В и АВ НСР ₀₅		5		0,5		7		7,7		7		11,1	

для растений с. Агния,

$$Y=5,39X_3 + 0,1X_4 - 0,033X_3X_4 - 3,11 \quad (3)$$

$$R=0,96, \quad D=91\%, \quad F_{\text{факт}}=41,68, \quad F_{1\%}=4,21$$

для растений с. Таисия:

$$Y=4,67X_3 + 0,1X_4 - 0,028 X_3X_4 - 2,5 \quad (4)$$

$$R=0,98, \quad D=97,6\%, \quad F_{\text{факт}}=151, \quad F_{1\%}=4,21$$

$$S_x=3,5\%$$

R – коэффициент множественной корреляции,

D – коэффициент детерминации.

Анализ уравнений показывает, что

1) существенное влияние на урожайность люцерны изменчивой оказывает возраст растений, причем наиболее урожайной при использовании штаммов клубеньковых бактерий является люцерна сорта Агния, так как коэффициент регрессии составляет 5,39 (уравнение 3), а у люцерны сорта Таисия – 4,67 (уравнение 4);

2) по годам жизни люцерны изменчивой масса клубеньков, образовавшихся на корнях растений, влияет на урожайность сухой массы сортов люцерны в равной мере, так как коэффициент регрессии составляет 0,1 у обоих сортов.

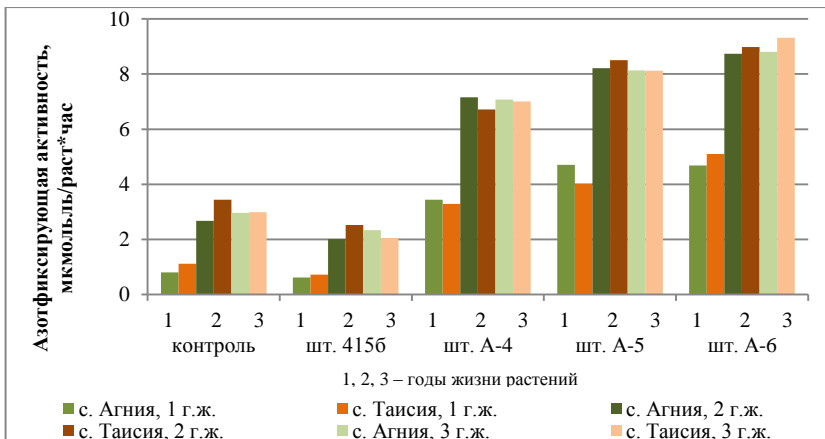


Рисунок 3 – Азотфиксирующая активность клубеньков люцерны изменчивой, мкмоль/раст*час (среднее за годы исследований)

На азотфиксирующую активность (рис.3) эффективно повлияла инокуляция штаммами в первый год жизни растений: у люцерны с. Агния она была выше при обработке перспективными штаммами А-4, А-5 и А-6 в 4,2 – 5,8 раз, чем на растениях, не обработанных клубеньковыми бактериями, и составила 3,44-4,68 мкмоль/раст*час, а у люцерны с. Таисия – выше в 2,9 – 4,6 раз и составила 3,29-5,1 мкмоль/раст*час соответственно.

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что инокуляция семян штаммами клубеньковых бактерий А-4, А-5 и А-6 эффективно влияет на формирование клубеньков на корнях люцерны изменчивой сортов Агния и Таисия, так как увеличивается их количество и общая масса на растение. На второй и третий год жизни травостоев люцерны азотфиксирующая активность увеличилась на всех вариантах опыта, так как увеличилось общее количество клубеньков на растение (табл. 1) и масса одного клубенька. Было отмечено, что активные клубеньки, образованные на корнях люцерны обоих сортов на вариантах с инокуляцией штаммом 415^б, хуже фиксировали азот, чем клубеньки, сформированные на люцерне аборигенной микрофлорой. Азотфиксирующая активность клубеньков по годам жизни травостоев у растений с. Агния при инокуляции семян штаммом 415^б составила 80% от контрольного варианта, у растений с. Таисия еще ниже – 70%.

Влияние инокуляции семян клубеньковыми бактериями на продуктивность люцерны изменчивой

В первый год жизни была получена урожайность люцерны на контрольных вариантах 1,3 и 1,7 т/га на растениях с. Агния и с. Таисия соответственно (рис. 4). Перспективные штаммы клубеньковых бактерий повлияли на продуктивность растений люцерны и обеспечили прибавку урожайности сухой массы 0,7-2,1 т/га ($НСР_{05}=0,8$): на растениях с. Агния в 2,0-2,6 раза, на растениях с. Таисия в 1,4-1,9 раз выше по сравнению с контролем. На вариантах с инокуляцией семян люцерны штаммом 415^б этот показатель был ниже контроля на обоих сортах люцерны.

На рост и развитие растений второго года жизни все штаммы повлияли положительно – прибавка урожайности от инокуляции семян составила 1,2-5,5 т/га ($НСР_{05}=1,0$) на люцерне с. Агния, причем растения, обработанные штаммами А-5 и А-6, были наиболее продуктивны – в 1,4-1,7 раз, чем контрольный вариант. На люцерновом травостое с. Таисия максимально эффективно проявили себя эти же штаммы – урожайность люцерны при их использовании увеличилась на 2,2 и 2,9 т/га, что в 1,2 и 1,3 раза выше, чем на варианте без обработки клубеньковыми бактериями.

Растения люцерны изменчивой третьего года жизни с. Агния, семена которых были обработаны перспективными шт. А-4, А-5, А-6, сформировали урожайность сухой массы на 1,0-1,6 т/га больше контроля соответственно ($HCP_{05}=1,6$). На люцерне сорта Таисия прибавки были получены на других вариантах: инокуляция семян клубеньковыми бактериями шт. 415^б обеспечила увеличение урожайности сухой массы на 1,4 т/га, шт. А-5 – на 1,2, шт. А-6 – на 3,5 т/га. В целом на третий год жизни клубеньковые бактерии повысили урожайность сухой массы люцерны на растениях с. Агния в 1,1 раза, на растениях с. Таисия – в 1,1-1,3 раз.

Интегральным показателем качества корма является концентрация питательных веществ в нём. Одним из основных показателей кормовой ценности травостоя является содержание сырого протеина. У растений люцерны изменчивой первого года жизни достоверное снижение содержания сырого протеина было отмечено на вариантах с применением штаммов клубеньковых бактерий А-4, А-5 и А-6. На этих вариантах содержание сырого протеина в растениях с. Агния составило, 18,7; 16,8; 16,6 % соответственно, что ниже, чем у растений на варианте без инокуляции на 2,4-4,5 %.

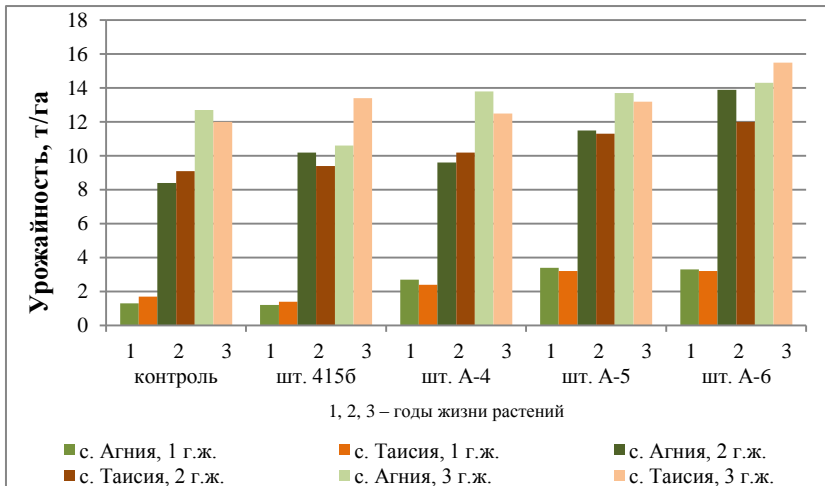


Рисунок 4 – Урожайность люцерны изменчивой в зависимости от применяемых штаммов клубеньковых бактерий и года жизни травостоя, т/га (сухой массы, среднее за годы исследований)

У растений сорта Таисия достоверное снижение содержания протеина сохранилось на этих же вариантах в пределах 1,7-4,7 %. Такая

закономерность сохранилась на травостоях второго и третьего года жизни. Анализируя содержание сырого протеина в урожае люцерны, можно сказать, что, не смотря на снижение его в растениях при инокуляции семян штаммами А-4, А-5 и А-6, отмеченное ранее, выход сырого протеина с единицы площади посева на этих вариантах значительно превышает выход с травостоев контрольного варианта. Это объясняется более высокой урожайностью на данных вариантах опыта. У обоих сортов люцерны в первый год жизни на инокулированных посевах выход сырого протеина с гектара превышал контроль без инокуляции в 1,7-2 раза. На второй год этот показатель варьировал в зависимости от сорта от 1,3 до 2,3 раз, на третий – 1,7-2,2.

Такой результат можно объяснить тем, что в структуре урожая люцерны сортов Агния и Таисия при инокуляции семян штаммами А-4, А-5 и А-6 значительно увеличилась доля стеблей, они были более мощные и высокие по сравнению с контрольным вариантом. Предполагаем, что в связи с разрастанием побегов в единице урожайности люцернового сена содержалось больше клетчатки, чем протеина.

Агроэнергетическая эффективность инокуляции семян люцерны изменчивой

Анализ агроэнергетической эффективности возделывания люцерны изменчивой показал, что энергетические затраты на производство 1 т люцерны с. Агния снизились на вариантах с инокуляцией семян по сравнению с контрольным вариантом на 0,2-3,5 ГДж/га, а у люцерны с. Таисия – на 0,3-2,5 ГДж/га, при этом наименее энергозатратными были варианты, где в качестве инокулянтов использовали штаммы А-4, А-5 и А-6.

Затраты на получение 1 ГДж обменной энергии сена снизились по мере увеличения урожайности: со 160,1 МДж на контрольном варианте у люцерны с. Агния до 132 МДж на варианте с обработкой семян шт. А-6, у люцерны с. Таисия – со 148,2 МДж на контроле до 130,8 МДж на вариантах с обработкой семян шт. А-5 и А-6.

Инокуляция семян люцерны изменчивой перспективными штаммами клубеньковых бактерий А-5 и А-6 способствовала увеличению коэффициента энергетической эффективности у люцерны с. Агния на 21,3 и 25,3%, на обоих вариантах люцерны с. Таисия – на 14,6%. Агроэнергетический коэффициент увеличился на изучаемых сортах на 19,4-22,6% и на 13,4% соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При инокуляции семян всеми исследуемыми штаммами побегообразовательная способность люцерны изменчивой первого года жизни увеличилась при формировании осевых побегов на растениях сорта Агния в 1,6-2,3 раза, на растениях сорта Таисия – в 1,1-1,5 раза. На второй и третий год жизни травостоев действие перспективных штаммов А-4, А-5 и А-6 на растения люцерны сортов Агния и Таисия способствовали увеличению количества осевых побегов и побегов ветвления на растениях в 1,2-1,4 раза и в 1,3-1,7 раз соответственно по сравнению с вариантами без инокуляции.

2. Количество клубеньков на корнях растений люцерны с. Агния, семена которой были обработаны всеми исследуемыми штаммами, увеличилась в 4,4-16,3 раза по сравнению с контролем в зависимости от года жизни травостоя, на люцерне с. Таисия – в 2-9,1 раза.

3. Инокуляция семян штаммами А-5 и А-6 способствовала увеличению массы клубеньков на люцерне сорта Агния первого года жизни на 1,6 и 2,3 мг/раст. больше, чем на растениях контрольного варианта, второго года жизни – на 59,2 и 92,5 мг/раст., третьего года жизни – 21,3 и 56,2 мг/раст., соответственно у растений с. Таисия на 0,2 и 4,8 мг/раст., на 30 и 65,1 мг/раст., на 15,8 и 74,7 мг/раст.

4. Обработка семян люцерны штаммами клубеньковых бактерий А-4, А-5 и А-6 способствовала повышению азотфиксирующей активности на растениях первого года жизни с. Агния в 4,2-5,8 раз, на растениях с. Таисия – в 2,9-4,6 раз по сравнению с контролем. Азотфиксирующая активность на травостоях обоих сортов на второй и третий год жизни люцерны была в 2,0-3,3 раза выше на вариантах с инокуляцией перспективными штаммами А-4, А-5 и А-6, чем на вариантах без обработки семян.

5. Инокуляция семян люцерны перспективными штаммами А-4, А-5 и А-6 способствовала увеличению урожайности люцерны сорта Агния в 2,1-2,6 первого года жизни, второго года жизни – в 1,1-1,7 раз, третьего года жизни – в 1,1 раз по сравнению с контрольным вариантом, соответственно у с. Таисия в 1,1-1,9 раз в первый год жизни, в 1,1-1,3 раз во второй и третий год жизни.

6. Выход сырого протеина с гектара у обоих сортов люцерны в первый год жизни на инокулированных посевах превышал контроль без инокуляции в 1,7-2 раза. Этот показатель на второй год жизни люцерновых травостоев варьировал в зависимости от сорта от 1,3 до 2,3 раз, на третий – 1,7-2,2.

7. Инокуляция семян люцерны изменчивой перспективными штаммами клубеньковых бактерий А-5 и А-6 способствовала увеличению

коэффициента энергетической эффективности у люцерны с. Агния на 21,3 и 25,3%, на обоих вариантах люцерны с. Таисия – на 14,6%. Агроэнергетический коэффициент увеличился на изучаемых сортах на 19,4-22,6% и на 13,4% соответственно.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

1. В условиях Ленинградской области на хорошо окультуренных дерново-карбонатных почвах рекомендуется выращивать люцерну изменчивую сортов Агния и Таисия.

2. На основании проведенных исследований и производственных испытаний рекомендуем производителям микробиологических препаратов включить в список производственных штаммов штаммы клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti* А-5 и А-6, депонированные в ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, для инокуляции семян люцерны изменчивой сортов Агния и Таисия с последующей регистрацией препаратов на их основе в государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в перечне изданий, рекомендованных ВАК РФ:

1. Орлова, А.Г. Продуктивность люцерны изменчивой в зависимости от применения микробных препаратов в условиях Ленинградской области / А.Г. Орлова, **О.Г. Рапина** // Кормопроизводство. – 2017. – № 8. – С. 33-37.

2. Орлова, А.Г. Побегообразовательная способность люцерны изменчивой в зависимости от инокуляции семян клубеньковыми бактериями в условиях Ленинградской области / А.Г. Орлова, **О.Г. Рапина** // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2018. – № 4(53). – С. 27-32.

В других изданиях:

3. Орлова, А.Г. Влияние микробных препаратов на продуктивность различных сортов люцерны в условиях Ленинградской области / А.Г. Орлова, **О.Г. Рапина** // В сб.: Ресурсосберегающие технологии в луговом кормопроизводстве. – СПб: СПбГАУ, 2013. – С. 206-210.

4. **Рапина, О.Г.** Сравнительная продуктивность различных сортов люцерны изменчивой в зависимости от применения биопрепаратов в первый год жизни травостоя / О.Г. Рапина, А.Г. Орлова // Вестник Студенческого научного общества. – СПб: СПбГАУ, 2014. – № 1. – С. 76-77.

5. Орлова, А.Г. Формирование симбиотического аппарата люцерны изменчивой *Medicago Varia L.* в зависимости от применения микробных препаратов / А.Г. Орлова, **О.Г. Рапина** // В сб.: АГРОТЕХНОЛОГИИ XXI ВЕКА Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 85-летию основания Пермской ГСХА и 150-летию со дня рождения академика Д.Н. Прянишникова. – Пермь: Прокрость, 2015. – С. 96-101.

6. Орлова, А.Г. Использование биопрепаратов при возделывании люцерны изменчивой / А.Г. Орлова, **О.Г. Рапина** // В сб.: Экологически безопасное развитие сельских территорий и сохранение водных объектов. Сборник научных трудов международных семинаров, проведенных в рамках Российско-Финляндского проекта "Чистые реки – в здоровое Балтийское море" SE 717 в 2013-2015 годах. Под общей редакцией В.Б. Минина. – М: НОУ «Институт агробизнеса, экономики и права». – 2016. – С. 81-85.

7. Орлова, А.Г. Применение биопрепаратов при возделывании люцерны изменчивой в условиях ООО "Рос Агро" Волосовского района Ленинградской области / А.Г. Орлова, **О.Г. Рапина** // В сб.: Роль молодых учёных в решении актуальных задач АПК сборник научных трудов международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов. – СПб: СПбГАУ, 2016. – С. 59-62.

8. **Рапина, О.Г.** Влияние микробных препаратов на побегообразовательную способность и продуктивность люцерны изменчивой в условиях Ленинградской области / О.Г. Рапина // В сб.: Наука молодых – агропромышленному комплексу. Сборник статей Международной научной конференции молодых учёных и специалистов. – М.: Издательство РГАУ-МСХА, 2016. – С. 47-48.

9. Орлова, А.Г. Возделывание люцерны изменчивой на разных типах почв при применении клубеньковых бактерий в условиях Ленинградской области / А.Г. Орлова, **О.Г. Рапина** // В сб.: Современное состояние и перспективы развития лугового кормопроизводства в XXI веке: материалы международной науч.-практ. конф., посвященной 80-летию д-ра с.-х. наук И.П. Лепковича (18-19 июня 2018 года, Санкт-Петербург – Пушкин). – СПб: СПбГАУ, 2018. – С. 73-77.