

## **ВПЛИВ КОМПОЗИЦІЙНИХ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ НА МІКРОФЛОРУ РИЗОСФЕРИ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ**

**Білявська Л.О., Козирицька В.Є., Валагурова О.В.,  
Гутинська Г.О.**

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

*Досліджувався вплив на мікрофлору ризосфери пшениці ярої композиційних препаратів, до складу яких входять мікроорганізми: азотфіксувальні (*Azotobacter chroococcum*), фосфатмобілізувальні (*Bacillus megaterium*), стрептоміцет (*Streptomyces avermilitis*), здатний продукувати авермектини – речовини антипаразитарної дії, а також препарат аверком. Показано їх позитивний вплив на чисельність ризосферних мікроорганізмів різних еколого-трофічних груп та ріст рослин пшениці ярої. Відмічено значне зменшення кількості паразитичних нематод (*Ditylenchus dipsaci*, *Pratylenchus pratensis*, *Tylenchorbynchus dubius*, *Helicotylenchus dihystera*, *Paratylenchus nanus*) у ризосферному ґрунті під впливом стрептоміцету та аверкому.*

Ключові слова: *ризосферні мікроорганізми, мікробні композиції, пшениця яра, фітонематоди, аверком.*

Одним з важливих завдань рослинництва є розробка екологічно безпечних і ефективних препаратів біологічного походження, як альтернативи хімічним засобам, для захисту рослин від хвороб та шкідників. Останнім часом велику увагу науковці приділяють створенню препаратів комплексної дії на основі суміші мікроорганізмів з різними властивостями: мікроорганізмів, які є антагоністами щодо збудників хвороб рослин, мікроорганізмів-ентомопатогенів, мікроорганізмів, що активно мінералізують органічні речовини ґрунту і т.ін. Практичний інтерес до мікробних препаратів зумовлений тим, що їх біоагенти, будучи виділеними з природних середовищ, нешкідливі для людини, екологічно безпечні, оздоровлюють ґрунти і відновлюють їх родючість [2, 3, 8].

В останні десятиліття в практику сільського господарства впроваджуються препарати, створені на основі авермектинів (продуцент *Streptomyces avermitilis*) – речовин, які мають

інсектицидну, акарицидну та нематоцидну дію [1]. З іншого боку, відомо, що бактеріальні препарати, створені на основі азотфіксувальних та фосфатмобілізувальних мікроорганізмів, поліпшують азотне та фосфорне живлення, стимулюють ріст, підвищують імунітет рослин і утворюють антибіотичні речовини. В той же час не виключено, що ці препарати впливають на розмноження та розвиток аборигенних мікроорганізмів ризосфери сільськогосподарських рослин. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив композиційних мікробних препаратів на чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп ризосфери пшениці ярої та ріст рослин.

**Матеріали і методи.** В роботі використані мікроорганізми, виділені співробітниками відділу загальної та ґрунтової мікробіології ІМВ НАНУ, які зберігаються в Українській колекції мікроорганізмів: *Azotobacter chroococcum* 20 (УКМ В-7171) – азотфіксатор вільноіснуючий, *Bacillus megaterium* 5. (УКМ В-7168) – фосфатмобілізувальна бактерія, *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179 – продуцент авермектинового комплексу антипаразитарної дії, названого нами аверкомом (АВЕ). Цей препарат отримано шляхом етанольної екстракції з біомаси продуцента [7], до складу якого входять також біологічно активні фракції ліпідів – ненасичені жирні кислоти, фосфоліпіди, стерини [10]. Аверком виділяли за методикою, описаною у попередній роботі [7]. *A. chroococcum* (Az) вирощували на рідкому середовищі Ешбі [13] протягом п'яти діб, титр клітин становив  $1 \cdot 10^6$  КУО в 1 мл. *B. megaterium* (В.м.) вирощували на рідкому середовищі Одоєвської [5] протягом доби, титр клітин дорівнював  $1 \cdot 10^6$  КУО в 1 мл, *S. avermitilis* (Str) вирощували на рідкому соєвому середовищі [12] протягом семи діб, титр клітин становив  $1 \cdot 10^6$  КУО в 1 мл.

Дослідження впливу мікробних композицій на мікрофлору ризосфери пшениці ярої сорту Колективна 3 та ріст рослин проводили в умовах лабораторного досліду. В пластикові стаканчики з 200 г чорноземного ґрунту, враженого нематодами (наданий нам інститутом Radostim, Німеччина), висаджували по 5 зернин у кожний. Зерно замочували на 2 години в одному з розчинів: а) аверком у концентрації 2 мкг/мл д. р., б) суспензія бактерій Az + В.м. (у співвідношенні 2:1), в) Az + В.м. (2:1) + АВЕ (2 мкг/мл). Контрольне насіння замочували у стерильній водогінній воді. Після замочування насіння пророщували та висаджували за схемою:

1 – контроль без обробки; 2 – аверком – по 1 мл в кожному лунку за 2 год. до висадки замоченого в ньому зерна; 3 – *S. avermitilis* – по 1 мл культури в кожному лунку за 2 год. до висадки замоченого в стерильній воді зерна; 4 – *Az + B.m.* (2:1) по 1 мл суміші живих культур в кожному лунку за 2 год. до висадки замоченого в ній зерна; 5 – *Az + B.m.* (2:1) + *Ave* (2 мкг/мл) по 1 мл мікробної композиції в кожному лунку за 2 години до висадки замоченого в ній зерна.

Рослини вирощували протягом 20 діб при температурі 24-28 °C та вологості ґрунту 65-70 % від повної вологоємності. На 20-у добу знімали біометричні показники росту рослин [6] та визначали кількість мікроорганізмів і нематод в ризосферному ґрунті. Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп визначали за загальноприйнятими методиками на агаризованих поживних середовищах: педотрофні – на ґрунтовому агарі, амілолітичні та стрептоміцети – на крохмально-аміачному агарі, амоніфікувальні – на м'ясо-пептонному агарі, фосфат-мобілізувальні – на середовищі з фенолфталеїнфосфатом натрію, целюлозоруйнівні – на середовищі Гетчінсона з фільтрувальним папером, пропагули грибів – на середовищі Чапека. Виразили чисельність кількістю колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 г сухого ґрунту [5, 8]. Чисельність паразитичних фітонематод у ґрунті контролювали за методикою дослідної справи в овочівництві і баштанництві [4]. Лабораторні досліди проводили в триразовому повторенні [5].

Розрахунки і статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерних програм *Statistica 6.0* та *Microsoft Excel 97*.

**Результати та їх обговорення.** Основними таксономічними групами мікроорганізмів у ґрунті є мікроскопічні гриби, стрептоміцети, а також власне бактерії. Дані щодо чисельності грибів і стрептоміцетів у ризосфері пшениці ярої при застосуванні мікробних композицій наведені в табл. 1.

Як показали результати досліджень, чисельність грибів зростала порівняно з контролем у 2-7 разів майже у всіх варіантах досліду, окрім варіанту з використанням живої культури *S. avermitilis*, де їх кількість статистично не відрізнялась від контролю. Що ж до стрептоміцетів, то у варіанті з внесенням живої культури стрептоміцета чисельність їх зростала в 12 разів, у інших варіантах досліду спостерігалось незначне їх зростання – у 1,3-4 рази порівняно з контролем.

Таблиця 1. Чисельність грибів та стрептоміцетів ризосфери пшениці ярої при застосуванні мікробних композицій

Варіант досліду	Гриби, тис. КУО в 1 г ґрунту	Стрептоміцети млн КУО в 1 г ґрунту
Контроль	8,2 ± 0,5	1,6 ± 0,1
Ave	18,7 ± 4,4	6,1 ± 0,3
Str	7,7 ± 0,6	22,0 ± 1,1
Az + B.m.	9,9 ± 5,5	2,2 ± 0,1
Az + B.m. + Ave	63,8 ± 8,8	7,2 ± 0,4

Вивчали також розвиток мікроорганізмів, які відіграють важливу роль у трансформації органічних речовин ґрунту та сполук азоту і фосфору. Отримані нами дані свідчать (рис. 1), що при внесенні в ґрунт усіх досліджуваних композицій збільшується кількість педотрофних мікроорганізмів. Найбільшою (у 23 рази більша, ніж у контролі) їх чисельність була при внесенні аверкому в комплексі з *A. chroococcum* і *B. megaterium*. У всіх інших варіантах чисельність педотрофів перевищувала показники контролю в 5-9 разів.

**Кількість амілолітичних мікроорганізмів зростає удвічі порівняно з контролем у всіх варіантах досліду.**

Відомо, що завдяки діяльності амоніфікувальних мікроорганізмів відбувається мінералізація органічного азоту, білків та продуктів їх розкладу. Як видно з рисунка, внесені мікробні композиції сприяли підвищенню вмісту амоніфікувальних мікроорганізмів. Так, їх кількість при внесенні *A. chroococcum* + *B. megaterium* окремо та в комплексі з аверкомом збільшувалася у 47 разів порівняно з контролем. Зростання чисельності амілолітичних і амоніфікувальних мікроорганізмів вказує на збагачення ґрунту поживними речовинами.

Слід відмітити значне – у 150 разів порівняно з контролем – підвищення кількості фосфатмобілізувальних мікроорганізмів за сумісної обробки аверкомом + *A. chroococcum* + *B. megaterium*.

Таким чином, нами виявлене значне збільшення чисельності педотрофних, амілолітичних, амоніфікувальних і фосфатмо-

білізувальних мікроорганізмів за сумісної обробки аверкомом + *A. chroococcum* + *B. megaterium*. Можливо, це зумовлено наявністю поживних і біологічно активних речовин, внесених з культурами, які й використовувалися мікроорганізмами ґрунту як додаткові джерела живлення, що сприяло збільшенню їх кількості.

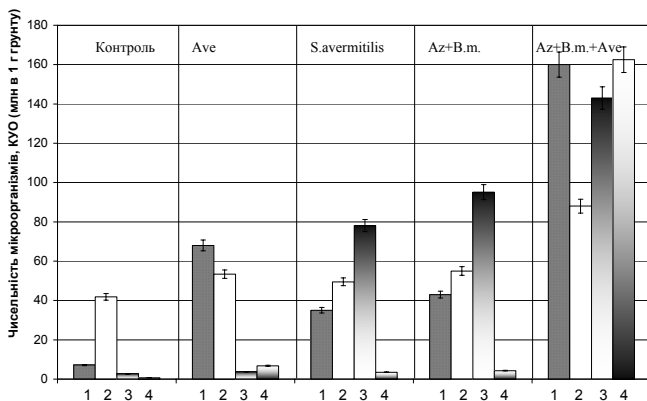


Рис. 1. Чисельність мікроорганізмів основних екологіко-трофічних груп ризосфери пшениці ярої

1 – педотрофи; 2 – амілолітичні мікроорганізми; 3 – амоніфікувальні мікроорганізми; 4 – фосфатомобілізувальні мікроорганізми.

Трансформація сполук вуглецю в природі тісно пов'язана з рухом речовин та енергії в біоценозах. Початковою ланкою в ланцюзі кругообігу вуглецю в ґрунті є деструкція органічних речовин, що синтезуються вищими рослинами. Відмерлі рослинні рештки, зокрема клітковина, в ґрунті піддаються розкладу, завдяки целюлозоруйнівним мікроорганізмам. Дані щодо впливу мікробних композицій на чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів (бактерій, грибів, стрептоміцетів) наведені на рис. 2. Кількість целюлозоруйнівних бактерій при застосуванні аверкому та мікробного композиційного препарату зростала у 10 разів, чисельність же грибів при внесенні живих культур *S. avermitilis* та *A. chroococcum* + *B. megaterium* – у 7-9 разів. В той же час кількість целюлозоруйнівних стрептоміцетів змінювалась несуттєво.

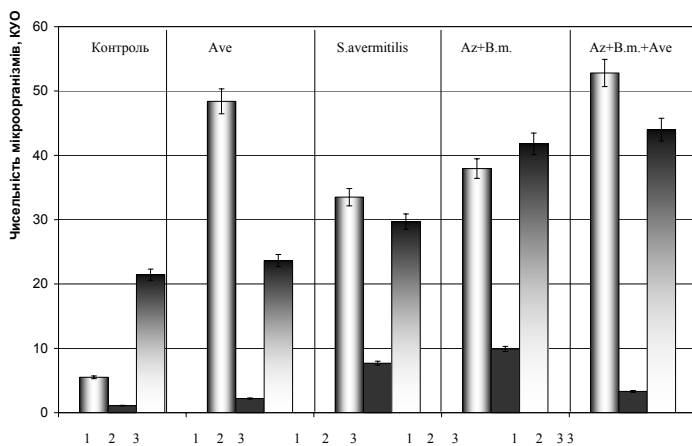


Рис. 2. Чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів ризосфери пшениці ярої

1 – целюлозоруйнівні бактерії; 2 – гриби; 3 – стрептоміцети; чисельність мікроорганізмів – КУО (млн/г ґрунту)

Дослідження показали, що зазначені мікробні композиції сприяли розвитку як мікрофлори ризосфери пшениці ярої, так і самих рослин, – спостерігалось збільшення кореневої і наземної маси (рис. 3, табл. 2). Як видно з рисунка, в усіх варіантах досліду відмічається збільшення довжини та маси коренів рослин відносно контролю, що, можливо, сприяє зростанню адсорбційної поверхні і як наслідок – надходженню більшої кількості доступних поживних речовин. Так, у варіантах з використанням *A. chroococcum* + *B. megaterium* окремо та в композиції з аверком довжина коренів і стебел збільшувалася відповідно на 41-64 та 56-94 %, порівняно з контролем. Приріст кореневої і наземної маси рослин становив відповідно 21-62 та 53-94 % у варіантах за сумісної обробки *A. chroococcum* + *B. megaterium* + аверком і при внесенні культури стрептоміцета.

У дослідних варіантах спостерігалось зниження чисельності паразитуючих фітонематод (*Ditylenchus dipsaci* (стеблова), *Pratylenchus pratensis*, *Tylenchorbynchus dubius*, *Helicotylenchus dihystra*, *Paratylenchus nanus*). Так, при обробці *A. chroococcum* + *B. megaterium* чисельність нематод знижувалась на 80 %, а при застосуванні окремо аверкому та культури стрептоміцета на 90-

93 % порівняно з контролем [8].

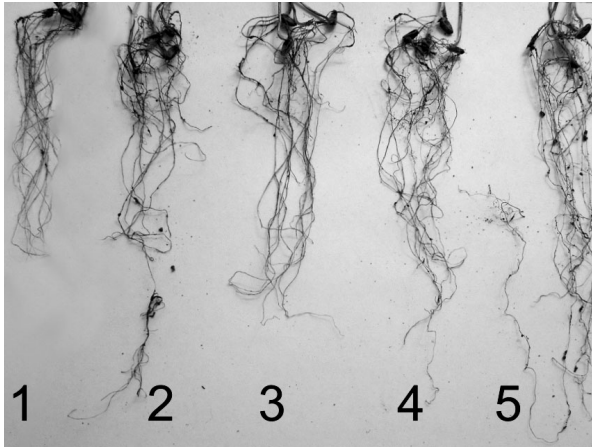


Рис. 3. Вплив композиційних препаратів на кореневу систему пшениці ярої

1 – контроль (без обробки), 2 – аверком, 3 – культура *S. avermitilis*, 4 – суспензія клітин *A. chroococcum* + *B. megaterium*, 5 – сумісна обробка аверкомом + *A. chroococcum* + *B. megaterium*.

Таблиця 2. Вплив мікробних композицій на розвиток пшениці ярої сорту Колективна 3

Варіанти дослідів	Довжина				Маса сухої речовини			
	коренів		стебел		коренів		стебел	
	см	% до контролю	см	% до контролю	мг	% до контролю	мг	% до контролю
Контроль (без обробки)	10,3±0,7	100	16±2,0	100	0,8±0,05	100	1,8±0,4	100
Ave	12±0,9	117	27±1,7	169	0,73±0,05	91	2,6±0,5	144
Str	11,4±0,8	111	22±2,0	138	1,3±0,2	162	3,5±0,7	194
Az + B. m.	14,6±0,7	141	25±2,1	156	0,75±0,1	93	2,9±0,5	164
Az + B. m. + Ave	16,9±1,6	164	31±1,1	194	9,73±0,5	121	2,7±0,6	153

Таким чином, мікробні композиційні препарати, до складу яких входять аверком та агрономічно важливі мікроорганізми (*A. chroococcum* і *B. megaterium*) в різних співвідношеннях, позитивно впливають на розвиток ризосферної мікрофлори та ріст рослин пшениці ярої. При використанні живої культури *S. avermitilis* та аверкому спостерігається значне зниження чисельності паразитичних нематод. Зважаючи на підвищення чисельності представників ризосферної мікрофлори пшениці ярої та зменшення кількості паразитичних фітонематод в ґрунті, перспективним може бути застосування досліджуваних композицій як додаткових джерел живлення ґрунтової мікрофлори та рослин для збагачення ґрунту біологічно активними сполуками і захисту рослин від паразитів.

1. Burg R.W., Miller B.M., Baker E.E. et al. Avermektins, new family of potent antihelmintic agents, producing organism and fermentation // *Antimicrob. Agents and Chemother.* – 1979. – № 15. – P. 361-367.

2. Красильников Н.А. Актиномицеты-антагонисты и антибиотические вещества. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1950. – 303 с.

3. Красильников Н.А. Лучистые грибки (высшие формы). – М.: Наука, 1970. – 535 с.

4. Методика дослідної справи в овочівництві і баштанництві. – Харків: Основа, 2001.

5. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. – 303 с.

6. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин: Підручник – К.: Либідь, 2005. – 808 с.

7. Петрук Т.В., Білявська Л.О., Козирицька В.Є., Муквич М.С. Підвищення біосинтетичної активності *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас 2161 під впливом *N*-метил-*'N*-нітро-*N*-нітрозогуанідину // *Мікробіол. журн.* – 2004. – Т. 66, № 6. – С. 24-30.

8. Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов. Справочник. – М.: Агропромиздат, 1990. – 240 с.

9. Петрук Т.В., Іутинська Г.О., Лінік В.В. та ін. Вплив авермектинів на мікробні угруповання ґрунту та рослини // *Наук. вісник Чернівецького ун-ту.* – 2005. – Вип. 252. Біологія. – С. 193-199.

10. Петрук Т.В., Козирицька В.Є., Валагурова О.В., Іутин-



ська Г.О. Ліпіди авермектинсинтезуючого штаму *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас 2161. // Наук. вісник нац. аграрн. ун-ту. – К., 2005. – С. 42-49.

11. Петрук Т.В., Козирицька В.Є., Валагурова О.В. та ін. Нематоцидна активність *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас 2161. // III (X) з'їзд Товариства мікробіологів України. – Одеса, 2004. – С. 70.

12. Петрук Т.В. Синтез і біологічна активність авермектинового комплексу *Streptomyces avermitilis*: Автореф дис. ... канд. біол. наук. – К., 2005. – 21 с.

13. Рубенчик Л.И. Азотобактер и его применение в сельском хозяйстве. – К.: Изд-во АН УССР, 1960. – 328 с.

## **ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИОННЫХ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МИКРОФЛОРУ РИЗОСФЕРЫ ПШЕНИЦЫ ЯРОВОЙ**

**Белявская Л.А., Козырицкая В.Е., Валагурова Е.В., Иутинская Г.А.**

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ, г. Киев

*Исследовалось влияние на микрофлору ризосферы пшеницы яровой композиционных препаратов, в состав которых входят микроорганизмы: азотфиксирующие (*Azotobacter chroococcum*), фосфатмобилизирующие (*Bacillus megaterium*), стрептомицет (*Streptomyces avermitilis*), продуцирующий авермектины – вещества антипаразитарного действия, а также препарат аверком. Показано их положительное действие на численность ризосферных микроорганизмов основных эколого-трофических групп и рост пшеницы яровой. Отмечено значительное уменьшение количества паразитических нематод (*Ditylenchus dipsaci*, *Pratylenchus pratensis*, *Tylenchorhynchus dubius*, *Helicotylenchus dihystra*, *Paratylenchus nanus*) в почве ризосферы под влиянием культуры стрептомицета и аверкома.*

Ключевые слова: *ризосферные микроорганизмы, бактериальные композиции, пшеница яровая, фитонематоды, аверком.*

## THE INFLUENCE OF MICROBIAL COMPOSITIONAL PREPARATIONS ON RHIZOSPHERIC MICROFLORA OF SPRING WHEAT

**Biliavska L.O., Kozyritska V.E., Valagurova E.V., Iutynska G.A.**

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine, Kyiv

*It has been studied the effect of microbial compositional preparations which consist of such microorganisms as nitrogen fixing (*Azotobacter chroococcum*), phosphate mobilizing (*Bacillus megaterium*), streptomycete (*Streptomyces avermitilis*) – a producer of antiparasitic avermectins complex, and preparation Avercom upon microflora of spring wheat roots. It has been demonstrated their positive influence on the microorganism quantity of some ecology-trophical groups as well as on growth of spring wheat roots and stems. Besides this, the significant decrease of parasitic nematode quantity (*Ditylenchus dipsaci*, *Pratylenchus pratensis*, *Tylenchorbynchus dubius*, *Helicotylenclues dihystera*, *Paratylenclues nanus*) in rhizospheric soil under the influence of the streptomycete culture and antiparasitic preparation “Avercom” has been marked.*

*Key words: rhizospheric microorganisms, microbial compositions, spring wheat, phytonematodes, Avercom.*