

УДК: 631.461:635

## **МІКРОБІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ІНТРОДУКЦІЇ КОРИСНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ У РИЗОСФЕРУ ПОМІДОРА**

**Т.М. Мельничук**, кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий  
співробітник

*Інститут сільського господарства Криму НААН,*

**В.П. Патика**, академік НААН, доктор біологічних наук, професор,

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України*

Досліджено здатність штамів-біоагентів мікробних препаратів колонізувати корені помідора. Показано їх вплив на ферментативну активність ризосфери та розвиток рослин. Штами-продуценти рістстимулювальних речовин забезпечили найвищий вихід ранньої продукції. Виявлено, що мікробні препарати сприяють зростанню економічної ефективності вирощування помідора раннього. За дії фосфоентерину збільшувався вихід ранньої продукції на 11% та рівень рентабельності на 47% до контролю.

***Ключові слова:** штами бактерій, мікробні препарати, ризосфера, помідор, рання продукція.*

Виробництво високоякісної, екологічно безпечної продукції у свіжому і переробленому вигляді є одним із найбільш важливих завдань галузі овочівництва. Всі роботи в сучасному овочівництві повинні проводитись на науковому рівні, що означає глибоке знання біології і екології рослин при їх вирощуванні в агроценозах [1]. Сучасне овочівництво України використовує потенціал технологій та генетичних конструкцій лише на 10 – 33% [7].

Серед низки шляхів вирішення екологічних і економічних проблем овочівництва є орієнтація сучасних технологій вирощування культур на підвищення активності природних процесів, що дає змогу одержувати додаткові вигоди з мінімальними витратами без порушення екосистем [8].

Управління біологічними процесами в агроценозах можливе через інтродукцію агрономічно цінних штамів мікроорганізмів у ризосферу рослин, що підсилює корисну або послаблює негативну дію небажаних для реалізації їх потенціалу явищ [2, 4, 9, 10]. Застосування бактерій для інокуляції культурних рослин є однією з перспективних агротехнологій, які можуть забезпечити їх елементами живлення (азот, фосфор) та ефективний біоконтроль патогенів і тим самим мінімізувати використання пестицидів у сільському господарстві [3, 14, 15].

У відділі мікробіології Інституту сільського господарства Криму НААН розроблено на основі агрономічноцінних мікроорганізмів ряд препаратів, які використовуються для інокуляції насіння сільськогосподарських культур. Позитивний вплив мікробних препаратів доведено і на рослинах капусти та розроблені елементи технології їх ефективного застосування [6].

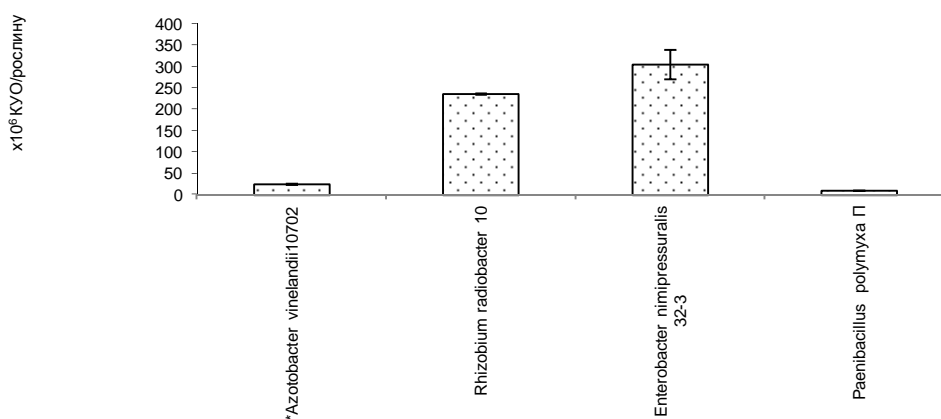
**Мета дослідження** полягала у вивченні впливу інтродукованих штамів-біоагентів мікробних препаратів на розвиток рослин та продуктивність помідора.

**Матеріали і методика дослідження.** Для дослідження було відібрано мікробні препарати азотобактерин, фосфоентерин і біополіцид, біоагентами яких є штами з різною домінуючою функцією: азотфіксація – *Azotobacter vinelandii* 10702, фосфатмобілізація - *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, антагонізм до фітопатогенів - *Paenibacillus polymyxa* П. Як референтний використовували агрофіл, основою якого є штам *Rhizobium radiobacter* 10. Інокуляцію здійснювали водною суспензією культур, або препаратами, з розрахунку 1% від маси насіння, навантаження бактерій на 1 насінину становило: *A. vinelandii* 10702 -  $4,8 \times 10^6$ , *E. nimipressuralis* 32-3-  $41,7 \times 10^6$ , *R. radiobacter* 10 -  $77,1 \times 10^6$ , *P. polymyxa* П -  $0,4 \times 10^6$  КУО. Колонізацію бактеріями поверхні рослин вивчали в гнотобіотичних умовах [12].

Вегетаційні і польові досліді та математичну обробку одержаних даних проводили за загальноприйнятими методиками [5]. Чорнозем

південний характеризувався вмістом у 100 г: рухомого  $P_2O_5$  – 5-15 мг та обмінного  $K_2O$  – 20-35 мг (за методом Мачигіна, ГОСТ 26205-91), азоту, що легко гідролізується 3,4 мг (за ГОСТом 26213-91); 2,6-4,3% гумусу (за методом Тюріна, ГОСТ 26213-91); реакція ґрунтового розчину близька до нейтральної рН водної – 6,8-7,5 (за ГОСТом 26483-85 або ДСТУ 10390-2001). Статистичну обробку отриманих даних виконували за допомогою стандартної комп'ютерної програми *Statistic*.

**Результати дослідження.** Відомо, що ризосферні бактерії, які стимулюють ріст рослин (PGPR) можуть активно колонізувати різні їх види [6, 13]. Використані у дослідженні штами є також продуцентами фізіологічно активних речовин, зокрема *E. nimipressuralis* 32-3 продукує індолілоцтову кислоту, цитокиніни і речовини гіберелінового ряду [11]. При порівнянні здатності виробничих штамів колонізувати корені рослин помідора виявлено, що чисельність бактерій штаму *E. nimipressuralis* 32-3 була більшою в 1,3 – 1220 разів, ніж у інших варіантах і становила  $304,5 \times 10^6$  КУО / рослину (рис.1).



**Рис. 1. Здатність штамів - біоагентів препаратів колонізувати корені рослин помідора у гнотобіотичних умовах. \*x10<sup>4</sup>**

Використовуючи кореневі виділення і мікроорганізми, проявляють свої функціональні властивості для забезпечення рослини необхідними

елементами живлення та підвищення їх стійкості проти впливу негативних чинників. В умовах вегетаційних дослідів на чорноземі південному було показано позитивний вплив препаратів на ріст і розвиток ювенільних рослин помідора. Препарати більшою мірою впливають на розвиток коренів, ніж надземної частини рослини, що є важливим для забезпечення кращого приживлення рослин при висаджуванні розсади на постійне місце вирощування. Так, застосування кожного з препаратів при інокуляції насіння помідорів забезпечило збільшення маси коренів в середньому за три роки досліджень від 7,7 до 38,5%. Найвищі показники розвитку рослин забезпечив фосфоентерин, біоагентом якого є штам з високою здатністю до колонізації ризосфери, до того ж у цьому варіанті спостерігався і найбільший середній приріст маси надземної частини рослини – 21% до контролю (табл. 1).

### **1. Вплив біопрепаратів на біомасу рослин помідорів (вегетаційні досліді, середнє за 2004-2006 рр.)**

Варіант досліді	Надземна маса (суха)		Маса кореневої системи (суха)	
	г	% до контролю	г	% до контролю
Контроль	0,81	100	0,13	100
Агрофіл	0,83	102,5	0,15	115,4
Фосфоентерин	0,98	121,0	0,18	138,5
Біополіцид	0,81	100	0,14	107,7
Азотобактерин	0,84	103,7	0,17	130,8
НІР <sub>05</sub>	0,04 - 0,39		0,02 - 0,05	

Мікробіологічний аналіз ґрунту ризосфери рослин не виявив істотного впливу інтродукованих мікроорганізмів на кількість бактерій і грибів.

Поясненням же позитивного впливу може бути заміна мікрофлори на більш активну, про що свідчить підвищення ферментативної активності. Так, активність лужної фосфатази у ґрунті ризосфери помідора у фазу цвітіння за внесення біопрепаратів підвищувалася на 55,7 – 91,4% відносно контролю (табл.2). При цьому спостерігалось зменшення вмісту фосфору в межах 7 - 3%, що свідчить про більш активне споживання цього елемента краще розвинутими рослинами.

## 2. Активність лужної фосфатази в ризосферному ґрунті помідора сорту Шанс за використання біопрепаратів (чорнозем південний, 2004 р.)

Варіант дослідження	Фаза розвитку рослини			
	цвітіння		плодоношення	
	мг/100г за 30хв	± до контролю, %	мг/100г за 30хв	± до контролю, %
Контроль	78,05± 0,78	-	17,84± 0,18	-
Агрофіл	149,42± 1,49	+91,4	12,82± 0,13	-28,1
Фосфоентерин	144,95± 1,45	+85,7	10,60± 0,11	-40,6
Біополіцид	149,42± 1,49	+91,4	16,73± 0,17	-6,2
Азотобактерин	121,54±1,21	+55,7	30,11± 0,30	+68,7

Завершальним показником підсумку формування продуктивної асоціативної взаємодії мікроорганізмів та рослин є урожайність. Погодні умови 2004 року були несприятливими для формування рослинами ранньої продукції. У червні рослини одержали вологи більше майже в чотири рази порівняно з середньобагаторічними опадами, що не сприяло дозріванню плодів. У більш сприятливі для вирощування помідора раннього роки високу ефективність забезпечив фосфоентерин, вихід ранньої продукції на 12-17 %

перевищував контроль (рис. 3). Кращі показники виходу ранньої овочевої продукції було одержано і на інших варіантах із застосуванням препаратів, які володіють стимулювальними властивостями.



**Рис. 3. Вплив біопрепаратів на вихід ранньої продукції помідорів сорту Шанс при вирощуванні розсадним способом (польові дослідження, чорнозем південний, 2004-2006 рр.)**

Економічна оцінка ефективності застосування біопрепаратів в технології одержання овочевої продукції свідчить про перспективність запропонованих прийомів для овочівництва. Важливим результатом для забезпечення споживацького попиту та економічного зиску для виробника є одержання ранньої овочевої продукції. Застосування мікробних препаратів в технології вирощування помідора раннього сприяло покращенню показників економічної ефективності одержання ранньої овочевої продукції.

Встановлено, що застосування мікробних препаратів фосфоентерин та азотобактерин показало високу економічну ефективність при одержанні ранньої продукції в технології вирощування помідора (табл.3). При цьому вона досягається як за рахунок оптимізації витратної частини (зменшення собівартості продукції), так і за рахунок дохідної частини (зростання

грошової виручки внаслідок збільшення врожайності). На перше місце вийшов бактеріальний препарат фосфоентерин, біоагентом якого є штам *E. nimipressuralis* 32-3 з високим ступенем асоціативності з рослинами помідора, на друге – азотобактерин, основа якого *A. vinelandii* 10702 володіє, як і ентеробактер, рістстимулювальними властивостями. Так, інокуляція насіння і обробка розсади помідора раннього сорту Шанс мікробним препаратом фосфоентерин сприяла збільшенню виходу ранньої продукції на 10,8%, при цьому встановлено зниження собівартості овочів на 7,6%, зростання прибутку з розрахунку на 1 га на 12,6%, а також рівня рентабельності на 47,2% (відсоткові пункти) до контролю.

**3. Основні показники економічної ефективності одержання  
ранньої продукції помідора раннього сорту Шанс  
за використання мікробних препаратів (за цінами 2012 р.)**

Показник	Контроль	Фосфоентерин		Азотобактерин	
		абсолютні значення	± до контролю, %	абсолютні значення	± до контролю, %
Урожайність, т/га	20,3	22,5	+10,8	21,9	+7,7
Витрати із розрахунку на 1 га, грн.	19794,0	20289,0	+2,5	20230,0	+2,2
В т.ч. додаткові витрати, пов'язані із застосуванням біопрепаратів, грн./га	-	495	-	436	-
Повна собівартість 1 т, грн.	975,1	901,7	- 7,6	923,7	- 5,3
Ціна реалізації 1 т, грн.	5660	5660	-	5660	-
Виручка із розрахунку на 1 га, грн.	114898,0	127350,0	+10,8	123954,0	+7,7
Прибуток із розрахунку на 1 га, грн.	95104,0	107061,0	+12,6	103724,0	+9,1

Рівень рентабельності, %	480,5	527,7	+47,2*	512,7	+32,2*
Окупність додаткових витрат, грн./грн.		24,1		19,8	

\* Відсотковий пункт

На завершенні плодоношення продуктивність рослин за дії мікробних препаратів підвищувалася на 11-24% відносно контролю в середньому за роки досліджень. Високі показники на варіанті із застосуванням біополіциду, що можна пояснити здатністю штаму *P. polytruxa* П зберігатися у ризосфері і, завдяки продукції антифунгальних речовин, знімати негативну дію фітопатогенів, які накопичуються під кінець вегетації.

Отже, дія мікробних препаратів є позитивною і важливою на всіх етапах онтогенезу овочевих рослин і залежить від здатності їх біоагентів приживатись на поверхні рослини, продукувати ферменти, фізіологічно активні речовини і антифунгальні продукти метаболізму. Інтродукція штамів-біоагентів мікробних препаратів сприяла реалізації рослинно-мікробної взаємодії у дефінітивний період життєвого циклу рослини, що позначилось на підвищенні виходу ранньої продукції на 3-10% та врожайності помідорів на 11-24% відносно контролю в середньому за роки досліджень.

Застосування мікробних препаратів фосфоентерин та азотобактерин, біоагенти яких володіють рїстстимулювальними властивостями, в технології вирощування помідора раннього сприяло покращенню показників економічної ефективності одержання ранньої овочевої продукції, окупність додаткових витрат становища 20-24 грн./грн.

### Список літератури

1. Барабаш О.Ю. Біологічні основи овочівництва / Барабаш О.Ю., Тараненко Л.К., Сич З.Д. – Київ: Арістей, 2005. – 348 с.



2. Биопрепараты в сельском хозяйстве. Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве / Под ред. И.А. Тихоновича и Ю.В. Круглова. – М., 2005. – 154 с.
3. Выделение и фенотипическая характеристика ростстимулирующих ризобактерий (PGPR), сочетающих высокую активность колонизации корней и ингибирования фитопатогенных грибов / Л.В. Кравченко, Н.М. Макарова, Т.С. Азарова [и др.] // Микробиология. – 2002. – Т. 71, № 4. – С. 521-525.
4. Волкова Е.Н. Применение препаратов из почвенных diaзотрофов как способ экологизации отрасли овощеводства / Е.Н. Волкова // Вопросы сельского хозяйства: Международный сборник научных трудов. – Калининград. гос. техн. ун-т. – К., 2004. – С. 71-78.
5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 352 с.
6. Мельничук Т.М, Татарин Л.Н., Пархоменко Т.Ю., Васецкий В.Ф. Эффективность применения биопрепаратов в технологии выращивания капусты // Научные труды ученых Крымского государственного аграрного университета. 2002. – Вып. 72. – С. 75-79.
7. Кравченко В.А. Перспективи розвитку галузі овочівництва в Україні / В.А. Кравченко // Вісник аграрної науки. – 2011. – № 5. – С. 18-21.
8. Насінництво й насіннезнавство овочевих і баштанних культур / [за ред. Т.К. Горової]. – К.: Аграрна наука, 2003. – 327 с.
9. Патыка В.Ф. Экология *Bacillus thuringiensis* / В.Ф. Патыка, Т.И. Патыка. – К.: изд. ПГАА, 2007. – 216 с .
10. Тихонович И.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты / И.А. Тихонович, Н.А. Проворов // Сельскохозяйственная биология: серия биология растений. – 2011. – № 3. –С. 3-9.

11. Чайковська Л.О. Бактерія *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 – продуцент фітогормонів / Л.О.Чайковська, М.І. Баранська // Сільськогосподарська мікробіологія: Міжвід. тем. наук. зб. – Чернігів: ЦНТІ, 2009. – Вип. 9. – С. 68-75.
12. Шерстобоев Н.К., Мельничук Т.Н. Методический подход к изучению ассоциативных микроорганизмов / Н.К. Шерстобоев // Вестник Одесского национального университета – Одесса, 2005. – Т.10, вып.7. – С.311-315.
13. Bent E., Breuil C., Enebak S., Chanway C. P. Surface colonization of lodgepole pine (*Pinus contorta* var. *latifolia* Dougl.Engelm.) roots by *Pseudomonas fluorescens* and *Paenibacillus polymyxa* under gnotobiotic conditions // Plant and Soil. – 2002. – 241, №2. – P. 187-196.
14. Kiraly L. Plant resistance to pathogen infection: forms and mechanisms of innate and acquired resistance / L. Kiraly, B. Barna, Z. Kiraly // J. Phytopathol. – 2007. – Vol.155. – P. 385-396.
15. Vassilev N. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: Potentials and future trends / N. Vassilev, M. Vassileva, I. Nikolaeva // Appl. Microbiol. And Bionotechnol. – 2006. – 71, № 2 – P. 137-144.

## **МИКРОБИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИНТРОДУКЦИИ ПОЛЕЗНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В РИЗОСФЕРУ ТОМАТА**

*Т.Н. Мельничук, В.Ф. Патыка*

Исследована способность штаммов-биоагентов микробных препаратов колонизировать корни томата. Показано их влияние на ферментативную активность ризосферы и развитие растений. Штаммы-продуценты ростстимулирующих веществ обеспечили высокий выход ранней продукции. Выявлено, что микробные препараты способствуют росту экономической эффективности выращивания томата раннего. Под действием Фосфоентерина увеличивался выход ранней продукции на 11% и уровень рентабельности на 47% к контролю.

**Ключевые слова:** штаммы бактерий, микробные препараты, ризосфера, томат, ранняя продукция.

# MICROBIOTECHNOLOGICAL BASES INTRODUCTION BENEFICIAL MICROORGANISMS IN THE RHIZOSPHERE OF TOMATO

*T.N. Melnychuk, V. P. Patyka*

Investigated introduction into rhizosphere of tomato plants of strains with different dominant features, namely nitrogen-fixation - *Azotobacter vinelandii* 10702, phosphate-mobilization *Enterobacter nimipressuralis* 32-3, antagonism to phytopathogenes – *Paenibacillus polymyxa* P. These strains are bio-agents of the following bio-fertilizers: Azotobacterin, Phosphoenterin and Biopolicide, respectively. *Rhizobium radiobacter* 10, which is a basis of Agrophyl, was used as a referent strain. The ability of microbial strains, which are bio-agents preparations, to colonize tomato roots has been investigated. The number of bacteria of strain *E. nimipressuralis* 32-3, stimulating plant growth was higher in 1.3 - 1220 times than that of other variants of experiment, precisely  $304.5 \times 10^6$  CFU. Under the conditions of vegetative trial on southern chernozem a positive influence of bio-fertilizers on growth and development of juvenile plants of tomato was observed. Introduction caused an increase in mass of the roots, on average for three years of research, ranging from 8 to 39 %. Influence of the strains on enzymatic activity of rhizosphere of tomato plants has been shown. Alkaline phosphatase activity at the flowering stage increased by 56 - 91 %, compare to control. Strains that produce growth-stimulating substances provided a high yield of early production. Revealed, that the microbial preparations contribute to increase of economic efficiency of early tomato cultivars. Microbial bio-fertilizer Phosphoenterin promoted increase in yield of early production by 10.8%, at the same time reduced the cost of tomato growing by 8 %, thus rose in income per 1 ha by 13 % and the level of profitability by 47 %, compared to the control.

**Key words:** *bacterial strains, microbial preparations, rhizosphere, tomato, early production.*