

## **ФОРМУВАННЯ МІКРОБНОГО УГРУПОВАННЯ РИЗОСФЕРИ РОСЛИН ЖИТА ОЗИМОГО ЗА ВПЛИВУ МІНЕРАЛЬНОГО УДОБРЕННЯ ТА ДІАЗОБАКТЕРИНУ**

**Чучвага І.Г., Волкогон В.В., Волкогон К.І.**

Інститут сільськогосподарської мікробіології  
та агропромислового виробництва НААН,  
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна  
E-mail: rifam@ukrpost.ua

*Досліджено вплив мінеральних добрив та інокуляції мікробним препаратом Діазобактерином на формування і функціонування мікробного угруповання ризосферного ґрунту рослин жита озимого при вирощуванні культури на дерново-підзолистому ґрунті. За використання мінеральних азотних добрив збільшується чисельність мікроорганізмів, які засвоюють мінеральні та органічні форми азоту. На розвиток діазотрофів позитивно впливає мінеральний азот у дозі, що не перевищує 60 кг/га. Застосування високих доз добрив призводить до інтенсивного розвитку денітрифікувальних мікроорганізмів. Інокуляція Діазобактерином сприяє підвищенню чисельності агрономічно цінних мікроорганізмів.*

*Ключові слова: діазотрофи, денітрифікувальні мікроорганізми, Діазобактерин, жито озиме.*

Застосування мінеральних добрив у технологіях вирощування сільськогосподарських культур, як правило, підвищує біологічну активність ґрунту. Однак, прогнозування їх дії не може здійснюватися без врахування направленості ґрунтових біологічних процесів.

Відомо, що мінеральні добрива як джерело живлення, особливо у ґрунтах із високим вмістом органічних речовин, стимулюють діяльність мікроорганізмів. За дії добрив рослини розвиваються краще, а їх кореневі екsudати активізують розвиток ґрунтової мікробіоти. Однак, така активація при надлишку елемен-

тів мінерального живлення в ґрунтах, недостатньо забезпечених джерелами вуглецевих сполук, призводить до негативних наслідків. За цих умов мікробіота сприяє інтенсифікації низки небажаних процесів, у т.ч. посиленню мінералізації гумусу і, як наслідок, погіршує структуру, знижує родючість та, використовуючи органічні сполуки корневих тканин, може гальмувати розвиток рослин [1].

Особливо небезпечним для оптимального розвитку агрономічно корисних мікроорганізмів у ґрунтах агроценозів та прояву їхньої функціональної специфічної активності, а також для довкілля в цілому, є високі дози мінерального азоту. Ступінь засвоєння діючої речовини з азотних добрив не перевищує 35–50 %, тож застосування туків для підвищення урожайності культурних рослин у великих дозах практично виключає з колообігу азоту процес азотфіксації, гарантує забруднення ґрунтів і водою нітратами, а також атмосфери – внаслідок інтенсивної емісії закису азоту. Оскільки виключення з технологій вирощування сільськогосподарських культур технічного азоту неможливе через низку економічних причин, потрібно вдосконалювати прийоми покращення азотного живлення рослин з метою спрямування якомога більшої частини добрив на потреби власне рослин і нівелювання негативного їх впливу на розвиток представників окремих еколого-трофічних груп мікроорганізмів та перебіг низки важливих ґрунтових процесів. Одним із таких прийомів є застосування азотних добрив у дозах фізіологічної доцільності для сільськогосподарських культур, що супроводжується зменшенням втрат азоту. Додатковим чинником впливу на оптимізацію азотного живлення культурних рослин є застосування мікробних препаратів на основі азотфіксувальних бактерій для передпосівної інокуляції насіння. Однак характер взаємовпливу біопрепарату з мінеральними добривами на рослини на сьогодні досконально не вивчено. Малодослідженим також є вплив поєднання мікробних препаратів з добривами на розвиток мікроорганізмів у ґрунтах агроценозів.

У зв'язку з вищезазначеним ми проводили дослідження особливостей формування мікробного угруповання в кореневій зоні бактеризованих рослин жита озимого, вирощуваного по різних

агрофонах.

**Матеріали і методи.** Дослідження проводили протягом 2010–2012 рр. в умовах дрібноділянкових польових дослідів з житом озимим сорту Синтетик 38 на окультуреному дерново-підзолистому пилувато-супіщаному ґрунті ( $pH_{\text{сол.}}$  – 6,2; вміст гумусу – 1,2 %; вміст легкогідролізованого азоту за Корнфілдом – 54,9 мг/кг; вміст рухомого  $P_2O_5$  – 330 мг/кг; вміст  $K_2O$  – 148 мг/кг ґрунту) дослідного поля Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН.

Схема дослідів:

I. Без інокуляції.

1. Без добрив;

2.  $N_{30}K_{20}$  ( $N_{20}$  восени +  $N_{10}$  ранньою весною);

3.  $N_{60}K_{40}$  ( $N_{30}$  восени +  $N_{30}$  ранньою весною);

4.  $N_{90}K_{60}$  ( $N_{30}$  восени +  $N_{30}$  ранньою весною +  $N_{30}$  у фазу виходу в трубку);

5.  $N_{120}K_{80}$  ( $N_{30}$  восени +  $N_{45}$  ранньою весною +  $N_{45}$  у фазу виходу в трубку.)

II. З інокуляцією Діазобактерином.

Аналогічні варіанти.

Розрахунок норм НРК проводили, беручи до уваги вміст елементів живлення у ґрунті та винос їх з максимально запланованим урожаєм в 35 ц/га.

У досліді використовували мікробний препарат Діазобактерин на основі *Azospirillum brasilense* 18-2, зареєстрований в Україні (посвідчення про реєстрацію А 01555).

Чисельність мікроорганізмів, що засвоюють органічні та мінеральні форми азоту (відповідно), визначали традиційними в мікробіології методами [2]. Кількість азотфіксувальних бактерій – методом серійних розведень із застосуванням ацетиленового тесту [3]. Чисельність денітрифікаторів – на середовищі Гільтая за використання реактиву Грісса [4]. Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали за Доспеховим [5].

**Результати та обговорення.** Застосування мінеральних азотних добрив сприяє кращому розвитку рослин жита озимого, і в результаті, підвищенню чисельності мікроорганізмів у

ризосферному ґрунті. Використання Діазобактерину також стимулює розвиток мікробіоти. Так, чисельність мікроорганізмів, які засвоюють переважно органічні форми азоту, при внесенні мінерального азоту зростає по мірі збільшення дози. Інокуляція сприяє зростанню кількості цих мікроорганізмів по всіх досліджених агрофонах (табл. 1). Отримані дані можуть опосередковано свідчити про зростання за цих умов надходження фотоасимілятів рослин у кореневі сфери і забезпечення конструктивного метаболізму мікроорганізмів енергією і вуглецем.

Чисельність мікроорганізмів, які засвоюють переважно мінеральні сполуки азоту, також зростає від застосування мінеральних добрив та інокуляції Діазобактерином (табл. 2).

**Таблиця 1. Залежність чисельності мікроорганізмів, які засвоюють переважно органічні форми азоту\*, в ризосферному ґрунті рослин жита озимого від агрофону та інокуляції, тис. КУО/г сухого ґрунту**

Варіанти дослідів	Фаза виходу в трубку	Фаза цвітіння	Фаза молочної стиглості
<i>Без інокуляції</i>			
Без добрив	2 241,7	2 266,0	32 300,0
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	2 645,6	3 978,0	40 584,0
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	4 535,7	4 738,0	54 203,3
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	4 821,1	7 730,7	62 636,7
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	8 272,7	10 025,3	89 393,3
<i>Інокуляція Діазобактерином</i>			
Без добрив	3 130,5	3 467,7	47 686,7
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	4 051,6	5 733,7	54 050,0
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	4 746,5	6 494,0	57 346,7
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	4 719,7	9 338,7	69 230,0
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	9 546,9	10 025,3	98 210,0
НІР <sub>05</sub> по досліді	927,3	1338,7	9525,4
для добрив	414,7	598,7	4259,9
для інокуляції та взаємодії	535,4	772,9	5499,5

\*) визначення на МПА

На відміну від вище охарактеризованих особливостей розвитку мікроорганізмів, мінеральні добрива та інокуляція неоднозначно впливають на формування популяції азотфіксувальних бактерій. Показники розвитку діазотрофів у ризосферному ґрунті рослин є цікавими з міркувань екологічного благополуччя агроценозу. Азотфіксувальні бактерії чутливі до концентрацій сполук азоту і, за їх надлишку, синтез ферментного нітрогеназного комплексу репресується, процес азотфіксації гальмується, бактерії починають засвоювати зв'язаний азот, енергетично вигідніший за  $N_2$ . Зважаючи на те, що ризосферні азотфіксатори тісно асоційовані з корінням, за їх реакцією на певні концентрації азотних сполук у ґрунті можемо судити і про реакцію рослин на норми удобрення. Якщо певна доза азотних добрив для сільськогосподарської культури не пригнічує розвиток ризосферних діазотрофів, а також прояв їх основної функції порівняно з контролем без добрив, така кількість мінерального азоту може вважатися фізіологічно (й екологічно) доцільною для агроценозу [6, 7].

Визначення чисельності азотфіксаторів у кореневій зоні рослин жита озимого (у т.ч. й за проявом азотфіксувальної здатності, згідно методики [3]) свідчить, що високі дози добрив на початку вегетаційного періоду пригнічують їх розвиток. І навпаки, мінеральні азотні добрива у дозі 30 кг/га сприяють суттєвому зростанню їх кількості.

Діазобактерин значною мірою нівелює негативну дію мінерального азоту, що позначається на зростанні кількості бактеріальних клітин при застосуванні не лише  $N_{30}K_{20}$ , але й більших доз добрив. У наступні фази органогенезу рослин жита озимого пік чисельності азотфіксувальних бактерій у ризосферному ґрунті зміщується у варіанти з вищими дозами туків, що свідчить про зменшення концентрації сполук азоту в даній екологічній ніші і, відповідно, появу можливостей для розвитку азотфіксаторів (табл. 3 і 4). При цьому бактеріальний препарат сприяє як більш ранньому, порівняно з відповідними агрофонами без його застосування, поштовху в розвитку зазначених бактерій, так і загалом формуванню значно численнішої їх популяції.

Особливо чітко просліджуються позитивні наслідки поєд-

нання бактеризації з окремими агрофонами на прикладі бактерій, що засвоюють органічні кислоти. Як відомо, цей субстрат є оптимальним для розвитку бактерій роду *Azospirillum*, представники якого є основою мікробного препарату Діазобактерину. У зв'язку з цим можна допустити, що інтенсивність розвитку азотфіксаторів, що засвоюють як джерело вуглецю і енергії органічні кислоти, обумовлена як створенням відповідних трофічних умов для розвитку ґрунтових діазотрофів, так і наслідками інтродукції в кореневій сфері активного азотфіксувального штаму *A. brasilense* 18-2.

**Таблиця 2. Залежність чисельності мікроорганізмів, які засвоюють переважно мінеральні сполуки азоту\*, в ризосферному ґрунті рослин жита озимого від добрив та інокуляції, тис. КУО/г сухого ґрунту**

Варіанти досліду	Фаза виходу в трубку	Фаза цвітіння	Фаза молочної стиглості	
<i>Без інокуляції</i>				
Без добрив	20 300,0	14 420,0	15 580,0	
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	24 266,7	18 360,0	21 660,0	
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	29 813,3	21 630,0	25 683,4	
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	30 100,0	23 573,3	29 900,0	
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	36 750,0	25 406,7	43 316,7	
<i>Інокуляція Діазобактерином</i>				
Без добрив	29 326,7	17 510,0	17 633,3	
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	50 400,0	22 660,0	24 533,3	
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	51 800,0	23 460,0	27 600,0	
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	51 450,0	25 750,0	33 733,3	
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	66 500,0	27 466,7	46 000,0	
НІР <sub>05</sub>	по досліду	6386,1	4805,1	4381,0
	для добрив	2856,0	2148,9	1959,3
	для інокуляції та взаємодії	3687,0	2774,3	2529,4

\*) визначення на КАА

Слід відмітити, що високою чисельністю азотфіксувальних бактерій у кореневій зоні упродовж всього вегетаційного періоду характеризувалися рослини жита озимого, вирощені на агрофонах,

які не перевищують  $N_{60}K_{40}$ . По високих агрофонах спостерігали подібне підвищення лише з середини та наприкінці вегетаційного періоду, що може свідчити про фізіологічну недоцільність застосування таких доз.

*Таблиця 3. Вплив удобрення та інокуляції на розвиток азотфіксувальних бактерій, які засвоюють цукри, в ризосферному ґрунті рослин жита озимого, тис./г сухого ґрунту*

Варіанти дослідів	Фаза виходу в трубку	Фаза цвітіння	Фаза молочної стиглості
<i>Без інокуляції</i>			
Без добрив	78,8	9,8	51,3
$N_{30}K_{20}$	156,0	255,0	285,0
$N_{60}K_{40}$	78,0	154,5	287,5
$N_{90}K_{60}$	78,7	98,8	287,5
$N_{120}K_{80}$	47,3	97,9	287,5
<i>Інокуляція Діазобактерином</i>			
Без добрив	79,5	25,8	109,3
$N_{30}K_{20}$	210,0	463,5	287,5
$N_{60}K_{40}$	99,8	459,0	345,0
$N_{90}K_{60}$	99,8	257,5	345,0
$N_{120}K_{80}$	47,3	97,9	287,5

Отже, за результатами обліку чисельності діазотрофів ризосферного ґрунту, фізіологічно оптимальними дозами мінерального азоту для удобрення жита озимого при вирощуванні культури на дерново-підзолистому ґрунті є такі, що не перевищують 60 кг/га. При застосуванні в технології вирощування культури мікробного препарату Діазобактерину діапазон фізіологічно доцільних доз азоту може бути підвищеним до 90 кг/га.

Певну особливість у розвитку, залежно від дії досліджуваних чинників, мають денітрифікувальні мікроорганізми. Їх чисельність зростає по мірі збільшення мінерального азоту в ґрунті (табл. 5).

**Таблиця 4. Розвиток азотфіксувальних бактерій, які засвоюють органічні кислоти, в ризосферному ґрунті рослин жита озимого за впливу мінеральних добрив та інокуляції, тис./г сухого ґрунту**

Варіанти дослідів	Фаза виходу в трубку	Фаза цвітіння	Фаза молочної стиглості
<i>Без інокуляції</i>			
Без добрив	47,3	97,9	51,3
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	156,0	153,0	51,3
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	119,6	463,5	109,3
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	120,8	468,0	132,3
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	78,8	46,4	51,8
<i>Інокуляція Діазобактерином</i>			
Без добрив	79,5	97,9	51,8
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	210,0	154,5	86,3
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	157,5	765,0	132,3
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	157,5	463,5	172,5
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	99,8	97,9	109,3

**Таблиця 5. Вплив удобрення та інокуляції на чисельність денітрифікувальних бактерій у ризосферному ґрунті жита озимого, тис./г сухого ґрунту**

Варіанти дослідів	Фаза виходу в трубку	Фаза цвітіння	Фаза молочної стиглості
<i>Без інокуляції</i>			
Без добрив	1207,5	1545,0	2850,0
N <sub>30</sub>	2080,0	1530,0	3420,0
N <sub>60</sub>	9880,0	2575,0	5175,0
N <sub>90</sub>	9975,0	2600,0	5175,0
N <sub>120</sub>	26250,0	4635,0	10925,0
<i>Інокуляція Діазобактерином</i>			
Без добрив	1590,0	1545,0	2875,0
N <sub>30</sub>	2625,0	1184,5	3450,0
N <sub>60</sub>	15750,0	2040,0	3450,0
N <sub>90</sub>	15750,0	2060,0	3450,0
N <sub>120</sub>	47250,0	15450,0	5175,0



Інокуляція сприяє збільшенню чисельності представників цієї групи мікроорганізмів у перші весняні фази розвитку рослин жита, проте в наступні строки проведення аналізів спостерігаємо чітко зменшення кількості денітрифікаторів за впливу біологічного препарату.

Дані щодо розвитку азотфіксувальних та денітрифікувальних бактерій є цілком закономірними з огляду на те, що дія мінеральних (і особливо азотних) добрив змінюється в часі по мірі зниження концентрації сполук азоту в ґрунті.

Інтенсифікація росту і розвитку рослин, покращення умов їх мінерального живлення, активізація процесу фотосинтезу вплинули на формування урожайності зерна жита озимого. При аналізі даних урожайності культури можемо відмітити, що зі збільшенням рівня мінерального живлення зменшується віддача урожаю (табл. 6).

*Таблиця 6. Урожайність жита озимого за дії мінеральних добрив та інокуляції*

Варіанти дослідів	Урожайність, т/га	Приріст від кожної наступної дози добрив*		Приріст від інокуляції	
		т/га	%	т/га	%
<i>Без інокуляції</i>					
Без добрив (контроль)	2,63	–	–	–	–
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	3,45	0,82	31,2	–	–
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	4,05	0,60	17,7	–	–
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	4,55	0,49	12,1	–	–
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	4,68	0,13	2,9	–	–
<i>Інокуляція Діазобактерином</i>					
Без добрив (контроль)	2,83	–	–	0,20	7,6
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	3,93	1,10	38,9	0,48	13,9
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	4,53	0,60	15,3	0,47	11,6
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	5,03	0,50	11,0	0,48	10,5
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	5,15	0,12	2,4	0,47	10,0
НІР <sub>05</sub>	по досліді	0,66			
	для добрив	0,29			
	для інокуляції та взаємодії	0,38			

\*) у т.ч. від поєднання з інокуляцією

Так, застосування найменшої в досліді дози добрив забезпечує приріст урожайності культури на 31 %, а найбільшої – лише на 2,9 % порівняно до попередньої.

Бактеризація сприяє істотному зростанню врожайності культури. При цьому відмічаємо цікаві особливості. Для забезпечення формування біомаси ініційованих бактеризацією рослин та урожаю потрібна, звичайно ж, і більша, порівняно з не бактеризованими, кількість азоту. Частково дефіцит азоту задовольняється шляхом активізації розвитку азотфіксувальних бактерій, відповідно, процесу асоціативної азотфіксації і як наслідок – додаткового надходження біологічного азоту. Але інокульовані рослини не в змозі задовольнити своїх потреб лише за допомогою мікробіологічного зв'язування азоту з атмосфери. У цьому випадку підсилюється також засвоєння мінерального азоту, який спрямовується на забезпечення формування додаткового врожаю. Так, урожайність культури при внесенні  $N_{30}K_{20}$  та бактеризації забезпечує формування майже такої ж урожайності, яка досягається за внесення добрив у дозі  $N_{60}K_{40}$ . Поєднання з біопрепаратом дози добрив  $N_{60}K_{40}$  сприяє одержанню такої ж урожайності, як і за внесення  $N_{90}K_{60}$  (але без інокуляції).

Отже, мікробний препарат Діазобактерин при застосуванні по фізіологічно оптимальних агрофонах є важливим чинником інтенсифікації продукційного процесу жита озимого. Використання препарату в технологіях вирощування жита дозволяє розширити діапазон екологічно доцільних доз мінерального азоту за рахунок стимулювання розвитку рослин та підвищення їх потреб у сполуках азоту для конструктивного метаболізму.

1. Звягинцев Д.Г. Биология почв /Д.Г. Звягинцев, И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. – М. : Изд-во МГУ, 2005. – 445 с.

2. Теппер Е.З. Практикум по микробиологии /Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. – М. : Агропромиздат, 1987. – 239 с.

3. Villemin G. Utilization du test de reduction de l'acetylene pour la numeration des bacteries libres fixatrices d'azote /G. Villemin, J. Balandreau, Y. Dommergues //Ann. Microbiol. ed Enzimol. – 1974. – Vol. 24, № 2. – P. 87–94.

4. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія

/[В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Л.М. Токмакова та ін.]; за наук ред. В.В. Волкогона. – К. : Аграр. наука, 2010. – 464 с.

5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта /Б.А. Доспехов. – М. : Колос, 1979. – 376 с.

6. Umarov M. Incorporation of «biological» nitrogen by nonlegumenous plants during associative  $N_2$ -fixation /M. Umarov, V. Shabaev, V. Smolin, O. Aseeva //IX Int. Symp. Soil Biol. and conservatuion of the Biosphere. – Sorpon, 1985. – P. 65.

7. Ladha J.K. Rice plant–accociated  $N_2$ -fixation as affected by genotype, inorganic N fertilizer and organic manure /J.K. Ladha, A.C. Tiror, G. Caldo, I. Watanabe //Transaction of XIII Congr. Int. Soc. Soil Sci. – Hamburg, 1986. – Vol. 2. – P. 598–599.

## **ФОРМИРОВАНИЕ СООБЩЕСТВА МИКРООРГАНИЗМОВ РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ РЖИ ОЗИМОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ И ДИАЗОБАКТЕРИНА**

**Чучвага И.Г., Волкогон В.В., Волкогон Е.И.**

*Исследовано влияние минеральных удобрений, а также инокуляции микробным препаратом Диазобактерином на формирование и функционирование сообщества микроорганизмов ризосферной почвы растений ржи озимой при выращивании культуры на дерново-подзолистой почве. Минеральные удобрения способствуют увеличению количества микроорганизмов, усваивающих как органические, так и минеральные соединения азота. На развитие diaзотрофов положительно влияют дозы минерального азота, не превышающие 60 кг/га. Применение высоких доз удобрений способствует интенсивному развитию денитрифицирующих микроорганизмов. Инокуляция Диазобактерином обеспечивает увеличение численности агрономически ценных микроорганизмов.*

*Ключевые слова: diaзотрофы, денитрифицирующие микроорганизмы, Диазобактерин, рожь озимая.*

## **FORMATION OF MICROBIAL ASSOCIATIONS IN RHIZOSPHERE OF WINTER RYE UNDER THE INFLUENCE OF MINERAL FERTILIZERS AND DIAZOBACTERIN**

**Chuchvaga I.G., Volkogon V.V., Volkogon K.I.**

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture,  
NAAS, Chernihiv

*Influence of mineral fertilizers and inoculation with microbial preparation Diazobacterin on formation and functioning of microbial associations in rhizosphere of winter rye was studied on sod-podzol soils. It was shown that application of nitrogen fertilizers increase number of microorganisms that utilize mineral and organic nitrogen compounds. The most positive impact on the development of diazotrophs was observed in variants with doses that do not exceed 60 kg/ha. Application of high fertilizer doses results in intense growth of denitrifying microorganisms. Inoculation with Diazobacterin promotes growth of agriculture important microorganisms.*

Key words: *diazotrophs, denitrifying microorganisms, Diazobacterin, winter rye.*