



УДК 606

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АЗОТФІКСУЮЧИХ БАКТЕРІЙ *P. AZOTOBACTER* ТА *P. RHIZOBIUM* НА ВРОЖАЙНІСТЬ БОБОВИХ КУЛЬТУР

Студ. Ю.М. Глушаниця, гр. ББТск-17

Студ. А.В. Гусар, гр. ББТск-17

Науковий керівник асист. П.А. Ребрикова

Київський національний університет технологій та дизайну

Мета і завдання. Метою роботи є виділення та вивчення морфолого-культуральних і фізіологічних властивостей виділених ґрунтових ізолятів, які приймають участь у фіксації азоту та дослідження їх впливу на врожайність бобових культур. Для досягнення вказаної мети були вирішені наступні завдання: виділення азотфіксуючих мікроорганізмів з корневих бульбочок сої, гороху та конюшини, шляхом висіву розведеної ґрунтової витяжки на щільні поживні середовища - бобовий агар і середовище Ешбі; визначення морфолого-культуральних та біохімічних властивостей ізолятів; встановлення чутливості виділених чистих культур до антибіотичних речовин; визначення умов створення біологічно активних препаратів для сільського господарства з отриманих чистих бактеріальних культур *p. Azotobacter* та *p. Rhizobium*.

Об'єкт та предмет дослідження. Об'єктом дослідження є виділені чисті культури азотфіксуючих бактерій *p. Azotobacter* та *p. Rhizobium*., предмет дослідження – вплив морфолого-культуральних та фізіологічних властивостей вільноживучих та симбіотичних штамів азотфіксаторів на ріст бобових рослин.

Методи та засоби дослідження. Виділення азотфіксуючих бактерій проводили шляхом висіву 10 зразків розведеної витяжки ґрунту, після вирощування на ньому бобових рослин, на щільні поживні середовища. Виділення культур проводили методом ґрунтових грудочок на середовищі Ешбі та методом ґрунтових пластинок. Визначення морфолого-культуральних властивостей проводилось методом мікроскопіювання зафарбованих зразків, а також оцінкою інтенсивності росту на диференціальних середовищах.

Використано зразки ґрунту із ризосфери рослин різного походження. Облік бактерій у зразках ризосферного ґрунту здійснено методом Красильникова. Для виділення культури бактерій роду *Azotobacter* використано селективне середовище Ешбі для виділення азотфіксаторів. рН середовища становив 7–7.2; експозиція культивування сім днів за температури 28 ± 2 °С, згідно з методикою, наведеною в [1]. Чітко відокремлені колонії перенесені на скошений агар Ешбі та знову культивовані за аналогічних умов сім днів до чітких проявів наявності культури.

Для виділення чистої культури бульбочкових бактерій роду *Rhizobium* було використано модифікований метод, описаний у літературі [2]. Для отримання робочих суспензій готували розведення із концентрацією мікроорганізмів $1 \cdot 10^9$ КУО/мл. Для досліду використано монобактеріальні суспензії *Azotobacter* та *Rhizobium*, а також комплекс, одержаний при змішуванні у стерильних умовах рівних об'ємів наведених вище суспензій.

Як культуру-порівняння використано промисловий біопрепарат «Азотофіт-Р», наявний у продажу, приготування якого здійснювали відповідно до інструкції: 0.5 мл препарату розчиняли в 50 мл води. Інкубація насіння із приготованими бактеріальними суспензіями тривала 1 год, після чого насіння вносили у високі та широкі пробірки (висота 200 мм, ширина 20 мм) на перлітовий субстрат, просочений поживним середовищем такого складу: калійна селітра – 0,5 г/л, суперфосфат – 0,35 г/л, магній сірчаноокислий – 0,3 г/л, амонійна селітра – 0,2 г/л. Експозиція вирощування рослин становила 20 днів при 16–18 °С за природного освітлення у нестерильних та стерильних умовах.

Наукова новизна. Вдосконалено методики дослідження властивостей мікробних культур, виділених з природного середовища, та їх вплив на ріст і розвиток модельних рослин нуту та сочевиці.

Результати дослідження. Для дослідження властивостей азотфіксуючих мікроорганізмів було виділено бактерії роду *Azotobacter* з бульбочкових утворень коріння нуту та сочевиці. Розбавлені суспензії цих препаратів перевірено на ріст стимулюючу здатність під час пророщення насіння нуту та сочевиці з метою подальшого використання цієї бактеріальної композиції як біоінокулянта.

Суспензії виділених бактерій роду *Azotobacter* використано для оброблення насіння рослини нут та сочевиці. Для інокуляції насіння використано монобактеріальні суспензії *Azotobacter* та *Rhizobium*, виділених з ґрунту, а також композицію з розведенням цих мікроорганізмів концентрацією $1 \cdot 10^9$ КУО/мл. Пророщення насіння відбувалося у нестерильних та стерильних умовах. Морфологія паростків, оброблених бактеріальною композицією *Rhizobium* та *Azotobacter*, відзначалася кращими ростовими показниками: довше стебло, сформоване листя насиченого зеленого кольору, що сприятиме інтенсивному фотосинтезу, та довше коріння, що сприятиме кращому всмоктуванню необхідних рослині речовин з живильного середовища.

За результатами пророщування рослин у відповідних умовах протягом 20 діб встановлено, що паростки, отримані із насіння, що було оброблене монобактеріальною культурою *Rhizobium*, мали достатньо довге коріння (рис.1.) і високі показники приросту біомаси листя. Паростки, отримані з насіння, що було оброблене препаратом-порівняння «Азотофіт-Р» та бактеріями роду *Azotobacter*, не відзначалися інтенсивним вертикальним ростом, мали меншу площу листя, здатного до фотосинтезу, та коротше коріння.



Рисунок 1 – Приріст біомаси коріння бобових рослин під дією *Azotobacter*.

Висновки. Дослідження властивостей азотфіксуючих мікроорганізмів виявило, що використання полібактеріальної композиції на основі родів бактерій *Rhizobium* та *Azotobacter* для стимуляції росту бобових перспективне та здатне підвищити масу паростків за порівняно короткий час. Доведено, що суспензія мікроорганізмів здатна успішно колонізувати коріння рослин та стимулювати ріст бобових навіть у вигляді монобактеріальної суспензії, підвищуючи показники маси проростків у нестерильних умовах на 26,44 % порівняно з необробленим насінням та на 38,3 % порівняно з насінням, обробленим біопрепаратом «Азотофіт-Р».

Ключові слова. Азотфіксація, монобактеріальна суспензія, *Azotobacter*, *Rhizobium*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зінченко О. І., Каленська С. М., Каленська С. М. Рослинництво : Практикум / За ред. О. І. Зінченко. – Вінниця : Нова книга 2008 – 536с.
2. Методичний посібник з організації проведення науково-дослідних робіт в галузі сільськогосподарської продукції. – К. : УкрНРКСГР, 2010.– 136 с. 2. Vasylenko, M.H., Draga, M.V., Zatsarina, Yu. A.&Buckay, I.D. (2014).