

УДК 579.26:579.64

**УТРИМАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ-АГЕНТІВ
ПОЛІФУНКЦІОНАЛЬНИХ КОМПЛЕКСІВ БІОПРЕПАРАТІВ НА
ПОВЕРХНІ НАСІННЯ**

Я. В. Чабанюк, кандидат сільськогосподарських наук,
Інститут агроекології і природокористування НААН

А. М. Клименко, аспірант
Інститут агроекології і природокористування НААН

Р. І. Дзюба, здобувач
Державний резервний насіннєвий фонд України

А. А. Бунас, кандидат біологічних наук,
Інститут агроекології і природокористування НААН

Робота присвячена пошуку сумісних препаратів на основі мікроорганізмів, здатних забезпечити надходження поживних елементів, стимуляцію росту та захист рослин від хвороб, що можуть сприяти одержанню високого та якісного врожаю зернових культур.

Авторами підібрано поліфункціональні комплекси біопрепаратів для передпосівної обробки насіння ярого ячменю та озимої пшениці, досліджено динаміку титру мікроорганізмів-інокулянтів на поверхні насіння за умов комплексної інокуляції.

Ключові слова: поліфункціональні комплекси, мікроорганізми-інокулянти, життєздатність, титр, інокуляція.

Важливою особливістю сучасних технологій вирощування сільськогосподарських культур вважається використання біологічно активних, екологічно безпечних препаратів з метою підвищення урожайності, стійкості проти різних захворювань та інших чинників навколишнього середовища. Захист зернових культур – одна з кардинальних проблем сільськогосподарського виробництва,

альтернативою якої є можливість використання методу імунізації культурних рослин проти патогену. Індукторами стійкості можуть бути хімічні сполуки, гриби, бактерії і продукти їх метаболізму.

Відомо, що деякі біопрепарати або їх комплекси мають сприятливий вплив на продуктивність рослин і якість одержаної продукції [4, 5, 1, 2, 3, 6]. Вони виконують в ризоценозі конкретні функції: азотфіксацію, фосфатмобілізацію, продукування речовин антибіотичної і фітогормональної дії.

Пошук сумісних препаратів на основі мікроорганізмів, здатних забезпечити надходження поживних елементів, стимуляцію росту та захист рослин від хвороб, може сприяти одержанню високого та якісного врожаю зернових культур. За рахунок цього зменшується необхідність внесення високих доз хімічних добрив та засобів захисту, що спричиняють негативний вплив на природне середовище.

Мета досліджень – вивчити сумісність штамів-біоагентів препаратів для створення їх дієвого комплексу та властивості отриманих композицій.

Матеріали і методика досліджень. Дослідження проводили на базі Інституту агроєкології та біотехнології Української академії аграрних наук у 2004 році. У дослідженнях використовували сорти пшениці ярої Колективна 3 та озимої Миронівська 61, а також ячменю ярого Цезар.

Об'єктами досліджень слугували виробничі штами мікроорганізмів та біопрепарати на їх основі: азотфіксуєчий штам *Agrobacterium radiobacter* 204 (препарат діазофіт), фосфатмобілізуєчий штам *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 (препарат фосфентерин), *Paenibacillus polymyxa* 6M (препарат біополіцид) та штам гриба-антагоніста *Chaetomium cochliodes* 3250 (хетомік).

Вихідний титр препаратів становив (КУО/насінину): *A. radiobacter* 204 – $8,1 \cdot 10^5$, *E. nimipressuralis* 32-3 – $3,5 \cdot 10^6$, *P. polymyxa* 6M – $15 \cdot 10^3$, *C. cochliodes* 3250 – $8,2 \cdot 10^4$.

До складу комплексу КБП-1, який використовували для обробки

насіння ячменю, увійшли: діазофіт, фосфоентерин та біополіцид.

До складу комплексу КБП-2, який використовували для обробки насіння пшениці озимої, увійшли: діазофіт, фосфоентерин та хетомік.

Морфологію клітин мікроорганізмів вивчали у фазовому контрасті за допомогою мікроскопа марки Laboval 4 фірми Carl Zeiss Jena.

Динаміку чисельності мікроорганізмів-біоагентів препаратів на насінні визначали за оригінальною методикою.

Результати досліджень та їх обговорення. Поліфункціональні комплекси препаратів для інокуляції насіння складали, враховуючи функціональну дію їх біоагентів.

Першою умовою за складання поліфункціональних комплексів мікроорганізмів для найбільш повного забезпечення потреб рослин у елементах живлення і захисті їх від хвороб є взаємна позитивна дія або індиферентність мікробних компонентів при розвитку на поживному субстраті. Тому було проведено лабораторний експеримент з вивчення взаємодії виробничих штамів мікроорганізмів *A. radiobacter* 204, *E. nimipressuralis* 32-3, *P. polymyxa* 6M та *S. cochlododes* 3250 на гороховому агаризованому середовищі.

При вирощуванні *P. polymyxa* 6M та *S. cochlododes* 3250 на поверхні агаризованого середовища спостерігали слабе взаємне пригнічення росту. Бациллярний штам при цьому більшою мірою гальмував ріст популяції мікрومیцета.

Таким чином виявили неможливість сумісного використання бактеріального і грибного штамів – антагоністів фітопатогенних грибів як передбачалось для посилення захисної дії комплексного препарату.

Результатом подібного експерименту з іншими штамми мікроорганізмів – складових поліфункціональних комплексів препаратів було доведення їх компліментарності та біологічної індиферентності.

З огляду на характеристики препаратів та їх біоагентів, а також проведених досліджень, було підібрано поліфункціональні комплекси

біопрепаратів для передпосівної обробки насіння ячменю ярого та пшениці озимої.

Ефективність застосування мікробних препаратів великою мірою залежить від кількості життєздатних клітин мікроорганізмів, які збереглися на поверхні насіння до потрапляння в ґрунт. У зв'язку з цим, досліджували динаміку титру мікроорганізмів-інокулянтів на поверхні насіння ячменю і пшениці за умов комплексної інокуляції.

Штам *A. radiobacter* 204 виявився найменш здатним утримуватись тривалий час на поверхні насіння ячменю ярого (рис. 1А). За інокуляції цим штамом з вихідним титром $810 \cdot 10^3$ КУО/насінину чисельність інокулянта через три години значно зменшилася. В подальшому спостерігали поступове зниження титру та різке його падіння після шести годин зберігання насіння.

Штам *P. polytuxa* 6М, порівняно з іншими мікроорганізмами, виявився більш стійким до дії зовнішніх чинників при зберіганні насіння. Це пояснюється здатністю цього мікроорганізму утворювати спори і тим, що як інокулянт він використовується у вигляді заспорованої культури, хоча вихідний її титр був значно меншим, ніж у інших компонентів комплексу – $15 \cdot 10^3$ КУО/насінину. У перші три години титр знизився до $1,3 \cdot 10^3$ КУО/насінину і практично не змінювався до кінця експерименту (рис. 1Б).

При нанесені на насіння ячменю ярого $3,5 \cdot 10^6$ клітин культури *E. nimipressuralis* 32-3 спостерігали зниження титру в перші три години до $290 \cdot 10^3$ КУО/насінину за сумісної інокуляції у складі КБП-1.

тис. КУО/насініну Чисельність мікрорганізмів			А
	години	доби	
			Б
	години	доби	
			В
	години	доби	
	Тривалість досліду		

Рис. 1. Динаміка чисельності мікрорганізмів-інокулянтів на поверхні насіння ячменю ярого за умов сумісної інокуляції: А – *A. radiobacter* 204, Б – *P. polymyxa* 6М, В – *E. nimipressuralis* 32-3

Отже, інокуляція мікрорганізмами у складі комплексного препарату

сприяє тривалішому збереженню життєздатності неспорівих бактерій на поверхні насіння ячменю, кожна година якого дуже важлива при практичному використанні біопрепаратів. Це явище, на нашу думку, можна пояснити можливістю продукування у *P. polytuxa* 6М, що входить до складу КБП-1 в'язкого полісахаридного слизу, завдяки якому зменшується втрата вологи та забезпечується утримання клітин на поверхні насіння.

Динаміка чисельності мікроорганізмів-складових КБП-2 на поверхні насіння пшениці озимої за окремої і спільної інокуляції показала, що з усіх мікроорганізмів, що вивчалися, лише мікроміцет *C. cochliodes* 3250 може тривалий час зберігати життєздатність спор. За інокуляції в складі КБП-2 високий титр зберігався протягом 24 діб, потім стабілізувався на рівні 10^3 КУО/насінину.

На поверхні насіння пшениці озимої *A. radiobacter* 204 швидко втрачав чисельність життєздатних клітин, також як і на насінні ячменю ярого. За інокуляції в складі КБП-2 титр знижувався після трьох годин зберігання насіння і далі був нижчим 10^3 КУО/насінину.

Бактерії штаму *E. nimipressuralis* 32-3 швидко втрачали життєздатність на поверхні насіння пшениці озимої при інокуляції в складі КБП-2 (рис. 2В). При нанесенні $3,5 \cdot 10^6$ КУО/насінину через три години титр зменшувався до $43 \cdot 10^3$ КУО/насінину при застосуванні у складі КБП-2

Таким чином, встановлено, що обробка насіння озимої пшениці поліфункціональним мікробним комплексом КБП-2 знижує термін збереження життєздатності клітин кожного компонента на поверхні інокульованого насіння на 2-3 години. На різке зниження кількості життєздатних клітин на поверхні насіння пшениці впливає відсутність мікроорганізмів, що продукують слизоутворювальний компонент у складі КБП-2 та гладка оболонка насіння пшениці. Найуразливішим до дії зовнішніх факторів виявився *A. radiobacter* 204, а найстійкішим – *C. cochliodes* 3250.

тис. КУО/насінину	Чисельність мікроорганізмів			А
		години	доби	
				Б
		години	доби	
				В
		години	доби	
		Тривалість досліду		

Рис. 2. Динаміка чисельності мікроорганізмів-інокулянтів на поверхні насіння ячменю ярого за умов сумісної інокуляції: А – *S. cochliodes* 3250, Б – *A. radiobacter* 204, В – *E. nimipressuralis* 32-3

Висновки

1. Поліфункціональний комплекс КБП-1, який складається з діазофіту,

фосфоентерину та біополіциду, рекомендовано для передпосівного обробітку насіння ячменю ярого.

2. Комплекс КБП-2, який використовували для обробки насіння озимої пшениці, складався з діазофіту, фосфоентерину та хетоміку. Для зберігання титру бактерій-біоагентів композиції необхідні подальші дослідження щодо підбору слизоутворювального компонента.
3. Проведені дослідження переконують у необхідності висівати насіння зернових культур у вологий ґрунт у перші 3 години після інокуляції. Винятком є насіння, оброблене спороутворювальним мікроорганізмами, яке можна висівати у ґрунт на наступний день.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Агроекологія / Под ред. В. А. Черникова и А. И. Черкеса. – М.: Колос, 2000. – 536 с.
2. *Lughtenberg B. J. J.* Use of bacteria for plant growth promotion and plant protection // *New approaches techniques in breeding sustainable* / Ed. Provorov N. A. – S-Peterburg. – 2000. – P. 127–130.
3. *Смірнов В. В.* Мікробні біотехнології в сільському господарстві / В. В. Смірнов, В. П. Патица, В. С. Підгорський [та ін.] // *Агроекол. журн.* – 2002. – № 3. – С. 3–9.
4. *Чабанюк Я. В.* Умови ефективного використання біопрепаратів в посівах ярого ячменю / *Я. В. Чабанюк, В. І. Русанов* // *Зб. наук. пр. Ін. землероб. УАН.* – 2005. – №2. – С. 59–61.
5. *Чабанюк Я. В.* Життєздатність мікроорганізмів-інокулянтів на поверхні насіння ячменю ярого / *Я. В. Чабанюк* // *Агроекол. журн.* – 2008. – Спец. вип. – С. 256–259.
6. *Широких И. Г.* Микробные сообщества кислых почв Северо-Востока Европейской части России: дис. доктора биол. наук / *И. Г. Широких.* – М. – 2004. – 394 с.

Удержание микроорганизмов-агентов полифункциональных комплексов биопрепаратов на поверхности семян.

Я. В. Чабанюк, А.Н.Клименко, Р. И. Дзюба, А. А. Бунас

Работа посвящена поиску совместимых препаратов на основе микроорганизмов, способных обеспечить поступление питательных элементов, стимуляцию роста и защиту растений от болезней, которые могут способствовать получению высокого и качественного урожая зерновых культур.

Авторами подобраны полифункциональные комплексы биопрепаратов для допосевной обработки семян ячменя ярого и пшеницы озимой, исследована динамика титра микроорганизмов-инокулянтов на поверхности семян при комплексной инокуляции.

Ключевые слова: *полифункциональные комплексы, микроорганизмы-инокулянты, жизнеспособность, титр, инокуляция.*

Withholding agents microorganisms polyfunctional complexes of biological preparations on the seed's surface.

Y. Chabanyuk, A. Klimenko, R. Dziuba, A. Bunas

The work is devoted to find compatible preparations on the basis of microorganisms that can ensure delivery of nutrients, growth stimulation and protection of plants from diseases that can contribute to obtaining a high yield and quality of crops.

The authors selected multifunctional complex biopreparations for pre-sowing seed treatment of barley and winter wheat, the dynamics of microbial-inoculants titre on the surface of seeds at the complex inoculation.

Key words: *multifunctional complexes, microorganisms, inoculants, viability, titre, inoculation.*