

АЗОТФІКСУВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІЗОЛЯТІВ РИЗОСФЕРИ РОСЛИН ЗАЛЕЖНО ВІД ЕКОТОПУ ВИДІЛЕННЯ

Я.В. Чабанюк

*кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник
завідувач відділу агроекології і біобезпеки*

О.М. Дмитрук

здобувач

А.А. Бунас

*кандидат біологічних наук
завідувач лабораторії молекулярної екології*

Інститут агроекології і природокористування НААН

Проведено дослідження з вивчення впливу різних доз азотного добрива на структуру та функціонування мікробіоценозу ризосфери рослин ріпаку. Виявлено, що 78 % бактеріальних ізолятів, виділених з рослин ризосфери ріпаку, можуть використовувати в своїх трофічних ланцюгах мінеральний, органічний азот або за відсутності зв'язаних форм цього елемента, фіксувати інертний молекулярний азот атмосфери з різною активністю. Установлено, що бактеріальні ізоляти А-29 та К-11, виділені з контрольного варіанта, володіли найвищим рівнем азотфіксації.

Ключові слова: *ріпак, ризосфера, нітрогеназна активність, азотфіксувальні мікроорганізми, амоніфікуючі бактерії, еколого-трофічні та таксономічні групи мікроорганізмів.*

Високородючі ґрунти України еволюційно сформувалися здебільшого під степовими фітоценозами, в яких найважливішу роль азотонакопичувачів виконують бактерії, які фіксують азот атмосфери в умовах вільного існування або в асоціативній взаємодії з рослинами [1, 2]. Основна частина мікроорганізмів ризосфери рослин представлена гетеротрофами, які використовують у своїх трофічних шляхах кореневі виділення рослин. Таким чином, взаємодія мікроорганізмів у ризосфері рослин ґрунтуються на фоні міжвидової конкуренції за трофічні ресурси [3]. В умовах конкурентних взаємовідносин у ґрунті домінуюча роль належить популяціям, що володіють високим рівнем адаптивності до чинників середовища існування.

Щоб вивчити особливості функціонування трофічних взаємодій в угрупованні мікроорганізмів основних еколого-трофічних та таксономічних груп ризосфери рослин ріпаку залежно від доз внесеного азоту й мінеральних добрив, проведено скринінг та дослідження азотфіксувальних властивостей діазототрофних ізолятів, виділених із ризосферного ґрунту досліджуваних агроценозів.

Ґрунтові зразки ризосфери рослин ріпаку відбирали впродовж вегетації в тимчасовому польовому досліді Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН: у II декаді травня (фаза цвітіння); II декаді червня (фаза дозрівання врожаю); II декаді липня (після збору врожаю). Культура — рі-

пак озимий сорту Чорний велетень. Облікова площа ділянок — 25 м². Розміщення варіантів дослідів — систематичне послідовне. Повторність — чотирикратна.

Схема дослідів: 1) контроль (без внесення добрив); 2) N₁₂₀P₈₀K₁₄₀; 3) N₁₅₀P₈₀K₁₄₀; 4) N₁₈₀P₈₀K₁₄₀.

Використовували мінеральні добрива: аміачну селітру, суперфосфат простий та калій хлористий. На дослідній ділянці перед посівом ріпаку озимого створювали фон фосфорних та калійних добрив у концентрації 80 та 140 кг/га відповідно. Підживлення рослин ріпаку азотними добривами в усіх дослідних варіантах здійснювали навесні наступного року в три етапи залежно від варіанта дослідів.

Виділяли домінуючі ізоляти мікроорганізмів, визначали їхні морфологічні, культуральні, фізіолого-біохімічні властивості за загальноприйнятими в мікробіології методами [4]. Домінантними вважалися мікроорганізми, які в чашці Петрі становили понад 10%.

Азотфіксувальну активність домінуючих ізолятів визначали методом Харді в модифікації Умарова [4].

Рослини ріпаку для формування оптимальної вегетативної маси, високого та якісного урожаю потребують внесення великої кількості мінеральних добрив, особливо азотних. За таких умов найбільший інтерес при дослідженні мікроорганізмів-домінантів основних еколого-трофічних та таксономічних груп ризосфери

рослин ріпаку викликають амоніфікуючі бактерії та бактерії, які здатні асимілювати мінеральні форми азоту. В лабораторних умовах виділено 82 бактеріальні ізоляти, з яких 40 ізолятів віднесено до амоніфікаторів та 42 ізоляти — до групи бактерій, що використовують мінеральні форми азоту.

Спираючись на принцип дублювання функцій мікроорганізмів [5] у мікробіоценозі, намагалися встановити діапазон трофності виділених домінантних ізолятів амоніфікаторів і бактерій, які асимілюють мінеральний азот мають здатність рости на середовищах зі зміненним джерелом азоту (органічний ↔ мінеральний, тобто МПА ↔ КАА) або, за відсутності цього елемента, фіксувати його з атмосфери (седовище Ешбі, розведене в 100 разів).

Проаналізувавши отримані дані, виявили, що 78% з виділених бактеріальних ізолятів проявили широкоспецифічні властивості (рис. 1), тобто бактерії володіють здатністю використовувати в своїх трофічних ланцюгах мінеральний, органічний азот або, за відсутності цього елемента, фіксувати його з різною активністю. Оскільки переважна частка мікроорганізмів є широко специфічними, то саме вони повніше відображають властивості мікробіоценозу [3, 5]. Перспективність ізолятів діазотрофів оцінюють за конкурентоспроможністю до ніш існування, здатністю колонізувати корені рослин, невідомістю до умов існування, швидкістю росту і використанням поживних речовин, продукції біологічно активних речовин тощо [6].

Тому визначення азотфіксувальних властивостей на бактеріальних ізолятах, виділених з ризосфери рослин ріпаку, проводили на тих ізолятах, які володіли широким діапазоном трофності й за всіма ознаками були діазотрофами.

Виявлено, що всі 10 ізолятів, виділені з ризосфери рослин ріпаку контрольного варіанта володіють здатністю синтезувати фермент нітрогеназу. Рівень відновлювання ацетилену коливався в межах 2,22–18 нМ С₂Н₂/мл/год.

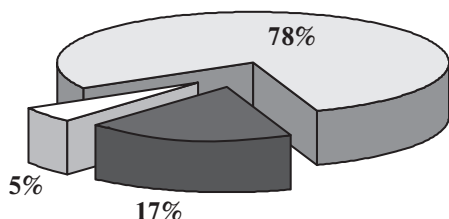


Рис. 1. Частка широкоспецифічних бактеріальних ізолятів серед виділених домінантних ізолятів ризосфери ріпаку, %:

- широкоспецифічні, ■ середньоспецифічні, □ вужькоспецифічні

Найвищий рівень нітрогеназної активності виявлено в ізоляту А-29, найнижчий — в ізоляту А-27.

Дослідження нітрогеназної активності ізолятів, виділених із кореневої зони рослин ріпаку екотопів, де вносили азот у кількості 120 і 150 кг/га, показує, що рівень активності азотфіксувального ферменту більшості ізолятів, а саме 11, коливався в межах 6–8 нМ С₂Н₂/мл/год. Винятком стали ізоляти К-17 та А-2 з рівнем активності нітрогенази 15,0 та 11 нМ С₂Н₂/мл/год відповідно.

Бактеріальні ізоляти, виділені з ґрунту ризосфери рослин ріпаку де вносили 180 кг/га азоту, проявили нітрогеназну активність у межах 5–6 нМ С₂Н₂/мл/год, що вказує на вибірковість середовища існування.

ВИСНОВКИ

Результати дослідження нітрогеназної активності, діазотрофних ізолятів, виділених із ризосфери рослин ріпаку, свідчать, що рівень синтезу азотфіксувального ферменту залежить від концентрації азоту в середовищі, і зі збільшенням його вмісту в ґрунтового розчині активність знижується, тобто поліфункціональна мікробіота блокує процес азотфіксації і споживає доступний елемент. У контрольному варіанті різноманіття діазотрофів і діапазон їх азотфіксувальної властивості набагато більший порівняно з іншими екотопами дослідження.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Біологічний азот: монографія / [В. П. Патица, С. Я. Коць, В.В. Волкогон, О. В. Шерстобоева, Т.М. Мельничук, та ін.]; за ред. В.П. Патики. — К.: Світ, 2003. — 424 с.
2. Кожемяков А.П. Эффективность препаратов корневых диазотрофов при бактериализации ярового рапса / А.П. Кожемяков., А.А. Белимов // Агробиология. — 1994. — № 7–8. — С. 62–67.
3. Белимов А.А. Взаимодействие ассоциативных бактерий и растений в зависимости от биотических и абиотических факторов: Автореф. дис. д-ра биол. наук: спец. 03.00.07 «Микробиология» / А.А. Белимов. — СПб, 2008. — 46 с.
4. Экспериментальная ґрунтова мікробіологія: монографія / [В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Л.М. Токмакова, Т.М. Мельничук, Л.О. Чайковська та ін.]; за ред. В. В. Волкогона. — К.: Аграрна наука 2010. — 464 с.
5. Белимов А.А. Приживаемость и эффективность корневых диазотрофов при инокуляции ячменя в зависимости от температуры и влажности почвы / А.А. Белимов, С.М. Поставская, А.П. Кожемяков и др. // Микробиология. — 1994. — Т. 63. — С. 900–908.
6. Smil V. Biofixation and nitrogen in biosphere and in global food production // Nitrogen Fixation: Global Perspectives (eds. T. Finan, M. O'Brian, D. Layzell, K. Vessey, W. Newton). — 2000. — P. 7–11.