

**ВПЛИВ ПРОТРУЙНИКІВ НАСІННЯ ЯЧМЕНЮ
НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ БАКТЕРІЙ *AZOSPIRILLUM
BRASILENSE* 410, БІОАГЕНТУ МІКРОБНОГО
ПРЕПАРАТУ МІКРОГУМІНУ**

Пищур І.М.

Інститут сільськогосподарської мікробіології НААН України,
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027
e-mail: fosfor@ok.net.ua

*Встановлено, що бактерії *Azospirillum brasilense* 410 природно резистентні до фунгіцидів Дерозал і Фундазол та не проявляють резистентності до дії фунгіциду Вітавакс 200. Показано можливість сумісного застосування мікробного препарату Мікрогуміну, біоагентом якого є *A. brasilense* 410, та фунгіцидів Дерозал і Фундазол у технологіях вирощування ячменю.*

*Ключові слова: *Azospirillum brasilense*, Мікрогумін, фунгіциди, резистентність, ячмінь, Дерозал, Фундазол, Вітавакс 200.*

Сучасні технології вирощування сільськогосподарських культур повинні передбачати застосування агроприймів, які сприяють оптимізації живлення рослин і при цьому є екологічно доцільними і економічно вигідними. Використання біопрепаратів на основі ефективних мікроорганізмів є невід'ємним аспектом сучасного землеробства [1].

В Інституті сільськогосподарської мікробіології розроблено мікробний препарат Мікрогумін [2] для обробки насіння ячменю ярого і гречки з метою покращення азотного живлення рослин та підвищення їх продуктивності. Біоагентом препарату є азотфіксувальні бактерії *Azospirillum brasilense* 410. Крім штаму асоціативних азотфіксувальних мікроорганізмів, до складу біопрепарату входять компоненти фізіологічно активних речовин вермикомпосту. Мікрогумін забезпечує збільшення польової схожості і енергії проростання насіння, сприяє формуванню розвиненої кореневої системи і активного рослинно-бактеріального симбіозу, інтенсифікує процес фотосинтезу у рослин. Фізіологічно активні речовини препарату активізують формування генеративних органів, що суттєво впливає на насінневу продуктивність культур. Ефективність Мікрогуміну підтверджена в польових та виробничих дослідах [3-7].

Оскільки в технологіях вирощування ячменю ярого насіння обробляють захисно-стимулювальними речовинами (протруйниками), то виникає необхідність перевірки можливості їх сумісного застосування з Мікрогуміном. Раніше нами було встановлено, що Раксил не впливає на ріст та розвиток клітин *A. brasilense* 410. Діюча речовина Раксилу тебуконазол є високоактивним інгібітором синтезу ергостерола, який є незамінним компонентом клітинних мембран фітопатогенних грибів. У прокаріотних клітинах бактерій цей стероїд не міститься, що, на нашу думку, й зумовлює їх природну резистентність до дії фунгіциду [8]. Тому метою наших досліджень було вивчення впливу протруйників насіння ячменю: Вітавакс 200, Дерозал, Фундазол на життєздатність *A. brasilense* 410.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були: бактерії *A. brasilense* 410 та Мікрогумін, приготовлений на їх основі згідно вимог ТУ У 24.1-00497360-007: 2009 [2].

У дослідженнях використовували фунгіциди: Вітавакс 200 (виробник фірма “Кромптон (“Юніроял Кемікл”) Регістрейшнс Лімітед», Англія), діючою речовиною якого є карбоксин (клас оксатіінів) та тирам (клас диметилдитіокарбаматів); Дерозал (виробник фірма “Байер КропСаєнс”, Німеччина) діючою речовиною якого є карбендазим (клас бензімідазолів); Фундазол (виробник фірма “Агро Кемі КФТ”, Угорщина), діючою речовиною якого є беноміл (клас бензімідазолів).

Для досліджень фунгіциди стерилізували за використання діетилового ефіру. Для цього відповідну наважку або об'єм фунгіциду поміщали в стерильні пеніцилінові флакони об'ємом 15 мл, вносили 5 мл діетилового ефіру, перемішували та закривали ватно-марлевими пробками і переносили до неробочого приміщення до повного випаровування ефіру.

Якісну реакцію *A. brasilense* 410 на дію фунгіцидів визначали методом паперових дисків [9]. Для цього готували суспензію простерилізованого фунгіциду і стерильної води у таких співвідношеннях: вода : Вітавакс 200 – 10:3; вода : Дерозал – 20:3; вода : Фундазол – 10:3. В отриманих суспензіях змочували стерильний диск фільтрувального паперу діаметром 6 мм і поміщали на агаризоване поживне середовище BMS [10] у чашках Петрі, які попередньо засівали суспензією клітин *A. brasilense* 410.

Визначали життєздатність клітин *A. brasilense* 410 у суміші,

яка складалася з бактеріальної суспензії з титром 4 млрд/мл та фунгіциду (бактеріальна суспензія : Вітавакс 200 – 10:3; бактеріальна суспензія : Дерозал – 20:3; бактеріальна суспензія : Фундазол – 10:3). Життєздатність клітин *A. brasilense* 410 контролювали через добу, для чого в суміші змочували стерильний диск фільтрувального паперу і поміщали на агаризоване поживне середовище BMS.

Титр клітин бактерій у суспензіях визначали за використання камери Горяєва [11].

Бактеризацію насіння ячменю ярого сорту Варіант Р-І проводили з розрахунку 3×10^5 клітин *A. brasilense* 410 на насінину.

Витяжку біогумусу готували екстрагуванням водою вермикомпосту, який виробляють згідно з ТУ [12] (вермикомпост : вода – 1:16).

Робочу суміш для обробки насіння ячменю витяжкою біогумусу готували з розрахунку 30 мл витяжки на гектарну норму насіння ячменю (250 кг) та водогінної води з розрахунку 2,0 % від маси насіння.

Для визначення дії Мікрогуміну на енергію проростання насіння ячменю під впливом протруйників обробку насіння проводили згідно інструкцій по застосуванню мікробного препарату та протруйників. Енергію проростання насіння ячменю визначали згідно з ДСТУ 4138 [13].

Нітрогеназну активність азоспірил визначали ацетиленовим методом у напіврідкому середовищі Доберейнер [10].

Результати та їх обговорення. Результати досліджень свідчать, що фунгіцид Фундазол не впливає негативно на розвиток *A. brasilense* 410. Навколо диску з протруйником не утворювалося зони затримки росту бактерій (рис. 1). Фунгіцид Вітавакс 200 проявляв негативну дію на розвиток бактерій: навколо диску спостерігали зону затримки росту *A. brasilense* 410 шириною 3-4 мм. Вивчення впливу менших концентрацій фунгіцидів на ріст та розвиток бактерій не проводили, оскільки в поживному середовищі діючі речовини фунгіцидів дифундують, створюючи градієнт від максимальної концентрації до 0, і вплив менших концентрацій можемо спостерігати на деякій відстані від паперового диску з протруйником.

Життєздатність клітин *A. brasilense* 410 під впливом фунгіцидів Вітавакс 200, Фундазол та Дерозал визначали також у суспензії, яка складалася з одного із протруйників та водної суспензії

клітин *A. brasilense* 410 у співвідношеннях згідно інструкції (протруйника) та СОУ 01.11 – 37 – 782 : 2008, у якому викладено технологічний процес нанесення мікробних препаратів на насіння ячменю [14]. Життєздатність контролювали через добу, для чого в суспензії з протруйником (Фундазол або Вітавакс 200) змочували диск фільтрувального паперу і поміщали на тверде картопляне поживне середовище. Встановлено, що клітини *A. brasilense* 410 можуть зберігати життєздатність у суспензії з фунгіцидом Фундазолом, який не обмежує ріст та розвиток бактерій на агаризованому поживному середовищі (рис. 2). У суспензії з Вітаваксом 200 клітини *A. brasilense* 410 життєздатність не зберігають, про що свідчить відсутність росту навколо паперового диску.



A. brasilense 410 (контроль) *A. brasilense* 410 + Вітавакс 200 *A. brasilense* 410 + Фундазол

Рис. 1. Вплив фунгіцидів на ріст *A. brasilense* 410 на поживному середовищі BMS.



A. brasilense 410 (контроль) *A. brasilense* 410 + Вітавакс 200 *A. brasilense* 410 + Фундазол

Рис. 2. Розвиток *A. brasilense* 410 навколо дисків фільтрувального паперу

До складу фунгіциду Вітаваксу 200 входять дві діючі речовини – карбоксин та тирам. Ці речовини містяться також у

таких протруйниках, як Вітавакс 200ФФ, Стиракс, Віта-класик, Вікінг, Віспар, Віват. Виходячи з цього, можна вважати, що вказані фунгіциди будуть негативно впливати на клітини бактерій *A. brasilense* 410.

Оскільки Дерозал не вдалося простерилізувати діетиловим ефіром, то життєздатність клітин *A. brasilense* 410 визначали посівом суспензії на агаризоване середовище. На рисунку 3 показано збереження життєздатності клітин *A. brasilense* 410 у суспензії з фунгіцидом Дерозал. Крім того, клітини бактерій можуть розвиватися в присутності цього фунгіциду.



A. brasilense 410 (контроль)



A. brasilense 410 + Дерозал

Рис. 3. Життєздатність клітин *A. brasilense* 410 у суспензії з фунгіцидом Дерозал

Важливою умовою ефективності сумісного застосування мікробних препаратів та протруйників насіння сільськогосподарських культур є не лише збереження життєздатності біоагентів мікробних препаратів, але і їх функціональної активності, зокрема, активності азотфіксації. У зв'язку з цим проводили дослідження нітрогеназної активності *A. brasilense* 410 під впливом фунгіцидів Фундазол та Дерозал за різної їх концентрації. Встановлено, що із збільшенням концентрації діючих речовин фунгіцидів у напіврідкому поживному середовищі Доберейнер нітрогеназна активність зменшується (рис. 4) з 17,5 до 7,3 нмоль C_2H_4 /мл/год (карбендазим – діюча речовина Дерозалу) та з 17,5 до 10,6 нмоль C_2H_4 /мл/год (беноміл – діюча речовина Фундазолу).

Однією з умов, при якій бактерії будуть фіксувати азот, є наявність джерела живлення (корневих ексудатів), що можливо в основному в ризосфері рослин. Навколо протруєної насінини в ґрунті створюється градієнт концентрації діючої речовини протруйника від максимально можливої до 0. Розмір зони впливу

протруйника залежить від багатьох факторів, але в будь-якому випадку вона буде незначна в порівнянні з об'ємом ризосфери рослини, що в цілому не вплине на процес азотфіксації у ризосфері рослин.

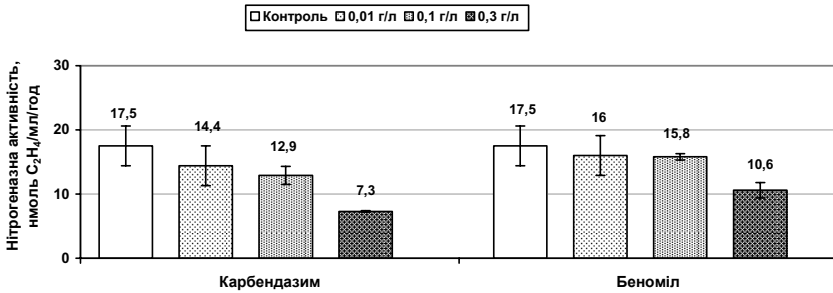


Рис. 4. Вплив різних концентрацій фунгіцидів на активність азотфіксації *A. brasilense* 410 (карбендазим – діюча речовина Дерозалу; беноміл – діюча речовина Фундазолу)

Іншою, крім азотфіксації, важливою властивістю біоагентів мікробних препаратів є продукування фітогормонів. Для перевірки впливу фунгіцидів на активність продукції фізіологічно активних речовин у *A. brasilense* 410 проводили дослід з визначення впливу протруйників Вітавакс 200, Фундазол, Дерозал та компонентів Мікрогуміну на енергію проростання насіння ячменю сорту Варіант Р-І. Встановлено, що достовірного зменшення активності продукування фітогормонів у *A. brasilense* 410 не відбувалося (рис. 5). Слід відмітити, що бактерицидна дія Вітаваксу 200 на клітини бактерій *A. brasilense* 410 не позначилась у цілому на енергію проростання насіння ячменю під впливом Мікрогуміну та Вітаваксу 200. Очевидно, що вирішальну роль при цьому зіграли фітогормони, які містилися у витяжці біогумусу, що входить до складу Мікрогуміну.

Раніше нами було встановлено, що тебуконазол – діюча речовина фунгіциду Раксил не впливала негативно на життєздатність та функціональну активність клітин бактерій *A. brasilense* 410 [8]. Слід також звернути увагу на те, що фунгіциди Вега, Діксил, Кольчуга, Раксил Ультра FS, Раназол, Тебузан, Хелмсіл, Гізмо 60, Моріон, Оріус, Тебу 60 МЕ з діючою речовиною тебуконазол можна також рекомендувати для сумісного застосування з Мікрогуміном у технологіях вирощування ячменю.

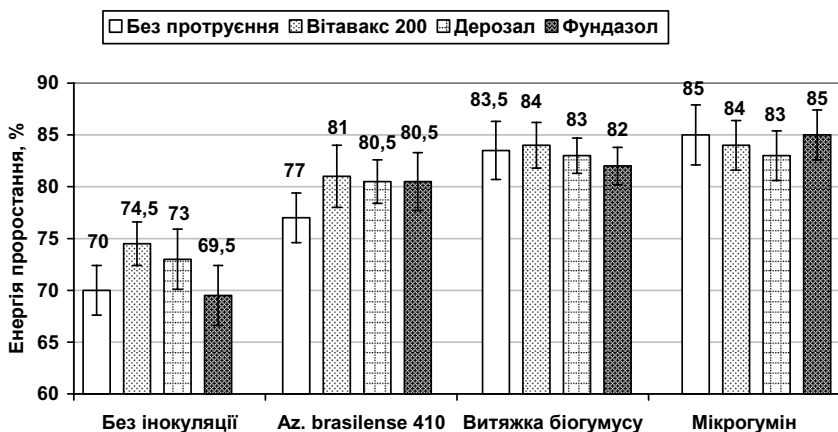


Рис. 5. Вплив фунгіцидів та компонентів Мікрогуміну на енергію проростання насіння ячменю

Фунгіциди діють на гриби безпосередньо, втручаючись у певні біохімічні реакції, що відбуваються в клітинах мікроміцетів, або блокуючи певні ферменти, що управляють цими реакціями. Так, діючі речовини Дерозалу та Фундазолу уповільнюють процеси поділу клітин грибів. Діюча речовина фунгіциду Вітавакс 200 – карбоксин блокує ферментний комплекс мітохондрій клітин фітопатогенних мікроміцетів, а тирам порушує розвиток вегетативних і генеративних органів грибів-збудників хвороб рослин, які знаходяться на поверхні насіння. Оскільки за будовою та фізіологією гриби значно відрізняються від бактерій, то дуже часто фунгіциди або не знаходять свою “мішень” у клітинах бактерій, або вона недоступна через значно товщі клітинні оболонки бактерій.

Таким чином, *A. brasilense 410* природно резистентна до фунгіцидів Дерозал і Фундазол та не проявляє резистентність до дії фунгіциду Вітавакс 200. Встановлена можливість сумісного застосування мікробного препарату Мікрогуміну, біоагентом якого є *A. brasilense 410*, та фунгіцидів Дерозал і Фундазол у технологіях вирощування ячменю.

1. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика: Монографія /[В.В. Волгогон, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська та ін.]; За ред. В.В. Волгогона. – К.: Аграрна наука, 2006. – 312 с.

2. ТУ У 24.1-00497360-007: 2009. МІКРОГУМІН – біологічне добриво.

3. Застосування біологічного препарату мікрогуміну в технологіях вирощування ярого ячменю /В.В. Волкогон, В.П. Сальник, К.І. Волкогон, Н.В. Луценко, Н.П. Штанько //Зб. наук. праць Ін-ту землеробства УААН. – 2004. – С. 111-119.

4. Волкогон К.І. Особливості біологічної трансформації азоту і фосфору в ризосфері ярого ячменю при застосуванні мікрогуміну /К.І. Волкогон, Н.В. Луценко //С.-г. мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб. – Чернігів: ЦНТЕІ, 2005. – Вип. 3. – С. 66-80.

5. Волкогон К.І. Оптимізація азотного удобрення ячменю ярого за використання біологічного препарату мікрогуміну /Волкогон К.І. //Агроекол. журн. – 2008. – № 1. – С. 55-59.

6. Технологічні особливості створення нового біологічного препарату мікрогуміну /В.В. Волкогон, О.М. Бердніков, К.І. Волкогон, Н.П. Штанько //С.-г. мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб. – Чернігів: ЦНТЕІ, 2008. – Вип. 7. – С. 57-68.

7. Рекомендації з ефективного застосування мікробних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур /[С.І. Мельник, В.А. Жилкін, М.М. Гаврилюк та ін.]. – К., 2007. – 53 с.

8. Пищур І.М. Ефективність Мікрогуміну за сумісної обробки насіння ярого ячменю з Раксиллом /Пищур І.М., Волкогон К.І., Косенко Л.В. //С.-г. мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб. – Чернігів: ЦНТЕІ, 2007. – Вип. 6. – С. 77-83.

9. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии /Й. Сэги /пер. с венгр. под ред. Г. Муромцева. – М.: Колос, 1983. – 296 с.

10. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія /[В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Л.М. Токмакова та ін.]; за наук. ред. В.В. Волкогодона. – К. : Аграрна наука, 2010. – 464 с.

11. Руководство к практическим занятиям по микробиологии /Под ред. Н.С. Егорова. – М. : МГУ, 1983. – С. 133-134.

12. ТУ 64-4688624-02-91. Вермикомпост.

13. Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості: ДСТУ 4138-2002. – [Чинний від 2004-01-01.]. – К.: Держспоживстандарт України, 2004. – 178 с.

14. Насіння зернових та зернобобових культур. Технологічний процес нанесення мікробних препаратів. Загальні вимоги: СОУ 01.11-37-782:2008. – [Чинний від 2009-07-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2009. – 18 с.

**ВЛИЯНИЕ ПРОТРАВИТЕЛЕЙ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ НА
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM
BRASILENSE* 410, БИОАГЕНТА МИКРОБНОГО
ПРЕПАРАТА МИКРОГУМИНА**

Пищур И.Н

Институт сельскохозяйственной микробиологии НААН Украины,
г. Чернигов

*Установлено, что бактерии *Azospirillum brasilense* 410 естественно резистентны к фунгицидам Дерозал и Фундазол и не проявляют резистентности к действию фунгицида Витавакс 200. Установлена возможность совместного применения микробного препарата Микрогумина, биоагентом которого является *A. brasilense* 410, и фунгицидов Дерозал и Фундазол в технологиях выращивания ячменя.*

Ключевые слова: *Azospirillum brasilense*, Микрогумин, фунгициды, резистентность, ячмень, Дерозал, Фундазол, Витавакс 200.

**INFLUENCE OF BARLEY SEEDS PROTECTANTS
ON THE VIABILITY OF BACTERIA *AZOSPIRILLUM
BRASILENSE* 410, BIOAGENT OF MICROBIAL
PREPARATION MICROHUMIN**

Pyshchur I.M.

Institute of Agriculture Microbiology, NAAS of Ukraine, Chernihiv

*It was established that bacteria *Azospirillum brasilense* 410 possess natural resistance to the fungicides Derozal and Fundazol but do not have resistance to the fungicide Vitavax 200. The possibility of joint application of a microbial preparation Microhumin (bioagent – *A. brasilense* 410) and fungicides Derozal and Fundazol in technologies of cultivation of barley plants was established.*

Key words: *Azospirillum brasilense*, Microhumin, fungicides, resistance, barley, Derozal, Fundazol, Vitavax 200.