

УДК 576.8:631.468

## ПРОДУКЦІЙНИЙ ПРОЦЕС ЯЧМЕНЮ ЯРОГО ЗА ІНОКУЛЯЦІЄЮ МІКРОГУМІНОМ З ОПТИМІЗОВАНИМ ВМІСТОМ ФІТОГОРМОНІВ

С. Б. Дімова

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН  
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14027, Україна; e-mail: dimova13@yandex.ua

У вегетаційному досліді на дерново-підзолистому пілуватому-супіщаному ґрунті досліджено вплив мікробного препарату Мікрогуміну з оптимізованим вмістом фітогормонів на розвиток рослин ячменю ярого на початкових етапах органогенезу. Показано, що при інокуляції насіння мікробним препаратом фітогормони є додатковим чинником позитивного впливу на рослини.

Ключові слова: фітогормони,  $\beta$ -індоліл-3-оцтова кислота, цитокініни, бактеризація насіння.

Успіх передпосівної інокуляції насіння біопрепаратами, біоагентами яких є мікроорганізми, що здатні формувати з рослинами асоціації, залежить від стартових умов взаємодії інтродукованих бактерій з корінням ювенільних рослин. На цей процес може впливати низка чинників. Сьогодні накопичено достатньо експериментальних даних, які свідчать, що ростові речовини — фітогормони (насамперед ауксини та цитокініни), займають особливе місце у регуляції взаємовідносин асоціативних азотфіксаторів і злакових рослин [1; 2].

У зв'язку з цим очевидна необхідність оптимізації вмісту цих речовин у мікробних препаратах, що дозволить отримувати біодобрива з високою та стабільною ефективністю. Передпосівна інокуляція насіння біопрепаратами з оптимальною кількістю фізіологічно активних речовин дасть можливість активізувати формування ефективних асоціацій мікроорганізмів з рослинами.

У попередніх дослідженнях нами шляхом біотестування встановлено оптимальні параметри вмісту фітогормонів для підсилення рістстимулювальної активності окремих мікробних препаратів (в тому числі Мікрогуміну). Метою даної роботи була перевірка ефективності біопрепарату Мікрогумі-

ну з оптимізованим вмістом фізіологічно активних речовин.

**Матеріали й методи.** У вегетаційному досліді вивчали ефективність передпосівної інокуляції насіння ячменю ярого сорту Гося суспензією асоціативних азотфіксувальних бактерій *Azospirillum brasilense* 410 (біоагент Мікрогуміну) та цією ж суспензією в поєднанні з розчином фітогормонів (модель мікробного препарату Мікрогуміну з оптимізованим вмістом фітогормонів). Вміст індолілоцтової кислоти (ІОК) та цитокінінів (зеатину та зеатинрибозиду) в досліджуваних препаратах визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу [3; 4].

Фоновий вміст фітогормонів у бактеріальній суспензії складав 0,75 мкг/см<sup>3</sup> ІОК та 0,22 мкг/см<sup>3</sup> цитокінінів. Оптимізований щодо фітогормонального навантаження препарат містив 2,63 мкг/см<sup>3</sup> ІОК та 0,56 мкг/см<sup>3</sup> цитокінінів.

Дослід проводили у вегетаційному ґрунті в посудинах ємністю 1 дм<sup>3</sup> на дерново-підзолистому пілуватому-супіщаному ґрунті (рН<sub>сол.</sub> 7,2; гумус — 1,02 %; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> — 330 мг/кг; K<sub>2</sub>O — 148 мг/кг). У ґрунт перед посівом вносили суміш Прянішнікова з половиною дози азоту, зважаючи на інокуляцію асоціативними азотфіксувальними бак-

теріями *A. brasilense* 410, здатними поліпшувати азотне живлення рослин ячменю.

Надземну масу рослин визначали ваговим методом після висушування до постійних показників. Масу коренів встановлювали шляхом відмивання їх з монолітів з подальшим висушуванням до постійної маси, вміст хлорофілу в листках — спектрофотометрично [5], вміст білка — за методом Лоурі [6]. Потенційну активність азотфіксації визначали в ризосферному ґрунті з додаванням розчину глюкози [7; 8], а на відмитих коренях ячменю ярого — у напіврідкому живильному середовищі Доберейнер [9]. При цьому редукцію ацетилену визначали на хроматографі «Chrom-4» з полум'яно-іонізаційним детектором на колонці з Porapak Q. Потенційну активність денітрифікації в ризосферному ґрунті та відмитих коренях досліджували ацетиленовим методом при додаванні розчину глюкози та нітрату калію [10]. Редукцію закису азоту визначали на хроматографі «Цвет-60 М» з детектором теплопровідності на колонці з сорбентом Porapak Q. Статистичну обробку одержаних результатів проводили за Доспеховим [11].

**Результати та їх обговорення.** Проведені дослідження свідчать, що сумісне застосування суспензії *A. brasilense* 410 та розчину фітогормонів має стимулюючий вплив на процес азотфіксації, що підтверджено результатами, отриманими при визначенні показників потенційної азотфіксувальної ак-

тивності в ризосферному ґрунті та на коренях рослин (рис. 1 і 2). Встановлено, що оптимальне фітогормональне забезпечення препарату на рівні  $2,63 \text{ мкг/см}^3$  ІОК та  $0,56 \text{ мкг/см}^3$  цитокинінів сприяє активізації процесів асоціативної азотфіксації, що пояснюється опосередкованим впливом фітогормонів на розвиток асоціативних діазототрофів — через збільшення в кореневій зоні рослин корневих виділень, адже інтенсивне надходження в ризосферу продуктів метаболізму рослин створює високу енергетичну забезпеченість цієї зони.

При визначенні накопичення надземної та кореневої маси дослідних рослин (рис. 3, табл. 1) встановлено, що застосування оптимізованого за вмістом фітогормонів препарату суттєво стимулює ріст рослин ячменю як у порівнянні з контролем, так і з варіантом передпосівної обробки насіння бактеріальною суспензією (без додаткової кількості фітогормонів). Додаткове фітогормональне забезпечення бактеріальної суспензії на рівні  $2,63 \text{ мкг/см}^3$  ІОК та  $0,56 \text{ мкг/см}^3$  цитокинінів забезпечувало найбільшу стимуляцію процесів росту і розвитку рослин ячменю.

При визначенні активності денітрифікації на коренях та у ризосферному ґрунті рослин ячменю встановлено, що як застосування бактеріальної суспензії *A. brasilense* 410, так і поєднання суспензії азоспірил з оптимальною кількістю фітогормонів сприяє зниженню газоподібних втрат азоту (табл. 2 і 3),

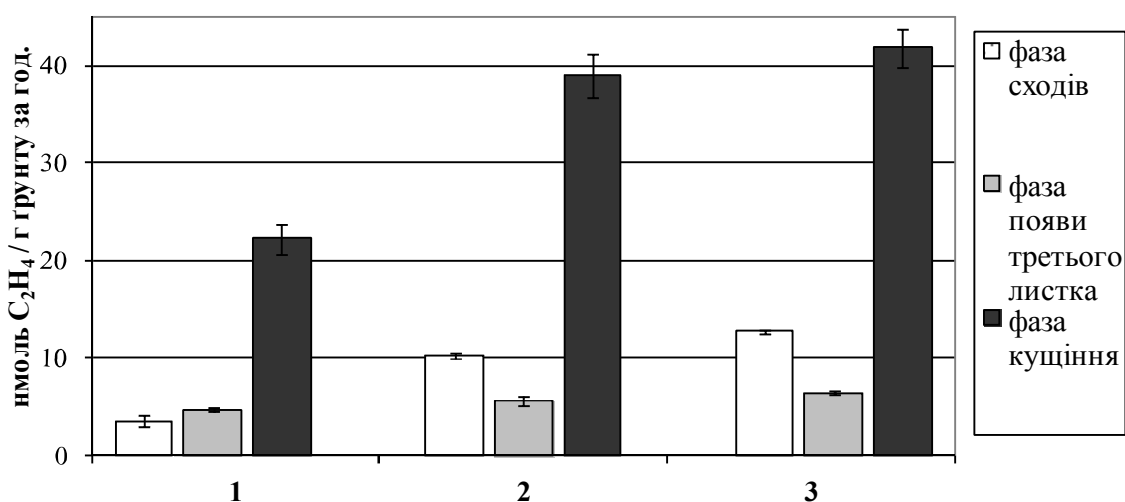


Рис. 1. Вплив передпосівної інокуляції на потенційну активність азотфіксації ризосферного ґрунту рослин ячменю ярого.

Примітка: 1 — без інокуляції, контроль; 2 — препарат на основі *A. brasilense* 410; 3 — препарат на основі *A. brasilense* 410 та фітогормонів.

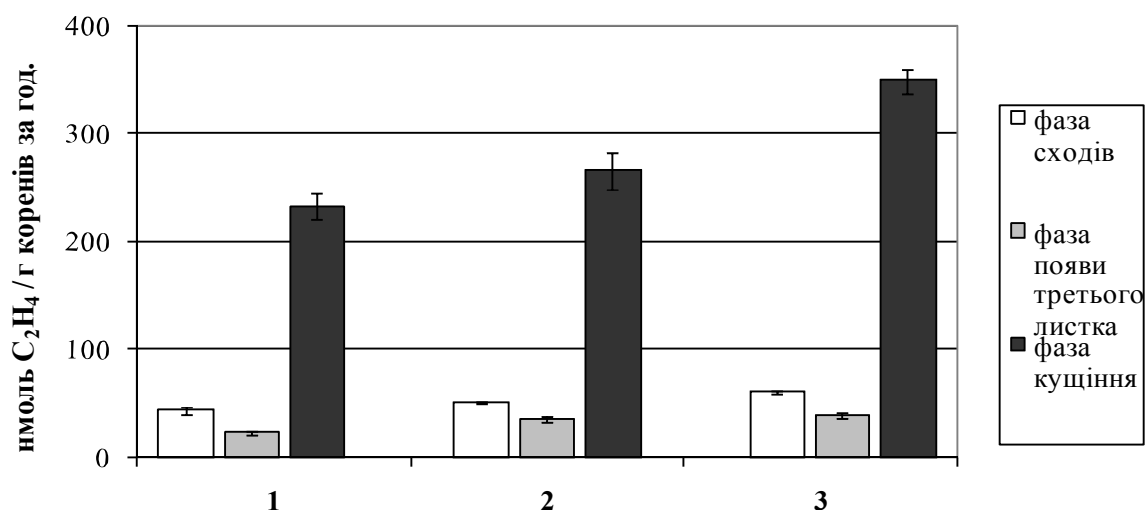


Рис. 2. Вплив передпосівної інокуляції на потенційну активність азотфіксації на коренях ячменю ярого.

Примітка: 1 — без інокуляції, контроль; 2 — препарат на основі *A. brasilense* 410; 3 — препарат на основі *A. brasilense* 410 та фітогормонів.

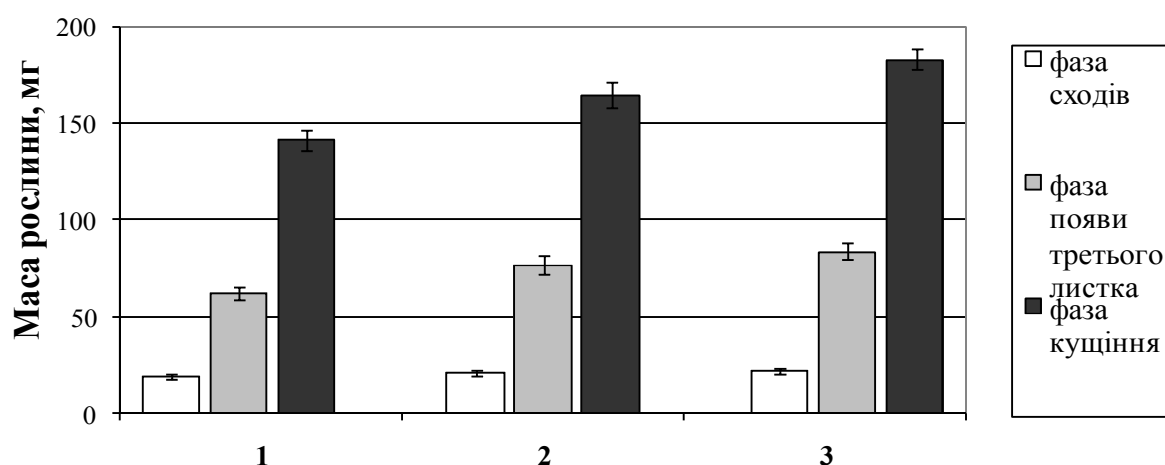


Рис. 3. Вплив передпосівної інокуляції на формування надземної маси рослин ячменю ярого.

Примітка: 1 — без інокуляції, контроль; 2 — препарат на основі *A. brasilense* 410; 3 — препарат на основі *A. brasilense* 410 та фітогормонів.

Таблиця 1. Вплив передпосівної інокуляції на формування маси коренів ячменю ярого

Варіанти досліду	Маса сухих коренів, мг/рослину		
	фаза сходів	фаза появи третього листка	фаза куціння
Без інокуляції, контроль	11,1±0,5	38,1±1,3	77,3±4,1
Препарат на основі <i>A. brasilense</i> 410	13,4±0,6	43,5±2,1	84,1±2,9
Препарат на основі <i>A. brasilense</i> 410 та фітогормонів	14,3±0,7	48,2±2,0	92,4±3,6

**Таблиця 2. Вплив передпосівної інокуляції насіння на потенційну активність денітрифікації на коренях ячменю ярого**

Варіанти дослідів	Активність денітрифікації, нмоль N <sub>2</sub> O/г коренів за годину		
	фаза сходів	фаза появи третього листка	фаза кущіння
Без інокуляції, контроль	262,4±10,7	353,6±23,6	1136,3±40,8
Препарат на основі <i>A. brasilense</i> 410	247,3±13,2	321,7±17,2	1058,3±72,1
Препарат на основі <i>A. brasilense</i> 410 та фітогормонів	236,7±9,6	313,3±7,3	878,5±60,1

**Таблиця 3. Вплив передпосівної інокуляції насіння на потенційну активність денітрифікації ризосферного ґрунту ячменю ярого**

Варіанти дослідів	Активність денітрифікації, нмоль N <sub>2</sub> O/г ґрунту за годину		
	фаза сходів	фаза появи третього листка	фаза кущіння
Без інокуляції, контроль	22,9±1,1	37,3±3,7	25,7±3,1
Препарат на основі <i>A. brasilense</i> 410	20,9±0,6	30,4±1,8	21,1±2,6
Препарат на основі <i>A. brasilense</i> 410 та фітогормонів	20,8±0,3	29,8±2,7	18,7±2,5

причому поєднане застосування бактеріальної суспензії та фітогормонів забезпечувало найбільше зниження емісії закису азоту. Це, вірогідно, можна пояснити інтенсивнішим розвитком інокульованих рослин і, відповідно, швидшим збідненням ґрунту на мінеральні форми азоту.

Результати досліджень процесів азотфіксації і денітрифікації в ризосфері ячменю ярого опосередковано свідчать про те, що внесений мінеральний азот при застосуванні оптимізованого за фітогормональним навантаженням біопрепарату спрямовується на конструктивні потреби рослин (на розвиток рослин та формування урожаю). Таким чином, застосування бактеризації з дослідженою кількістю фітогормонів оптимізує процеси біологічної трансформації азоту в ґрунті.

Стимуляція асоціативної азотфіксації та процесів росту і розвитку рослин ячменю

ярого за дії додаткової кількості фітогормонів позитивно позначалася на фізіологічному стані досліджуваних рослин. Підтвердженням цього є результати визначення вмісту хлорофілів *a* і *b* у листках як свідчення потенційної інтенсифікації процесу фотосинтезу (табл. 4). У варіантах з бактеризацією відмічали вірогідний приріст вмісту як хлорофілу *a*, так і загального вмісту хлорофілів. Водночас, найвищі показники вмісту фотосинтетичних пігментів відмічено у варіанті із сумісним застосуванням бактеріальної суспензії та фітогормонів, що пов'язано, на наш погляд, з активізацією процесів асоціативної азотфіксації у цьому варіанті, а також з безпосереднім позитивним впливом фітогормонів, що входять до складу інокулянту, на ріст і розвиток рослин.

Зазначені особливості перебігу процесів біологічної трансформації сполук азоту в корневих сферах рослин ячменю ярого, а та-

Таблиця 4. Вплив передпосівної інокуляції на вміст хлорофілів *a* і *b* у листках рослин ячменю ярого

Варіанти досліду	Вміст хлорофілів, мг/100 г листкової маси		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a + b</i>
Без інокуляції, контроль	91,8±2,2	61,9±2,0	153,7±3,8
Препарат на основі <i>A. brasilense</i> 410	103,1±1,4	63,5±0,5	166,6±2,6
Препарат на основі <i>A. brasilense</i> 410 та фітогормонів	110,5±1,3	68,7±5,0	179,2±4,4

кож зміни у формуванні фотосинтетичного апарату позначалися не лише на динаміці наростання надземної та кореневої маси, але й впливали на вміст білка в листках ячменю. Підвищений його вміст спостерігали у варіантах з бактеризацією (рис. 4). Водночас, найінтенсивніше накопичення білків у листках дослідних рослин відмічено за сумісного впливу бактеріальної суспензії *A. brasilense* 410 та оптимальної кількості фітогормонів. Виявлені особливості можуть бути обумовлені двома причинами. По-перше, впливом фітогормональних речовин, які в комплексі з відповідними рецепторами транспортуються до ядра рослинної клітини й активують синтез РНК, що, у свою чергу, сприяє інтенсифікації синтезу білків [12], по-друге,

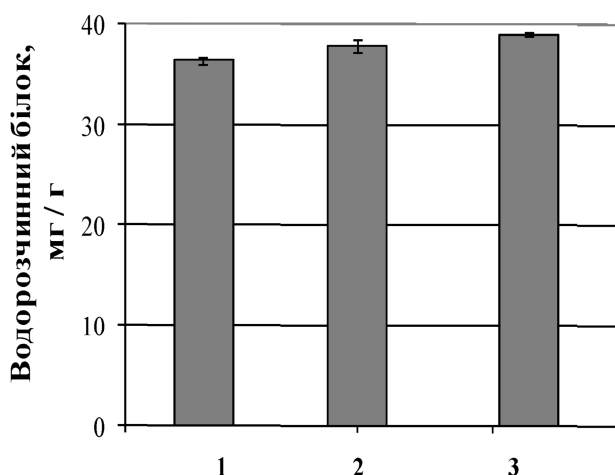


Рис. 4. Вплив передпосівної інокуляції на вміст водорозчинного білка в листках ячменю ярого.

Примітка: 1 — без інокуляції, контроль; 2 — препарат на основі *A. brasilense* 410; 3 — препарат на основі *A. brasilense* 410 та фітогормонів.

збільшенням надходження азоту (як елементу, необхідного для синтезу білків) у рослини внаслідок підвищення активності процесу азотфіксації в ризосфері та інтенсивнішого залучення мінерального азоту до конструктивних потреб рослин.

Таким чином, встановлено, що поєднання передпосівної інокуляції з оптимальною кількістю фітогормонів позитивно позначається на розвитку рослин ячменю ярого на початкових етапах органогенезу. При цьому фітогормони є додатковим чинником позитивного впливу на рослини. Використання мікробного препарату з оптимізованим вмістом фітогормонів (2,63 мкг/см<sup>3</sup> ІОК та 0,56 мкг/см<sup>3</sup> цитокінінів) впливає на біологічну активність у ризосфері рослин ячменю, а саме — позитивно позначається на перебігу процесів біологічної трансформації азоту в кореневій зоні. Це може забезпечити додаткове азотне живлення, сприяє розвитку кореневої системи, надземної частини, формуванню фотосинтетичного апарату рослин та синтезу білка.

Запропоновано спосіб виготовлення мікробного препарату, згідно з яким до мікробної складової препарату додають необхідні фітогормони у кількостях, які попередньо встановлюють шляхом біотестування.

1. Волкогон В. В. Влияние стимуляторов роста растений на активность процесса ассоциативной азотфиксации / В. В. Волкогон // Микробиол. журн. — 1997. — Т. 59, № 4. — С. 70–78.

2. Влияние фитогормонов и их синтетических аналогов на активность ассоциативной азотфиксации / [В. В. Волкогон, П. Г. Дульнев, Е. П. Ковтун и др.] // Микробиология. — 1996. — Т. 65, № 6. — С. 850–854.

3. Имуноферментне визначення вмісту індолилцетової кислоти в культуральній рідині мікроорганізмів / [Дімова С. Б., Волкогон В. В., Дмитрук О. О. та ін.] // Сільськогосподарська мікробіологія : міжвід. темат. наук. зб. — Чернігів : ЦНТЕІ, 2009. — Вип. 9. — С. 179–187.

4. Имуноферментная тест-система для определения цитокининов / [Г. Р. Кудоярова, С. Ю. Веселов, Н. Н. Каравайко и др.] // Физиология растений. — 1990. — Т. 37, Вып. 1. — С. 193–199.

5. Гродзинский А. М. Краткий справочник по физиологии растений / А. М. Гродзинский, Д. М. Гродзинский. — К. : Наукова думка, 1973. — 592 с.

6. Методы биохимического исследования растений / под ред. А. И. Ермакова – Л. : Колос, 1972. — 456 с.

7. Експериментальна ґрунтова мікробіологія / [В. В. Волкогон, О. В. Надкернична, Л. М. Токмакова та ін.]. — К. : Аграр. наука,

2010. — 464 с.

8. Умаров М. М. Ацетиленовый метод изучения азотфиксации в почвенно-микробиологических исследованиях / М. М. Умаров // Почвоведение. — 1971. — № 11. — С. 119–123.

9. Волкогон В. В. Методичні рекомендації по визначенню активності азотфіксації в ґрунті та кореневій зоні рослин ацетиленовим методом / В. В. Волкогон. — Чернігів : ЦНТЕІ, 1997. — 12 с.

10. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д. Г. Звягинцева. — М. : МГУ, 1980. — 244 с.

11. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М. : Колос, 1979. — 376 с.

12. Cytokinin stimulates and abscisic acid inhibits greening of etiolated *Lupinus luteus* cotyledons by affecting the expression of the light-sensitive photochlorophyllide oxidoreductase / Kusnetsov V. V., Herrmann R. G., Kulaeva O. N., Oelmuller R. // Mol. Gen. Genet. — 1998. — Vol. 259, № 1. — P. 21–28.

## **ПРОДУКЦИОННИЙ ПРОЦЕСС ЯЧМЕ- НЯ ЯРОВОГО ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ МИКРОГУМИНОМ С ОПТИМИЗИРОВА- ННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ФИТО- ГОРМОНОВ**

**С. Б. Димова**

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, г. Чернигов

*В вегетационном опыте на дерново-подзолистой пылевато-супещаной почве исследовано влияние микробного препарата Микрогумина с оптимизированным содержанием фитогормонов на развитие растений ячменя ярового на начальных этапах органогенеза. Показано, что при инокуляции семян микробным препаратом фитогормоны являются дополнительным фактором положительного влияния на растение.*

Ключевые слова: фитогормоны,  $\beta$ -индоллил-3-уксусная кислота, цитокинины, бактеризация семян.

## **THE PRODUCTION PROCESS OF SPRING BARLEY UNDER THE INOCULATION WITH MIKROHUMIN WITH OPTIMIZED PLANT HORMONES CONTENT**

**S. B. Dimova**

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv

*The paper presents the experimental results of spring barley inoculation with microbial preparation Mikrohumин with optimized phytohormones content on plant development during the early stages of plants organogenesis obtained in the greenhouse experiment on sod-podzolic silty-sandy soils. It was shown that under the seeds inoculation with the microbial preparation plant hormones are served as the additional factor of positive influence on the plants.*

Key words: plant hormones,  $\beta$ -indolyl-3-acetic acid, cytokinins, seeds bakteryzation.