

## **ОСОБЛИВОСТІ ПРОЦЕСУ НІТРИФІКАЦІЇ В КОРЕНЕВІЙ ЗОНІ РОСЛИН ЖИТА ОЗИМОГО ЗА ДІЇ МІНЕРАЛЬНОГО АЗОТУ ТА ПЕРЕДПОСІВНОЇ БАКТЕРИЗАЦІЇ**

**Чучвага І.Г., Волкогон В.В.**

Інститут сільськогосподарської мікробіології  
та агропромислового виробництва НААН,  
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна  
e-mail: chuchvaga\_i@i.ua

*Досліджено вплив мінерального азоту та передпосівної бактеризації насіння на активність автотрофної і гетеротрофної нітрифікації в ризосферному ґрунті рослин жита озимого. Зі збільшенням дози мінерального азоту активність нітрифікації підвищується. Застосування мікробного препарату Діазобактерину тривалий час сприяє підвищенню рівня процесу, в основному за рахунок зростання активності гетеротрофної нітрифікації.*

*Ключові слова: інокуляція, автотрофна нітрифікація, гетеротрофна нітрифікація, Діазобактерин, жито озиме.*

Оптимальний перебіг продукційного процесу сільськогосподарських культур часто лімітує рівень забезпечення рослин сполуками азоту, у зв'язку з чим аграрні технології передбачають застосування азотних добрив. Проте навіть за внесення мінерального азоту в ґрунті можуть сформуватися умови, коли засвоєння рослинами діючої речовини з добрив є невисоким, а забруднення довкілля інтенсивним. Так, при застосуванні аміачних добрив аміак стає доступним нітрифікувальним мікроорганізмам і піддається окисненню в ході процесу нітрифікації. Нітрати, що утворюються при цьому, використовуються рослинами, що є позитивним моментом процесу. В той же час, їх надлишок вимивається у водойми, а також є основою розвитку іншого процесу колообігу азоту – біологічної денітрифікації. Отже, азотні добрива повинні застосовуватись раціонально як з позицій господарського ефекту, так і з міркувань екологічного характеру. У зв'язку з цим

актуальним є дослідження особливостей процесів біологічної трансформації сполук азоту в ґрунті.

Слід відмітити, що серед найважливіших складових колообігу азоту в природі процес нітрифікації є найменш дослідженим, а особливості його перебігу в ґрунтах залежать від багатьох чинників, при цьому роль окремих із них практично невідома. Так, вважається, що в ґрунтах агроценозів переважає автотрофна нітрифікація над гетеротрофною, оскільки наявність аміаку і дефіцит органічної речовини забезпечує оптимізацію умов життєдіяльності саме автотрофних нітрифікаторів. За даними М. Умарова [1] в окультурених ґрунтах агроценозів на долю автотрофних нітрифікаторів припадає майже 84–99 % окиснення амонійного азоту. В той же час, основним вектором біохімічної активності в ґрунтах є рослини, які виділяють у прикореневі сфери велику кількість органічних сполук, у тому числі й таких, що містять азот. Теоретично, в зоні коріння рослин повинні створюватися умови для активного перебігу гетеротрофної нітрифікації.

У зв'язку з цим метою наших досліджень було з'ясування особливостей перебігу процесів автотрофної і гетеротрофної нітрифікації в кореневій зоні рослин жита озимого за різних рівнів азотного удобрення.

**Матеріали і методи.** Активність нітрифікації ризосферного ґрунту рослин жита озимого (*Secale cereale* L.) за використання різних агрофонів вивчали у польових дослідах. Передбачали, що додатковим чинником можливого впливу на перебіг досліджуваних процесів може бути штучна активізація діяльності гетеротрофних мікроорганізмів у кореневих сферах, у зв'язку з чим у частині варіантів проводили передпосівну бактеризацію насіння Діазобактерином (біологічний агент препарату – *Azospirillum brasilense* 18-2) [2].

Польові досліди проводили протягом 2010-2012 рр. на дерново-підзолистому пилувато-супіщаному ґрунті дослідного господарства Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН ( $pH_{\text{сол.}}$  – 7,2; вміст гумусу – 1,2 %; легкогідролізованого азоту за Корнфілдом – 54,9 мг/кг;  $P_2O_5$  – 330 мг/кг;  $K_2O$  – 148 мг/кг).

Схема дослідів включала наступні варіанти.

I. Без бактеризації:

1. без добрив (контроль);
2.  $N_{30}K_{20}$  ( $N_{10}$  восени +  $N_{20}$  ранньою весною);
3.  $N_{60}K_{40}$  ( $N_{30}$  восени +  $N_{30}$  ранньою весною);
4.  $N_{90}K_{60}$  ( $N_{30}$  восени +  $N_{30}$  ранньою весною +  $N_{30}$  у фазу виходу в трубку);
5.  $N_{120}K_{80}$  ( $N_{30}$  восени +  $N_{45}$  ранньою весною +  $N_{45}$  у фазу виходу в трубку).

II. Бактеризація Діазобактерином:

6–10 (такі ж варіанти удобрення).

Розрахунок норм добрив проводили, беручи до уваги вміст елементів живлення у ґрунті. Фосфорні добрива не вносили, зважаючи на високий вміст рухомих фосфатів у ґрунті. Найвищу в досліді дозу добрив обґрунтовували за виносом NPK із запланованим урожаєм на рівні 35 ц/га. Розмір облікових ділянок у польових дослідях становив 9 м<sup>2</sup>. Збирання та облік урожаю проводили прямим методом (зважування продукції з облікової ділянки). Сорт жита озимого – Синтетик-38.

Для вивчення процесу нітрифікації і оцінки вкладу автотрофних і гетеротрофних нітрифікувальних мікроорганізмів в утворення нітратів використовували методику компостування за Д. Звягінцевим [3, 4]. Готували середній зразок ризосферного ґрунту, просіювали через сито з діаметром отворів 2 мм, наважки по 10 г вносили у флакони об'ємом 40 мл і зволожували до 60–70 % від повної польової вологості. Зразки інкубували протягом 21 доби при 26–28 °С, вологість підтримували додаванням води після контрольного зважування флаконів. Активність автотрофної нітрифікації пригнічували інгібітором нітрифікації 4-аміно-1,2,4-триазолом (100 мкг/г ґрунту). З літературних джерел відомо, що аміотриазол (АТГ) у цій концентрації, що перевищує майже на 2 порядки його специфічну активність, не зменшує швидкість росту, накопичення біомаси і продукцію нітратів у гетеротрофних мікроорганізмів. Вміст нітратів визначали через 21 добу за допомогою іон-селективних електродів. Повторність у дослідях 3–кратна.

Планування і проведення польових дослідів, статистичну обробку експериментальних даних виконували за Доспеховим [5].

**Результати та обговорення.** Як свідчать отримані дані, інтенсивність нітрифікації при внесенні мінеральних азотних добрив у досліді зростає. Так, за внесення добрив у дозі  $N_{120}$  активність процесу у фазу виходу в трубку зростає на 38 %, цвітіння – на 54 %, молочної стиглості – на 93 % порівняно до контролю (без добрив).

Використання амінотриазолу для пригнічення діяльності автотрофних нітрифікаторів свідчить про суттєве зниження інтенсивності процесу нітрифікації при його додаванні. Отже інгібіторний підхід дозволяє надати диференційну оцінку участі авто- і гетеротрофних нітрифікаторів в окиснювальній ланці циклу азоту.

При дослідженні активності процесу у перший строк відбору зразків (через 36 днів після ранньовесняного внесення мінерального азоту) встановлено, що активність автотрофної нітрифікації в ризосферному ґрунті рослин жита озимого, вирощуваних на невисоких агрофонах, значно переважає відповідні показники гетеротрофної нітрифікації (табл. 1).

Проте зі збільшенням дози мінеральних добрив у ризосферному ґрунті рослин жита зростає не лише активність автотрофів, але й гетеротрофних нітрифікаторів, причому останніх – значно більшою мірою. Так, якщо частка нітратів від діяльності гетеротрофних нітрифікаторів складала 16 % від загальної масштабності процесу у контролі (без внесення в ґрунт азоту), то у варіанті з найбільшою в досліді дозою добрив цей показник сягав 40 %. Ми пояснюємо це можливістю збільшення за цих умов як розміру кореневих ексудатів, так і кількості в них азотовмісних органічних сполук. Певним підтвердженням цьому можуть бути дослідження А. Мергель з співавт. [6]. Проведені ними досліді свідчать про підсилення в 9,5 раза ексудації фотоасимілятів корінням при застосуванні мінерального азоту порівняно з об'ємом ексудатів у контрольних (неудобрених азотом) рослин. При цьому, залежно від кількості внесених добрив, у кореневих виділеннях відмічено варіювання вмісту азотних сполук [7].

*Таблиця 1. Активність нітрифікації у ризосферному ґрунті рослин жита озимого, 2012 р., фаза виходу в трубку (через 36 днів після ранньовесняного внесення мінерального азоту), мкг N-NO<sub>3</sub>/г ґрунту*

Варіанти дослідів	Ґрунт (сумарна активність процесів)	Ґрунт + інгібітор автотрофної нітрифікації
<i>без інокуляції</i>		
Без добрив (контроль)	40,87	6,60
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	43,47	7,13
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	49,20	7,60
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	49,40	19,80
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	56,93	22,87
<i>інокуляція Діазобактерином</i>		
Без добрив (контроль)	50,67	12,00
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	51,87	14,00
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	50,67	14,33
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	58,13	25,73
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	59,47	26,80
НІР <sub>05</sub> по досліді	11,15	4,17
для добрив	4,99	1,87
для інокуляції та взаємодії	6,44	2,41

За використання в технології вирощування жита мікробного препарату Діазобактерину масштабність нітрифікації зростає. Співставлення показників автотрофної і гетеротрофної нітрифікації свідчить, що відмічене зростання обумовлене активізацією гетеротрофних мікроорганізмів. Так, частка вкладу гетеротрофних нітрифікаторів до загальної масштабності процесу складала від 24 % у контролі до 45 % – у варіанті з високою дозою добрив (як вже було відмічено, відповідні показники в блоці варіантів без бактеризації складала 16 і 40 %). Оскільки кількість мінерального азоту (як і всі інші чинники) в ґрунті при цьому була такою ж як і у варіантах без інокуляції, можна пояснити зазначений ефект зростанням кількості кореневих ексудатів у бактеризованих рослин жита, які можуть бути додатковим джерелом органічної речовини, що містить крім вуглецю, також і сполуки азоту. Таке припущення

цілком прийнятне, якщо взяти до уваги численні літературні дані щодо впливу передпосівної інокуляції на активність процесу фотосинтезу у бактеризованих рослин.

У наступний строк досліджень – фазу цвітіння (62 дні після ранньовесняного внесення мінерального азоту і через 25 днів після підживлення рослин у відповідних варіантах) в цілому відмічаються вищеописані особливості утворення нітратів залежно від агрофону в результаті нітрифікації. Проте спостерігаються також і певні відмінності. Так, частка вкладу гетеротрофних нітрифікаторів у формування нітратного пулу в цей період зменшується. І хоча можна прослідкувати ефект від бактеризації – показники відрізняються більше ніж у два рази, – слід прийти висновку, що автотрофна нітрифікація навіть за цих умов домінує. При цьому її частка сягає 83–86 % (табл. 2).

*Таблиця 2. Активність нітрифікації у ризосферному ґрунті рослин жита озимого, 2012 р., фаза цвітіння (через 62 дні після ранньовесняного внесення мінерального азоту і через 25 днів після підживлення рослин), мкг N-NO<sub>3</sub>/г ґрунту*

Варіанти дослідів	Ґрунт (сумарна активність процесів)	Ґрунт + інгібітор автотрофної нітрифікації
<i>без інокуляції</i>		
Без добрив, контроль	36,00	3,68
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	40,00	3,69
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	43,13	3,40
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	46,00	3,72
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	55,53	4,65
<i>інокуляція Діазобактерином</i>		
Без добрив, контроль	50,33	8,60
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	55,60	8,87
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	64,33	9,20
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	64,80	9,40
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	67,33	10,00
НІР <sub>05</sub> по досліді	9,88	1,37
для добрив	4,42	0,61
для інокуляції та взаємодії	5,70	0,79

Зменшення активності гетеротрофної нітрифікації у фазу цвітіння в блоці варіантів із застосуванням Діазобактерину ми пов'язуємо з деякими закономірностями взаємодії інокулянту з рослиною. Так, відомо, що в початковій фазі органогенезу бактеризованих рослин інтродуковані бактеріальні штами активно колонізують кореневі сфери рослин, домінують серед мікроорганізмів, а з часом їх відносна кількість у мікробному угрупованні починає зменшуватися через спрямованість молодого екосистеми до стабілізації. Відтак, чисельність інтродукованої бактерії поступово знижується до рівня, який займає мікроорганізм у природному середовищі [8]. Закономірним при цьому є зменшення в часі впливу бактеризації як на продукційний процес сільськогосподарських культур, так і на ґрунтові біохімічні процеси в кореневій зоні рослин.

*Таблиця 3. Активність нітрифікації у ризосферному ґрунті рослин жита озимого, 2012 р., фаза молочної стиглості (91 день після ранньовесняного внесення мінерального азоту і 54 – після підживлення рослин), мкг N-NO<sub>3</sub>/г ґрунту*

Варіанти дослідів	Ґрунт (сумарна активність процесів)	Ґрунт + інгібітор автотрофної нітрифікації
<i>без інокуляції</i>		
Без добрив, контроль	13,00	2,63
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	12,93	2,67
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	13,53	3,52
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	16,73	4,73
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	25,13	7,53
<i>інокуляція Діазобактерином</i>		
Без добрив, контроль	11,47	3,80
N <sub>30</sub> K <sub>20</sub>	13,07	2,74
N <sub>60</sub> K <sub>40</sub>	13,20	2,89
N <sub>90</sub> K <sub>60</sub>	13,80	4,19
N <sub>120</sub> K <sub>80</sub>	13,33	4,32
НІР <sub>05</sub> по досліді	3,01	1,33
для добрив	1,35	0,60
для інокуляції та взаємодії	1,74	0,77

Наприкінці вегетаційного періоду активність нітрифікації затухає, що може бути пов'язано з вичерпанням амонію (субстрату для автотрофів) і органічних сполук азоту (субстрату для гетеротрофних нітрифікаторів) у ризосферному ґрунті рослин жита озимого (табл. 3). Цікавим при цьому є те, що в блоці варіантів досліду з бактеризацією активність нітрифікації (як автотрофної, так і гетеротрофної) є нижчою за відповідні показники варіантів без інокуляції. Вочевидь, це пояснюється тим, що: по-перше, ініційовані бактеризацією рослини активніше засвоюють поживні речовини [9, 10], що сприяє їх швидшому вичерпання з ґрунту; по-друге, бактеризовані рослини жита, як свідчать багаторічні спостереження, швидше проходять фази органогенезу і раніше дозрівають. Відповідно, біохімічна активність в кореневій зоні таких рослин також буде зниженою.

Відмічені особливості перебігу процесів нітрифікації є схожими у всі роки проведення досліджень.

Отже, активність нітрифікації в кореневій зоні рослин жита озимого зростає при збільшенні дози мінерального азоту. Автотрофна нітрифікація суттєво переважає активність гетеротрофного процесу. При цьому її відносний вклад у формування пулу нітратів у ризосферному ґрунті рослин збільшується по мірі вегетації рослин. Застосування Діазобактерину сприяє інтенсифікації діяльності гетеротрофних нітрифікаторів, особливо на початкових етапах вегетації рослин.

1. Умаров М.М. Микробиологическая трансформация азота в почве /М.М. Умаров, А.В. Кураков, А.Л. Степанов. – М.: ГЕОС, 2007. – 138 с.

2. Пат. 40549 Україна, МКИ А01С1/00 С05F11/08. Спосіб передпосівної обробки насіння озимого жита /О.В. Надкернична, В.І. Лохова (Україна). – заявл. 02.01.1990 ; опубл. 16.07.2001, бюл. № 6.

3. Методы почвенной микробиологии и биохимии: учебное пособие /[И.В. Асеева, И.П. Бабьева, Б.А. Бызов и др.]; под. ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд. МГУ, 1991. – 304 с.

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

5. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта /Б.А. Доспехов. – М.:



Агропромиздат, 1985. – 352 с.

6. Мергель А.А. Роль корневых выделений в трансформации азота и углерода в почве /А.А. Мергель, А.В. Тимченко, В.Н. Кудяров [и др.] //Почвоведение. – 1996. – № 10. – С. 1234-1239.

7. Мергель А.А. Участие азота корневых выделений в трансформации азота в почве и в процессе образования экстра-азота /А.А. Мергель, А.В. Тимченко, В.А. Машко [и др.] //Агрохимия. – 1992. – № 9. – С. 3–12.

8. Волкогон В.В. Эффективность бактеризации злаковых трав азоспириллами /В.В. Волкогон //С.-х. биология. – 1997. – № 5. – С. 73–78.

9. Lin W. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense* /Lin W., Okon Y., Hardy R.W.R.F. //Appl. Environ. Microbiol. – 1983. – Vol. 45, N 6. – P. 1775–1779.

10. Волкогон В.В. Мікробні препарати як фактор підвищення засвоюваності рослинами мінеральних добрив /В.В. Волкогон //С.-г. мікробіол. – 2006. – № 4. – С. 21–30.

## **ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА НИТРИФИКАЦИИ В КОРНЕВОЙ ЗОНЕ РАСТЕНИЙ РЖИ ОЗИМОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА И ПРЕДПОСЕВНОЙ БАКТЕРИЗАЦИИ**

**Чучвага И.Г., Волкогон В.В.**

Институт сельскохозяйственной микробиологии и агропромышленного производства НААН, г. Чернигов

*Исследовано влияние минерального азота и предпосевной бактеризации семян на активность автотрофной и гетеротрофной нитрификации в ризосферной почве растений ржи озимой. С увеличением дозы минерального азота активность нитрификации усиливается. Применение микробного препарата Диазобактерина продолжительное время способствует увеличению уровня процесса, в основном за счет возрастания активности гетеротрофной нитрификации.*

Ключевые слова: автотрофная нитрификация, гетеротрофная нитрификация, инокуляция, Диазобактерин, рожь озимая.

# NITRIFICATION IN THE ROOT ZONE OF WINTER RYE UNDER THE INFLUENCE OF MINERAL NITROGEN AND PRESOWING SEED BACTERIZATION

**Chuchvaga I.G., Volkogon V.V.**

Institute of Agricultural Microbiology and Agroidustrial Manufacture,  
NAAS, Chernihiv

*The paper studies the influence of mineral nitrogen and presowing seeds bakterization on the activity of autotrophic and heterotrophic nitrification in rhizosphere soil of winter rye plants. Increasing doses of mineral nitrogen enhance nitrification activity. Application of microbial preparation Diazobakteryn has a prolonged influence and improves nitrification process, mainly due to the increase of heterotrophic nitrification activity.*

*Keywords: inoculation, autotrophic nitrification, heterotrophic nitrification, Diazobakteryn, winter rye.*