

УДК 631.461

ЕПІФІТНА МІКРОФЛОРА РОСЛИН РИСУ (*ORYZA SATIVA* L.) ЯК ДЖЕРЕЛО ШТАМІВ З АГРОНОМІЧНО КОРИСНИМИ ДЛЯ РОСЛИН ВЛАСТИВОСТЯМИ

А. І. Якубовська

Інститут сільського господарства Криму НААН,
відділ мікробіології
вул. К. Маркса, 107; с. м. т. Гвардійське,
Сімферопольський р-н, 97513, Україна
e-mail: midyza_kiss@mail.ru

Проведено виділення асоціативних мікроорганізмів з коренів рису. Досліджено морфологічні і фізіолого-біохімічні властивості ізолятів та реакцію рослин на інокуляцію. Показано наявність у ізолятів агрономічно корисних властивостей: рістстимуляції, азотфіксації, фосфатмобілізації. Відмічено їх позитивний вплив на розвиток рослин рису.

Ключові слова: *епіфітна мікрофлора, асоціативні мікроорганізми, рослини рису.*

Формування родючості ґрунту відбувається за впливу складного комплексу природних та антропогенних факторів, серед яких найважливішим є життєдіяльність ґрунтових мікроорганізмів [1–4]. Мікроорганізми забезпечують біологічний колообіг речовин у природі, беруть участь у перетворенні мінеральних і органічних сполук, синтезують біологічно активні речовини, можуть обумовлювати зміни в фізико-хімічних властивостях ґрунту, стимулюють або інгібують ріст рослин. Склад і чисельність мікробних угруповань у ґрунтах агроценозів значною мірою обумовлюють біологічну буферність ґрунтів проти дії несприятливих технологічних чинників.

Значні проблеми, пов'язані зі станом ґрунту, виникають при вирощуванні такої культури як рис. Так, для отримання високих урожаїв рису застосовують інтенсивні технології (високорожайні сорти, мінеральні і органічні добрива, хімічні засоби захисту рослин від хвороб, шкідників і сегетальних рослин). Інколи культуру вирощують 2–3 роки поспіль, а іноді у монокультурі, що призводить до необхідності підвищення доз мінеральних добрив [7]. При цьому зрошення рису в Україні здійснюють у режимі скороченого затоплення (шар води відсутній на початку і в кінці вегетації), отже, складаються оптимальні умови для накопичення патогенів і виникає необхідність збільшення застосування пестицидів, що веде до забруднення довкілля. Дослідниками різних країн встановлено, що в умовах тривалого затоплення у ґрунтах рисових полів зменшується вміст гумусу, відбувається заболочування і засолення ґрунтів, яке також призводить до зниження їх родючості, негативно впливає на гідролітичний режим територій і прилеглих морських заток [8; 9].

Одним із можливих шляхів оптимізації технологій вирощування рису є застосування мікробних препаратів, що дозволяє підвищити кількість корисних форм мікроорганізмів, які можуть конкурувати з аборигенною мікробіотою і домінувати в ризосфері рослин [5; 6]. При цьому, на наш погляд, перспективним напрямом досліджень, пов'язаним із селекцією активних агрономічно цінних штамів мікроорганізмів, може бути виділення ізолятів із мікробних угруповань епіфітної мікробіоти. Представники епіфітів можуть виявитися значно адаптованішими до виду рослин і ефективнішими за їх використання як основи біологічних препаратів.

Метою наших досліджень було виділення активних штамів епіфітних бактерій, здатних колонізувати корені рису і формувати ефективні асоціації з рослинами.

Об'єкти і методи досліджень. Об'єктами досліджень були корені рису; лучно-каштановий ґрунт, відібраний з чеків, у яких рис вирощували в монокультурі впродовж 10 років; мікроорганізми, отримані з повітряних коренів.

Виділення асоціативних мікроорганізмів проводили за вдосконаленою методикою, запропонованою М. К. Шерстобоевим, Т. М. Мельничук, Л. І. Мельник [11]. Корені, вільні від ґрунту і заселені асоціативними мікроорганізмами, отримували в умовах умовно-стерильного вегетаційного досліду. Після появи таких коренів їх виймали, робили змиви, і після серії розведень висівали поверхнево в чашки Петрі на агаризоване капустиане середовище № 19 [12]. Чашки інкубували в термостаті при 28 °С, підрахунок колонієутворюючих одиниць (КУО) проводили на 3 та 5 добу. Рясність морфотипів і частоту їх трапляння розраховували за методикою визначення якісного складу ризосферних мікроорганізмів [13]. Для вивчення агрономічно корисних властивостей виділені бактерії висівали на безазотне середовище Виноградського (здатність до азотфіксації), а для з'ясування здатності розчиняти важкорозчинні фосфати — на середовище Муромцева. Фітотоксичність бактерій вивчали за методом «біопробі на насінні рослин» (тест-культура — пшениця) [14]. Наявність у культуральній рідині фітотоксинів визначали за ростовими ефектами. Враховували відсоток пророслого насіння і вимірювали довжину проростків (зародкових пагона і корінця) рослин.

Для вивчення впливу ізолятів на рослини рису у вегетаційному досліді моделювали умови затоплення і осушення ґрунту, максимально наближені до польових умов. Визначали довжину коренів і пагонів, їх повітряно-суху масу). Планування дослідів і статистичну обробку отриманих результатів проводили за Б. А. Доспеховим [15].

Результати та їх обговорення. Серед тринадцяти виділених морфотипів бактерій в епіфітному мікробоценозі повітряних коренів рису домінуючими виявилися п'ять, кількість представників яких складала не менше 10 % від загального числа врахованих бактерій (табл. 1).

З тринадцяти морфотипів представники семи (53,5 %) здатні до азотфіксації, проте інтенсивний ріст відмічено лише у двох із них. На середовищі Муромцева відмічено різної

Таблиця 1. Рясність морфотипів мікроорганізмів повітряних коренів рису

№№ ізолятів	Зовнішній вигляд колоній на середовищі № 19	Частота трап- ляння, %	Рясність, %
1	Округлої форми, діаметром 2–3 мм, поверхня гладка, краї рівні, середина більш темна і навколо шорсткий ободок сіро-синього кольору, блискучі, плоскі	10	2,6
2	Округлої форми, діаметром 5–7 мм, поверхня гладка, опуклі, блискучі, краї рівні, брудно-білого кольору або прозорі	100	34,4
3	Округлої форми, діаметром 2–4 мм, поверхня гладка, краї рівні, блискучі, плоскі, помаранчевого кольору	80	10,6
4	Округлої форми, діаметром 1–1,5 мм, краї рівні, поверхня гладка, опуклі, блискучі, білого кольору	50	16,6
5	Округлої форми, діаметром 5 мм, поверхня гладка, краї рівні, опуклі, з білими обідками	50	3,6
6	Округлої форми. Діаметром 1–5 мм, поверхня гладка, краї рівні, плоскі, матові, білі	50	3, 6
7	Ризоїдної форми, діаметром 7–8 мм, поверхня гладка, плоскі, блискучі, з чіткою круглою серединкою	10	1,0
8	Округлої форми, діаметром 2 мм, поверхня гладка, краї рівні, блискучі, опуклі, з увігнутою серединою, білого кольору	10	0,8
9	Ризоїдної форми, діаметром 3 мм, матові, плоскі, кремового кольору	10	1,4
10	Неправильної форми, діаметром 8–10 мм, плоскі, матові, шорстка поверхня, помаранчевого кольору	30	13,4
11	Округлої форми, діаметром до 5 мм, поверхня гладка, краї рівні, опуклі, блискучі, блідо-рожеві	10	0,6
12	Округлої форми, поверхня гладка, краї рівні, плоска, блискуча, яскраво-червона	10	0,2
13	Округлої форми, опуклі, блискучі, білого кольору з рожевим валиком по краю, діаметром 2–3 мм, краї рівні	10	10,3

інтенсивності ріст у 92,3 % ізолятів. Серед досліджених ізолятів сім мали здатність як до азотфіксації, так і до фосфат-мобілізації.

Як відомо, численні ризобактерії здатні продукувати фізіологічно активні речовини, і можуть стимулювати або пригнічувати ріст та розвиток рослин. Встановлено, що досліджувані ізоляти підвищують схожість насіння тест-культури пшениці на 7,7–30,8 % відносно контролю (табл. 2).

Таблиця 2. Вплив бактеріальних ізолятів на проростання насіння пшениці

Варіанти досліджу	Проросло насінин, шт.*	Схожість насіння, %	Приріст до контролю, %
Контроль	13	65	–
Ізоляти			
ARR 1	16	80	23,1
ARR 2	16	80	23,1
ARR 3	15	75	15,4
ARR 5	17	85	30,8
ARR 6	15	75	15,4
ARR 7	17	85	30,8
ARR 9	17	85	30,8
ARR 10	15	75	15,4
ARR 11	16	80	23,1
ARR 13	14	70	7,7
НІР ₀₅	2,8	–	–

Примітка: * — використано 20 насінин.

Вісім ізолятів здатні до стимуляції росту коренів, з них чотири сприяли стимуляції росту проростків пшениці. Три ізоляти стимулювали розвиток як кореня (приріст довжини 31,5 %, 20,8 % і 32,6 % до контролю), так і проростків пшениці (6,4 %, 4,4 % і 6,4% відповідно) (рис. 1).

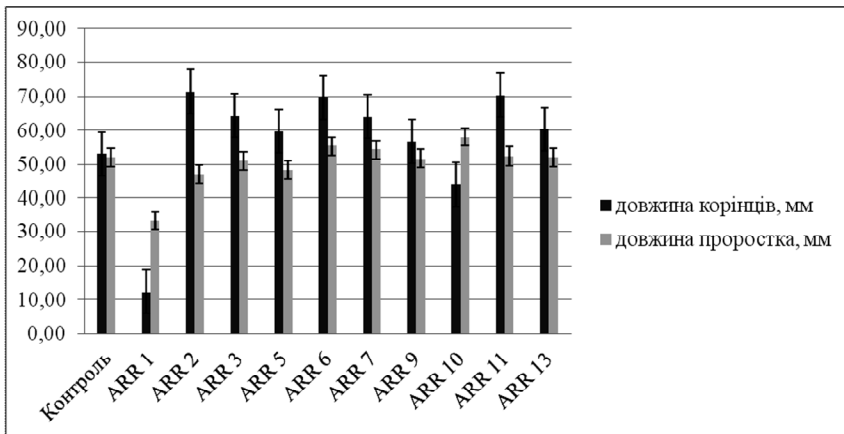


Рис. 1. Вплив ізолятів на довжину корінців і проростків насіння пшениці

У вегетаційному досліді досліджено вплив ізолятів на розвиток рослин рису. Відмічено незначне збільшення довжини проростків у варіанті з інокуляцією насіння ізолятом ARR 7 — на 1,5 %, довжини коренів і повітряно-сухої маси — за бактеризації насіння ізолятом ARR 3 — на 30,3 % і 5,4 % відповідно у порівнянні з контролем.

За результатами первинної оцінки відібрано три ізоляти (ARR 3, ARR 6, ARR 7) для вивчення їх ефективності у польових умовах. Ізолят ARR 7 одержано з колоній із помаранчевим пігментом, неправильної форми, діаметром 8–10 мм, плоских, матових, з шорсткою поверхнею, частота трапляння яких становила 13,4 % (рис. 2, поз. 1). Рясність представників іншого морфотипу, який формував колонії округлої форми, діаметром 1–5 мм, поверхня гладка, краї рівні, плоскі, матові, білі — склала 50 %, з яких відібрано ізолят ARR 3 (рис. 2, поз. 2). При пересіві на капустияний агар відмічено високу швидкість росту цих морфотипів.

Отже, первинна оцінка штамів показала, що вони здатні до підвищення схожості насіння, але кожен із них різною мірою (від 7,7 % до 30,8 % відносно контролю). Вісім ізолятів здатні до стимуляції росту коренів насіння пшениці, а чоти-

ри — сприяють стимуляції росту проростків пшениці. Ізоляти ARR 6, ARR 7, ARR 10 здатні до стимуляції росту коренів і проростків одночасно.

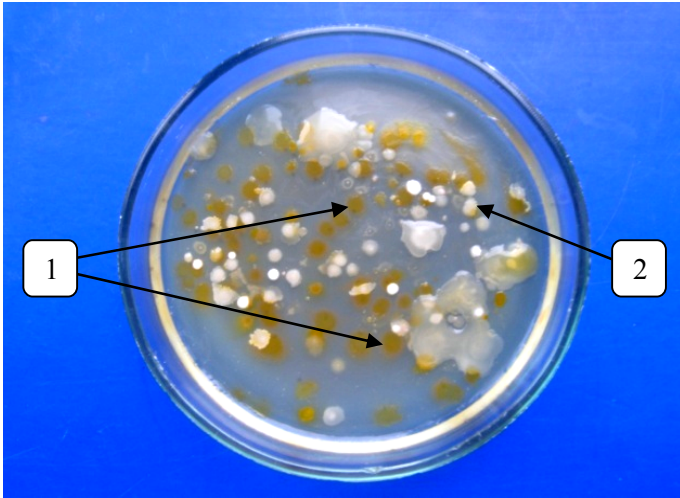


Рис 2. Морфотипи епіфітної мікробіоти повітряних коренів рису: 1 — ARR 7; 2 — ARR 3.

З виділених ізолятів відібрано три з найбільш вираженими агрономічно корисними властивостями: рістстимуляцією, азотфіксацією, фосфатмобілізацію для подальших досліджень.

1. Андреюк Е. И. Основы экологии почвенных микроорганизмов / Е. И. Андреюк, Е. В. Валагурова. — К. : Наук. думка, 1992. — 223 с.

2. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження / [К. І. Андреюк, Г. О. Іутинська, А. Ф. Антипчук та ін.]. — К. : Обереги, 2001. — 240 с.

3. Звягинцев Д. Г. Биология почв / Д. Г. Звягинцев, И. П. Бабьева, Г. М. Зенова. — М. : Изд-во МГУ, 2005. — 445 с.

4. Іутинська Г. О. Ґрунтова мікробіологія : навчальний посібник / Г. О. Іутинська. — К. : Арістей, 2006. — 284 с.

5. Okon Y. Agronomic applications of *Azospirillum*: an evaluation of 20 years worldwide field inoculation experiments / Y. Okon, C. Labandera-Gonzalez // Soil. biol. biochem. — 1994. — Vol. 26. — P. 1591–1601.

6. Mahaffee W. F. Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere and endorhiza associated with field grown-cucumber (*Cucumis sativus* L.) / W. F. Mahaffee, J. F. Kloepper // Microbial ecology. — 1996. — Vol. 34. — P. 210–223.

7. Красильников Н. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения / Н. А. Красильников. — М. : АН СССР, 1958. — 463 с.

8. Агроэкологическая обстановка и перспективы развития рисосеяния на юге Украины / [А. В. Кольцов, А. А. Титков, М. Е. Сычевский и др.]. — Симферополь : Краснопереконская межрайонная типография, 1994. — 225 с.

9. Джулай А. П. Культура риса на Кубани / А. П. Джулай, Е. П. Алешин, Е. Б. Величко. — Краснодар : Книжное узд-во, 1980. — 209 с.

10. Препаративні форми азотфіксуючих бактерій для підвищення продуктивності основних сільськогосподарських культур / О. В. Шерстобоева, М. К. Шерстобоев, І. О. Дудінова, В. П. Пати́ка // Землеробство. — К. : Урожай, 1996. — Вип. 71. — С. 60–65.

11. Шерстобоев М. К. Методичні аспекти вивчення асоціативності бактерій з рослинами пшениці та ячменю / Шерстобоев М. К., Мельничук Т. М., Мельник Л. І. // С.-г. мікробіологія : міжвід. тем. наук. зб. — Чернігів : ЦНТЕІ, 2005. — Вип. 3. — С. 34–41.

12. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / Й. Сэги ; пер. с венг. И. Ф. Куренного ; под ред. и с предисл. Г. С. Муромцева. — М. : Колос, 1983. — 296 с.

13. Некоторые новые методы количественного учета почвенных микроорганизмов и изучения их свойств : методические рекомендации / науч. ред. Ю. М. Возняковская. — Л., 1987. — 53 с.

14. Берестецкий О. А. Методы определения токсичности почв / О. А. Берестецкий // Микробиологические и биохимические исследования почв. — К. : Урожай, 1971. — С. 239–243.

15. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М. : Агропромиздат, 1985. — 351 с.

**ЭПИФИТНАЯ МИКРОФЛОРА РИСА
(*ORYZA SATIVA* L.) КАК ИСТОЧНИК ШТАММОВ
С АГРОНОМИЧЕСКИ ПОЛЕЗНЫМИ ДЛЯ
РАСТЕНИЙ СВОЙСТВАМИ**

А. И. Якубовская

Институт сельского хозяйства Крыма НААН,
п. г. т. Гвардейское

Проведено выделение ассоциативных микроорганизмов из корней риса. Исследованы морфологические и физиолого-биохимические свойства изолятов и реакция растений на инокуляцию. Показано наличие у изолятов агрономически полезных свойств: ростстимуляции, азотфиксации, фосфатмобилизации. Отмечено их положительное влияние на развитие растений риса.

Ключевые слова: эпифитная микрофлора, ассоциативные микроорганизмы, растения риса.

**EPIPHYTIC MICROFLORA OF RICE
(*ORYZA SATIVA* L.) AS A SOURCE OF STRAINS
WITH AGRONOMICALLY USEFUL PROPERTIES
FOR PLANTS**

A. I. Yakubovska

Institute of Agriculture Crimea, NAAS, Gvardiyske

The paper covers the study of associative microorganisms isolated from the roots of rice plants. Morphological, physiological and biochemical properties as well as plant response on inoculation with microorganisms were studied. Specific agronomically useful properties of these isolates, such as: growth stimulation, nitrogen fixation, phosphate mobilization were revealed. Their positive influence on the development of rice plants was observed.

Key words: epiphytic microflora, associative microorganisms, rice.