

ДОСЛІДЖЕННЯ «БІО-ГЕЛЕЙ» ЯК ПРИРОДНИХ ІНОКУЛЯНТІВ

Експериментально доведено, що органічні препарати «Біо-гель» містить велику кількість бактеріальної мікробіоти. Результати досліджень дозволяють класифікувати «Біо-гель» як природний інокулянт. Багаточисельні бактерії органічного походження включають:

- азотфіксатори (*Azotobacter, Rhizobium, Bradyrhizobium*);
- фосфатмобілізуючі (*Subtilis, Cereus, Megaterium*);
- фонові бактерії типу *Lactobacillus*;
- бактерії з фунгіцидними властивостями типу *Pseudomonas*;
- гриби роду *Trichoderma* та інші.

Нижче наведені результати досліджень, виконаних у період з 01.07.2016 по 25.08.2016 Інститутом мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного під керівництвом доктора біологічних наук, академіка НААН України В.Ф. Патики, відповідно до Угоди про співпрацю від 25.06.2016.

Робота проведена мікробіологічними та фітопатологічними методами. За традиційною оцінкою складу ґрунтового препарату перевіряли якісний та кількісний склад мікробіоти у титрах: мікроміцети $1:10^{-3}$ та бактеріальної $1:10^{-4}$. Для визначення наявності окремих груп мікроорганізмів та їх асоціацій використано діагностичні середовища: *тверде поживне середовище Звягінцева* (загальна кількість мікроорганізмів), *середовище Ешбі* (азотобактер та ризобії), *м'ясо-пептонний агар* (загальна чисельність мікроорганізмів, які використовують переважно органічні сполуки азоту), *голодний агар* (оліготрофи), *сусло-агар* (мікроміцети – грибна мікрофлора).

Крім того, для більш широкої оцінки мікробіологічного навантаження дослідних зразків проведені висіви на *середовища Звягінцева* та *картопляний агар* : нативні проби (висів безпосередньо із зразків) та титрування препарату до $1:10^{-4}$. Для визначення газоутворюючої діяльності мікроорганізмів 7-ми

дослідних ґрунтових зразків проведено посів з нативних проб у ПРА (напіврідкий агар – 0,5% МПА + 7,5% агару).

Отримані результати представлені в таблицях 1–6.

Проведені дослідження свідчать про дуже велике і щільне навантаження бактеріальної мікробіоти у всіх 7-ми зразках. Нативні висіви із всіх зразків являють собою щільні шорсткуваті плівки із незліченої кількості мікроорганізмів. При кількісному титруванні всіх зразків у рідкому середовищі (стерильна водогінна вода) кінцевий титр усіх препаратів перевищує $1:10^{-10}$.

Загальним для всіх дослідних зразків є відсутність грибної мікрофлори. Наявність 1–2 представників роду *Aspergillus* (аспергили) на неспецифічному середовищі не змінює загальної картини. Всі досліджувані препарати дещо різняться між собою за кількісним і якісним складом бактеріальної мікробіоти. Однак ця різниця не завжди суттєва. Ріст бактерій, які відносяться до роду *Azotobacter*, спостерігається для всіх варіантів досліджуваних препаратів, однак у різній кількості. Крім *Azotobacter*, завжди спостерігається ріст у значній кількості інших азотфіксаторів, які ймовірно відносяться до родів *Rhizobium* та *Bradyrhizobium*. Найменша кількість азотфіксаторів у варіантах № 9 та № 95.

Таблиця 1. Грибна мікробіота досліджуваних рідких варіантів ґрунтів (титр $1:10^{-3}$, сусло-агар)

№ п/п	Середня кількість колоній	Примітка
1. 3	0	1 колонія <i>Aspergillus</i> – 50мм у d
2. 6	0	абсолютна відсутність мікроміцетів
3. 7	0	- « -
4. 8	0	- « -
5. 9	0	- « -
6. 95	0	- « -
7. 95 - В	0	- « -

Таблиця 2. Чисельність бактеріальної мікробіоти (азотобактер та інші) досліджуваних рідких варіантів ґрунтів (титр $1:10^{-4}$, середовище Ешбі).

№ п/п	Середня кількість колоній (азотобактер)	Примітка
1. 3	200×10^{-4}	н/п кількість колоній типу ризобії
2. 6	24×10^{-4}	- « -
3. 7	10×10^{-4}	- « -
4. 8	265×10^{-4}	- « -
5. 9	2×10^{-4}	- « -
6. 95	$2-3 \times 10^{-4}$	- « -
7. 95-B	35×10^{-4}	- « -

Примітка: н/п - незлічена кількість колоній

Таблиця 3. Загальна чисельність бактеріальної мікробіоти досліджуваних рідких варіантів ґрунтів (титр $1:10^{-4}$, середовище Звягінцева).

№ п/п	Середня кількість колоній	Примітка
1. 3	354×10^{-4}	До 7-ми колоніальних морфотипів
2. 6	до 3000×10^{-4}	найбільш широкий якісний спектр морфотипів
3. 7	600×10^{-4}	колон. типи <i>Pseudomonas</i> та інші
4. 8	до 1000×10^{-4}	переважають типу <i>Sarcina</i> , є кілька однорідних колоній <i>Bacillus</i>
5. 9	215×10^{-4}	бацилярні форми
6. 95	275×10^{-4}	переважають типу <i>Bacillus</i>
7. 95-B	350×10^{-4}	переважають типу <i>Sarcina</i> , всього 3 морфотипа

Варіант № 3 – спостерігається до 7-ми колоніальних морфотипів. Спостерігається 2-3 бацилярні види, білі слизові непрозорі типу молочнокислих, дрібні сірі полупрозорі – типу *Pseudomonas*, є оранжеві та яскраво рожеві.

Варіант № 6 – мікроміцети типу триходерма, три види бацилярних форм, жовтопігментні, оранжеві, червоні, типу молочнокислих, дріжджі, типу псевдомонад; найбільш широкий якісний та кількісний спектр морфо типів.

Варіант № 7 – велика кількість колоній типу *Pseudomonas*, 5 колоній маслянистих білих, непрозорих типу молочнокислих, бацилярні форми.

Варіант 8 – переважають яскраво жовті типу *Sarcina*, є кілька однорідних колоній *Bacillus*.

Варіант 9 – найменша кількість морфотипів, серед яких переважають бацилярні форми.

Варіант 95 – три типи колоніальних морфотипів *Bacillus*.

Варіант 95-В – переважають яскраво жовті бактеріальні колонії 2-3мм в діаметрі типу *Sarcina*, є оранжеві, схожі на метаноутворюючі.

Таблиця 4. Загальна чисельність бактеріальної мікробіоти досліджуваних рідких варіантів ґрунтів, які використовують переважно органічні сполуки азоту (титр $1:10^{-4}$, середовище МПА).

№ п/п	Середня кількість колоній	Примітка
1. 3	300×10^{-4}	3 морфотипи, превалюють флуоресціюючі сірі напівпрозорі
2. 6	3000×10^{-4}	світло жовті, яскраво жовті, білі і інші, можливо є актиноміцети
3. 7	412×10^{-4}	2 бацилярні морфотипи (10-15мм у діаметрі)
4. 8	563×10^{-4}	превалюють ярко жовті типу <i>Sarcina</i> , 3 види інших сапрофітів білого кольору
5. 9	349×10^{-4}	1 колоніальний морфотип (сіро-коричневі округлі 2-3мм у діаметрі)
6. 95	324×10^{-4}	найбільше флуоресціюючих сапрофітних псевдомонад та інші
7. 95-В	н/п $\times 10^{-4}$	один тип колоній - яскраво жовті типу <i>Sarcina</i>

Примітка: н/п – незлічена кількість бактеріальних мікроорганізмів

Варіант 95 – спостерігається наявність до 10-ти морфотипів колоній. Переважають жовтопігментні, а серед них ті, що по типу схожі на *Sarcina*.

Варіант 95 – чотири морфотипи жовтопігментних, типу молочнокислих та дріжджі. Однак переважають сапрофітні флуоресціюючі псевдомонади, які часто є продуцентами різноманітних органічних сполук.

Таблиця 5. Чисельність оліготрофної бактеріальної мікробіоти досліджуваних рідких варіантів ґрунтів, які використовують переважно органічні сполуки азоту (титр $1:10^{-4}$, середовище голодний агар)

№ п/п	Середня кількість колоній	Примітка
1. 3	н/п	
2. 6	н/п	
3. 7	н/п	
4. 8	н/п	
5. 9	н/п	
6. 95	н/п	
7. 95 – В	н/п	

Таблиця 6. Визначення газоутворюючої діяльності мікроорганізмів з досліджуваних рідких варіантів ґрунтів (середовище ПРА)

№ п/п	газоутворення	Примітка
1. 3	+	витискання середовища у пробірці
2. 6	+	почорніння індикатора (H_2S), 1 пухирець
3. 7	++	витискання середовища у пробірці, розтріскування середовища в середині, кінчик індикатора стає коричневим, вірогідно є CO_2 та H_2S
4. 8	+	пухирці в середині середовища, (суб'єктивно - запах H_2S та CH_4)
5. 9	+	чітко визнач. на індикаторі H_2S , пухирців немає
6. 95	+	дуже сильне розтріскування середовища в середині і зверху. Індикатор -
7. 95-В	- (?)	пухирців немає, але кінчик індикатора коричневий.

Примітка: + - наявність газоутворення; ++ - сильне газоутворення.

Таким чином, досліджені зразки характеризуються широким спектром бактеріальної мікробіоти, до складу якої входять сапрофітні псевдомонади, жовтопігментні сапрофіти, де переважають сарцини; дріжджі, молочнокислі та інші сапрофіти, колонії яких мають білий колір або сіро-коричневі напівпрозорі та прозорі; азотобактер та різноманітні ризобії; до семи видів бацил та, можливо, деяка кількість метаноутворюючих. Практично у всіх варіантах спостерігається газоутворення.

Треба звернути увагу на практично повну відсутність актиноміцетів. Кількість мікроміцетів мінімальна.

Окремо хотілося б зупинитися на представниках роду *Trichoderma*. Відзначено, що дані гриби надають позитивний вплив на морфологічні параметри досліджуваних рослин. Гриби-антагоністи фітопатогенів збільшували вміст хлорофілу в рослинах. Оброблені грибом рослини швидше накопичують білки і вуглеводи. Виявлено вплив *Trichoderma* на параметри термоіндуційованих змін флуоресценції хлорофілу у рослин пшениці. Фотосинтетичний апарат рослин, оброблених спорами *Trichoderma*, більш стійкий до нагрівання. Позитивний вплив асоціативних мікроорганізмів на рослини включає в себе як опосередковану стимуляцію росту рослин за рахунок витіснення і придушення розвитку ґрунтових фітопатогенів шляхом продукування сполук інгібують патогенну мікрофлору, так і безпосередній - за рахунок синтезу мікроорганізмами різних екзометаболітів, які безпосередньо проникають в рослини і впливають на біохімічні процеси.