

## **НОВИЙ БАКТЕРІАЛЬНИЙ ПРЕПАРАТ РИЗОБРАЗИН ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ВРОЖАЙНОСТІ ШОВКОВИЦІ**

**<sup>1</sup>Гончар Ю.О., <sup>1</sup>Надкернична О.В., <sup>2</sup>Олексійченко Н.О.**

<sup>1</sup>Інститут сільськогосподарської мікробіології УААН,  
вул. Шевченка, 97, м. Чернігів, 14027, Україна

<sup>2</sup>Інститут шовківництва УААН, м. Мерефа, Харківський р-н.,  
Харківська обл., 62472, Україна

*На основі азотфіксувальних бактерій роду *Azospirillum* створено новий біопрепарат ризобразин. Розроблені, експериментально перевірені та захищені патентом України способи інокуляції рослин шовковиці різного віку бактеріальним препаратом. Показано, що застосування ризобразину на гібридних і сортових насадженнях шовковиці сприяло підвищенню врожаю листя шовковиці на 23-67 % та поліпшенню якості продукції: вміст органічних речовин підвищився на 6-123 %, фотосинтетичних пігментів – на 12-67 %.*

Ключові слова: бактеріальні препарати, *Azospirillum brasilense*, шовковиця.

Багато видів мікроорганізмів, які розвиваються в прикореневій зоні і на коренях рослин, активно фіксують атмосферний азот в асоціації з рослиною. Однак, навіть при ефективній взаємодії асоціативних діазотрофів з небобовими рослинами, частина фіксованого азоту неминуче втрачається через процеси денітрифікації. Цим втратам можна запобігти, якщо використовувати азотфіксувальні бактерії, здатні заселяти внутрішні тканини коренів рослин.

Пошук мікроорганізмів, що активно фіксують азот в асоціації з рослинами, та створення на їх основі біопрепаратів для ефективного використання біологічного азоту відкриває широкі можливості підвищення продуктивності сільськогосподарських культур.

Спільно з Інститутом шовківництва УААН в Інституті сільськогосподарської мікробіології УААН на основі азотфіксувальних бактерій *Azospirillum brasilense* 54, виділених з бульбочкоподібних структур, які спонтанно утворилися на коренях шовковиці [1-3], розроблено біопрепарат ризобразин. Раніше за допомогою імунологічних методів було показано, що азоспірили

здатні проникати в корені рослин шовковиці і зберігати там життєдіяльність протягом 16 місяців після інокуляції [4].

Метою даної роботи було дослідити вплив ризобразину на продуктивність насаджень шовковиці різного віку.

**Матеріали й методи.** Препарат ризобразин виготовляли у двох формах: торф'яний і рідкого концентрату. Рідкий концентрат являє собою живильне середовище з розмноженими в ньому бактеріями *Azospirillum brasilense* 54 з титром 2-5 млрд клітин в 1 мл. Торф'яний препарат – це зволожений до 45-50 % торф'яний порошок темного кольору, нерозчинний у воді, 1 г якого містить 2-5 млрд клітин азоспірил.

Насіння шовковиці протягом двох діб замочували у водопровідній воді при температурі 28-30 °С, потім добавляли розраховану кількість препарату і ретельно перемішували. Бактеріальне навантаження становило 200-300 тис. клітин на одну насінину. Через три години суспензію зливали, насіння підсушували, уберігаючи його від прямих сонячних променів.

Інокуляція однорічних сіянців шовковиці здійснювалася шляхом замочування їхньої кореневої системи протягом 24 год. у суспензії бактеріальних клітин із розрахунку 300 мл рідкого концентрату або 300 г торф'яного препарату на 10 л води.

Дорослі рослини інокулювали у фазу розпускання листків шовковиці (остання декада квітня). До біопрепарату додавали воду з розрахунку 300 мл (300 г) препарату на 10 л води. Приготовлену суміш вносили під рослини у борозни з двох боків по 650-700 мл на одну рослину.

Для оцінки кормової якості листя шовковиці за інтенсивністю реакції хемотаксису гусениць-“мурашів” (які щойно відродилися) наважку грени по 1 г висипали для інкубації в паперові ємності площею 48 см<sup>2</sup>. Після відродження гусениць-“мурашів” натерті листям аркуші паперу накладали зворотною стороною на ці ємності. Використовували листя з дерев шовковиці без обробки (у контрольному варіанті) та з обробкою ризобразином. Через 30 хв аркуші знімали й підраховували кількість гусениць-“мурашів”, які перейшли на папір.

**Результати та їх обговорення.** В умовах вегетаційного досліду вивчали вплив рідкого концентрату і торф'яної форми ризобразину на динаміку проростання насіння шовковиці. Через 7 діб після обробки спостерігали збільшення кількості проростків

у порівнянні з контролем у варіантах з використанням обох препаративних форм (рис. 1).

На етапі, коли кількість проростків досягала постійної величини, середня кількість сіянців шовковиці у контрольних варіантах становила 41,0, у варіантах з обробкою торф'яним препаратом – 63,3, після обробки рідким концентратом – 78,0. Таким чином, можна зробити висновок, що для обробки насіння шовковиці доцільно використовувати рідкий концентрат ризобразину.

Вплив бактеріального препарату ризобразину на рослини шовковиці різного віку вивчали в умовах польових дослідів. Інокуляція насіння рідкою формою ризобразину сприяла збільшенню діаметра стовбура сіянців на 33 %, маси рослин – на 65 %, маси листя – на 67 %, площі листової пластинки – на 51 % (табл. 1). Замочування кореневої системи однорічних саджанців шовковиці в рідкому концентраті ризобразину забезпечило підвищення висоти рослин на 12 %, площі листової пластинки – на 40 % і маси листя – на 36 % (табл. 2).

Аналогічний дослід, результати якого наведені в табл. 3, проводили на чорноземному ґрунті Інституту шовківництва УААН. В даному досліді спостерігали достовірне збільшення висоти і діаметра стовбура рослин шовковиці (на 16 і 15 % відповідно).

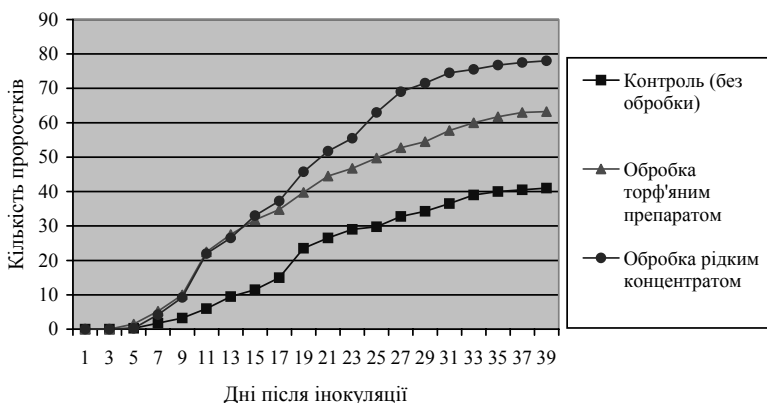


Рис. 1. Вплив обробки насіння шовковиці рідким концентратом і торф'яною формою ризобразину на динаміку проростання насіння

*Таблиця 1. Вплив рідкого концентрату ризобразину на біометричні показники сіянців шовковиці (польовий дослід, дерново-підзолистий ґрунт)*

Варіанти дослідів	Висота рослин, см	Діаметр стовбура, см	Маса рослин, г	Маса листя, г	Площа листової пластинки, см <sup>2</sup>
Контроль (без бактеризації)	79,4	1,2	104,4	47,9	66,7
Бактеризація ризобразином	91,6	<b>1,6</b>	<b>172,0</b>	<b>80,0</b>	<b>101,0</b>
НІР <sub>05</sub>	15,22	0,29	48,23	20,58	10,16

*Примітка.* Тут і далі достовірне підвищення показників виділено жирним шрифтом.

*Таблиця 2. Вплив бактеризації ризобразином кореневої системи саджанців шовковиці на біометричні показники рослин даної культури (польовий дослід, дерново-підзолистий ґрунт)*

Варіанти дослідів	Висота рослин, см	Діаметр стовбура, см	Маса рослин, г	Маса листя, г	Площа листової пластинки, см <sup>2</sup>
Контроль (без бактеризації)	130,0	2,00	336,0	129,0	77,36
Бактеризація ризобразином	<b>145,0</b>	1,96	412,0	<b>176,0</b>	<b>107,81</b>
НІР <sub>05</sub>	9,68	0,32	147,73	45,23	9,05

*Таблиця 3. Вплив рідкого концентрату ризобразину на біометричні показники однорічних саджанців шовковиці (польовий дослід, чорноземний ґрунт)*

Варіанти дослідів	Біометричні показники сіянців	
	висота, см	діаметр, мм
Контроль (без бактеризації)	70,37	7,23
Бактеризація ризобразином	<b>81,54</b>	<b>8,31</b>
НІР <sub>05</sub>	4,21	0,51

Інокуляцію дорослих рослин шовковиці проводили шляхом внесення розведеного рідкого концентрату або торф'яного препарату у борозни між рядами рослин з двох сторін. Використання для обробки насаджень шовковиці обох форм препарату забезпечувало однакові прирости продуктивності рослин. Виходячи з того, що торф'яний препарат зберігається довше, для інокуляції дорослих рослин доцільно використовувати саме таку форму ризобразину.

Вплив бактеріального препарату на рослини шовковиці 3-5-річного віку вивчали в умовах польових дослідів на чорноземному ґрунті.

Застосування ризобразину сприяло збільшенню, порівняно з контролем, довжини та діаметра стовбура трьохрічних дерев на 11 і 9 %, відповідно, кількості пагонів на куці – на 29 % і врожаю листя – на 43 % (табл. 4).

**Таблиця 4. Вплив торф'яного препарату ризобразину на біометричні показники гібридних рослин шовковиці трьохрічного віку (польовий дослід, чорноземний ґрунт)**

Варіанти дослідів	Біометричні показники пагонів		Урожай листя з 1 дерева, кг	Кількість пагонів на куці	Середня маса листка, г
	довжина, см	діаметр, мм			
Контроль (без бактеризації)	156,3±3,6	15,6±0,4	0,51±0,1	12,7±1,0	3,0±0,2
Бактеризація ризобразином	<b>173,7±0,3</b>	<b>17,0±0,4</b>	<b>0,73±0,2</b>	<b>16,4±1,5</b>	3,0±0,12

Результати внесення торф'яного препарату в кореневу зону рослин шовковиці п'ятирічного віку свідчать про його позитивний вплив на біометричні показники сортових та гібридних насаджень шовковиці. При цьому слід відмітити, що на сорти шовковиці Українська-5, Українська-6, Українська-7 препарат впливає більшою мірою, ніж на гібридні насадження (рис. 2). Так, довжина пагонів дерев указаних сортів шовковиці достовірно підвищилась, порівняно з контролем, на 10-15 %, гібридів – на 7 %. Прирости врожаю листя гібридних рослин шовковиці складала 23 %, тоді як сортових – 35-41 %, у порівнянні з контролем.

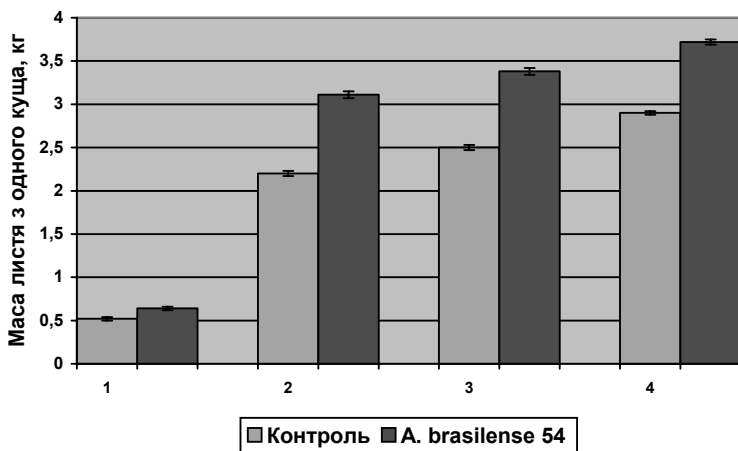


Рис. 2. Вплив обробки рослин шовковиці торф'яним препаратом ризобразином на врожай листя з одного куща 1 – гібридні насадження; 2 – шовковиця сорту Українська-5; 3 – Українська-6; 4 – Українська-7.

В умовах виробничого дослідження показано, що азоспірили сприяють підвищенню врожайності листя гібридних 12-річних насаджень шовковиці на 24 % (табл. 5).

Таблиця 5. Вплив торф'яного препарату ризобразину на врожай листя 12-річних рослин шовковиці (виробничий дослід, Миргородський гренажний завод, Полтавська обл.)

Варіанти дослідження	Площа, га	Врожай листя з одного куща, кг
Контроль (без бактеризації)	0,4	1,78±0,03
Бактеризація ризобразином	0,4	2,21±0,04

Раніше нами було показано, що діючий чинник бактеріального препарату ризобразину – бактерії *A. brasilense* 54 здатні проникати у внутрішні тканини коренів рослин шовковиці і зберігати там життєдіяльність протягом 16 місяців після інокуляції [4]. Досліджувався також вплив ризобразину на біохімічний склад листя та якість листової продукції шовковиці через 4 і 16 місяців після інокуляції. Одним з основних показників активності фотосинтетичного апарату є вміст хлорофілу в листі рослин. Обробка рослин шовковиці ризобразином (торф'яна форма) сприяла

достовірному підвищенню вмісту хлорофілу *a* та хлорофілу *b* у листі через 4 місяці – на 15 і 19 %, відповідно, а через 16 місяців – на 12 і 33 % (табл. 6).

**Таблиця 6. Вплив ризобразину (торф'яна форма препарату) на вміст фотосинтетичних пігментів у листі шовковиці (в мг на 100 г сирової речовини)**

Варіанти досліджу	Рік внесення препарату	Строк після інокуляції	Хлорофіл <i>a</i>	Хлорофіл <i>b</i>	<i>a/b</i>	Каротин
Контроль (без бактеризації)	–	–	188,32	60,64	3,10	9,60
Бактеризація ризобразином	2003	16 місяців	<b>210,88</b>	<b>80,80</b>	2,61	<b>16,0</b>
	2004	4 місяця	<b>215,68</b>	<b>72,32</b>	2,98	<b>14,0</b>
НІР <sub>05</sub>	–	–	2,24	2,40	–	1,20

Показано, що вміст каротину в листі шовковиці через 4 місяці після внесення ризобразину в кореневу зону насаджень шовковиці достовірно підвищується на 46 %, а через 16 місяців – на 67 %.

Обробка рослин ризобразином (торф'яна форма препарату), створеним на основі бактерій *A. brasilense* 54, сприяла збільшенню вмісту розчинних цукрів (глюкози, фруктози і сахарози) у 2,25 раза (табл. 7), що, очевидно, зумовлено посиленням активності фотосинтетичного апарату рослин в результаті інтродукції азоспірил у кореневу зону шовковиці. Через 4 місяці внаслідок обробки рослин біопрепаратом достовірно збільшувався вміст ліпідів на 47 %, а через 16 місяців – на 7 %.

Оскільки бактерії *A. brasilense* 54 активно фіксують азот у чистій культурі, ми вирішили вивчити вміст білка в листі шовковиці. Через 4 місяці після обробки насаджень шовковиці ризобразином підвищення вмісту білка не спостерігалось. Однак через 16 місяців його вміст у листі, порівняно з контролем, зріс на 6 %.

Для визначення кормової якості листя шовковиці в результаті обробки насаджень ризобразином використовували експрес-метод, згідно з яким якість оцінюється за інтенсивністю реакції хемотаксису гусениць-“мурашів” шовковичного шовкопряда (табл. 8).

Інтенсивність реакції хемотаксису гусениць-“мурашів” на листя з дослідних ділянок була на 39,5 % вищою, ніж на листя з контрольних ділянок. Кормовипробувальна вигодівля шовковично-

го шовкопряда також дала позитивні результати. Так, використання як корму для гусениць шовкопряда листя з насаджень шовковиці, бактеризованої ризобразином, дало можливість підвищити відсоток життєздатних гусениць, частку сортових коконів та урожайність коконів (прибавка складала 18,8 %) порівняно з листям контрольно-го варіанту.

*Таблиця 7. Післядія ризобразину на біохімічний склад листя гібридних насаджень шовковиці (в абсолютно сухій речовині, %)*

Варіанти досліджу	Рік внесення препарату	Строк після інокуляції	Моно- і дисахариди	Ліпіди	Білок
Контроль (без бактеризації)	–	–	6,0	3,42	13,74
Бактеризація ризобразином	2002	16 місяців	<b>13,5</b>	<b>3,67</b>	<b>14,54</b>
	2003	4 місяця	<b>9,0</b>	<b>5,03</b>	12,12
НІР <sub>05</sub>	–	–	0,13	0,13	0,74

*Таблиця 8. Вплив ризобразину на кормову якість листя гібридних насаджень шовковиці*

Варіанти досліджу	Інтенсивність реакції хемотаксису гусениць-“мурашів”, од./30 хв	Життєздатність гусениць, %	Урожай коконів з 1 г гусениць, кг	Частка сортових коконів, %
Контроль(без бактеризації)	123±3	83,61±0,84	3,78±0,07	90,00
Бактеризація ризобразином	180±3*	88,78±0,77*	4,49±0,10*	92,42

\* – P<0,05

Таким чином, встановлено, що застосування ризобразину дозволяє підвищити продуктивність шовковиці і якість листя за рахунок збільшення вмісту в листі хлорофілу, каротину, білків, вуглеводів та ліпідів, що сприяє підвищенню його кормової цінності як корму для гусениць шовковичного шовкопряда.



1. Пилипенко Б.Ф., Мальцева Н.Н., Надкерничная Е.В., Сальник В.П. Азотфиксирующие клубеньки на корнях шелковицы // Микробиол. журн. – 1996. – Т. 58, № 5. – С. 93-95.

2. Пилипенко Б.Ф., Єзерська Н.В. Феномен інтенсивного росту шовковиці, зумовлений мікробною інвазією // Шовківництво. – К.: Урожай, 1994. – С. 7-9.

3. Надкерничная Е.В., Ушакова М.А. Азотфиксирующие бактерии рода *Azospirillum*, выделенные из клубеньков на корнях шелковицы // Микробиология и биотехнология XXI столетия: Матер. междунар. конфер. (г. Минск, 22-24 мая, 2002). – Минск, 2002. – С. 57-59.

4. Надкерничная Е.В., Гончар Ю.А., Волкова И.В. Использование иммунологических методов для изучения взаимодействия азоспирилл с растениями шелковицы // Вісник Одеського нац. ун-ту. Сер.: Біологія. – Одеса, 2005. – Т. 10, № 7. – С. 278-283.

## **НОВЫЙ БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТ РИЗОБРАЗИН ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ ШЕЛКОВИЦЫ**

**<sup>1</sup>Гончар Ю.А., <sup>1</sup>Надкерничная Е.В., <sup>2</sup>Алексейченко Н.А.**

<sup>1</sup>Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН,  
г. Чернигов

<sup>2</sup>Институт шелководства УААН, г. Мерефа

*На основе азотфиксирующих бактерий рода *Azospirillum* создан новый биопрепарат ризобразин. Разработаны, экспериментально проверены и защищены патентом Украины способы инокуляции растений шелковицы разного возраста бактериальным препаратом. Показано, что использование ризобразина на гибридных и сортовых насаждениях шелковицы способствует увеличению урожайности листьев шелковицы на 23-67 % и улучшению качества продукции.*

Ключевые слова: *бактериальные препараты, *Azospirillum brasilense*, шелковица.*

## **NEW BACTERIAL PREPARATION RIZOBRAZIN TO INCREASE THE MULBERRY PRODUCTIVITY**

**<sup>1</sup>Gonchar Y.A., <sup>1</sup>Nadkernichna E.V., <sup>2</sup>Olekseychenko N.A.**

<sup>1</sup>Institute of Agricultural Microbiology UAAS, Chernihiv

<sup>2</sup>Sericulture Institute of UAAS, Merefa

*The new biological preparation rizobrazin was created on the basis of nitrogenfixing bacteria of Azospirillum. Ways of inoculation of mulberry plants of different age with the bacterial preparation were developed, examined and protected by the patent of Ukraine. It was shown, that use of rizobrazin for hybrid and high-quality plantings of mulberry promotes essential increase of mulberry leaves productivity on 23-67 % and improves of production quality.*

*Keywords: bacterial preparations, Azospirillum brasilense, mulberry.*