

**ВПЛИВ ДОБРИВ НА МІКРОФЛОРУ  
ҐРУНТУ І РИЗОФЛОРУ ГІРЧИЦІ**С.Ю. Булигін<sup>1</sup>, О.О. Кролевець<sup>2</sup>, Н.В. Коцарева<sup>3</sup>, А.М. Коваленко<sup>4</sup><sup>1</sup>доктор сільськогосподарських наук, професор, академік НААН<sup>2</sup>доктор хімічних наук, професор, академік РАПН<sup>3</sup>доктор сільськогосподарських наук, професор<sup>4</sup>доктор ветеринарних наук, професор<sup>1</sup>Національний університет біотехнологій і природокористування України

вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

<sup>2</sup>ДУ «Белгородський університет»

вул. Перемоги, 85, м. Белгород, 308501, Росія

<sup>3, 4</sup>Белгородський державний аграрний університет імені В.Я. Горіна

вул. Вавилова, 1, смт Майський Белгородського р-ну Белгородської обл., 308503, Росія

e-mail: <sup>1</sup>s. bulygin@ukr.net, <sup>2</sup>krolevets@inbox.ru, <sup>3</sup>knv1510@mail.ru, <sup>4</sup>mycobacteria@rambler.ruORCID: <sup>3</sup>0000-0002-2701-6331

Надійшла 13.01.2020

**Мета.** Визначення впливу добрив на видовий склад мікрофлори ґрунту під гірчицею. **Методи.** Висівання насіння гірчиці здійснювали в картонній ємності площею 142 см<sup>2</sup>, які заповнювали чорноземом типовим. Контроль показників ґрунту проводили двічі: до посіву (автохтонна мікрофлора) і в кінці вегетації гірчиці. Аналіз мікрофлори чорнозему типового проводили вирощуванням колоній мікроорганізмів ґрунту на твердих поживних середовищах методом розведення. **Результати.** Після культивування гірчиці у варіанті без унесення добрив кількість колоній зменшилася до 75, за внесення нативної форми нітроамофоски — до 88, наноструктурованих форм нітроамофоски — до 79. На середовищі ГРМ в аналізованому зразку ґрунту до висівання відзначали зменшення кількості колоній бактерій від 53 (розведення 10<sup>-4</sup>) до 12 (розведення 10<sup>-6</sup>). Вирощування гірчиці без унесення добрив призвело до зниження до 20-ти колоній, 7-ми колоній і 3-х колоній бактерій за розведення 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>. З унесенням добрив кількість колоній після інкубації була вищою, ніж без їх застосування. Таку саму тенденцію відзначено і за кількістю мікроорганізмів. Після інкубації без унесення добрив і наноструктурованих форм нітроамофоски кількість колоній і бактерій знизилася за розведення 10<sup>-2</sup> у 6 разів, а без унесення нативної форми нітроамофоски — у 5,4 раза. **Висновки.** Установлено позитивний вплив на мікрофлору ґрунту внесення наноструктурованих форм нітроамофоски, які дають змогу зберігати корисні мікроорганізми, що сприяють формуванню біоценозу мікроорганізмів у кореневій і прикореневій зонах рослин, пригніченню патогенної мікрофлори, підвищенню родючості ґрунту порівняно з нативною формою добрив.

**Ключові слова:** наноструктурована форма нітроамофоски, микориза, поверхня кореня, колонії бактерій, кількість мікроорганізмів.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202003-02>

Ґрунт є важливою ланкою біосфери, мінеральної та органічної. Головна його властивість — родючість, яка залежить від

життєздатності організмів. Лише в ґрунті поєднуються жива і нежива (кісткові) речовини [1].

Ґрунт — основне джерело, що забезпечує 95–97% продовольчих ресурсів для населення планети. Водночас господарська діяльність людини стає домінуючим фактором у руйнуванні ґрунтів і зниженні їхньої родючості [2].

Найдетальніше вивчити взаємодію ґрунтів, рослин і добрив можна в тривалих стаціонарних дослідках із систематичним застосуванням добрив. У таких дослідках створюються виняткові умови стандартизації, що дають змогу краще дослідити вплив клімату та агрометеорологічних умов на культури, ґрунти і фактори, що регулюють ґрунтову родючість [3–6].

Кількісний і видовий (якісний) склад мікрофлори ґрунту змінюється залежно від регіональних і кліматичних умов, пори року, температури, хімічного складу і фізичних властивостей його вологості, реакції середовища (рН), способу його обробітку. У піщаних і кам'янистих, а також у ґрунтах, позбавлених рослинності, мікроорганізмів менше, ніж в орних, і особливо удобрених ґрунтах. Уміст мікроорганізмів у ґрунті збільшується з півночі на південь. Забарвлення і запах ґрунту надають певні види актиноміцетів і цвілевих грибів. Більшість мікроорганізмів ґрунту здатні розвиватися за нейтрального рН, високої відносної вологості, температури 25–45°C [7].

Найбільша кількість мікроорганізмів міститься у верхньому шарі 5–15 см. Між родючістю ґрунту і вмістом у ньому мікроорганізмів є певна залежність. Родючі ґрунти біологічно активні. Підрахунки показали, що на кожний 1 га малородючого ґрунту припадає 2,5–3,0 т мікробної маси, високородючого — до 16 т.

Мікроорганізми ґрунту перебувають у складному біоценозі, що характеризується антагоністичними і симбіотичними взаємовідносинами між собою і з рослинами. Зі зміною глибини змінюється видовий склад мікрофлори ґрунту. У верхніх шарах, що містять багато органічних речовин і піддаються достатній аерації, переважають аеробні сапрофітні організми, здатні розкладати складні органічні сполуки. Із заглибленням

у ґрунт кількість мікроорганізмів зменшується, і на глибині 4–5 м їх майже немає. Доступ повітря не забезпечується, і чисельність анаеробних бактерій збільшується [8]. У ґрунті живуть азотофіксуючі і нітрифікуючі бактерії (*Nitrosomonas* і *Nitrobacter*); бактерії, здатні окиснювати аміак до азотної кислоти; бактерії — амоніфікатори, що спричиняють гниття залишків рослин, трупів тварин, розкладання сечовини; бактерії, які розщеплюють клітковину і спричиняють різні види бродіння (молочнокисле, маслянокисле, оцтовокисле та ін.).

До постійних мешканців ґрунту належать різні гнильні, переважно спороутворювальні аеробні бактерії (*Bacillus mycoides*, *Bac. Subtilis*, *Bac. Mesentencus* та ін.) і анаеробні бактерії (*Clostridium sporogenes*, *Cl. Putrificum*, *Cl. Perfringens*, *Cl. Botulinum*, *Cl. Chauvoei* та ін.), а також термофільні бактерії, пігментні, кокові форми. Із сапрофітних коків найчастіше проявляються мікрококи (*Micrococcus albus*, *Mic. Reseus*, *Mic. Flavus*).

Кишкова паличка, збудники черевного тифу, сальмонельозів, дизентерії можуть потрапляти в ґрунт із фекаліями, але в ньому немає умов для їх розмноження, тому вони поступово відмирають. Виявлення кишкової палички і протей у значних кількостях є показником забруднення ґрунту фекаліями людини і тварин, що свідчить про санітарно-епідеміологічне неблагополуччя [9].

Патогенні палички (збудник сибірської виразки, ботулізму, правця, газової гангренни) здатні тривалий час зберігатися у ґрунті, зокрема спори *Bacillus anthracis* зберігаються понад 15 років. Тому ґрунт відіграє основну роль в епідеміології правця, газової гангренни, ботулізму, а також у поширенні лептоспірозів, бруцельозу, харчових токсикоінфекцій та ентеровірусних інфекцій. Для збудників актиномікозу, глибоких мікозів, мікотоксикозів ґрунт є природним місцем існування [10].

**Мета досліджень** — визначення впливу добрив на видовий склад мікрофлори ґрунту під гірчицею.

**Матеріали та методи досліджень.** Чорноземні ґрунти характеризуються багатим умістом гумусу (особливо у верхніх горизонтках), мінеральних поживних речовин,

зернистою або грудкуватою структурою, високим умістом кальцію, великою кількістю корисних для рослин мікроорганізмів і оптимальними водно-повітряними властивостями.

Насіння гірчиці висівали в картонні ємності площею 142 см<sup>2</sup>, які заповнювали чорноземом типовим. Маса ґрунту в ємності — 443,8 г. Висівали насіння гірчиці за схемою: без добрив (контроль); нативна форма нітроамофоски (0,5 г на ємність); наноструктурована форма нітроамофоски (0,652 г на ємність).

У кожному ємність висівали по 20 зерен. Дата висіву — 4.10.18. Насіння розкладали на поверхні і присипали ґрунтом заввишки 1 см, що збільшувало масу ємностей до 598 г. Повторність дослідів — 3-разова.

Після висівання було проведено полив, який здійснювали кожні 7 діб по 200 мл води на ємність. Використовували штучне освітлення рослин.

Спостереження проводили 8 тижнів (до 30.11.18).

Контроль показників ґрунту здійснювали двічі: до посіву (автохтонна мікрофлора) і в кінці вегетації рослин. Аналіз мікрофлори чорнозему типового проводили вирощуванням колоній мікроорганізмів ґрунту на твердих поживних середовищах методом розведення [11–13]. Суть методу полягає у нанесенні ґрунтової суспензії з мікроорганізмами на поверхню твердого живильного середовища. Облік кількості мікроорганізмів здійснювали за кількістю виявлених колоній.

Для дослідження брали 10 г ґрунту, наливали в колбу 90 мл стерильної дистильованої води, добре перемішували і одержували перше розведення 10<sup>-1</sup>. З колби брали 1 мл зразка і переносили в пробірку з 9 мл стерильної дистильованої води, отримуючи розведення 10<sup>-2</sup> і до 10<sup>-6</sup>.

Для висівання приготували 3 різні тверді поживні середовища: Левіна (для бактерій групи кишкової палички), ГРМ (для аналізу загального бактеріального обсіменіння), Чапека (на забрудненість грибами). Живильне середовище ГРМ призначене для культивування і підрахунку загальної кількості бактерій і кількісного визначення мікробної забрудненості.

Для середовищ Левіна і Чапека брали розведення 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, для ГРМ — 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>. Із кожного розведення після ретельного перемішування брали по 0,1 мл рідини і вносили в окремі чашки Петрі (по 2 повторності на кожне розведення). Чашки із середовищами Чапека і ГРМ інкубували в термостаті за температури 28°C упродовж 3-х діб. Чашки із середовищем Левіна витримували за температури 37°C також протягом 3-х діб.

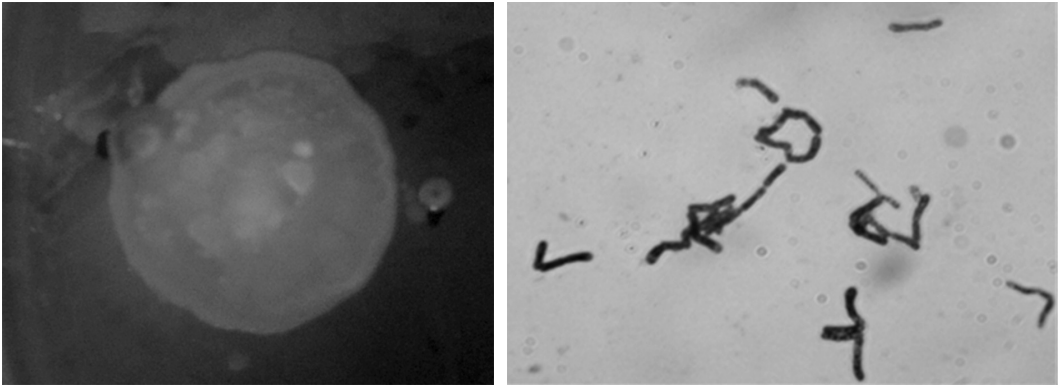
Контроль показників ґрунту після культивування рослин проводили методом серійних розведень. Для аналізу ґрунт брали з ризосфери гірчиці (з 2-х рослин по кожному варіанту). Для порівняння використовували результати мікрофлори ґрунту до висівання і після культивування гірчиці.

**Результати досліджень.** Після висівання ґрунту на автохтонну мікрофлору колонії, що виростили, були проаналізовані, і деякі мікроорганізми були визначені до роду. У складі ґрунту виявлено такі мікроорганізми: на середовищі Левіна утворилася рожева кругла колонія із хвилястим краєм. У мікроскопічному полі — це довга рухлива, граммпозитивна, аеробна, спороутворювальна паличка роду *Bacillus* (рис. 1).

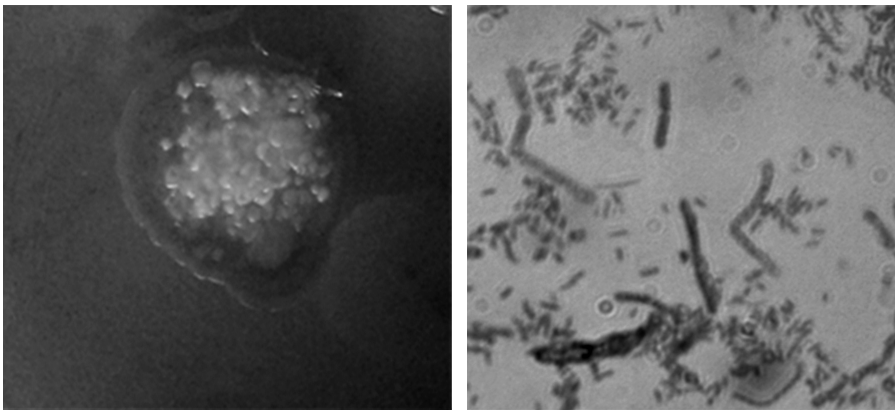
Також на середовищі Левіна спостерігалися круглі, з фіолетовим центром колонії бактерій роду *Pseudomonas* (рис. 2). Паличка аеробна, грамнегативна безспорова, рухлива, коротка.

За вивчення впливу добрив на мікробіологічні показники ґрунту і поверхні кореня гірчиці (КУО/г) відзначали, що ґрунт, використаний для експерименту, мав широкий спектр життєвокорисних та інших мікроорганізмів. Так, на середовищі Левіна до висівання гірчиці в ґрунті кількість колоній становила 276 за розведення 10<sup>-2</sup> і 9 колоній — за розведення 10<sup>-4</sup> (табл. 1). Після культивування гірчиці у варіанті без внесення добрив кількість колоній зменшилася до 75-ти, за внесення нативної форми нітроамофоски — до 88, наноструктурованих форм нітроамофоски — до 79.

Найбільшу кількість мікроорганізмів відзначено за розведення 10<sup>-4</sup>–900·10<sup>3</sup> КУО/г у ґрунті до висівання і за внесення нативної форми нітроамофоски — 200·10<sup>3</sup> КУО/г за такого самого розведення.



**Рис. 1.** Колонія бактерії роду *Bacillus* на середовищі Левіна. Фіксований мікропрепарат колонії. Збільшення  $\times 1000$  з імерсією



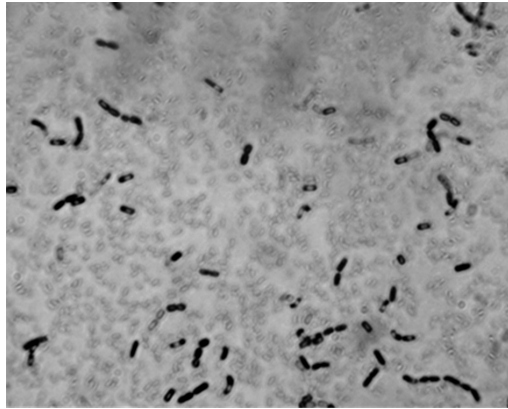
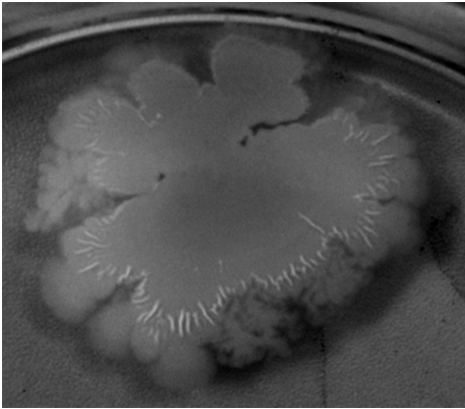
**Рис. 2.** Колонія бактерії роду *Pseudomonas* на середовищі Левіна. Фіксований мікропрепарат колонії, пофарбований за Грамом, збільшення  $\times 1000$  з імерсією

Вирощування гірчиці без добрив і з їх унесенням призвело до зниження кількості колоній і мікроорганізмів у 3,6 раза (розведен-

ня  $10^{-2}$ ). За розведення  $10^{-3}$  показники без унесення добрив зменшилися в 7 разів, за внесення добрив — у 4,4–5,5 раза.

**1. Вплив добрив на мікробіологічні показники ґрунту і поверхні кореня гірчиці на середовищі Левіна**

Розведення	Кількість колоній				Кількість мікроорганізмів, КУО/г			
	до висівання гірчиці	після інкубації			до висівання гірчиці	після інкубації		
		без добрив	нативна форма нітроамофоски	наноструктурована форма нітроамофоски		без добрив	нативна форма нітроамофоски	наноструктурована форма нітроамофоски
$10^{-2}$	276	75	88	79	$276 \cdot 10^3$	$75 \cdot 10^3$	$88 \cdot 10^3$	$79 \cdot 10^3$
$10^{-3}$	44	6	8	10	$440 \cdot 10^3$	$60 \cdot 10^3$	$80 \cdot 10^3$	$100 \cdot 10^3$
$10^{-4}$	9	1	2	1	$900 \cdot 10^3$	$100 \cdot 10^3$	$200 \cdot 10^3$	$100 \cdot 10^3$



**Рис. 3.** Колонія бактерії роду *Bacillus subtilis* на середовищі ГРМ. Фіксований мікропрепарат колонії, пофарбований за Грамом, збільшення  $\times 1000$  з імерсією

Найбільше зменшилися колонії мікроорганізмів і їх кількість за розведення  $10^{-4}$ .

На середовищі ГРМ утворилася велика асоційована колонія бактерій білого забарвлення, матова, зморшкувата до краю роду *Bacillus subtilis*. Паличка коротка із заокругленим кінцем, грамнегативна, спороутворювальна, аеробна, нерухома, утворює ланцюжки (рис. 3).

На середовищі ГРМ за аеробного культивування утворилися коренеподібні, що нагадують міцелій гриба, сіро-білого забарвлення колонії бактерій *Bacillus mycooides*. Паличка грампозитивна, спороутворювальна, нерухома.

На середовищі ГРМ в аналізованому зразку ґрунту до висівання відзначали зменшення кількості колоній бактерій від 53 (розведення  $10^{-4}$ ) до 12 (розведення  $10^{-6}$ ) (табл. 2).

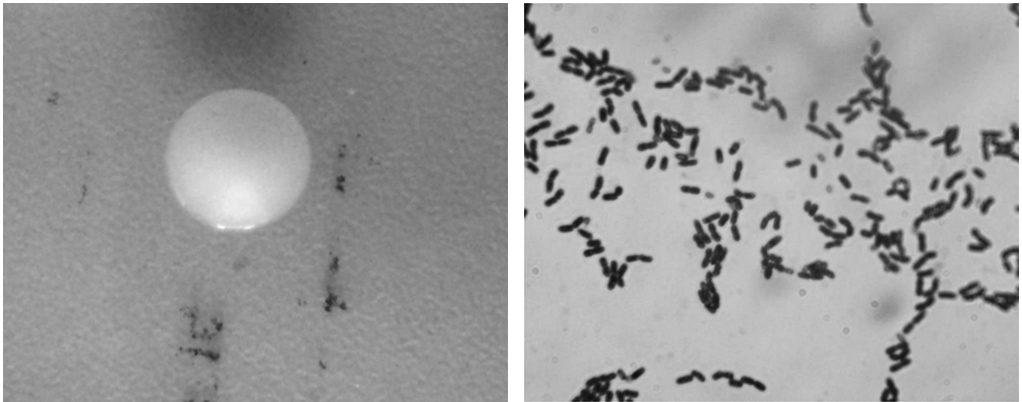
Вирощування гірчиці без унесення добрив призвело до зниження до 20-ти колоній, 7-ми колоній і 3-х колоній бактерій за розведення  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ . За внесення добрив кількість колоній після інкубації була вищою, ніж без їх застосування. Таку саму тенденцію відзначено і за кількістю мікроорганізмів.

На середовищі Чапека відзначали круглу, з рівним краєм, білого забарвлення із кремовим відтінком у центрі колонію бактерій роду *Azotobacter* (рис. 4). Паличка аеробна нерухома, товста, грамнегативна, безспорова. Наявні включення гранулези або глікогену в кількості 3–4-х гранул.

До висівання гірчиці в ґрунті налічувалося 580 колоній бактерій (розведення  $10^{-2}$ ), за наступних розведень їх кількість знизилася до 250 (розведення  $10^{-3}$ ) і 20 (розведення  $10^{-3}$ ) (табл. 3).

## 2. Вплив добрив на мікробіологічні показники ґрунту і поверхні кореня гірчиці на середовищі ГРМ

Розведення	Кількість колоній				Кількість мікроорганізмів, КУО/г			
	до висівання гірчиці	після інкубації			до висівання гірчиці	після інкубації		
		без добрив	нативна форма нітроамофоски	наноструктурована форма нітроамофоски		без добрив	нативна форма нітроамофоски	наноструктурована форма нітроамофоски
$10^{-4}$	53	20	22	31	$530 \cdot 10^4$	$200 \cdot 10^4$	$220 \cdot 10^4$	$310 \cdot 10^4$
$10^{-5}$	26	7	18	8	$260 \cdot 10^3$	$700 \cdot 10^5$	$180 \cdot 10^5$	$80 \cdot 10^5$
$10^{-6}$	12	3	9	3	$120 \cdot 10^3$	$300 \cdot 10^6$	$900 \cdot 10^5$	$300 \cdot 10^6$



**Рис. 4.** Колонія бактерії роду *Azotobacter* на середовищі Чапека. Фіксований мікропрепарат колонії бактерій, збільшення  $\times 1000$  з імерсією

### 3. Вплив добрив на мікробіологічні показники ґрунту і поверхні кореня гірчиці на середовищі Чапека

Розведення	Кількість колоній				Кількість мікроорганізмів, КУО/г			
	до висівання гірчиці	після інкубації			до висівання гірчиці	після інкубації		
		без добрив	нативна форма нітроамофоски	наноструктурована форма нітроамофоски		без добрив	нативна форма нітроамофоски	наноструктурована форма нітроамофоски
$10^{-2}$	580	93	107	96	$580 \cdot 10^3$	$93 \cdot 10^3$	$107 \cdot 10^3$	$96 \cdot 10^3$
$10^{-3}$	250	12	31	15	$250 \cdot 10^3$	$60 \cdot 10^3$	$310 \cdot 10^3$	$120 \cdot 10^3$
$10^{-4}$	20	1	2	1	$200 \cdot 10^3$	$200 \cdot 10^3$	$300 \cdot 10^3$	$100 \cdot 10^3$

Після інкубації без унесення добрив і наноструктурованих форм нітроамофоски кількість колоній і бактерій знизилася за розведення  $10^{-2}$  у 6 разів, без унесення нативної форми нітроамофоски — у 5,4 раза.

Також спостерігалось зменшення показ-

ників за розведення  $10^{-3}$  у 16,6–20,8 раза без унесення добрив і наноструктурованих форм нітроамофоски, нативної форми нітроамофоски — у 8 разів. За розведення  $10^{-4}$  відмінність між варіантами становила 1 за кількістю колоній.

### Висновки

Установлено позитивний вплив на мікрофлору чорнозему типового внесення наноструктурованих форм нітроамофоски, які дають змогу зберігати корисні мікроорганізми, що сприяють формуванню

біоценозу мікроорганізмів у кореневій і прикореневій зонах рослин, пригніченню патогенної мікрофлори, підвищенню родючості ґрунту порівняно з нативною формою добрив.

**Bulyhin S.<sup>1</sup>, Krolevets O.<sup>2</sup>, Kotsareva N.<sup>3</sup>, Kovalenko A.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 15 Heroiv Oborony Str., Kyiv, 03041, Ukraine, <sup>2</sup>Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Belgorod State University», 85 Pobiedy Str., Bielhorod, 308501, Russia, <sup>3</sup><sup>4</sup>Bielgorod State Agrarian University named after V.Ya. Gorin, 1 Vavilova Str., Maiskyi village, Bielgorod district, Bielgorod oblast, 308503, Russia; e-mail: <sup>1</sup>s.bulyhin@ukr.net, <sup>2</sup>krolevets@inbox.ru, <sup>3</sup>knv1510@mail.ru, <sup>4</sup>mycobacteria@rambler.ru; ORCID: <sup>3</sup>0000-0002-2701-6331

### **Influence of fertilizers on the microflora of the soil and rhizophora of mustard**

**Goal.** To determine the influence of fertilizers on the species composition of the microflora of the soil under mustard. **Methods.** The sowing of mustard seeds was carried out in a cardboard container with an area of 142 cm<sup>2</sup>, which was filled with typical chernozem. Monitoring of indicators of soil was carried out twice: before sowing (indigenous microflora), and at the end of vegetation of mustard. Analysis of microflora of typical chernozem was performed by growing colonies of soil microorganisms on solid nutrient media by the method of cultivation. **Results.** After the cultivation of mustard in the variant

without fertilization, the number of colonies was reduced to 75, in the variant with the native form of NPK — up to 88, in the variant with nanostructured forms of NPK — up to 79. They fixed a decrease in the number of bacteria colonies from 53 (dilution — 10–4) to 12 (dilution — 10–6) on GRM medium in the test sample of the soil before planting. The cultivation of mustard without fertilizer resulted in a reduction of colonies of bacteria to 20; 7; and 3 at dilution 10–4; 10–5; 10–6 accordingly. With fertilizers, the number of colonies after incubation was higher than without their use. The same trend was noted in the number of microorganisms. After incubation without fertilizer and nanostructured forms of NPK, the number of colonies of bacteria was decreased in 6 times at the dilution of 10–2, and incubation without the native form of NPK — in 5.4 times. **Conclusions.** The positive influence of nanostructured forms of NPK on the microflora of the soil is determined. They promote the preservation of beneficial microorganisms that form biocenosis of microorganisms in the root and near-root zones of plants, suppress pathogenic microflora, increase soil fertility as compared to the native form of fertilizers.

**Key words:** nanostructured form of NPK, mycorrhiza, root surface, colonies of bacteria, number of microorganisms.

**DOI:** <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202003-02>

## **Бібліографія**

1. Добровольський Г.В., Куст Г.С., Чернов І.Ю. Почвы в биосфере и жизни человека. Москва: ФГБОУ ВПО МГУЛ, 2012. 584 с.

2. Баздырев Г.И., Лошаков В.Г., Пулонин А.И. Земледелие. Москва: Колос, 2004. 552 с.

3. Патица В.П., Симочко Л.Ю. Мікробіологічний моніторинг ґрунту природних та трансформованих екосистем Закарпаття України. *Мікробіологічний журнал*. 2016. Т. 75. № 2. С. 21–31.

4. Гадзало Я.М., Патыка Н.В., Заришняк А.С. Агробиологія ризосфери рослин. Київ: Аграрна наука, 2015. 386 с.

5. Волкогон В.В., Пиріг О.В., Британ Т.Ю. Спрямованість ґрунтово-мікробіологічних процесів за впливу органічних і мінеральних добрив. *Вісник аграрної науки*. 2018. № 6. С. 5–11. doi: 10.31073/agrovisnyk201806-01

6. Волкогон В.В. Сільськогосподарська мікробіологія в Україні: здобутки, проблеми, перспективи. *Вісник аграрної науки*. 2018. № 11. С. 20–27. doi: 10.31073/agrovisnyk 201811-03

7. Никитин Д.И. Почвенная микробиология.

Москва: Колос, 1979. 4-е изд. 318 с.

8. Кауричева И.С. Почвоведение. Москва: Агропромиздат, 1989. 4-е изд. 719 с.

9. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов: учеб. Москва: Академия, 2004. 272 с.

10. Асонов Н.Р. Практикум по микробиологии. Москва: Агропромиздат, 1988. 155 с.

11. Волкогон В.В., Бердніков О.М., Токмакова Л.М., Ларченко І.В. Розвиток мікроорганізмів у ризосфері рослин вівса голозерного та врожайність культури за дії добрив і біопрепарату мікрогуміну. *Вісник аграрної науки*. 2017. № 2. С. 5–10.

12. Bulyhin S.Yu., Tonkha O.L. Biological evaluation of the rationality of soil usage in agriculture. *Agricultural Science and Practice*. 2018. V. 5. № 1. P. 23–29. doi: 10.15407/agrisp5.01.023

13. Volkohon V.V., Pyrig O.V., Volkohon K.I., Dimova S.B. Methodological aspects of determining the trend of organic matter mineralization synthesis processes in croplands. *Agricultural Science and Practice*. 2019. V. 6. № 1. P. 3–9. doi: 10.15407/agrisp6.01.003