

ІНСТИТУТ ЗЕМЛЕРОБСТВА
УКРАЇНСЬКОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК

На правах рукопису

ТОКМАКОВА Любов Миколаївна 

УДК 631.442.2
631.461.73

**РОЗРОБКА ПРИЙОМІВ І СТВОРЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ
ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ПОКРАЩЕННЯ ФОСФАТНОГО ЖИВЛЕННЯ
І ПІДВИЩЕННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ**

06.00.06 с/г науки
Спеціальність: ~~03.00.07~~ — мікробіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеню
кандидата сільськогосподарських наук



00751650 (O)

AB 38.861

Дисертаційна робота виконана в Інституті сільськогосподарської мікробіології УААН та Інституті землеробства УААН в 1977-1997 роках

Науковий керівник : доктор сільськогосподарських наук, член-кореспондент УЕАН Канівець Віктор Іванович, завідувач лабораторії біологічного фосфору Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор Головка Ераст Анатолійович, завідувач відділу аелопатії Центрального ботанічного саду НАНУ

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник Чайковська Людмила Олександрівна, заступник директора Південної філії Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, завідувач сектору біологічного фосфору

Провідна установа: Харківський державний аграрний університет ім.В.В.Докучаєва

Захист дисертації відбудеться 17 грудня 1997 року о 10 годині на засіданні Спеціалізованої вченої ради Д 01.20.01 при Інституті землеробства УААН

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту землеробства УААН

Відгуки на автореферат у двох примірниках, завірені печаткою, просимо надсилати за адресою:

255205 Київська обл., Києво-Святошинський район, смт. Чабани, Інститут землеробства УААН на ім'я вченого секретаря Спецради.

Автореферат розісланий 17 листопада 1997 року

Вчений секретар
Спеціалізованої вченої ради,
кандидат сільськогосподарських наук

Л.О.Кравченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. При вирощуванні цукрових буряків, дуже цінної для нашої країни сільськогосподарської культури, але однієї з найбільш енерго- і трудомістких, виникає необхідність вирішення цілої низки завдань.

По-перше, цукровий буряк, як культура, що потребує високої забезпеченості вологою, вирощується переважно в Лісостепу, в тому числі на вилугованих і кислих ґрунтах. Але оптимальні для неї ґрунтові умови – достатньо висока насиченість основами (Ca^{2+} , Mg^{2+} , частково- K^{+}) і значення рН – 7,0-7,5.

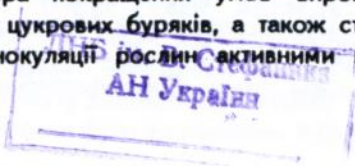
Враховуючи економічні та екологічні вимоги, посіви цукрових буряків намагаються розташовувати на обмежених площах. В зв'язку з цим, нерідко доводиться використовувати сівозміни з підвищеною насиченістю цукровими буряками. Але останнє супроводжується розвитком несприятливих в мікробіологічному відношенні властивостей ґрунтів, в тому числі і їх підкисленням, що змушує розробляти додаткові засоби покращення умов вирощування цукрових буряків (И.Г.Предко и др., 1988).

По-друге, в останні роки особливу гостроту набула проблема забезпечення фосфорного живлення рослин. Фосфорні туки стали, в зв'язку з недостатніми об'ємами їх виробництва і високою їх вартістю, малодоступними.

Проте, як альтернативний шлях певного покращення фосфорного живлення рослин є стимулювання процесу мікробіологічної мобілізації фосфору в ґрунті. Науковими установами розробляються прийоми активізації аборигенної мікрофлори і ведуться пошуки вирішення проблеми інокуляції рослин ефективними штамми фосфор-мобілізуючих бактерій.

Відомо декілька спроб створити фосфоробактерин (Менкіна, 1953, 1963; Мільто, Суховицька, 1991 та інш.). Але вони не отримали вчасного розвитку. Залишалися не вирішеними питання якості препаратів, приживання мікроорганізмів в ризосфері рослин, технологія виробництва препаратів та інш. Приваблюючим в цій проблемі є дешевизна продукту і його використання, екологічна бездоганність засобу.

Мета і завдання досліджень. Метою наших досліджень була розробка мікробіологічного обґрунтування прийому вапнування вилугованих ґрунтів, як фактора покращення умов вирощування, зокрема фосфорного живлення, цукрових буряків, а також створення бактеріальних препаратів для інокуляції рослин активними штамми фосформобілізуючих бактерій.



При цьому ставились наступні завдання:

- встановлення причин підкислення вилугованих ґрунтів при вирощуванні цукрових буряків;
- вивчення ролі вапнування, як фактора докорінних перетворень в мікрофлорі ґрунтів і покращення умов вирощування цукрових буряків;
- відбір ефективних штамів фосформобілізуючих бактерій і їх вивчення;
- вирішення питань про суміщення бактеризації з протруєнням насіння;
- розробка ТУ (технічних умов) на бактеріальні препарати і регламентів на дослідно-промислове їх виробництво, удосконалення технології бактеризації;
- польові випробування ефективності використання бактеріальних препаратів;
- економічна оцінка розробок.

Наукова новизна. Виявлені ефективні прийоми підсилення процесу мікробіологічної мобілізації фосфору при вирощуванні цукрових буряків – вапнування вилугованих ґрунтів у сівозмінах, насичених цукровими буряками та інокуляція рослин новими штамми ефективних фосформобілізуючих бактерій.

Виділені перспективні штами фосформобілізуючих бактерій *Bacillus poytuxa* KB і *Achromobacter album* 1122.

Встановлений мікробіологічний фактор підкислення вилугованих ґрунтів під цукровими буряками.

Створені два нові види фосфоробактерину під цукрові буряки-альбобактерин та поліміксобактерин – на основі *Bacillus poytuxa* KB і *Achromobacter album* 1122, відповідно. Використання їх можливе разом з обробкою насіння хімічними захисно-стимулюючими речовинами, зокрема з ТМТД та адифуром, і може виконуватися завчасно. Розроблена індустріальна технологія бактеризації насіння на насінневих заводах.

Розкриті фактори сприятливої дії альбобактерину та поліміксобактерину на продуктивність цукрових буряків, зокрема на покращення фосфорного живлення.

Практична цінність. Вапнування вилугованих ґрунтів зі значенням рН водного розчину 5,8-6,0 дозволяє підвищити насиченість сівозміні цукровими буряками, покращити їх фосфорне живлення, попередити розвиток ґрунтової цієї культури. Окупність затрат досягає 1:5.

Для мікробіологічної промисловості рекомендовані два ефективні штами фосформобілізуючих бактерій - *Bacillus poytuxa*

KB і *Aschtopobacter albit* 1122, та дослідно-промисловий регламент на виробництво альобактерину та поліміксобактерину.

Розроблена технологія використання бакпрепаратів, яка дозволяє підвищити врожай цукрових буряків на 6-14% і збір цукру на 3-10 ц/га. Окупність затрат при цьому складає 1:10.

На захист виносяться основні положення:

1. Наукове уявлення про те, що одним з найважливіших факторів підкислення ґрунтів при вирощуванні цукрових буряків є накопичення кислотоутворюючих бактерій.
2. Вапнування вилугуваних ґрунтів в буряковій сівозміні стимулює розвиток фосформобілізуючої мікрофлори і, таким чином, покращує фосфорне живлення цукрових буряків.
3. Штами *Aschtopobacter albit* 1122 і *Vasillus rotunxha* KB, які покращують фосфорне живлення цукрових буряків.
4. Метод протруєння насіння фунгіцидом ТМТД та інсектицидом адифуром в суміші з альобактерином та поліміксобактерином.
5. Регламенти виробництва препаратів.

Декларація особистого внеску. Проведення лабораторних та польових досліджень, аналіз і теоретичне обґрунтування одержаної наукової інформації виконано дисертантом особисто або за його безпосередньою участю. В проведенні досліджень і їх узагальненні доля автора – 70%.

Апробація роботи. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на засіданнях координаційно-методичної комісії УААН по сівозмінах (Суми, 1983; Кіровоград, 1987), Всесоюзній нараді, присвяченій 100-річчю книги В.В.Докучаєва "Русский чернозем" (Полтава, 1982), Всесоюзній конференції "Шляхи підвищення ефективності факторів інтенсифікації сільськогосподарського виробництва" (Вільнюс, 1986), Восьмому Всесоюзному з'їзді ґрунтознавців (Новосібірськ, 1989), науково-виробничій нараді на Вінницькому насіннєвому заводі, 1991, нараді по виробництву бактеріальних препаратів, організованій Мінсільгосспродом (Черкаси, 1994), на науково-технічній Раді секції землеробства і охорони навколишнього середовища Мінсільгосспроду, 1994, на нараді "Використання можливостей біологічної азотфіксації в сучасному ресурсозберігаючому землеробстві" (Ялта, 1997). Наукові звіти щорічно заслуховувалися на засіданні Вченої Ради Інституту сільськогосподарської мікробіології УААН, а також в Мінагропроні України. Дисертація заслухана на засіданні Методичної комісії з питань землеробства і рослинництва Інституту землеробства УААН.

Розроблені бактеріальні препарати були експонатами ВДНГ України.

Публікації результатів досліджень. Основний зміст дисертації викладено в 23 публікаціях, з них 12 - оригінальних, в тому числі є два патенти Російської Федерації (вони також є патентами України), брошура рекомендацій (співавторство), інформаційний листок. Особисто автором опубліковано дві статті.

Структура і обсяг роботи. Дисертація викладена на 135 сторінках машинописного тексту, включає літературний огляд, об'єкти і методи досліджень та 6 розділів за результатами досліджень. Крім того, до складу дисертації входять: вступ, висновки, рекомендації виробництву, список літератури з 260 найменувань, в тому числі 66 англійською і німецькою мовами, додатки. Містить 54 таблиці і 3 малюнки.

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єкти досліджень. Об'єктами досліджень були мікроорганізми ґрунту, головним чином бактерії, які засвоюють фосфор з $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і розчиняють цю сіль, цукрові буряки як сільськогосподарська культура, на якій вивчався вплив заходів і засобів активізації процесу мікробіологічної мобілізації фосфору, ґрунти під цією культурою та її ризосфера.

Дослідження проводились на протязі 1977-1997 р.р. Спочатку вони були присвячені вивченню ґрунтових мікробіологічних факторів, які лімітують врожайність цукрових буряків, розробці заходів покращення мікробіологічних умов при вирощуванні цієї культури на вилугованих ґрунтах, зокрема мобілізації фосфору. На другому етапі робота була присвячена відбору ефективних штамів фосформобілізуючих бактерій і створенню на їх основі нових видів бактеріальних добрив.

Дослідження проводились на лучно-чорноземному вилугованому легкосуглиновому ґрунті під Черніговом (поблизу с. Товстоліс) на дослідному полі лабораторії ґрунтової мікробіології нашого Інституту.

Головні характеристики ґрунту: гумус 2,8-3,4%, загальний азот - до 0,31%, рухомий P_2O_5 - 11-16 мг/100г, обмінний калій - 13-16 мг/100 г ґрунту, $\text{pH}_{\text{вод.}}$ 5,9-6,4.

В дослідях з бактеризованим насінням вносили добрива з розрахунку $\text{N}_{90}\text{K}_{120}$. Цукрові буряки вирощувалися в сівозміні, при вирішенні питань з валнуванням - в сівозмінах з різною насиченістю їх цією культурою. Вално вносилося в дозах 0,25-0,75 н за гідролітичною кислотністю, практикувалося повторне його внесення.

Велика частина досліджень проведена також на дослідному полі Носівської селекційної станції, зокрема в стаціонарі Інституту цукро-вих буряків, який від доктор сільськогосподарських наук Якименко В.М. Ґрунт - чорнозем вилугований, легкосуглиновий, гумус - 2,9-3,2%,

P_2O_5 — 14-19 мг/100 г ґрунту, K_2O — 9-11 мг/100 г, $pH_{вод.}$ — 5,8-6,1. Цукрові буряки вирощувалися в сівозмінах з 20-відсотковим насиченням цієї культурою.

Певна частина досліджень виконувалася на Драбівській дослідній станції, зокрема з 40-процентним насиченням сівозміни цукровими буряками (ґрунт — чорнозем глибокий малогумусний).

Польові досліді проводились також на чорноземі глибокому багатогумусному під Харковом, чорноземі опідзоленому біля Умані, сірих лісових ґрунтах на Вінниччині, під Києвом. Фосформобілізуючі бактерії виділялися в самих різноманітних ґрунтово-екологічних умовах—від Карпат до Сум і Хомутовського степу на сході, а також з ґрунтів за межами України.

Разом із старшим науковим співробітником Інституту цукрових буряків Пшеничук Р.Ф. закладавали дрібноділянкові досліді для вивчення проростків цукрових буряків. При вирощуванні цукрових буряків на врожай використовувались ділянки площею 25-100 м² і механізовані роботи. Виробнича перевірка ефективності заходів проводилась в господарствах на площі 10-150 га в кожному з них.

Інокуляція рослин проводилась шляхом передпосівної бактеризації насіння, а також заздалегідь до посіву — на насінневих заводах, одночасно з обробкою насіння захисно-стимулюючими речовинами, зокрема на Вінницькому (директор Мелимука Ю.М.).

Стійкість бактерій до отрутохімкатів вивчалась в лабораторних експериментах, а також шляхом обліку на бактеризованому насінні. Для спостережень за приживленням клітин бактерій в ризосфері використовувалися марковані штами (адаптовані до стрептоміцину).

Агрохімічні та мікробіологічні дослідження проводились загально-прийнятими методами.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

1. ВАПНУВАННЯ ВИЛУГОВАНИХ ҐРУНТІВ - ЩО НАЙВАЖЛИВІШИЙ ФАКТОР АКТИВІЗАЦІЇ В НИХ МІКРОФЛОРИ І ПОЛІПШЕННЯ ФОСФОРНОГО ЖИВЛЕННЯ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ

Необхідність внесення вапна при вирощуванні цукрових буряків на кислих лісових ґрунтах обґрунтувала О.О.Бровкіна (1972, 1976). Суть процесів, які протікають в ґрунтах при їх вапнуванні, та економічна ефективність агрозаходу висвітлюється також О.І.Гуменюком (1968), О.О.Плішко з співавторами (1981), Г.А.Мазуром з співавторами (1984) та ін.

Давно відомо, що у вапнованих ґрунтах збільшується вміст рухомих форм сполук фосфору, підвищується ефективність дії туків, зокрема фосфорних, але мікробіологічна сторона цього процесу не розглядалася.

При вирішенні питань про вапнування ґрунтів враховується, з одного боку, те, що оптимальною для цукрових буряків є реакція ґрунту, близька до нейтральної, з іншого — що мобілізація фосфору з ортофосфату кальцію оптимально протікає при $pH_{\text{вод.}} 5,8-6,0$. Важливе значення має з'ясування факторів формування кислотності в ґрунтах, серед них — геохімічний, поєднаний з агротехнікою, вимивання основ, відчуження Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} з урожаєм, а також вплив фізіологічно кислих азотних та калійних добрив.

Нами встановлено, що важливим фактором підкислення ґрунтів при вирощуванні цукрових буряків є також активний розвиток в ризосфері цієї культури кислотоутворюючих бактерій, зокрема *Clostridium butyricum*. За нашими підрахунками вони здатні продукувати до 2 т органічних кислот на 1 га. В польових дослідях на лучно-чорноземному легкосуглинковому ґрунті з $pH_{\text{вод.}} 6,0-5,9$ на третій рік беззмінного посіву цукрових буряків реакція середовища змінилась до значень 5,1-4,8. Урожайність різко впала, знизилась активність цілої низки агрономічно цінних мікроорганізмів. Вапнування стимулює їх розвиток. Зокрема, кількість фосформобілізуючих бактерій, що виявляються на середовищі Муромцева, зростає від 1,2-1,3 до 2-3 раз, досягаючи кількох мільйонів на 1 г ґрунту. Це, безумовно, позитивно впливає на вміст рухомого фосфору. Кількість його в ґрунті збільшується на кілька міліграмів з розрахунку на 100 г ґрунту. Таким чином, вапнування, викликаючи підвищену активність бактерій, які засвоюють фосфор з ортофосфату кальцію, розчиняючи його, покращує фосфорне живлення рослин.

Вапнування поліпшує також фітосанітарні умови росту і розвитку цукрових буряків. Зростає їх урожайність.

В табл.1 наводяться дані, отримані у виробничому досліді в колгоспі ім. Куйбишева Носівського району. Результати виробничої

Таблиця 1

Вплив вапна на деякі агрохімічні властивості чорнозему вилугованого і врожай цукрових буряків, 1988 р.

Варіант	Ґрунтові зразки	$pH_{\text{сол.}}$	Вміст P_2O_5		Урожайність, ц/га	Цукристість, %
			Ґрунт, мг/100г	Коренеплоди, % в сухій масі		
Без вапна	Ризосф.	4,7	14,6	0,18	410	16,3
	0-25 см	4,5	13,2			
Вапновано	Ризосф.	5,3	16,6	0,22	490	17,4
	0-25 см	5,4	15,4			

$HCN_{0,5}$ 28 ц/га
P- 7.2 %

перевірки підтверджують наші висновки. Економічний ефект при цьому склав 408 грн/га. Окупність зросла на 16 коп. на 1 грн витрат.

2. ШТАМИ *BACILLUS POLYMYXA* KB ТА *ACHROMOBACTER ALBUM* 1122- ОСНОВА ДЛЯ СТВОРЕННЯ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

В минулому спроби створення ефективного фосфоробактерину ґрунтувались, головним чином, на використанні бактерій, які руйнують органофосфати. Але відомо, що достатньо широко розповсюджені в ґрунтах і мікроорганізми, які розчиняють і мінеральні фосфати. Про це свідчать і результати досліджень, які висвітлені вище. Ця група мікроорганізмів також заслуговує на увагу, так як найбільш близький резерв фосфору в чорноземах представлений ортофосфатом кальцію, а також магнію.

Активність більшості мікроорганізмів розчиняти фосфати — невисока. Для створення бактеріальних препаратів необхідні високоефективні штами. Нами обстежена в цьому відношенні велика кількість різних ґрунтів, ризосфери сільськогосподарських культур. За активністю розчиняти $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в рідкому середовищі Муромцева відібрана низка штамів. Вони нагромаджують 0,4-0,8 г водорозчинного оксиду фосфору в 1 л культуральної рідини. Ефективність застосування цих штамів випробувана у польових дослідах. Вивчався вплив бактеризації на чисельність фосформобілізуючих бактерій в ризосфері цукрових буряків, а також на наростання біомаси рослин і урожайність.

В досліді було включено 12 штамів, а також стандартний штам *Bacillus megaterium* var *phosphaticum*. Бактеризувалось як непротруєне насіння цукрових буряків, так і оброблене фунгіцидом ТМТД, та інсектицидом адіфуром, які до останнього часу використовувались на насінневих заводах. Насіння бактеризувалось перед посівом, а також за 1-3 місяці до посіву. По результатах випробування відібрані два штами бактерій, які за сумою показників були найбільш перспективними для приготування на їх основі бактеріальних добрив.

На основі вивчення морфологічних і фізіологічних властивостей відібраних штамів визначено, що один з них (KB) відноситься до виду *Bacillus polymyxa*. Це факультативний анаероб, велика спороутворююча паличка, на крохмальному середовищі накоплює гранулозу, гідролізує желатин, фіксує азот, підкислює середовище до рН 4.2. Штам депонований, зберігається в колекції фосформобілізуючих бактерій під реєстраційним номером В-324 Д Всеросійського НДІ сільськогосподарської мікробіології.

Інший штам (1122) відноситься до виду *Achromobacter album*. Це малорухомі палички 1.5-2.0*0.6-0.7 мкм, спор не утворюють. Аероб, засвоює глюкозу з підкисленням середовища до рН 4.4, засвоює

органічну форму азоту. Штам депонований, зберігається у колекції фосформобілізуючих бактерій під реєстраційним номером В-322 Д Всеросійського НДІ с.-г. мікробіології.

За даними Інституту гігієни і токсикології (УкрНДІГІНТОКС) штами не патогенні і не токсигенні для теплокровних організмів.

Вивчення фізіологічних властивостей показало, що обидва штами продукують молочну і оцтову кислоти (*Bacillus polyuxa* KB - частково також масляну кислоту), які й зумовлюють розчинення $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Крім розчинення фосфатів штамам властиві і інші агрономічно цінні функції. Вони продукують стимулятори росту рослин і вітаміни (табл.2).

Застосування бактеріальних препаратів може бути ефективним лише в тому випадку, якщо мікроорганізми приживлюються і розмножуються в ризосфері та на корінні рослин.

В зв'язку з цим нами вивчалось питання приживлення бактерій в ризосфері цукрових буряків в умовах вегетаційних та польових дрібноділянкових дослідів. З цією метою використовувались штами марковані по стійкості до стрептоміцину. Деякі дані подаються в табл.3.

Таблиця 2

Фізіологічно активні речовини, які продукують мікроорганізми в культуральне середовище

Штами	β -індоліл-оцтова кислота, мкг/мл	Гібберелова кислота, мкг/мл	Тіамін (В ₁), мкг/л	Ціанокобаламін (В ₁₂), мкг/л
<i>Bacillus polyuxa</i> KB	80.0	55.0	0.02	0.025
<i>Achromobacter album</i> 1122	68.3	60.0	0.01	сліди

Таблиця 3

Приживлення бактерій в ризосфері цукрових буряків (вегетаційний дослід з стрептоміцинстійкими штамами)

Варіант	Кількість бактерій			
	в суспензії для бактеризації, млн/мл	на одній насінині, млн (24.04.91)	в ризосфері, млн/г	
			26.06	12.07
Без бактеризації	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Achromobacter album</i> 1122	340	1.3	0.7	0.6
<i>Bacillus polyuxa</i> KB	230	0.9	1.2	0.7

Вони свідчать, що, нанесені на насіння бактерії приживлюються в ризосфері цукрових буряків, розмножуються, чисельність їх збільшується.

3. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА І ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

Головними вимогами до бактеріальних препаратів - добрив, oprіч позитивної дії на врожай, є невисока вартість цих засобів і нескладна технологія їх застосування. Добраякісні препарати мають високий титр бактерій, достатній термін зберігання в них життєздатних клітин.

Розробка товарних форм препаратів на основі відібраних штамів здійснювались на базі центральної заводської лабораторії ВО "Укрбіохімпрепарати" (зав. лабораторією канд. хім. наук Н.Л. Краснобрижій).

Для вирощування бактеріальної маси використані: основа сольового складу лабораторних поживних середовищ, меласа - джерело легкозасвоюваних вуглеводів і кукурудзяний екстракт - джерело органічного азоту, мікроелементів, стимуляторів росту.

Для активного розвитку мікроорганізмів, забезпечення високого титру бактерій оптимізували реакцію середовища і режим аерації. Визначили період ферментації мікроорганізмів. Рідкий препарат вважався готовим за 48 годин. Він містив не менше 5 млрд клітин (для *Vas. rolyumuxa* KB - спор) в 1 мл.

Схема технологічного процесу охоплює виготовлення маточних культур і посівного матеріалу на кругових коливалках, виробництво рідкого препарату в ферментері на 140 л, виготовлення сухого препарату шляхом застосування випарувальної установки, фасування препаратів.

В цілому розроблені і належним чином затверджені технічні умови на рідкі і сухі препарати - альбобактерин і поліміксобактерин, дослідно-промислові регламенти їх виробництва.

Враховуючи відомі труднощі, з якими стикаємось при застосуванні передпосівної бактеризації насіння цукрових буряків, нами проводились необхідні дослідження з метою суміщення операцій по протруєнню і бактеризації насіння. Надії на успіх підтримувались тим, що, як було нами встановлено, насіння, оброблене на заводах захисно-стимулюючими речовинами, несе на собі велику кількість життєздатних клітин різноманітних бактерій. Звідси робився висновок про можливість відбору штамів, на життєздатність яких мало б впливали фунгіциди і інсектициди (певного виду).

В лабораторних експериментах встановлено, що *Achr. album* 1122 і *Vas. rolyumuxa* KB зберігають життєздатність в робочій суміші, якою протрується насіння, на протязі 60 діб (в присутності ТМТД і адіфуру). Більш того, останній на перших етапах навіть розмножується. Помітно

негативно на ці мікроорганізми впливає новий фунгіцид - сульфокарбатон.

Ще в більш жорсткі умови попадають бактерії після їх нанесення на насіння. В цьому випадку клітини мають зберігати життєздатність не лише в умовах тиску хімікатів, а й значного висушування. В таблиці 4 показана динаміка чисельності клітин бактерій на сухому протруєному насінні.

Таблиця 4

Динаміка чисельності фосформобілізуючих бактерій на протруєному насінні цукрових буряків (Бактеризовано 18.03.91 р., ТМТД, адіфур)

Штам	Кількість бактерій, млн/насініну					
	Білоцерківська 45			Уладівська 35		
	23.03	04.04	06.06	20.03	04.04	06.06
Vac. polytuxa KB	1.2	0.8	0.4	1.3	0.8	0.3
Achr. album 1122	2.3	1.2	0.2	1.4	0.7	0.2

Із таблиці видно, що через 2.5 місяці після заводської бактеризації на насінні залишилось по 200-400 тисяч життєздатних клітин і спор, що достатньо для інокуляції рослин.

Таким чином маємо мікроорганізми, які стійкі до деяких отрутохімікатів, зберігають життєздатність на сухому протруєному насінні впродовж понад 2 місяці. Грунтуючись на цьому нами запропонована і відпрацьована індустріальна (заводська) технологія бактеризації насіння.

При цьому рідкі препарати вносять в робочу суміш із захисно-стимулюючих речовин, якою оброблюється насіння на насінневих заводах (адіфур, ТМТД), в господарства надходить бактеризоване насіння. Така операція здійснюється на протязі 3-х місяців до посіву, тобто починаючи з лютого.

В зв'язку з введенням в процес обробки насіння цукрового буряка додаткової операції по бактеризації насіння, розроблений і затверджений "Додаток до інструкції по обробці насіння цукрових буряків на насінневих заводах, його зберіганню, транспортуванню і використанню."

4. РЕЗУЛЬТАТИ ПОЛЬОВОГО ВИПРОБУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІМІКСОБАКТЕРИНУ І АЛЬБОБАКТЕРИНУ

Для оцінки дії розроблених нами бактеріальних препаратів на продуктивність цукрового буряка, вивчали схожість бактеризованого насіння, захисну роль препаратів, захворюваність коренеїдом, інтенсивність наростання біомаси в перші фази росту і розвитку рослин, умови фосфорного живлення рослин, визначали врожайність та вміст цукру в коренеплодах.

Як свідчать отримані дані (деякі з них подаються в табл.5) істотний вплив бактеризації проявляється вже в перші фази розвитку рослин. Так, схожість насіння підвищується до 8%, захворюваність коренеїдом зменшується в 1.5-2.0 рази, зменшується пригнічуючий вплив на проростки отрутохімікатів, біомаса проростків у фазі 1-2 пар листків зростає на 9-15% і більше.

Таблиця 5
Ефективність бактеризації насіння цукрових буряків (1994 р.)

Варіант	Схожість		Коренеїд		Вага 100 рослин	
	%	підвищення схожості, %	поширення хвороби, %	розвиток хвороби, %	г	приріст біомаси, %
Контроль - ТМТД, адіфур	67		48.6	16.8	11.7	
Альбобактерин	75	8	41.8	13.7	12.8	9.4
Поліміксобактерин	75	8	27.7	13.0	13.3	13.6

Судячи по впливу на врожай, найбільш ефективною є передпосівна бактеризація непротруєного насіння. Приріст врожаю складає 15-21%. Зауважимо, що всі польові досліди проведені на високому агротехнічному рівні, урожайність на контролі складала 450-470 ц/га.

При суміщенні бактеризації з протруєнням ефективність її знижується, але залишається істотною - від 6 до 14%. В табл. 6 подаються середні дані, отримані на дослідному полі нашої лабораторії.

Таблиця 6
Вплив бактеризації на врожайність цукрових буряків (лучно-чорноземний вилугуваний ґрунт, середні дані за 1993-1996 рр.)

Варіант	Урожайність, ц/га	Приріст		Цукристість, %	Збільшення збору цукру, ц/га
		ц/га	%		
Контроль - ТМТД, адіфур	470			17.0	
Альбобактерин	525	55	11.7	17.6	9.7
Поліміксобактерин	530	60	12.8	17.2	10.3

Вивчення умов фосфорного живлення рослин показало, що під впливом бактеризації вміст фосфору в коренеплодах зростає на 7-20%, спостерігається тенденція до збільшення кількості рухомого

фосфору в ризосфері інокульованих рослин. Збільшення врожайності під впливом бактеризації не супроводжується погіршенням якості врожаю. Цукристість коренеплодів не зменшується.

В дисертації наводяться дані інших наукових установ, яким направлялось бактеризоване насіння. Наші висновки підтверджуються.

Проведена виробнича перевірка ефективності застосування альбобактерину і поліміксобактерину. При цьому господарствам направлялось бактеризоване насіння з насіннєвих заводів. Копії актів по восьми господарствах і двох дослідних станціях подані в додатках до дисертації.

В дисертації наводяться також розрахунки економічної ефективності застосування даної біотехнічної розробки. Окупність при вирощуванні цукрових буряків зростає на 21 копійку на 1 грн витрат. Економічний ефект досягає 400 грн/га.

ВИСНОВКИ

1. Вирощування цукрових буряків супроводжується інтенсивним розвитком в їх ризосфері кислотоутворюючих бактерій, зокрема *Clostridium butyricum*, що є одним з щонайважливіших факторів збільшення кислотності вилугованих ґрунтів. Особливо негативні наслідки спостерігаються в сівозмінах з підвищенням насиченням цієї культурою, що викликає необхідність внесення вапна на ґрунтах з $pH_{вод.}$ 6.0-5.8 і нижче.

2. Вапнування посилює біологічну активність ґрунтів, поліпшує фітосанітарні умови вирощування цукрових буряків, стимулює розвиток азотобактера та фосформобілізуючої мікрофлори, зокрема тієї, що засвоює фосфор із важкодоступних фосфатів і розчиняє ортофосфат кальцію. Останнє покращує фосфорне живлення цієї культури, підвищує її врожайність на 5-20%.

3. Серед бактерій, що розчиняють фосфати, відібрані нові активні штами - *Achromobacter album* 1122 і *Bacillus polymyxa* KB. Вони продукують також стимулятори росту та вітаміни, достатньо стійкі до дії фунгіциду ТМТД і інсектициду адіфуру, прикиваються в ризосфері цукрових буряків.

4. На основі *Bacillus polymyxa* KB і *Achromobacter album* 1122 створені нові бактеріальні препарати альбобактерин та поліміксобактерин, ТУ (технічні умови) на препарати і дослідно-промислові регламенти їх виробництва. Розроблена заводська (індустріальна) технологія бактеризації насіння цукрових буряків, суміщена з протруюванням. Вона може здійснюватись за 3 місяці до посіву.

5. Бактеризація підвищує схожість насіння на 5-12%, знижує пригнічуючу дію протруювачів (стимулюючи розвиток сходів), покращує фосфорне живлення цукрових буряків, підвищує врожайність на 6-14%, збір цукру - на 3-10 ц/га. При посівах непротруєним насінням

препарати суттєво захищають рослини від ураження коренеюдом, знижуючи захворюваність в 1,5-2,0 рази.

6. Валпсування вилугованих ґрунтів при вирощуванні на них цукрових буряків і застосування нових бактеріальних препаратів (альбобактерину і поліміксобактерину) є високоефективними засобами підвищення продуктивності цієї сільськогосподарської культури. В першому випадку на одиницю витрат, зв'язаних з застосуванням заходу, одержують до 5 одиниць прибутку, в другому – біля 10.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. При вирощуванні цукрового буряка на вилугованих ґрунтах з $pH_{вод.}$ 6.0-5.8 і нижче і підвищеною насиченістю сівозмін цієї культурою (більше 20%) рекомендується вносити валпо в дозах 0.50-0.75н за гідролітичною кислотністю. Валпсування попереджає розвиток ґрунтової кислотності, яка пов'язана з вирощуванням цукрових буряків, оздоровлює фітосанітарні умови, сприяє розвитку фосформобілізуючих та інших агрономічно цінних мікроорганізмів.

2. Для підвищення продуктивності цукрових буряків рекомендуються нові бактеріальні препарати альбобактерин та поліміксобактерин. Інокуляцію насіння цукрових буряків слід проводити на насіннєвих заводах одночасно з захисно-стимулюючими речовинами.

Роботи, опубліковані по темі дисертації.

1. Канивец В.И., Токмакова Л.Н. Мобилизация фосфора микроорганизмами в черноземе выщелоченном под сахарной свеклой и влияние на этот процесс извести //Бюл.ВНИИСХМ.-Л.-1987.-№47.-С.32-35.

2. Предко И.Г., Гаврилюк М.С., Токмакова Л.Н. Свекла в севооборотах Левобережной Лесостепи Украины //Сахарная свекла.-1988.-№1.-С.28-31.

3. Токмакова Л.Н. Почвоутомление к сахарной свекле и приемы борьбы с ним //Использование достижений микробиологической науки в повышении эффективности земледелия.-Киев,1989.-С.40-45.

4. Торжевський В.І., Філенко В.Л., Токмакова Л.М. Вплив добрив на вміст нематод у чорноземі вилугованому під цукровим буряком, який вирощується в сівозміні та монокультурі // Вісник аграрної науки.-1991.-№10.-С.25

5. Токмакова Л.Н. Штаммы Bacillus polymyxa и Achromobacter album- основа для создания бактериальных препаратов// Микробиологічний журнал.-1997.-59.-№4.-С.131-138.

6. Канівець В.І., Токмакова Л.М. Проблеми і здобутки в бактеризації насіння - екологічно безпечного заходу поліпшення мінерального живлення рослин і їх захисту // Труды Межгосударственной научной конференции.- Киев, СОПС України, НАН України. 1997.-Часть 3.- С.161-162.

7. Рекомендації по ефективному застосуванню біопрепаратів азотфіксуючих та фосформобілізуєчих бактерій в сучасному ресурсозберігаючому землеробстві // Під ред. Патики В.П. -Київ, 1997.

8. Канівець В.І., Токмакова Л.Н. Предупреждение почвоутомления к сахарной свекле // Информационный листок, Черниговский ЦНТИ, 1989.

9. Канівець В.І., Токмакова Л.М., Якименко В.М. Вынос кальция сахарной свеклой и влияние известкования на урожай этой культуры и ее качество на черноземах выщелоченных //II съезд почвоведов и агрохимиков Украинской ССР (Харьков, октябрь 1986): Тез.докл.- Харьков, 1986.-С.40-41.

10. Канівець В.І., Токмакова Л.М., Солов'ян Т.В. Про бактеризацію насіння цукрових буряків на промисловій основі //Мікробіологічний журнал. 1994.-56.-№2.-С.61.

11. Пат. 2035442 Российская Федерация, МКИ 6 С 05 F 11/08. Штамм бактерий *Achromobacter albus* для изготовления препарата, повышающего сахаристость и урожай сахарной свеклы / Канівець В.І., Токмакова Л.Н., Мельмука Ю.Н.-Опубл. 20.05.95; Бюл. №14.-12с.

12. Пат.2035507 Российская Федерация МКИ, 6 С 05 F 11/08. Штамм бактерий *Bacillus poptuka* для производства стимулятора роста сахарной свеклы / Канівець В.І., Токмакова Л.Н., Мельмука Ю.Н. - Опубл. 20.05.95; Бюл. №14. - 12с.

АНОТАЦІЯ

Токмакова Л.М. Розробка прийомів і створення мікробіологічних препаратів для покращення фосфатного живлення і підвищення продуктивності цукрових буряків

Рукопис дисертації на здобуття вченого ступеню кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. Інститут землеробства УААН, Київ, 1997 р.

В дисертації узагальнені результати наукових досліджень за період 1977-1997 р.р., виконані в Інституті сільськогосподарської мікробіології УААН і опубліковані в 23 друкованих роботах.

Представлені матеріали про причини збільшення кислотності ґрунтів під цукровими буряками, вплив вапнування на процес мікробіологічної мобілізації фосфору в ризосфері. Приводиться характеристика нових штамів бактерій, що активно розчиняють $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, результати інокуляції ними насіння цукрових буряків, обґрунтовується можливість поєднання бактеризації насіння і обробки його інсектицидом адифуром та фунгіцидом ТМТД. Дані характеристика нових видів фосфоробактерину – альобактерину та поліміксобактерину, технологія їх виробництва та використання. Обґрунтовується ефективність їх використання при підготовці насіння цукрових буряків до посіву.

Ключові слова: бактерії, які розчиняють фосфати, вапнування, фосфоробактерин, технологія його виробництва

АННОТАЦИЯ

Токмакова Л.Н. Разработка приемов и создание микробиологических препаратов для улучшения фосфатного питания и повышения продуктивности сахарной свеклы

Рукопись диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.00.07 — микробиология. Институт земледелия УААН, Киев, 1997 г.

В диссертации обобщены результаты научных исследований за период 1977-1997 г.г., выполненные в Институте сельскохозяйственной микробиологии УААН и опубликованные в 23 печатных работах.

Представлены материалы о причинах увеличения кислотности почв под сахарной свеклой, влиянии известкования на процесс микробиологической мобилизации фосфора в ризосфере. Приводится характеристика новых штаммов бактерий, активно растворяющих $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, результаты инокуляции ими семян сахарной свеклы, обосновывается возможность сочетания бактеризации семян и обработки их инсектицидом адифуром и фунгицидом ТМТД. Помещены характеристика новых видов фосфоробактерина — альбобактерина и полимиксобактерина, технология их производства и применения. Обосновывается эффективность их использования при подготовке семян сахарной свеклы к посеву.

Ключевые слова: бактерии, растворяющие фосфаты, известкование, фосфоробактерин, технология его производства.

ABSTRACT

Tokmakova L.M. The elaboration of methods and creation of microbiological ways of making phosphorus nutrition better and heightening the productivity of sugar beet.

The manuscript of the thesis for Kandidat Degree in Agricultural Science, speciality 03.00.07 - microbiology. Institute of Agriculture UAAS, Kiev, 1997.

In the thesis scientific investigations results of the period 1977 - 1997, which were made in Institute of Agricultural Microbiology UAAS and published in 23 printed works are generalized.

In the thesis one can find the materials about the reasons of heightening acids of soils in which sugar beet is grown, the influence of the liming on the process of microbiological phosphorus mobilization in rhizosphere. There is also characteristic of new bacteria strains, which actively dissolve $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, the results of the inoculation of the sugar beet's seeds by them, the possibility of the combination of seeds' bacterization and their cultivation by insecticide carbofuran and fungicide TMTD is proved. The characteristic of new types of phosphobacterin the albobacterin and the polymyxobacterin has place here. The efficacy of their use while preparation of sugar beet's seeds to be sown is proved.

Key words: bacteria, phosphate dilution, liming, phosphobacterin

АВ 38.861



Зам. № 1010

Тираж 100 прим.

Чернігівський технологічний інститут
250027, м. Чернігів, вул. Шевченка, 95

Підп. до друку 14.11.97р.

Ум. др. арк. 1,2