

УДК 574.26.+631.472.74

## ХАРАКТЕРИСТИКА ДОМІНУЮЧИХ БАКТЕРІЙ РИЗОСФЕРИ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ, ВИРОЩУВАНОЇ НА ЧОРНОЗЕМІ

Л. Ю. Симочко, В. В. Симочко

*Характеристика домінуючих бактерій ризосфери озимої пшениці, вирощуваної на чорноземі. — Л. Ю. Симочко, В. В. Симочко. — В статті розглянуто, як змінюється чисельність домінуючих бактерій ризосфери озимої пшениці в залежності від застосованих агрозаходів та стадії розвитку рослин. Представлені результати досліджень культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних властивостей домінуючих ризосферних бактерій.*

**Ключові слова:** озима пшениця, агротехнології, домінуючі бактерії, ризосфера, фізіолого-біохімічні властивості.

**Адреса:** Ужгородський національний університет, вул. Волошина 32, м. Ужгород, 88000, e-mail: ecosymochko@mail.ru.

*Characteristic dominating bacteria rhizosphere of winter wheat, growing in chernozem — L. Y. Symochko, V. V. Symochko. — In the article is considered as the number of dominating bacteria rhizosphere of a winter wheat is changed depending on used agrotechnologies and stages of development of plants. The outcomes of researches of cultural-morphological and physiological-biochemical properties of dominating rhizospheric bacteria are represented.*

**Key words:** winter wheat, agrotechnologies, dominating bacteria, rhizosphere, physiological-biochemical properties.

**Address:** Uzhgorod national university, Voloshyn str., 32, Uzhgorod, 88000, Ukraine, e-mail: ecosymochko@mail.ru.

### Вступ

Базовим компонентом будь-якого агроландшафту є ґрунт. Від його стану в значній мірі залежить продуктивність та стійкість агроєкосистем. Ґрунт надзвичайно складне утворення за хімічними та фізичними властивостями, які визначають умови життєдіяльності різноманітних груп ґрунтових мікроорганізмів [1]. Не дивлячись на те, що ґрунтова біота володіє високою здатністю пристосовуватися до умов навколишнього середовища, застосування різноманітних агротехнологій призводить до значних змін у співвідношенні еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів, зокрема у ризосфері рослин [2]. Ризосфера будь-якої сільськогосподарської культури характеризується специфічним мікробним ценозом, домінуючі види якого беруть участь як у процесах ґрунтоутворення, так і безпосередньо впливають на агрофітоценоз [3]. Однак, які зміни відбуваються у мікробному угрупованні кореневої зони озимої пшениці при застосуванні різних агротехнологій і якими фізіологічними та біохімічними властивостями характеризуються домінуючі бактерії, залишається не висвітленим. У зв'язку з цим, метою роботи було виділення домінуючих бактерій з ризосфери озимої пшениці вирощуваної у сівозмінній та при беззмінному культивуванні, дослідження їх культурально-морфологічних та фізіолого-біохімічних властивостей.

### Матеріали та методи досліджень

Матеріалом досліджень слугували зразки ґрунту стаціонарного досліді Миронівського інституту пшениці ім. В.М. Ремесла.

Ґрунт – повнопрофільний чорнозем типовий, глибокий, малогумусний, слабовилугований, середньосуглинкового гранулометричного складу.

Гумусовий ґрунт 38-42см, карбонати містяться на глибині 45-65см. рівень залягання ґрунтових вод 5,5-6,0 м від поверхні ґрунту. Вміст в орному шарі гумусу 4,18% (фон), рухомого фосфору (за Труогом) 12,8-18,9мг, обмінного калію (за Масловою) – 9,5-12,7мг/100г ґрунту, рН сольове – 5,2-6,5; гідролітична кислотність – 1,7-2,2 мг.екв на 100 г ґрунту; ступінь насиченості основами – 81-92,6%.

Схема досліді:

I-й стаціонар – з 1929 року	II-й стаціонар – з 1929 року
Сівозміна (попередник горох)	Монокультура озимої пшениці
Контроль (без добрив)	Контроль (без добрив)
Гній 30т/га	Гній 30т/га
Гній 30т/га+ N60 P60 K60	Гній 60т/га
N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>
N <sub>120</sub> P <sub>120</sub> K <sub>120</sub>	N <sub>120</sub> P <sub>120</sub> K <sub>120</sub>

Загальну чисельність ґрунтових мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп визначали в певні фази, а саме – кушіння, трубкування, цвітіння, молочно-воскова стиглість. Мікробіологічні аналізи проводились за загальноприйнятими методиками [4, 5]. Так, амоніфікуючі бактерії ураховували на м'ясопептонному агарі (МПА), спороутворювальні бактерії – на МПА з сушлом після прогріву при 75°C протягом 20 хвилин, бактерії, що використовують мінеральний азот – на крохмаль-аміачному агарі (КАА). Домінуючі бактерії виділяли за морфологічними ознаками колоній, а саме: колір колоній, розмір (10 мм і більше – крупні, від 1-10 мм – середні, менше 1 мм – точкові), краї колонії, її консистенція, та ізолювали в чисту культуру [5, 6].

Здатність бактеріальних клітин фарбуватись за Грамом проводили за модифікацією А. Синєва [7]. Визначення потреб бактерій у кисні проводили за Є. Теппером [8]. Наявність флюоресцируючого пігменту в бактеріях визначали на середовищі Кінга В [9].

Наявність оксидазної активності вивчали методом Н. Ковача [10]. Каталазну активність бактерій визначали за допомогою 10%-го розчину пероксиду водню. Дводобову культуру розтирали на предметному склі та додавали по 1 краплині розчин  $H_2O_2$ . Поява бульбашок газу свідчила про наявність у бактерій ферменту каталази [11].

Для виявлення протеолітичних ферментів у ґрунтових мікроорганізмів використовували 15%-у м'ясо-пептонну желатину. Висів на желатину проводили уколом петлі з культурою бактерій у середину стовпчика, не доходячи трохи до дна пробірки. Пробірки залишали при кімнатній температурі. Протеоліз визначали за розрідженням желатини. Цей процес проходить неоднаково – швидко або повільно, поверхнево чи глибинно. Відмічали початок розрідження та його кінець, а також утворення газу [12]. Забарвлення спор проводили за методом Пешкова. [8].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за Доспеховим [13]

### Результати досліджень

Вивчення морфо-культуральних властивостей є важливим початковим етапом дослідження. Саме по даним ознакам були виділені бактерії-домінанти з ризосфери озимої пшениці. Домінантами вважались мікроорганізми, які склали більше 10% від загальної кількості колоній на чашці Петрі [4]. При цьому колонії домінантів визначали візуально за культуральними ознаками.

Культивовані на МПА бактерії-домінанти – амоніфікатори, що були ізольовані з ризосфери ґрунту, при температурі 22-24°C утворювали помітні неозброєним оком колонії через 48-72 години. Амоніфікатори формували колонії двох типів за формою: округлі та сочевичкоподібні. Причому на ранніх фазах розвитку озимої пшениці (кушіння та

трубкування) спостерігались ізоляти, здебільшого округлої форми та, в меншій кількості, сочевичкоподібні. Натомість у фази цвітіння та молочно-воскової стиглості з ризосфери озимої пшениці були виділені доміанти виключно з округлою формою колоній. Забарвлення колоній – прозоре, прозоре з білими краями, молочно-біле, біле, кремове. В окремих випадках спостерігались колонії, що мали жовте забарвлення різних відтінків. У фази кушіння, трубкування та цвітіння озимої пшениці колір колоній домінантів був різноманітним, а в фазу молочно-воскової стиглості всі виділені колонії були напівпрозорими.

Розмір колоній виділених домінантів в усіх фазах розвитку озимої пшениці – варіабельний. Зустрічались колонії точкові (менше 1 мм), середнього розміру (від 1 мм до 10 мм) та крупні (більше 10 мм). Серед них найбільш розповсюдженими були колонії середнього розміру.

За консистенцією колонії домінантів на МПА поділялись на щільні, ті, що розмащуються по поверхні та водянисті. Поверхня колоній, здебільшого, була гладенькою, блискучою, але зустрічались зморшкуваті, нерівні блискучі, гладенькі матові колонії. Наприкінці онтогенезу озимої пшениці у ризосфері домінували бактерії, які утворювали на МПА гладенькі блискучі колонії, які розмащувались по поверхні. Натомість у попередніх фазах розвитку пшениці серед домінантів були і ті, які мали зморшкувату, гладеньку матову поверхню та щільну або водянисту консистенцію. Край колоній досліджуваних бактерій був рівний, нерівний, хвилеподібний, лопатевий. Профіль колоній – випуклий, напіввипуклий та плоский. Край і профіль домінуючих бактерій, виділених з ризосфери озимої пшениці був різним в усіх фазах розвитку як у сівозміні, так і в монокультурі.

За фарбуванням по Граму доміанти, культивовані на МПА представляли одну групу – грамнегативні палички різної конфігурації, які в мазках мали рожеве забарвлення, розміщувались попарно, ланцюжками та, зрідка, поодинокі. За величиною – це дрібні тоненькі палички, палички середнього розміру та товсті великі, які зустрічались поодинокі у деяких варіантах при різних фазах розвитку озимої пшениці. Так, у фазу кушіння при культивуванні озимої пшениці у сівозміні майже у всіх варіантах удобрення спостерігались доміанти бактерій у вигляді дрібних паличок. Натомість у ту ж саму фазу розвитку при беззмінному культивуванні озимої пшениці спостерігались як дрібні палички, так і палички середнього розміру. У фазу трубкування та цвітіння як у сівозміні так і в монокультурі доміанти мали форму великих або середніх за розміром паличок. У фазу молочно-воскової стиглості озимої пшениці – це були дрібні або середнього розміру палички, як у варіанті сівозміни, так і в монокультурі.

Загалом, протягом фаз кушіння, трубкування, цвітіння та молочно-воскової стиглості озимої

пшениці, культивованої в чорноземі при різних варіантах удобрення було виділено 152 ізоляти домінуючих бактерій, культивованих на МПА.

Азот – один з основних біофільних елементів, який визначає первинну продуктивність більшості природних та штучних біогеоценозів.

В його трансформації задіяна величезна кількість ґрунтових мікроорганізмів, зокрема у цьому процесі приймають участь і бактерії, що здатні асимілювати мінеральний азот. Домінуючі бактерії, які здатні використовувати мінеральний азот ізолювали в чисту культуру з крохмаль-аміачного середовища (КАА).

Загалом, на крохмаль-аміачному середовищі, протягом онтогенезу озимої пшениці при культивуванні в чорноземі, з ризосферного ґрунту було виділено 148 ізолятів.

При культивуванні бактерій на КАА при температурі 22-24<sup>0</sup>С візуально видимі колонії спостерігались на 72-96 години. Домінуючі бактерії, культивовані на КАА, в усі фази розвитку озимої пшениці незалежно від варіанту удобрення мали округлу форму.

Колір колоній був різноманітним – білий напівпрозорий, білий, молочно-білий, жовтий, рожево-оранжевий, кремовий. Така різноманітність кольору спостерігалась майже на протязі всього онтогенезу озимої пшениці, лише у фазу молочно-воскової стиглості переважали прозорі та білі колонії. В сівозміні даної фази розвитку пшениці у варіантах з органічним та органо-мінеральним удобренням виявлено колонії, що мали рожево-оранжеве забарвлення.

За розміром, колонії поділялися на точкові (менше 1 мм) та середні розміром від 1мм до 10мм. Крупних колоній, що мали б розмір більше ніж 10 мм не виявлено.

Поверхня у всіх виділених домінантів була або гладенькою блискучою, або гладенькою матовою, при чому більшість виділених домінантів мали перший тип поверхні колоній. Профіль – плаский або випуклий, край рівний (в більшості варіантів), нерівний та хвилеподібний. Консистенція – водяниста, щільна, в'язка у поодиноких випадках, або розмащувалась по поверхні.

Аналіз досліджуваних ізолятів показав, що всі бактерії були грамнегативними паличками. Причому, зустрічались дрібні палички (в більшості мажків), палички середнього розміру та веретеноподібної форми. Слід відмітити, що на початку онтогенезу озимої пшениці, як у сівозміні, так і в монокультурі домінанти мали вигляд дрібних паличок. У фазу молочно-воскової стиглості зустрічались палички середнього розміру, веретеноподібні та тонкі палички.

З ризосфери озимої пшениці було виділено 138 штамів домінуючих спороутворювальних бактерій. При культивуванні бактерій на м'ясопептонному агарі з суслом при температурі

22-24<sup>0</sup>С видимі колонії спостерігали на 120-144 години після висіву.

Більшість колоній спорових бактерій мали біле забарвлення. Поодинокі зустрічались колонії кремового кольору, білі з напівпрозорим краєм. Жовті колонії спостерігались лише у фазу трубкування. На початку онтогенезу озимої пшениці у ризосфері спостерігались спорові домінанти точкового або середнього розміру. Крупні за розміром колонії були виявлені у фазу молочно-воскової стиглості як у сівозміні, так і в монокультурі. Форма – округла, сочевичкоподібна, колонії грибоподібної форми. У початковій фазі розвитку, домінанти мали гладеньку блискучу поверхню колоній, випуклий профіль та хвилеподібний край колоній. Наприкінці розвитку озимої пшениці переважали бактерії, колонії яких мали суху, зморшкувату поверхню, плаский профіль та нерівний край колоній. Консистенція – щільна (в більшості) або розмащувалась по поверхні. У деяких варіантах зустрічались колонії з твердою крихкою консистенцією або в'язкі.

За фарбуванням по Граму всі досліджувані ізоляти бактерій відносяться до грам-позитивних паличок, які були забарвлені у фіолетовий колір. В основному, це короткі товсті палички або палички середнього розміру з чітким контуром. Розміщення, здебільшого, поодинокі, зрідка парами або короткими ланцюжками (одинокі випадки).

Загалом, кількісний склад домінантів, які відрізняються за морфо-культуральними ознаками, змінюється протягом всього онтогенезу озимої пшениці. Так, найбільша кількість домінантів була виділена у початковій фазі розвитку озимої пшениці, особливо у фазу кушіння. Варіанти з органічною та органо-мінеральною системами удобрення при культивуванні озимої пшениці в сівозміні характеризувались найбільшою кількістю домінантів, порівняно з іншими варіантами удобрення.

У сівозміні найбільшу кількість домінантів становили амоніфікатори (98 ізолятів), а в монокультурі – спороутворювальні бактерії (67 ізолятів).

За повідомленнями багатьох вчених [14, 15, 16], амоніфікаторами виступають бактерії роду *Bacillus*, *Pseudomonas* та *Clostridium*, характерні ознаки яких наведені у таблиці 1 згідно Визначника Берджі [17].

Проведено вивчення тих фізіолого-біохімічних властивостей, які є диферентними для амоніфікаторів.

Культивування всіх вищезгаданих ізолятів на середовищі в анаеробних умовах, що дало змогу встановити, що всі без виключення ізоляти представляють велику групу грамнегативних аеробних паличок. Результати вивчення деяких інших властивостей виділених домінантів амоніфікуючих бактерій наведені у таблиці 2.

З 152 досліджуваних ізолятів флюоресцируючий пігмент був наявний у 137, але 17 ізолятів на середовищі Кінга В не виділяли пігменту і не викликали флюоресценцію середовища. Ізоляти,

яким не притаманна наявність флюоресцируючого пігменту, найчастіше спостерігались у ризосфері озимої пшениці, що вирощувалась у сівозміні.

Розрідження желатини здійснювали більшість ізолятів, а саме 141, при чому, у фази цвітіння та молочно-воскової стиглості ця ознака була характерна для всіх досліджуваних ізолятів. Ізоляти, які не розріджували желатину, були виділені з ризосфери озимої пшениці на початку онтогенезу, у фази кушіння та трубкування, як у сівозміні, так і при беззмінному вирощуванні озимої пшениці.

Проведені тести на каталазу та оксидазу не виявили різниці між групами досліджуваних ізолятів, відібраних у різні фази розвитку озимої пшениці. Порівняльний аналіз таблиці 1 та таблиці 2, вказує, що ознаки, які спостерігались у досліджуваних ізолятів, близькі до властивостей бактерій роду *Pseudomonas*.

В трансформації азоту задіяна величезна кількість ґрунтових мікроорганізмів, зокрема у цьому процесі приймають участь і бактерії, що здатні асимілювати мінеральний азот. Найбільшим вмістом цих мікроорганізмів характеризуються ґрунти з інтенсивними мінералізаційними процесами, де

переважають бацили, які здатні використовувати не тільки органічний, але і мінеральний азот (*Bacillus megaterium*, *B. mesentericus*, *B. subtilis*) [18, 19]. Загально відомо, що асимілювати мінеральний азот здатні деякі представники родів *Pseudomonas* і *Paracoccus*. Представники цих родів характеризуються ознаками, наведеними у таблиці 3 (за Визначником Берджі [17]).

Аналіз вивчених властивостей досліджуваних ізолятів показав, що всі бактерії є грамнегативними паличками таблиця 4. Крім цього, ізоляти не відрізняються за тестами на каталазу та оксидазу (каталазопозитивні та оксидазопозитивні). Натомість, досить суттєво спостерігається варіабельність ізолятів по наявності чи відсутності флюоресцируючого пігменту. Серед 148 ізолятів не проявляли флюоресценцію 38, здебільшого у ранні фази розвитку озимої пшениці, а саме кушіння та трубкування. На ці фази припадало близько  $\frac{3}{4}$  всіх проаналізованих бактерій-домінантів. Відсутність даних мікроорганізмів була відмічена лише у фазу молочно-воскової стиглості озимої пшениці при беззмінному її культивуванні у чорноземі.

Таблиця 1. Диференціація родів амоніфікуючих бактерій ґрунту по деяким ознакам (за Берджі)

№ п/п	РІД	Забар-влення по Граму	Відношення до кисню	Наявність каталази	Флюоресцируючий пігмент
1	<i>Bacillus</i>	+	аероби або факультативні анаероби	+	-
2	<i>Pseudomonas</i>	-	аероби	+	+/-
3	<i>Clostridium</i>	+	анаероби	-	-

Таблиця 2. Властивості виділених ізолятів домінантів-амоніфікаторів з ризосфери озимої пшениці протягом онтогенезу за період досліджень

№ п/п	Фаза розвитку озимої пшениці	Заб-ння по Граму	Відношення до кисню	Наявність		Флюоресцируючий пігмент	Розрідження желатини
				каталази	оксидази		
1	Кушіння (сівозміна) 33 ізоляти	-	аероби	+	+	+/-*	+/-^
2	Кушіння (монокультура) 21 ізолят	-	аероби	+	+	+/-*	+/-^
3	Трубкування (сівозміна) 23 ізоляти	-	аероби	+	+	+/-*	+/-^
4	Трубкування (монокультура) 17 ізолятів	-	аероби	+	+	+	+/-^
5	Цвітіння (сівозміна) 19 ізолятів	-	аероби	+	+	+/-*	+
6	Цвітіння (монокультура) 14 ізолятів	-	аероби	+	+	+	+
7	Молочно-воскова стиглість (сівозміна) 13 ізолятів	-	аероби	+	+	+	+
8	Молочно-воскова стиглість (монокультура) 12 ізолятів	-	аероби	+	+	+	+

Примітка: \* - ізоляти, в яких флюоресцируючий пігмент відсутній – 303; 306; 409; 801; 804; 811; 1304; 3301; 3304, 3308; 3404, 3406, 6801; 6811; 8301; 8305; 8309.

^ – ізоляти, що не розріджували желатину – 301, 304, 308, 310, 807, 1203, 3303, 3402, 3404, 6802, 6805, 6205.

Таблиця 3. Деякі властивості родів ґрунтових мікроорганізмів здатних асимілювати мінеральний азот (за Берджі)

№ п/п	Рід	Забарвлення за Граму	Форма клітин бактерій	Наявність		Флюоресцируючий пігмент	Наявність спор
				каталази	оксидази		
1	<i>Bacillus</i>	+	палички	+	+/-	-	+
2	<i>Pseudomonas</i>	-	палички	+	+	+/-	-
3	<i>Paracoccus</i>	-	коки	+	+	-	-

Таблиця 4. Властивості виділених домінантів з ризосфери озимої пшениці, що використовують мінеральний азот за період досліджень

№ п/п	Фаза розвитку озимої пшениці	Забарвлення по Граму	Форма клітин бактерій	Наявність		Флюоресцируючий пігмент	Наявність спор
				каталази	оксидази		
1	Кущіння (сівозміна) 24 ізолятів	-	палички	+	+	+/-*	-
2	Кущіння (монокультура) 15 ізолятів	-	палички	+	+	+/-*	-
3	Трубкування (сівозміна) 24 ізолятів	-	палички	+	+	+/-*	-
4	Трубкування (монокультура) 18 ізолятів	-	палички	+	+	+/-*	-
5	Цвітіння (сівозміна) 21 ізолятів	-	палички	+	+	+/-*	-
6	Цвітіння (монокультура) 14 ізолятів	-	палички	+	+	+/-*	-
7	Молочно-воскова стиглість (сівозміна) 19 ізолятів	-	палички	+	+	+/-*	-
8	Молочно-воскова стиглість (монокультура) 13 ізолятів	-	палички	+	+	+	-

Примітка: \* – ізоляти, що не мали флюоресцируючого пігменту – 101; 103; 104; 106; 202; 205; 700; 704; 706; 708; 709; 711; 1000; 1002; 1004; 1005; 1100; 1105; 1601; 1903; 1905; 1908; 2101; 2104; 2108; 2109; 2203; 2205; 5001; 5004; 5702; 5706; 5709; 5710; 8005; 8105; 9903; 9905.

Таблиця 5. Властивості виділених ізолятів споруутворювальних бактерій з ризосфери озимої пшениці за період досліджень

№ п/п	Фаза розвитку озимої пшениці	Забарвлення по Граму	Відношення до кисню	Наявність		
				каталази	оксидази	спор
1	Кущіння (сівозміна) 20 ізолятів	+	аероби <sup>var</sup>	+	+/-*	+
2	Кущіння (монокультура) 18 ізолятів	+	аероби	+	+/-*	+
3	Трубкування (сівозміна) 21 ізолятів	+	аероби <sup>var</sup>	+	+/-*	+
4	Трубкування (монокультура) 18 ізолятів	+	аероби <sup>var</sup>	+	+/-*	+
5	Цвітіння (сівозміна) 15 ізолятів	+	аероби <sup>var</sup>	+	+/-*	+
6	Цвітіння (монокультура) 14 ізолятів	+	аероби	+	+/-*	+
7	Молочно-воскова стиглість (сівозміна) 15 ізолятів	+	аероби	+	+/-*	+
8	Молочно-воскова стиглість (монокультура) 17 ізолятів	+	аероби	+	+/-*	+

Примітка: <sup>var</sup> – ізоляти, що вели себе як факультативні анаероби – 502; 506; 903; 906; 908; 910; 1406; 1409; 4501; 4503; 4506; 4507; 4508; 4607; 4608; 7406; 7903; 7906; 7908; 7910; 8503.

+/-\* – ізоляти, у яких відсутня оксидаза – 502; 506; 602; 903; 906; 908; 910; 1403; 1406; 1409; 1800; 2703; 2705; 2706; 2402; 2404; 2406; 2407; 2410; 4503; 4506; 4508; 4602; 4608; 7402; 7906; 7908; 7910; 8503; 9103; 9107; 9402; 9403; 9405.

Таблиця 6. Результати визначення роду домінуючих спороутворювальних бактерій в чорноземі при вирощуванні озимої пшениці

№ п/п	Роди бактерій	Морфологія клітини	Заб-ння по Граму	Наявність каталази
1	<i>Amphibacillus</i> <sup>1</sup>	палички	+	-
2	<i>Bacillus</i> <sup>1</sup>	палички	+	+
3	<i>Clostridium</i> <sup>1</sup>	палички	+	-
4	<i>Desulfotomaculum</i> <sup>1</sup>	палички	-	-
5	<i>Sporolactobacillus</i> <sup>1</sup>	палички	+	-
6	<i>Sporosarcina</i> <sup>1</sup>	коки	+	+
7	Досліджувані ізоляти	палички	+	+

Примітка: <sup>1</sup> – дані приведені згідно Визначника Берджі [17].

У всіх досліджуваних ізолятів домінуючих бактерій, що здатні асимілювати мінеральний азот, спори були відсутні. Цей факт свідчить про те, що серед домінантів, які культивовані на крохмаль-аміачному середовищі, спороутворювальні бактерії відсутні, що виключає наявність представників роду *Bacillus*.

Порівнюючи отримані результати досліджень властивостей виділених домінантів серед бактерій що здатні використовувати мінеральний азот (табл. 4) з властивостями визначення родів цих бактерій за Берджі (табл. 3), можна припустити, що всі виділені бактерії відносяться до роду *Pseudomonas*.

Результати вивчення окремих властивостей спороутворювальних бактерій, які культивувались на м'ясопептонному агарі з суслом представлені в таблиці 5. Всі ізоляти ідентичні за такими параметрами, як фарбування за Грамом, наявність каталази та відсутність флюоресцируючого пігменту. Натомість, по відношенню до кисню основна кількість досліджуваних бактерій відносилась до аеробів, окрім деяких ізолятів, що виявились факультативними анаеробами (табл. 6). Спостерігалась варіабельність штамів у проведенні тесту на оксидазу, згідно якого виявлено, що близько 30-40% бактерій не мали даного ферменту.

Чіткої закономірності варіабельності властивостей бактерій в залежності від варіанту досліду (сівозмінна чи монокультура), а також від внесення тих чи інших добрив (гній 30 т/га; гній 30 т/га+N<sub>60</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub>; N<sub>60</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub> та N<sub>120</sub>P<sub>120</sub>K<sub>120</sub>) не виявлено. Але, в результатах прослідковується, що факультативно-анаеробні поряд з аеробними спороутворювальні бактерії, як домінанти в ґрунті спостерігаються лише на двох початкових фазах розвитку озимої пшениці. Тоді як у фази цвітіння та молочно-воскової стиглості, домінантами є мікроорганізми з аеробним характером росту.

Оксидазонегативні ізоляти серед спороутворювальних бактерій спостерігаються майже у всіх варіантах. Виключення становлять варіанти сівозміни у фазу цвітіння, де всі без виключення ізолювані домінанти давали позитивний тест на оксидазу. У всіх досліджуваних ізолятів були виявлені спори. Оскільки домінанти серед спороутворювальних бактерій були виділені з селективного середовища (МПА+вуглеводи), то перед нами стояла задача визначити родову приналежність досліджуваних мікроорганізмів. У ґрунті можуть зустрічатися декілька родів

спороутворювальних бактерій [17]. До них належать наступні роди: *Amphibacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina*.

Для даних родів диферентними є: форма клітин бактерій, забарвлення за Грамом та наявність чи відсутність ферменту каталази. Тому для ідентифікації ми використовували ці ознаки для всіх родів, які наведені в "ключках" диференціації родів [17]. Результати аналізу домінуючих спороутворювальних бактерій у порівнянні з літературними даними наведені у таблиці 6.

Згідно проведеного нами аналізу домінуючих спороутворювальних бактерій у ризосфері озимої пшениці на різних варіантах удобрення як у сівозміні, так і в монокультурі, на протязі всього вегетаційного періоду встановлено, що всі досліджувані ізоляти є грампозитивними паличками, в яких наявний фермент каталаза. Якщо порівняти ці показники (табл. 5) з приведеним списком родів ґрунтових спороутворювальних бактерій (табл. 6), то всі досліджувані ізоляти мають властивості, аналогічні бактеріям роду *Bacillus*.

## Висновки

1. Застосування сівозміни сприяло збільшенню біорізноманіття ризосферних мікроорганізмів, оскільки за період досліджень при вирощуванні озимої пшениці у сівозміні з ризосфери було виділено 257 домінантів, а при беззмінному культивуванні – майже на 30% менше, а саме 191 ізолят. У сівозміні найбільшу кількість домінантів становили амоніфікатори (98 ізолятів), а в монокультурі – спороутворювальні бактерії (67 ізолятів).
2. Кількість домінуючих бактерій ризосфери озимої пшениці змінювалась протягом усього її онтогенезу. Фаза кушіння та трубкування характеризувались найбільшим різноманіттям домінантів серед амоніфікаторів та бактерій, здатних асимілювати мінеральний азот. Чисельність спороутворювальних бактерій збільшувалась наприкінці розвитку озимої пшениці, хоча кількість домінантів серед них зменшувалась.
3. За культурально-морфологічними та фізіолого-біохімічними властивостями домінуючі бактерії ризосфери озимої пшениці відносяться до родів *Pseudomonas* та *Bacillus*.

1. Симочко Л.Ю., Демянюк О.С. Екологія мікробного ценозу ґрунту при вирощуванні озимої пшениці на чорноземі глибокому // *Агроекологічний журнал*. – 2003. – № 3. – С. 27–31.
2. Cerna B., Elhottova D., Santruckova H. Functional groups of soil microbial community // *International Symposium on "Structure and Function of Soil Microbiota"*. – 2003. – P. 3–6.
3. Симочко Л.Ю., Симочко В.В. Вплив продуктів метаболізму домінантів-амоніфікаторів на ріст та розвиток озимої пшениці // *Тези доповідей міжнародної наукової конференції "Мікробні біотехнології"*. – Одеса. – 2006. – С. 24.
4. Методы почвенной микробиологии и биохимии. / Под ред. Звягинцева Д.Г. – М.: Из-во МГУ, 1991 – 300 с.
5. Селибер Г.Л. Большой практикум по микробиологии – М.: высшая школа, 1962. – 491 с.
6. Заварзин Г.А. Фенотипическая систематика бактерий. – М.: Наука, 1974. – 142 с.
7. Лебедева М.Н. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии. – М.: Медицина, 1973. – 243 с.
8. Теппер Е.З., Шильникова Е.К., Переверзева Д.И., Практикум по микробиологии. – М.: Агропроиздат, 1987. – 239 с.
9. King E.O., Ward M.K. Raney D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein // *Jour. Lab. Clin. Med.* – 1954. – №. 44. – P. 301-307.
10. Kovach N. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction // *Nature*. – 1956. – №. 178. – P. 703.
11. Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта и др. – М.: Мир, 1983. – 278 с.
12. Смирнов В.В., Киприянова Е.А. Бактерии рода *Pseudomonas*. – К.: Наукова думка, 1990. – 262 с.
13. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1985. – 351 с.
14. Bally R., Heulin T., Lemanceau P. Les microbes et le cultivateur // *Biofutur*. – 1999. - № 185. – С. 17-19.
15. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. – М.: Из-во Моск. Ун-та., 1987. – 256 с.
16. Черников В.А., Алексахин Р.М., Голубев А.В. и др. Агроэкология. – М.: Колос, 2000. – 536 с.
17. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – 760 с.
18. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. – 3 изд. – М.: Агропромиздат, 1987. – 368 с.
19. Bekken L.R. Straw decomposition in soil, effects on denitrification and mineralization immobilization of nitrogen during the autumn and spring // *Meld. Norg. Landbrukshogsr.* – 1986. – 65. – № 13. – P. 1-16.

Отримано: 12 січня 2007 р.

Прийнято до друку: 1 лютого 2007 р.