

Н

НУБІП України

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

НУБІП України

06.07. – М. 1730 «С». 2021.10.13. 07 ПЗ

ПАРФЕНЮК ОЛЕНА СЕРГІЇВНА

НУБІП України 2022

Н

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 574.1:631.445/461(477.81)

ПОГОДЖЕНО

**Декан факультету
захисту рослин, біотехнологій та екології**

Коломієць Ю.В.

(підпис)

«__» _____ 2022 р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

**Завідувач кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття**

Кваско О.Ю.

(підпис)

«__» _____ 2022 р.

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Біологічна індикація дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області та аналіз мікробних угруповань в аспекті збереження та управління біорізноманіттям агроценозів»

Спеціальність 162 біотехнології та біоінженерія

(код і назва)

Освітня програма біотехнології та біоінженерія

(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Керівник бакалаврської роботи

д. с.-г. н., професор

д. б. н.

(науковий ступінь та вчене звання)

Патика М.В.

Кваско О.Ю.

(ПІБ)

Виконала

(підпис)

Парфенюк О.С.

(ПІБ студента)

**Національний університет біоресурсів
і природокористування України**

Факультет захисту рослин, біотехнології та екології

Кафедра _____

Освітній ступінь «Магістр»

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри

« _____ » _____ 2022 р.

З А В Д А Н Н Я
НА ВИПУСКНУ
МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ

Парфенюк Олена Сергіївна

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біологічна індикація дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області та аналіз мікробних угруповань в аспекті збереження та управління біорізноманіттям агроценозів

керівник роботи Кваско Олена Юріївна, кандидат біологічних наук,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом НУБіП України від « _____ » _____ 2022 р. № _____

2. Строк подання студентом роботи _____

3. Вихідні дані до роботи _____

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) _____

РЕФЕРАТ

Дипломна робота на тему «Біологічна індикація дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області та аналіз мікробних угруповань в аспекті збереження та управління біорізноманіттям агроценозів» виконана на 56 сторінках друкованого тексту та містить 3 інформаційні таблиці, 22 рисунки і 1 формулу. Складається з трьох розділів: огляд літератури, матеріали та методи, результати досліджень, а також до її складу входять перелік умовних скорочень, вступ, висновки, список використаної літератури із 38 джерел.

Дослідження передумов формування мікробного різноманіття дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області та мікробної активності при вирощуванні зернових культур проводили в польових та лабораторних умовах на базі Інституту сільського господарства Західного Полісся НААН, а також наукової лабораторії кафедри екобіотехнології та біорізноманіття НУБіП України.

Для дослідження обрано: дерново-підзолистий ґрунт Рівненської області, сорт пшениці озимої «Краєвид», штами мікроорганізмів *Rhizobium rhizogenes* № 16 як індикатори із робочої колекції непатогенних мікроорганізмів сільськогосподарського призначення професора кафедри фітопатології імені В.Ф. Пересинкіна НУБіП України М.В. Патики, колекції ксерофільних ґрунтових мікроорганізмів Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (*Rhizobium leguminosarum* № 35).

Біологічна індикація дерново-підзолистих ґрунтів України та аналіз їх мікробних угруповань є важливим методом управління та поліпшення стану агроценозів, тому **метою роботи** було дослідити мікробні угруповання дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області, базуючись на принципах біоіндикації та збереження біорізноманіття.

Об'єкт досліджень: біологічний стан ґрунту, мікробна активність, зміна різноманіття мікробних угруповань в агроценозах Рівненської області

Предмет досліджень: теоретичні та практичні аспекти регулювання мікробною активністю дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області за використання біоіндикаційних показників.

Завдання досліджень:

1. Провести аналіз біологічного стану ґрунту Рівненської області при аграрному використанні.

2. Дослідити мікробну активність дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області при вирощуванні зернових культур.

3. Дослідити особливості формування мікробного різноманіття дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області в агроценозі зернових культур.

4. Запропонувати науково-обґрунтовані заходи поліпшення біологічного стану дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області.

В роботі використано лабораторні, польові методи дослідження та чотири адміністративні райони Рівненської області – Дубенський, Рівненський, Вараський, Сарненський.

ЗМІСТ

НУБІП України	13
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	13
ВСТУП	14
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	16
1.1. Аналіз ґрунтів: збереження, реамеліація і моніторинг	16
1.2. Біорізноманіття ґрунтів, ґрунтова екосистема та біологічні індикатори	18
1.2.1. Методи оцінки складу та біорізноманіття мікробних угрупувань	19
1.2.2. Використання сучасних методів управління здоров'ям ґрунту (на прикладі патогенних організмів)	21
1.2.3. Основні фактори родючості ґрунтів	22
1.3. Мікробні індикатори для оцінки біологічного стану родючості ґрунтів	25
1.4. Дослідження ризосфери як зони рослинно-мікробної взаємодії	26
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	32
2.1. Мікробіологічні методи дослідження	32
2.2. Вимоги до лабораторних досліджень, стерилізація інструментарію та посуду	34
2.3. Відбір та підготовка ґрунтових проб	34
2.4. Методи оцінки агрохімічних показників	35
2.4.1. Оцінка показників продуктивної вологості ґрунту	35
2.4.2. Оцінка показників обмінної кислотності та реакції ґрунтового розчину	36
2.4.3. Методика дослідження рухомих форм Фосфору	36
2.4.4. Методика дослідження рухомих форм Калію	37
2.4.5. Методика дослідження рухомих форм азоту	37
2.4.6. Методика дослідження вмісту гумусу	38
2.5. Методи оцінки мікробіологічних показників	38
2.5.1. Аналіз чисельності та культурально-морфологічних особливостей ізолятів	38
2.5.2. Методика дослідження вмісту активної мікробної біомаси	39
2.6. Представлення та обробка отриманих результатів	40

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	41
3.1. Біологічний стан дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області в умовах аграрного використання	41
3.1.1. Оцінка агрохімічних показників	41
3.1.2. Оцінка мікробіологічних показників	48
3.2. Мікробна активність при вирощуванні сорту пшениці «Красвид»	53
3.3. Передумови формування мікробного різноманіття дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області	55
3.4. Заходи поліпшення біологічного стану дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області в умовах аграрного використання	57
ВИСНОВКИ	58
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	60

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

НУБІП України

атм – атмосфери

г – грам

л – літр

НУБІП України

хв – хвилини

ДСТУ – Державний стандарт України

МПА – м'ясо-пептонний агар

МПБ – м'ясо-пептонний бульйон

НУБІП України

КУО – колонієутворюючі одиниці

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВСТУП

Грунтова біотехнологія є галуззю ґрунтознавства, яка набирає популярності за останні роки. Науковці її описують, як вивчення та маніпулювання ґрунтовими мікроорганізмами та їхніми метаболічними процесами для оптимізації продуктивності сільськогосподарських культур [29, 31, 33].

Інтерес наукового співтовариства до ґрунтової біотехнології нещодавно зріс через її величезний потенціал щодо покращення доступності поживних речовин для рослин, фізичних властивостей, деградації ксенобіотичних сполук, управління відходами, корисного для рослин симбіозу та контролю патогенів рослин, що походять із ґрунту [31, 33].

Ґрунтова біота має важливе значення для багатьох процесів і функцій у ґрунті, але зростаючий тиск на біорізноманіття та деградація ґрунтів залишається актуальним питанням. Стале управління ґрунтами вимагає моніторингу ґрунтів, включаючи біологічні індикатори, що дає можливість пов'язати землекористування та управління з функціонуванням ґрунту та екосистемними послугами [29, 31, 32, 33].

Біологія ґрунту є основним компонентом і значною мірою сприяє якості та продуктивності ґрунту. Основні види діяльності ґрунтових мікроорганізмів включають розкладання органічних матеріалів, мінералізацію поживних речовин, фіксацію азоту, пригнічення шкідників сільськогосподарських культур і захист кореневої системи, а також паразитизм і пошкодження рослин. Таким чином, існує необхідність запровадження сучасних методів управління ґрунтом для покращення його якісних характеристик та збереження родючості [20, 38].

Використання ґрунтових мікроорганізмів шляхом аналізу продуктів їх метаболізму та визначення основних функціональних ґрун, до яких вони належать, підкреслює подвійний аспект біорізноманіття та біоіндикації. На отримані результати впливає низка факторів, які відіграють важливу роль:

вологість, вміст органічної речовини та температура ґрунту. Аналіз лише CO_2 , як продукту діяльності бактерій, недостатній для оцінки якості ґрунту. Високий вміст органічних речовин може маскувати важкі забруднення ґрунту металами та органічними сполуками. Для повної інтерпретації необхідно ідентифікувати функціональні групи бактерій, але це непросте завдання [21, 30].

Біологічна індикація дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області та аналіз мікробних угруповань ризосферних зразків є важливим методом управління та поліпшення стану їх стану, тому **метою роботи** було дослідити мікробні угруповання дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області спираючись на принципи біоіндикації та збереження біорізноманіття.

Об'єкт досліджень: біологічний стан ґрунту, мікробна активність, зміна різноманіття мікробних угруповань в агроценозах Рівненської області

Предмет досліджень: теоретичні та практичні аспекти регулювання мікробною активністю дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області за використання біоіндикаційних показників.

Завдання досліджень:

1. Провести аналіз біологічного стану ґрунту Рівненської області при аграрному використанні.
2. Дослідити мікробну активність дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області при вирощуванні зернових культур.
3. Дослідити особливості формування мікробного різноманіття дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області в агроценозі зернових культур.
4. Запропонувати науково-обґрунтовані заходи поліпшення біологічного стану дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Аналіз ґрунтів: збереження, реамедіація і моніторинг

Ґрунтова біотехнологія є галуззю ґрунтознавства та набирає шаленої популярності за останні роки. Науковці її описують, як вивчення та маніпулювання ґрунтовими мікроорганізмами та їхніми метаболічними процесами для оптимізації продуктивності сільськогосподарських культур [29, 31, 33].

Інтерес наукового співтовариства до ґрунтової біотехнології нещодавно зріс через її величезний потенціал щодо покращення доступності поживних речовин для рослин, фізичних властивостей, деградації ксенобіотичних сполук, управління відходами, корисного для рослин симбіозу та контролю патогенів рослин, що походять із ґрунту [31, 33].

Забруднювачі або стреси навколишнього середовища, які спричиняють невеликі або тимчасові зміни в активності та складі мікрофлори ґрунту, слід відрізнити від тих, які мають більш стійкі та ймовірно більш серйозні наслідки [29, 31].

Біологічні параметри ґрунту, такі як загальна біомаса, мінералізація C і N, біологічна фіксація N_2 , а також параметри, що відображають специфічну діяльність, наприклад ферментну активність ґрунту, можна використовувати як параметри впливу на навколишнє середовище [29, 31, 33].

Традиційні методи ідентифікації мікроорганізмів залежно від їх виділення та культивування дозволяють досліджувати невелику частину загальної популяції бактерій. Нове застосування молекулярної біології має велике значення для дослідження ґрунту. Більш швидкі методи, такі як ампліфікація нуклеїнової кислоти та гібридизація, дозволяють здійснювати моніторинг та ідентифікацію мікроорганізмів у різних середовищах на основі специфічних послідовностей ДНК. Фактично, навіть непридатні для культивування види мікроорганізмів можна виявити з пулу гетерогенної ДНК.

яка ампліфікує або гібридує всю ґрунтову ДНК зі специфічними олігонуклеотидами [29, 31, 33].

Дотепер проблеми, пов'язані з виділенням ДНК із ґрунту, були пов'язані з можливістю отримати як грам-позитивну, так і грам-негативну мікробну ДНК і відокремити ДНК живих мікроорганізмів від вільної ДНК, присутньої в ґрунті [29, 31, 33].

Вплив інокулянтів (водоростей) на структуру глинистих ґрунтів. Утворення кірки та деградація структури ґрунту в поверхневому шарі є поширеними проблемами, що впливають на ерозійність ґрунтів, появу сходів і загальну продуктивність землі. Ще однією поширеною проблемою є швидке зниження хімічної родючості, як наслідок культивування, через мінералізацію та втрату органічної речовини ґрунту та основних поживних речовин, зокрема азоту. Зважаючи на значну площу таких проблем, необхідно терміново розробити нові методи сталого господарювання з метою підвищення продуктивності ґрунту, використовуючи, наскільки це можливо, відновлювані ресурси. З цієї точки зору ціанобактеріальні інокулянти можуть відігравати важливу роль у стійкому сільському господарстві. Деякі штами ціанобактерій із ґрунту продукують велику кількість позаклітинних полісахаридів [29, 31].

Біохімічні методи виділення ДНК, пов'язаної з глинистими мінералами ґрунту. Виділення, очищення та молекулярна характеристика нуклеїнових кислот (ДНК, РНК) із зразків ґрунту стали корисним інструментом для вивчення факторів, залучених у взаємодію нуклеїнових кислот з різними компонентами навколишнього середовища, особливо глинистими мінералами, для визначення долі вибраних мікроорганізмів чи специфічних генів у природних умовах і для моніторингу передачі генів між бактеріями. Важливість ДНК ґрунту та аналізу генотипу в ґрунтознавстві задокументована нещодавньою розробкою кількох конкретних протоколів [29, 31, 33].

Мікробні властивості як біологічні індикатори впливу на навколишнє середовище. Взаємозв'язок між мікробіологічними властивостями та родючістю ґрунту досліджується протягом багатьох років і на сьогоднішній день є

важливими показниками щодо управління ґрунтом у сталому сільському господарстві. Дослідницькі групи, залучені до цієї сфери інтересів, вивчатимуть можливість використання мікробіологічних параметрів як індикаторів деградації та виснаження якості ґрунту. Італійська дослідницька група створила біохімічні та мікробіологічні методи для вивчення біологічної родючості ґрунту, які здатні аналізувати біологічні параметри ґрунту в природних і стресових умовах. Крім того, хорватські дослідники паралельно з італійськими розроблятимуть інші біохімічні та мікробіологічні параметри якості ґрунту та води [29, 31, 33].

1.2. Біорізноманіття ґрунтів, ґрунтова екосистема та біологічні індикатори

Ґрунтова біота має важливе значення для багатьох процесів і функцій у ґрунті, але зростаючий тиск на біорізноманіття та деградація ґрунтів залишається актуальним питанням. Стале управління ґрунтами вимагає моніторингу ґрунтів, включаючи біологічні індикатори, що дає можливість пов'язати землекористування та управління з функціонуванням ґрунту та екосистемними послугами [29, 31, 32, 33].

Починаючи з 1990-х років, біологічні параметри ґрунту оцінювали у все більшій кількості польових випробувань і програм моніторингу по всій Європі. Однак розробка та ефективне використання значущих і широко застосовних біоіндикаторів залишається складним завданням [29, 31, 32, 33].

Ґрунтова біота складається з організмів, які повністю або частково проводять життєвий цикл під землею. Ґрунтові організми варіюються від безліч невидимих мікробів (бактерії, гриби та найпростіші) до макрофауни (дощових черв'яків, мурах). Більші тварини (кроти та полівки) вважаються ґрунтовою фауною, але рідко включаються в ґрунтову оцінку біорізноманіття через їх невелику кількість. Визнано, що кореневі екsudати рослин та рослинні залишки

є основним джерелом вуглецю та енергії для гетеротрофної ґрунтової біоти [29, 31, 32, 33].

Ґрунтова спільнота має достатньо потенційно цікавих індикаторів моніторингу навколишнього середовища у відповідь на низку стресів. За словами Герхардта, ми визначаємо біологічні індикатори як (характеристики) організмів, реакція яких, з точки зору присутності чи відсутності, чисельності, активності, морфології, фізіології або поведінки, дає інформацію про стан середовища існування (екосистеми) [29, 31, 32, 33].

Комплекс біотичних взаємодій у ґрунті в поєднанні з абіотичним середовищем має важливе значення для визначення ґрунтових процесів та функцій, для цього визначення використовують найбільш комплекснішу характеристику ґрунтового покриву [29, 31, 32, 33].

Ґрунти, як і екосистеми, є ієрархічними системи з внутрішніми процесами, які діють на кожному рівні організації та взаємодіють між собою [29, 31, 32, 33].

За термінами «загальної біомаси» мікробний світ представляє основну частину ґрунтового співтовариства, яке значною мірою відповідає за органіку розкладання речовин, перетворення поживних речовин і розкладання токсичних сполук [29, 31, 32, 33].

1.2.1. Методи оцінки складу та біорізноманіття мікробних угруповань

Ґрунтові мікроорганізми відіграють важливу роль у якості ґрунту та продуктивності рослин. Розробка ефективних методів вивчення різноманітності, розподілу та поведінки мікроорганізмів у ґрунтових середовищах існування має важливе значення для ширшого розуміння здоров'я ґрунту [29, 31, 32, 33].

Традиційно аналіз ґрунтових мікробних угруповань покладався на методи культивування з використанням різноманітних культуральних середовищ (Рис. 1.1), призначених для максимального відновлення різноманітних мікробних популяцій. Однак за допомогою цього підходу була доступна лише невелика

частина (< 0,1 %) мікробної спільноти ґрунту. Щоб подолати ці проблеми використовують інші методи, такі як аналіз фосфоліпідних жирних кислот і фізіологічних профілів на рівні популяції, щоб отримати доступ до більшої частки ґрунтової мікробної спільноти [29, 31, 32, 33].

В останні роки, молекулярні методи аналізу ґрунтових мікробних угруповань забезпечили нове розуміння філогенетичного різноманіття мікробних угруповань у ґрунті. Серед найбільш корисних із цих методів є ті, у яких гени малих субодиниць рРНК ампліфікуються з екстрагованих із ґрунту нуклеїнових кислот. Використовуючи ці методи, можна охарактеризувати та досліджувати ґрунтові мікроби, які зараз неможливо культивувати [29, 31, 32, 33].

Гени мікробної рРНК можна виявити безпосередньо у зразках ґрунту та секвенувати. Потім ці послідовності можна порівняти з послідовностями інших відомих мікроорганізмів. Крім того, з цих послідовностей можна розробити специфічні для груп і таксонів олігонуклеотидні зонди, що робить можливою пряму візуалізацію мікроорганізмів у ґрунтових середовищах існування [29, 32, 33].



Рис. 1. Метод культивування з використанням різноманітних культуральних середовищ [32]

Використання цих методів надає нові способи оцінки мікробного різноманіття ґрунту та, зрештою, більш повне розуміння потенційного впливу процесів навколишнього середовища та діяльності людини на реакцію ґрунтових мікроорганізмів. Інформація, отримана в результаті таких досліджень, матиме прямий вплив на наше розуміння ролі мікробних процесів у здоров'ї ґрунту [29, 32, 33].

1.2.2. Використання сучасних методів управління здоров'ям ґрунту

(на прикладі патогенних організмів)

Різноманітні культурні практики, включно з використанням покривних і ротацийних культур, компостів, систем обробки ґрунту та інших, пропагувалися як варіанти управління для покращення якості та здоров'я ґрунту [20, 38].

Відомо, що всі культурні практики прямо чи опосередковано впливають на популяції ґрунтових патогенів і тяжкість викликаних ними захворювань коренів [20, 38].

Біологія ґрунту є основним компонентом і значною мірою сприяє якості та продуктивності ґрунту. Основні види діяльності ґрунтових мікробів включають розкладання органічних матеріалів, мінералізацію поживних речовин, фіксацію азоту, придушення шкідників сільськогосподарських культур і захист коренів, а також паразитизм і пошкодження рослин. Таким чином, існує велика потреба переконатися, що запроваджені методи управління ґрунтом для покращення якості ґрунту також призведуть до збереження здорового ґрунту. Останні включають велику кількість і різноманітність ґрунтових мікробів, високу популяцію корисних організмів і низьку популяцію та активність шкідників сільськогосподарських культур [20, 38].

Виробництво овочів та інших харчових культур часто зазнає значного впливу кількох ґрунтових патогенів, які потребують контролю. Захворюваність і серйозність захворювань коренів є непрямою оцінкою здоров'я ґрунту для конкретного ґрунтового використання. Крім того, розуміння та вибір

відповідних культурних практик, які запобігають пошкодженню корневих хвороб, є важливими для довгострокового та сталого управління якістю та здоров'ям ґрунту [20, 38].

1.2.3. Основні фактори родючості ґрунтів

Показники родючості ґрунту поділяють на агрохімічні, біологічні, агрофізичні та меліоративні (Рис. 1.2) [7].

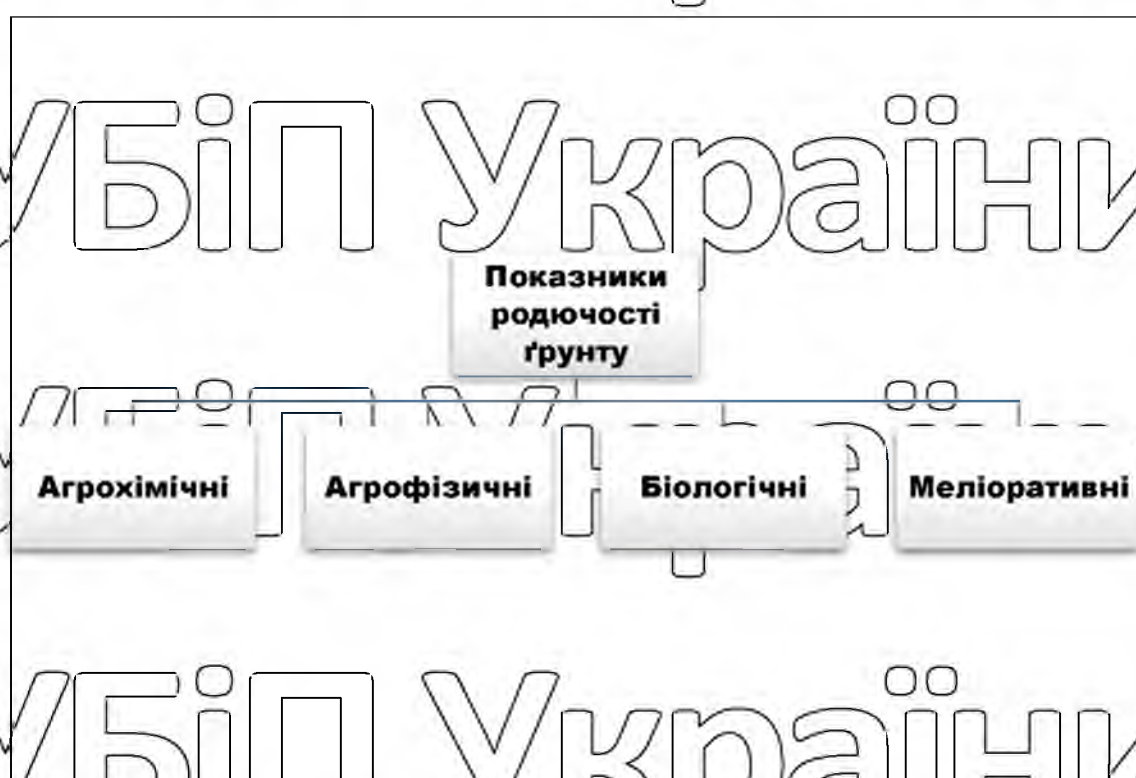


Рис. 1.2. Показники родючості ґрунту [7]

Ємність вбирання, реакція ґрунтового розчину, вміст елементів живлення доступних для рослин та сума уібраних основ належать до агрохімічних показників (Рис. 1.3) [7].

Щільність будови, структуру, шпаруватість ґрунту та його гранулометричний склад відносять до агрофізичних показників (Рис. 1.4) [7].

Біологічна активність ґрунту, вміст і якісний склад органічної речовини та самочищення від шкідливих речовин належать до біологічних показників (Рис. 1,5) [7].

НУБІП України

НУБІП України

Сума увібраних основ

НУБІП України

Реакція ґрунтового розчину

НУБІП України

Вміст елементів живлення доступних для рослин

НУБІП України

НУБІП України

Агрохімічні показники

Рис. 1.3. Агрохімічні показники родючості ґрунтів [7]



Рис. 1.4. Агрофізичні показники родючості ґрунтів [7]



Рис. 1.5. Біологічні показники родючості ґрунтів [7]

НУБІП України

Рівень потенційної родючості ґрунту визначають за показниками:

- Вміст поживних речовин, які визначають поживний режим ґрунту;
- Гранулометричний склад;
- Вміст гумусу та його склад;
- Ферментативна та мікробіологічна активність;
- Склад обмінно-вбирних катіонів;
- Структурність кореневмісного шару ґрунту та ґрунтового профілю [7].

НУБІП України

НУБІП України

1.3. Мікробні індикатори для оцінки біологічного стану родючості ґрунтів

Використання бактерій шляхом аналізу продуктів їх метаболізму та визначення основних функціональних груп, до яких вони належать, підкреслює подвійний аспект біорізноманіття та біоіндикації. На отримані результати впливає низка факторів, які відіграють важливу роль: вологість, вміст органічної речовини та температура ґрунту. Аналіз лише CO₂, як продукту діяльності бактерій, недостатній для оцінки якості ґрунту. Високий вміст органічних речовин може маскувати важкі забруднення ґрунту металами та органічними сполуками. Для повної інтерпретації необхідно ідентифікувати функціональні групи бактерій, але це непросте завдання [21, 30].

НУБІП України

Під поняттям «якість ґрунту» розуміють, здатність ґрунту функціонувати як живої системи, котра здатна виконувати всі свої біологічні функції, підтримувати первинну продуктивність, покращувати якість повітря, водного середовища та підтримувати здоров'я людей, рослин, тварин. Але зараз функції ґрунту визнаються набагато ширшими за концепцією [21, 30].

Фактори родючості належать до однієї з трьох окремих категорій фізичної, хімічної та біологічної, і комплексна взаємодія цих трьох аспектів

НУБІП України

складає агрономічну або інтегральну родючість ґрунту, від якої в кінцевому рахунку залежить продуктивність [21, 30].

Фізична родючість контролюється структурою та текстурою ґрунту, хімічна родючість є результатом суми доступних рослинам поживних речовин,

тоді як біологічна родючість залежить від метаболічної активності ґрунту, яка визначається як загальна реакція, як біотична, так і абіотична, для забезпечення

родючого середовища для росту рослин. Оскільки, біотичні реакції по суті є мікробними, метаболічну активність ґрунту можна сплутати з активністю

ґрунтових мікробів. У той час як мікробна активність вказує на широкий спектр діяльності, яку здійснюють мікроорганізми в ґрунті, біологічна чи метаболічна

активність також відображає діяльність інших організмів у ґрунті, наприклад, коренів рослин [21, 30].

Мікробна фракція є дійсно важливою складовою родючості ґрунту, тому що в разі її втрати ґрунт стане лише механічною опорою для рослин.

Мікроорганізми, більше ніж будь-які інші організми, добре адаптуються до змінних умов і швидко реагують на зміни. З цієї причини їх можна вважати

надійними індикаторами здоров'я ґрунту, і тому їх зазвичай використовують для моніторингу стану ґрунту. Зокрема, вимірювання мікробної активності

фактично включено як показники в багато національних і міжнародних програм моніторингу якості ґрунту. Зазвичай важливим критерієм для індикатора є те,

що він повинен швидко і точно реагувати на забруднення, оскільки жодне окреме вимірювання не є достатнім як єдиний показник якості ґрунту [21, 30].

Мікроорганізми швидко реагують на зміну умов навколишнього середовища, тому вони є чутливими індикаторами стану ґрунту та зазвичай

використовуються для моніторингу стану ґрунту [21, 30].

1.4. Дослідження ризосфери як зони рослинно-мікробної взаємодії

За загальним уявленням ризосфера включає коріння рослин і ґрунт навколо їх. В ній відбувається дуже важлива та інтенсивна взаємодія між

рослиною, ґрунтом і мікрофауною. Мікроорганізми, які населяють ризосферу, конкурують за воду, поживні речовини та простір і іноді покращують свою конкурентоспроможність шляхом розвитку тісного зв'язку з рослиною. Вони відіграють важливу роль у зростанні та екологічній придатності свого господаря [22, 24, 27, 36, 37].

Під час проростання насіння та росту розсади рослина, що розвивається, взаємодіє з рядом мікроорганізмів, присутніх у навколишньому ґрунті. Коли насіння проростає і коріння проростає через ґрунт, вивільнення органічного матеріалу є рушійною силою для розвитку активних мікробних популяцій у зоні, яка включає корінь рослини та навколишній ґрунт товщиною в декілька міліметрів. Таке явище називають ризосферним ефектом [23, 25, 26, 28, 36, 37].

Загалом, у ризосфері виділяють три різні компоненти: ризосфера (ґрунт), ризоплан і сам корінь. Таким чином, ризосфера є зоною ґрунту, на яку коріння впливає через виділення субстратів, які впливають на активність мікробів [22, 27, 36, 37].

Ризоплана — це поверхня кореня, включаючи міцно зчеплені частинки кореня. Сам корінь є частиною системи, оскільки певні ендоефітні мікроорганізми здатні колонізувати внутрішні тканини кореня. Таким чином, ефект ризосфери можна розглядати як створення динамічного середовища, де мікроби можуть розвиватися та взаємодіяти [22, 23, 26, 37].

Мікроорганізми ризосфери включають бактерії, гриби, нематоди, найпростіші, водорості та мікроартропи. З ґрунтових мікробів 98,0% не піддаються культивуванню, тому їх ідентифікація, характеристика та опис їх ролі і функцій особливо складні та недостатньо повно досліджені [24, 26, 28, 37].

НУБІП України

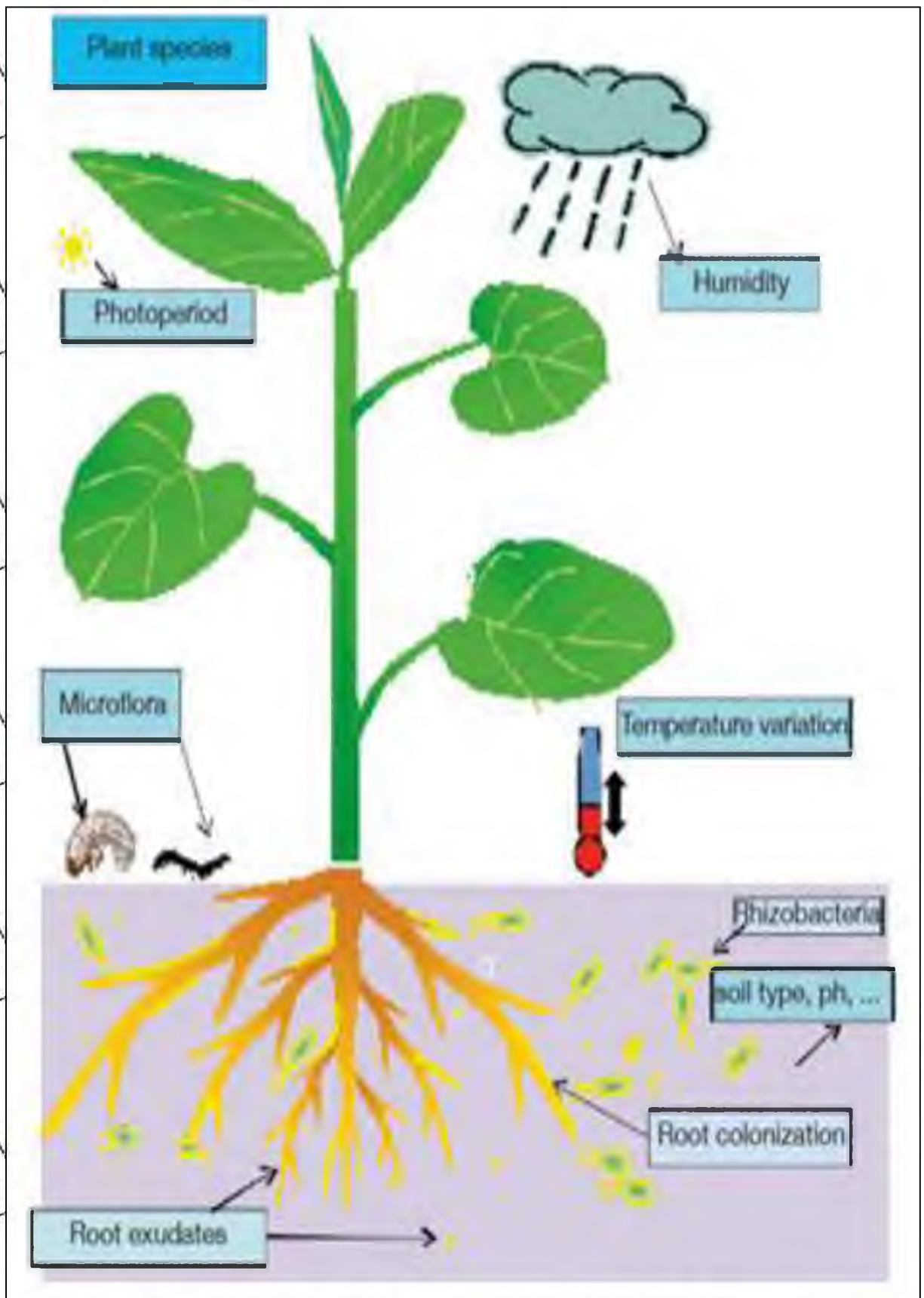


Рис. 1.6. Екологічні фактори взаємодії в ризосфері [37]

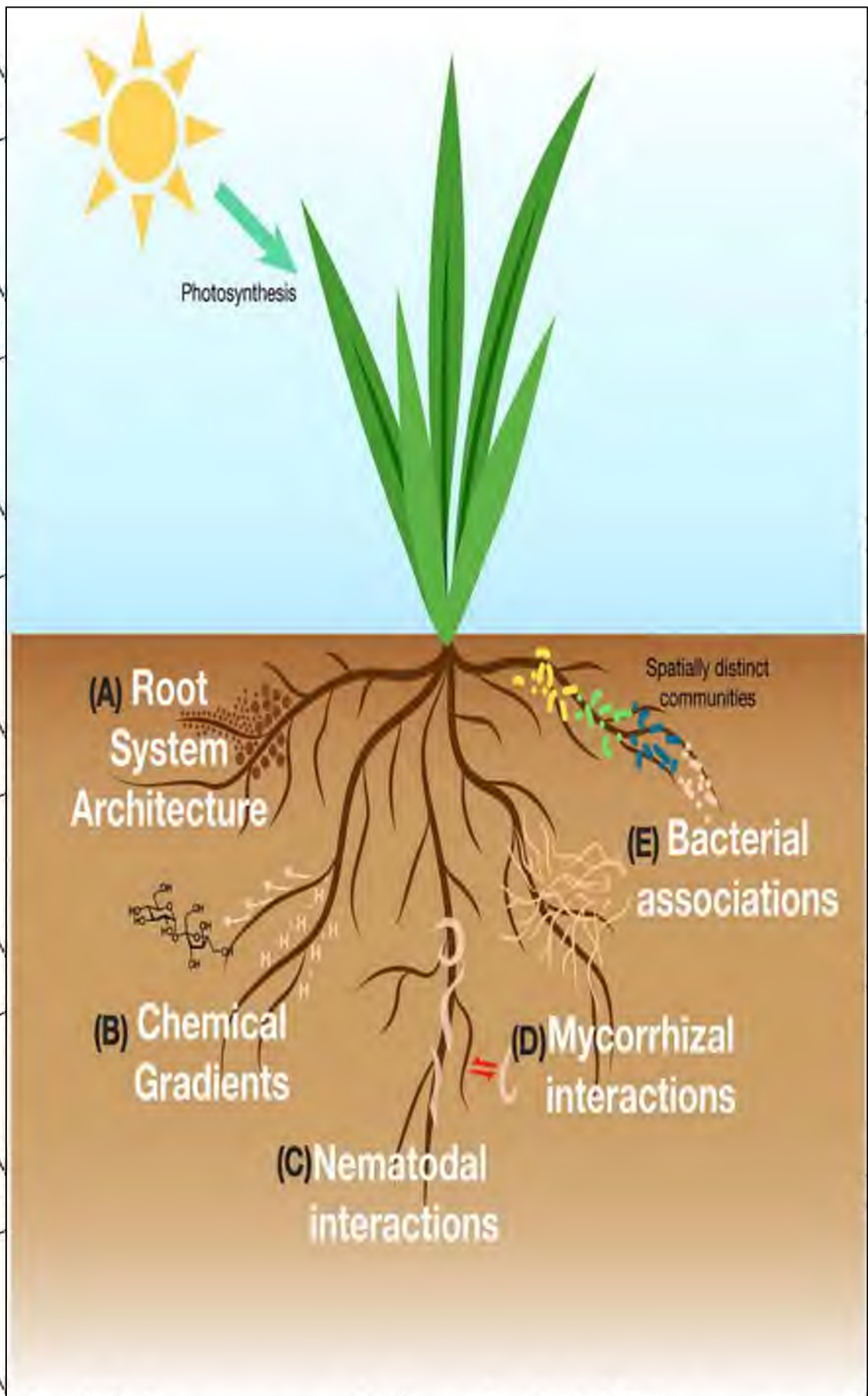


Рис. 1.7. Основні ризосферні процеси в ґрунті [35]

Специфічний вміст кореневих ексудатів може створити нішу, яка впливає на те, які мікроорганізми мають колонізувати ризосферу, таким чином змінюючи склад і різноманітність мікроорганізмів, що колонізують ризосферу, у специфічний для рослин спосіб. Таким чином, види рослин, стадія розвитку рослин і тип ґрунту були визначені як основні фактори, що визначають склад ризосферних мікробних спільнот. Тим не менш, ступінь, до якої вищезазначені фактори впливають на мікробні спільноти, не повністю зрозуміла, і в літературі є кілька протилежних звітів, які вказують на домінуючий фактор або рослину, або тип ґрунту (Рис. 1.6 – 1.7) [23, 25, 35, 36, 37].

Корисні для рослин взаємодії мікробів можна розділити на три категорії [37].

По-перше, ті мікроорганізми, які разом з рослинами відповідають за їх живлення (мікроорганізми, які здатні збільшувати надходження в рослину елементів мінерального живлення). Більшість з них може не взаємодіяти безпосередньо з рослиною, їхній вплив на біотичні та абіотичні параметри ґрунту, безумовно, впливає на ріст рослин [22, 23, 27, 37].

По-друге, існує група мікроорганізмів, які опосередковано стимулюють ріст рослин, перешкоджаючи росту або діяльності патогенів. Такі мікроорганізми називають агентами біоконтролю, і вони добре задокументовані [25, 26, 28, 35, 37].

До третьої групи належать ті мікроорганізми, які відповідають за безпосередню стимуляцію росту, наприклад, шляхом вироблення фітогормонів.

Існує велика кількість літератури, в якій описується потенційне використання асоційованих з рослинами бактерій як агентів, що стимулюють ріст рослин і керують придатністю ґрунту та рослин. З іншого боку, мабуть, нейтральні взаємодії широко виявляються в ризосфері всіх культурних рослин [24, 25, 27, 37].

Сапрофітні мікроорганізми відповідають за багато життєво важливих процесів у ґрунті, таких як розкладання органічних залишків у ґрунті та пов'язані з цим процеси мінералізації поживних речовин у ґрунті чи обміну.

Хоча ці організми, здається, не приносять користі або шкоди рослині безпосередньо, їх присутність, очевидно, життєво важлива для динаміки ґрунту, і їх відсутність вплине на здоров'я та продуктивність рослин [26, 28, 36, 37].

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження особливостей формування мікробного різноманіття дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області та мікробної активності при вирощуванні зернових культур здійснювалося в польових та лабораторних умовах на базі Інституту сільського господарства Західного Полісся НААН, а також наукової лабораторії кафедри екобіотехнології та біорізноманіття НУБіП України.

Для дослідження використовували дерново-підзолистий ґрунт Рівненської області сорту пшениці озимої «Краєвид»; штами мікроорганізмів *Rhizobium rhizogenes* як індикатори із робочої колекції непатогенних мікроорганізмів сільськогосподарського призначення професора кафедри фітопатології імені В.Ф. Пересипкіна НУБіП України М.В. Патики, колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН (*Rhizobium leguminosarum*).

2.1. Приготування і стерилізація поживних середовищ

В лабораторних умовах мікроорганізми-індикатори культивувати на різних поживних середовищах (гороховому, варгоплянному, м'ясо-пептонному агарам) (Таблиця 2.1).

МПА використовували також для обліку чисельності мікроорганізмів [11], які отримували методом поверхневого та глибинного посіву ґрунтових суспензій (дерново-підзолистий ґрунт Рівненської області, період відбору зразків 2021 – 2022 рр.).

Приготування м'ясо-пептонного агару (МПА): до охолодженого МПБ додали 1,5-2,0 % агар-агару та залишили відстоюватися тривалістю 15 хв (до повного набухання агар-агару). Після відстоювання суміші при кімнатній температурі її підігріли на водяній бані до поки не розчинився весь агар-агар,

охолодили до 50 °С і внесли ретельно збитий білок одного яйця та нагріли дану суміш в автоклаві протягом 15 хв при 0,5 атм. Після згортання білка середовище профільтрували, довели до необхідного рН і розлили у флакони.

Стерилізацію МПА провели за допомогою автоклавування тривалістю 15-20 хв при 120 °С – 1 атм [11].

Таблиця 2.1. Поживні середовища, використані для досліджень [11]

НАЗВА СЕРЕДОВИЩА			
Гороховий агар	Картопляний агар	М'ясо-пептонний агар (МПА)	Агар Чапека
КОМПОНЕНТИ СЕРЕДОВИЩА (г/л)			
<p>Горох – 100,0 г Цукроза – 20,0 г Агар-агар – 20,0 г рН – 6,8-7,0</p>	<p>Очищена картопля – 500 г Пептон – 10 г М'ясний екстракт – 10 г Агар-агар – 15 г рН – 7,0</p>	<p>М'ЯС – 1 л Агар-агар – 20 г Одний яєчний білок рН – 6,8-7,0</p>	<p>Глюкоза або гліцерин – 30,0 г NaNO₃ – 2,0 г K₂HPO₄ – 1,0 г MgSO₄·7H₂O – 0,5 г KCl – 0,5 г FeSO₄·7H₂O – 0,01 г Агар-агар – 15,0 г Крейда – 3,0 г рН – 7,0</p>

Приготування картопляного агару: очистити та нарізати картоплю дрібними шматками додали до неї 350 мл води та варили 45 хв. Отриманий екстракт профільтрували через бавовняну тканину додали необхідні інші компоненти поживного середовища до нього, розлили у флакони та проавтоклаували 15-20 хв при 120 °С – 1 атм [11].

Приготування горохового агару: до 100 г гороху додали 350 мл води варили 45-50 хв. Отриманий екстракт профільтрували через бавовняну тканину

додали необхідні інші компоненти і довели до необхідного рН, розлили у флакони та автоклали 15-20 хв при 120 °С – 1 атм [11].

Поживне середовище Чаєка з додаванням стрептоміцину використовували для встановлення кількості актиноміцетів. Його приготування здійснювали за звичним алгоритмом (Таблиця 2.1). Автоклали флакони 20 хв при 120 °С – 1 атм [11].

2.2. Вимоги до лабораторних досліджень, стерилізація інструментарію та посуду

Для проведення дослідів стерилізували сухим жаром лабораторний посуд (мірні стакани, чашки Петрі, пробірки, циліндри, скляні піпетки, покривні та предметні скельця, колби і т. д.) за температури 150 °С, тривалістю 2 години [13, 15, 16, 17, 19].

Воду, «наконечники» для дозаторів стерилізували тривалістю 30 хв при 121 °С – 1 атм за допомогою автоклавання [13, 15, 16, 17, 19].

Фламбування мікробіологічних петель і голок, металевих дрібних інструментів здійснювали безпосередньо перед їх використанням. Принцип цього методу полягає в тому, що інструменти необхідні для роботи з культурами мікроорганізмів стерилізують прожарюванням у полум'ї паличника [13, 15, 16, 17, 19].

2.3. Відбір та підготовка ґрунтових проб

Відбір ґрунтових зразків здійснили на весі (початок – середина онтогенезу пшениці озимої «Краєвид») у чотирьох адміністративних районах Рівненської області – Дубенському, Рівненському, Вараському, Сарненському за допомогою методу «конверта» та тростинного бура [9, 10].

Середній змішаний зразок (із кожного району) готували у трьох повтореннях з 5-ти індивідуальних зразків [9, 10].

2.4. Методи оцінки агрохімічних показників

Для визначення агрохімічних показників відбір проб здійснили з різної глибини (0-5, 5-20, 20-40 см) по 12 індивідуальних проб із кожного району, пробопідготовку здійснили відповідно до ДСТУ ISO 11464-2001 [5, 6, 9, 10].



Фиг. 2.1. Відібрані ґрунтові проби

2.4.1. Оцінка показників продуктивної вологості ґрунту.

Оцінку показників продуктивної вологості ґрунту досліджували за допомогою термогравіметричного методу. Відбирали невеликий зразок ґрунту і зважували його. Далі видаляли з нього вологість методом теплового сушіння.

після цього його знов зважили. За різницею маси сухого і вологого зразка визначили вологість ґрунту [3].

2.4.2. Оцінка показників обмінної кислотності та реакції ґрунтового розчину

Реакцію ґрунтового розчину (pH_{sol}) визначали через величину водневого показника (pH), який є від'ємним десятковим логарифмом концентрації іонів H^+ [4].

Обмінну кислотність (pH_{col}) визначали за допомогою взаємодії ґрунту з розчином KCl [4].

2.4.3. Методика дослідження рухомих форм Фосфору

Визначення вмісту рухомих форм Фосфору здійснювали за методикою Кірсанова (ДСТУ 4405:2005) [1].

На аналітичних вагах у бюксі зважили 10 г сухого ґрунту, який попередньо просіяли через сито (Рис. 2.2). Наважку пересипали в колбу ємністю 100 мл та туди ж додали 50 мл 0,2 н розчину HCl. Вміст колби перемішали і залишили відстоюватися на 15 хв. Після ресуспендування відфільтрували [2, 8, 12, 14, 34].

Wet aggregate stability test



Рис. 2.2. Техніка просіювання ґрунту на ситі [34]

Із прозорого фільтрату відбрали 2 мл витяжки і помістили в колбу ємністю 50 мл, в яку, також, додали 30 мл дистильованої води і нейтралізували динітрофенолом [1, 2, 8, 12, 14, 34].

За методом Деніже (варіант Трюга-Мейера) визначили Фосфор у випробуваному розчині [1, 2, 8, 12, 14, 34].

Для приготування шкали стандартних розчинів у кожну колбу додали 2 мл 0,2 н НСІ та нейтралізували дані розчини динітрофенолом. Поді отриманий результат вмісту в ґрунті рухомих форм фосфору порівняли із шкалою групування ґрунтів для методу Кірсанова [1, 2, 8, 12, 14, 34].

2.4.4. Методика дослідження рухомих форм Калію

Визначення вмісту рухомих форм Калію проводили за методикою Мачигіна (ДСТУ 4114:2002) [1, 5, 6, 8, 12, 14].

Калій екстрагували з наважки розчином $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ при температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$ при співвідношенні 1:20 ґрунту до розчину з подальшим подум'янометричним визначенням вмісту рухомих форм калію [1, 5, 6, 8, 12, 14].

2.4.5. Методика дослідження рухомих форм азоту

Визначення вмісту рухомих форм азоту здійснювали за методикою Корнфілда (ДСТУ 7863:2015) [1, 5, 6, 8, 12, 14].

На аналітичних вагах зважили 2 г сухого розтертого ґрунту, який просіяли через сито. Наважку помістили у чашку Конвея. Також у центральну частину чашки додали 2 мл 2 %-го розчину борної кислоти і дві краплини індикатора Гротага. Не змочуючи ґрунт в іншу частину чашки за допомогою бюретки додали 5мл 1 н розчину NaOH. Краї чашки змазали вазеліном та щільно накрили кришкою. Для змочення ґрунту 1 н розчину NaOH чашку обережно обертають 1 хв. Після цього чашку поставили в термостат на 48 годин при температурі 28°C . Діставши чашку з термостату протитрували борат

амонію розчином 0,02 н розчином сірчаної кислоти до утворення забарвлення розчину фіолетово-червоного [1, 5, 6, 8, 12, 14].

2.4.6. Методика дослідження вмісту гумусу

Визначення вмісту гумусу в ґрунті проводили за методикою Тюрин (ДСТУ 4289:2004) [8].

Наважку ґрунту масою 0,5 г пересипали в колбу і туди ж додали 10 мл біхромату калію. Суміш кип'ятили на водяній бані протягом 5 хв, охолодили та змили залишки суміші зі стінок колби дистильованою водою (10 – 20 мл). Далі

до вмісту колби додали 5 крапель фенолфталеїну та протитрували 0,2 н розчином Мора до утворення забарвлення темно-зеленого кольору. Паралельно провели контрольне титрування [8].

2.5. Методи оцінки мікробіологічних показників

2.5.1. Аналіз чисельності та культурально-морфологічних особливостей ізолятів

Метод десятикратних розведень використали для аналізу чисельності мікроорганізмів дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області. Обрахунок їхньої чисельності здійснювали за допомогою методу прямого підрахунку клітин отриманих шляхом поверхневого та глибокого посіву на поживні середовища (Таблиця 2.1) з ґрунтових суспензій (Рис. 2.3). Результати підрахунку представили кількістю колонієутворюючих одиниць в 1,0 г абсолютно сухого ґрунту (КУО/г ґрунту) [16, 17].

Культурально-морфологічні властивості отриманих ізолятів вивчали та описували за допомогою методу мікроскопіювання фіксованих препаратів [16, 17].



Рис. 2.3. Грунтові серійні розведення

2.5.2. Методика дослідження вмісту активної мікробної біомаси

Дослідження вмісту активної мікробної біомаси розпочали із приготування змивів культур мікроорганізмів 10-ма мл дистильованої води з поверхні поживного середовища. Через попередньо зважений фільтр профільтрували отримані змиви та провели розрахунок кількості отриманої біомаси [18].

В центрифужну пробірку, яку попередньо зважили налили 5 мл, з колби, перемішаної суспензійної культури. Зважили пробірку із вмістом культуральної суспензії та процентрифугували її протягом 15 хв при 5000 об/хв. Злили фігат.

отриманий осад промили підкисленою водою та продовжили центрифугування ще на 10 хв [18].

Масу культури визначили за формулою 2.1:

$$M = \frac{(A-B) \times 1000}{V}, \text{ де} \quad (2.1)$$

M – суха біомаса, г/л;

A – маса центрифужної пробірки з осадом, г;

B – маса центрифужної пробірки без осаду, г;

V – обсяг культуральної рідини взятий для центрифугування [18].

2.6. Представлення та обробка отриманих результатів

Для представлення та обробки отриманих результатів використали статистичний метод. Зібрані дані були піддані дисперсійному аналізу (ANOVA)

для порівняння середніх, і значущі відмінності були розраховані відповідно до

ретроспективного тесту Тьюкі при $p < 0,05$ значимого рівня.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

НУБІП УКРАЇНИ

3.1. Біологічний стан дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області в умовах аграрного використання

3.1.1. Оцінка агрохімічних показників

Для характеристики біологічного стану дерново-підзолистих ґрунтів адміністративних районів Рівненської області досліджено та охарактеризовано агрохімічні показники: вміст гумусу, рухомих сполук фосфору та калію, показник продуктивної вологості, показник обмінної кислотності (Рис. 3.1 – 3.4).

НУБІП УКРАЇНИ

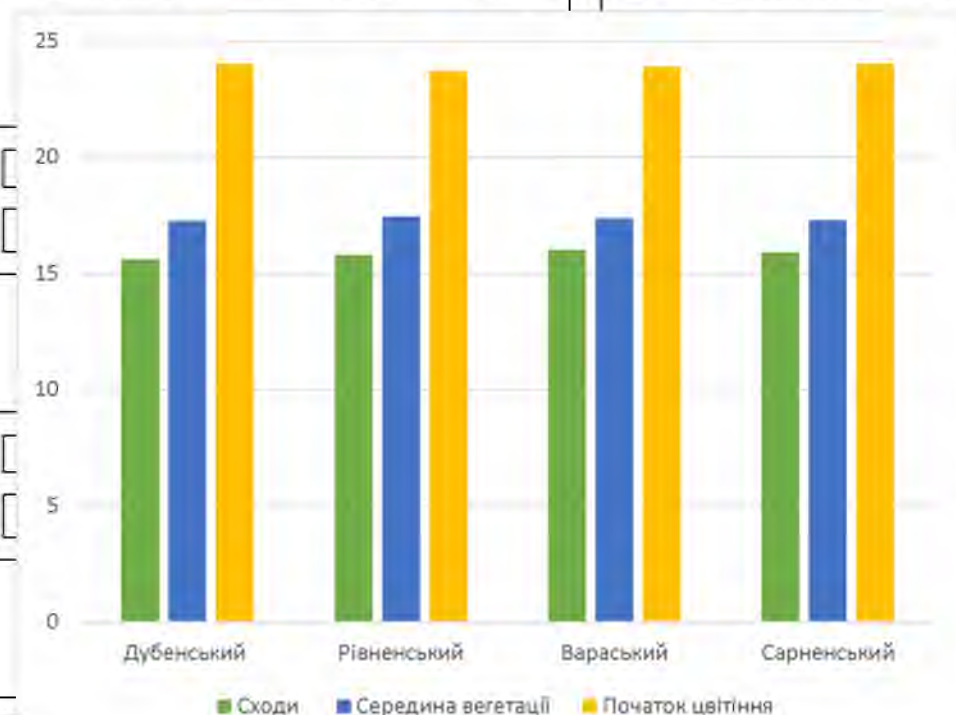


Рис. 3.1 Показник продуктивної вологості ризосфери озимої пшениці «Красвид» на дослідних ділянках дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області

НУБІП УКРАЇНИ

Показник продуктивної вологості ризосфери озимої пшениці «Красвид» на дослідних ділянках дерново-підзолистих ґрунтів в Дубенському районі на

весні (період сходів) варіював у межах – 15,60 – 17,25 %, влітку – 17,25 – 24,0 % (Рис. 3.1).

Показник продуктивної вологості ризосфери озимої пшениці «Краєвид» на дослідних ділянках дерново-підзолистих ґрунтів в Рівненському районі на весні (період сходів) варіював у межах – 15,80 – 17,44 %, влітку – 17,44 – 23,7 % (Рис. 3.1).

Показник продуктивної вологості ризосфери озимої пшениці «Краєвид» на дослідних ділянках при диференційованому обробітку дерново-підзолистих ґрунтів у Вараському районі на весні (період сходів) варіював у межах – 16,0 – 17,37 %, влітку – 17,37 – 23,9 % (Рис. 3.1).

Показник продуктивної вологості ризосфери озимої пшениці «Краєвид» на дослідних ділянках дерново-підзолистих ґрунтів в Сарненському районі на весні (період сходів) варіював у межах – 15,89 – 17,27 %, влітку – 17,27 – 24,0 % (Рис. 3.1).

Також, встановлено в польових дослідженнях, що зростання вологості ґрунту до 24 % (Рис. 3.1) на дослідних ділянках з сортом озимої пшениці «Краєвид» в адміністративних районах Рівненської області зумовлено збільшенням кількості опадів в період початку цвітіння сорту.

Показники обмінної кислотності на дослідних ділянках засіяних сортом озимої пшениці «Краєвид» дерново-підзолистих ґрунтів Рівненського району: $pH_{\text{сол}} = 6,95$; $pH_{\text{вод}} = 7,79$ (Рис. 3.2).

Показники обмінної кислотності на дослідних ділянках засіяних сортом озимої пшениці «Краєвид» дерново-підзолистих ґрунтів Дубенського району: $pH_{\text{сол}} = 6,93$; $pH_{\text{вод}} = 7,66$ (Рис. 3.2).

Показники обмінної кислотності на дослідних ділянках засіяних сортом озимої пшениці «Краєвид» при диференційованому обробітку дерново-підзолистих ґрунтів Вараського району: $pH_{\text{сол}} = 7,15$; $pH_{\text{вод}} = 7,78$ (Рис. 3.2).

Показники обмінної кислотності на дослідних ділянках засіяних сортом озимої пшениці «Краєвид» дерново-підзолистих ґрунтів Сарненського району: $pH_{\text{сол}} = 6,89$; $pH_{\text{вод}} = 7,56$ (Рис. 3.2).

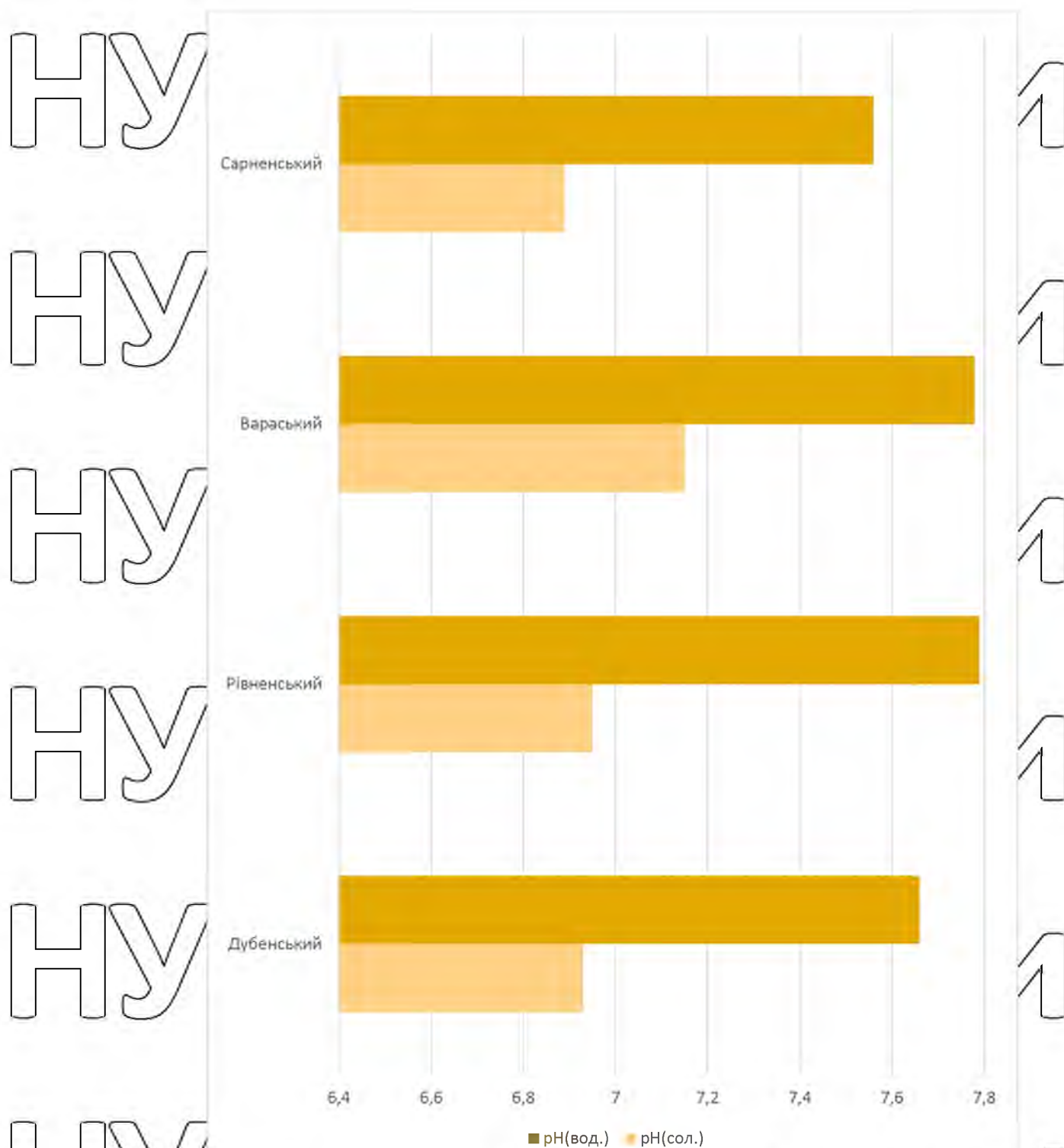


Рис. 32. Показники обмінної кислотності на дослідних ділянках засіяних сортом озимої пшениці «Краєвид» дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області

Отже, виходячи з отриманих результатів, бачимо, що реакція ґрунтових розчинів нейтральна.

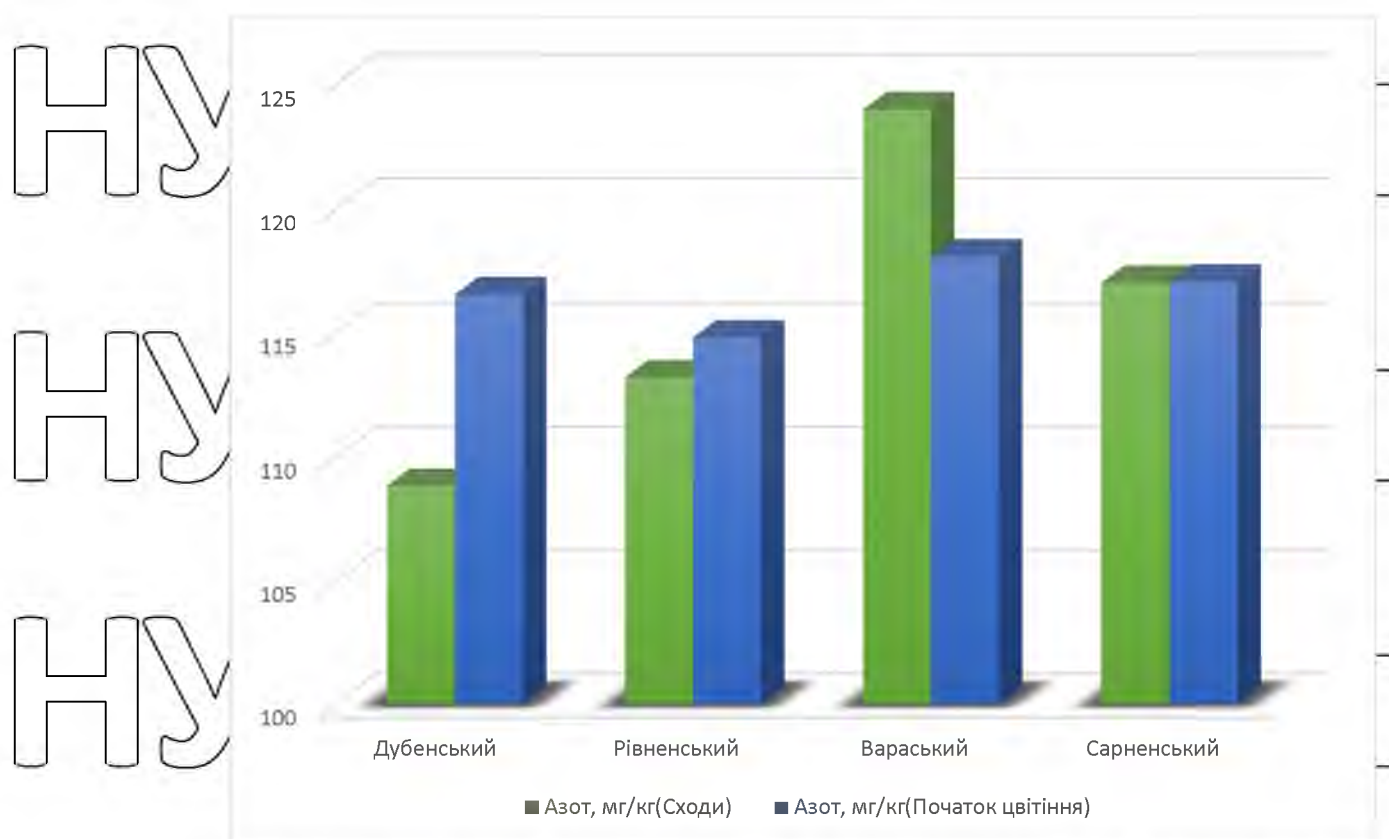


Рис. 3.3. Показники рухомого азоту на початку сходів та цвітіння пшениці сорту «Краєвид» дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області

Показники рухомого азоту в період онтогенезу пшениці озимої сорту

«Краєвид» в Дубенському районі були в межах 108,86 – 116,57 мг/кг (Рис. 3.3).

Показники рухомого азоту в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» в Рівненському районі були в межах 113,23 – 114,83 мг/кг (Рис. 3.3).

Показники рухомого азоту в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» при диференційованому обробітку у Вараському районі були в межах 124,02 – 118,09 мг/кг (Рис. 3.3).

Показники рухомого азоту в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» у Сарненському районі були в межах 117,05 – 117,08 мг/кг (Рис. 3.3).

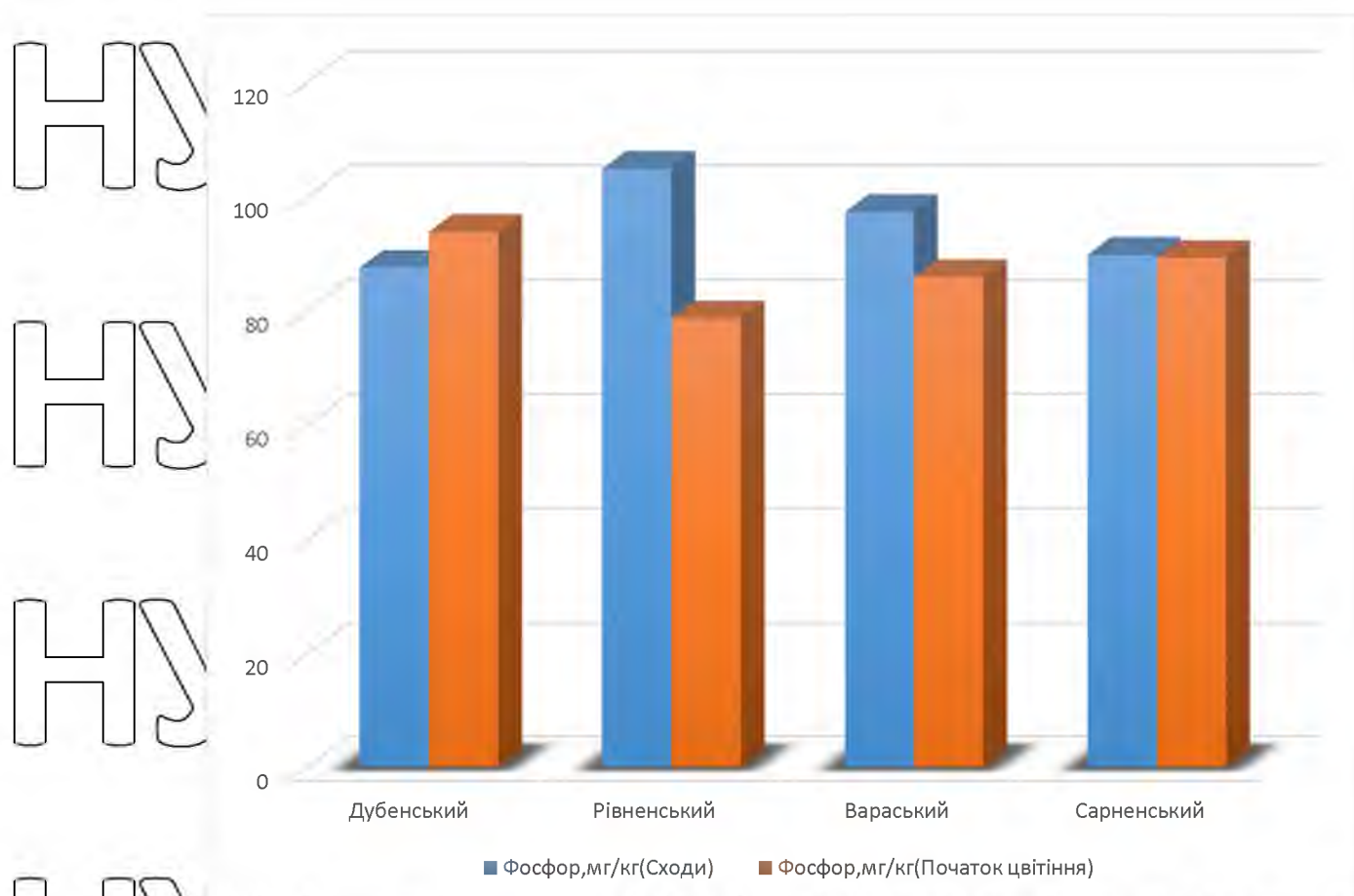


Рис. 3.4. Показники рухомого фосфору на початку сходів та цвітіння пшениці сорту «Краєвид» дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області

Показники рухомого фосфору в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» в Дубенському районі були в межах 87,57 – 93,86 мг/кг (Рис. 3.4).

Показники рухомого фосфору в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» в Рівненському районі були в межах 104,87 – 78,65 мг/кг (Рис. 3.4).

Показники рухомого фосфору в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» у Вараському районі були в межах 97,32 – 85,91 мг/кг (Рис. 3.4).

Показники рухомого фосфору в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» при диференційованому обробітку в Сарненському районі були в межах 89,84 – 89,30 мг/кг (Рис. 3.4).

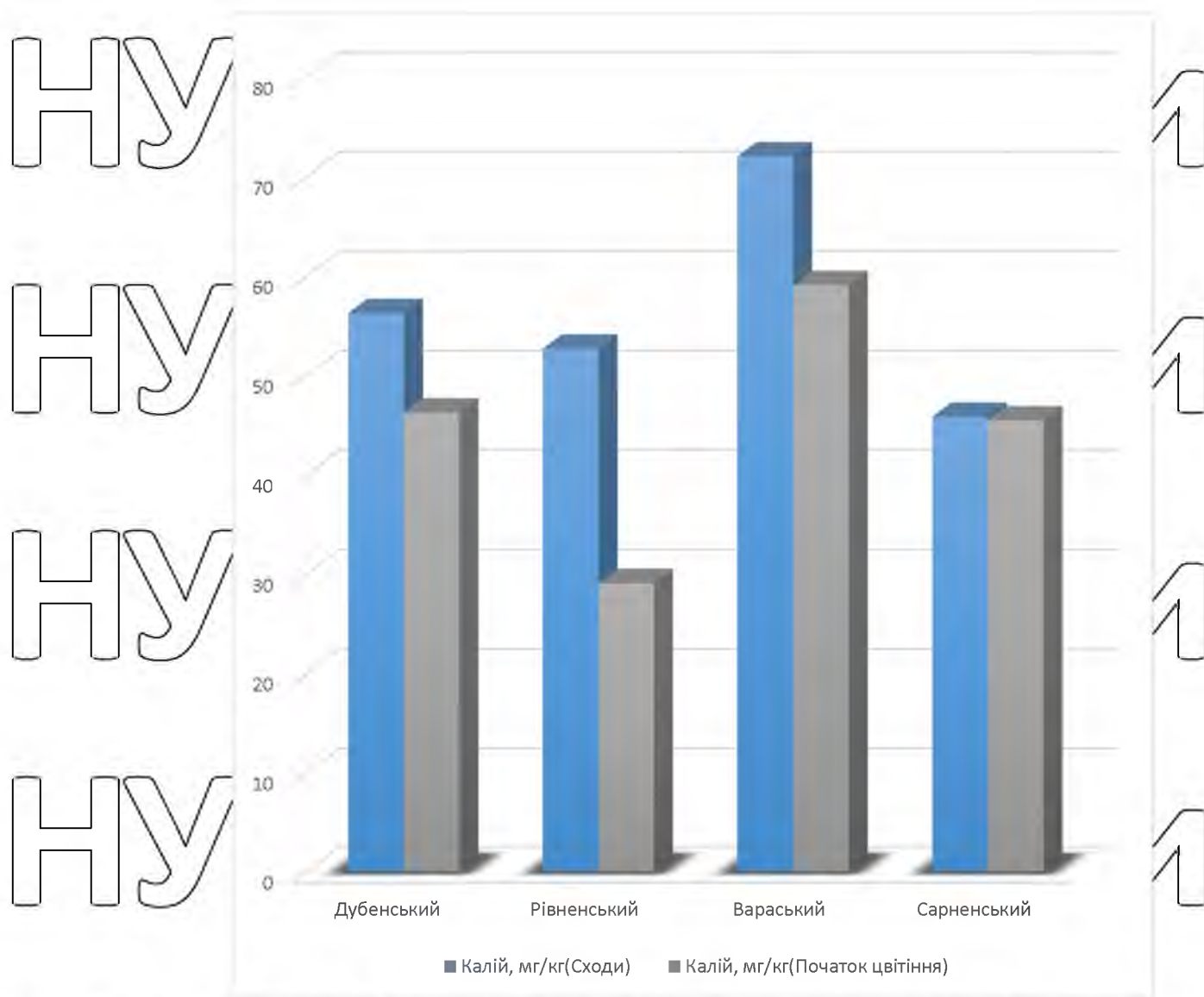


Рис. 3.5. Показники рухомого калію на початку сходів та цвітіння пшениці сорту «Краєвид» дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області

Показники рухомого калію в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» у Дубенському районі були в межах 56,29 – 46,29 мг/кг (Рис. 3.5).

Показники рухомого калію в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» в Рівненському районі були в межах 52,74 – 29,15 мг/кг (Рис. 3.5).

Показники рухомого калію в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» у Вараському районі були в межах 72,06 – 59,11 мг/кг (Рис. 3.5).

Показники рухомого калію в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид» в Сарненському районі були в межах 45,87 – 45,50 мг/кг (Рис. 3.5).

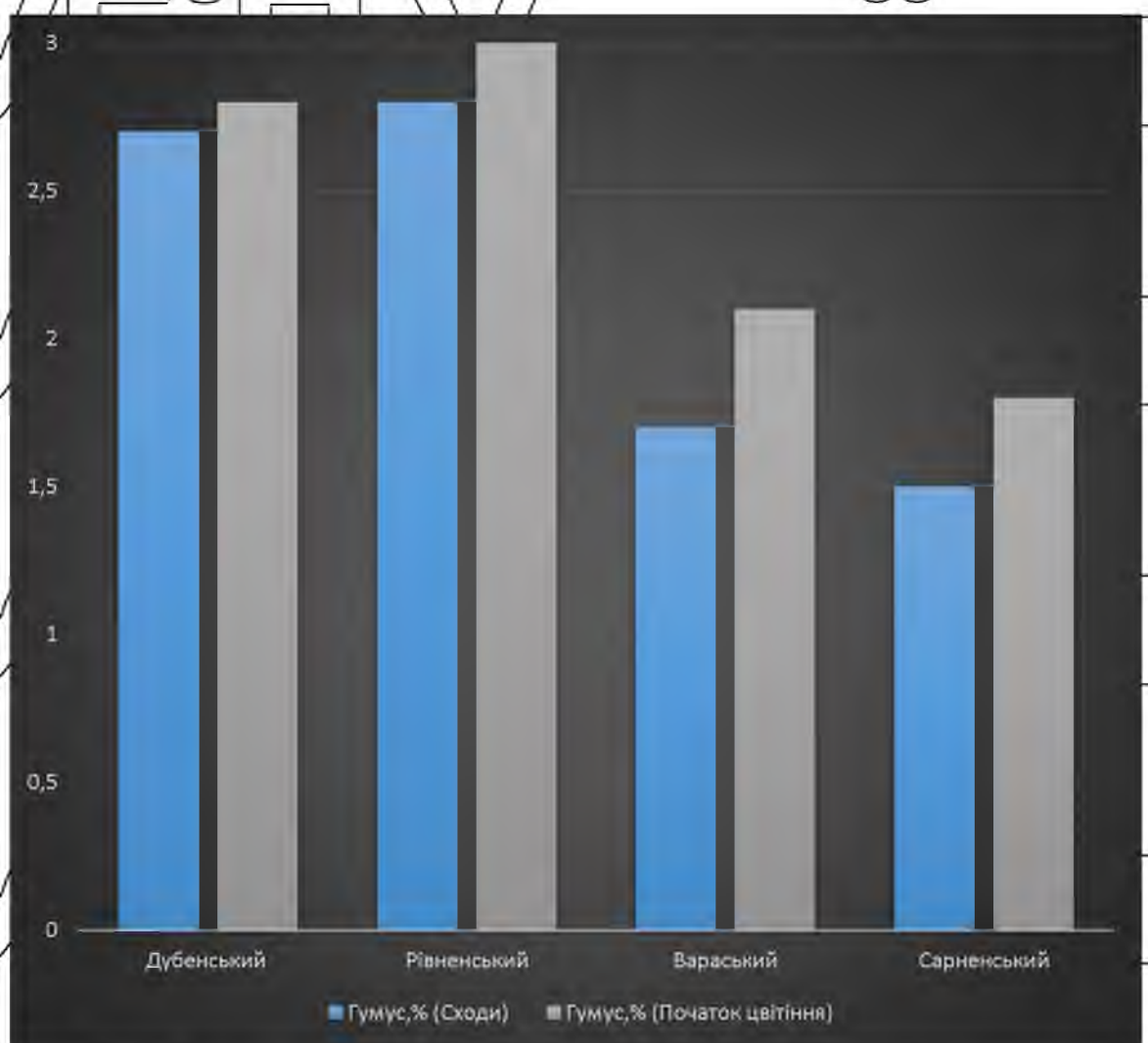


Рис. 3.6. Показник гумусу на початку сходів та цвітіння пшениці сорту «Красвид» дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області

Показник гумусу в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Красвид» в Дубенському районі були в межах 2,7 – 2,8 % (Рис. 3.6).

Показник гумусу в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Красвид» в Рівненському районі були в межах 2,8 – 3,0 % (Рис. 3.6).

Показник гумусу в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Красвид» у Вараському районі були в межах 1,7 – 2,1 % (Рис. 3.6).

Показник гумусу в період онтогенезу пшениці озимої сорту «Красвид» в Сарненському районі були в межах 1,5 – 1,8 % (Рис. 3.6).

3.1.2. Оцінка мікробіологічних показників

Важливою складовою мікробіоценозу є мікроміцети, які складають 75 – 80% біомаси верхніх горизонтів ґрунту [9, 10], тому чисельність мікроорганізмів є важливим показником для оцінки біологічного стану дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області станом на 2021 – 2022 рр.

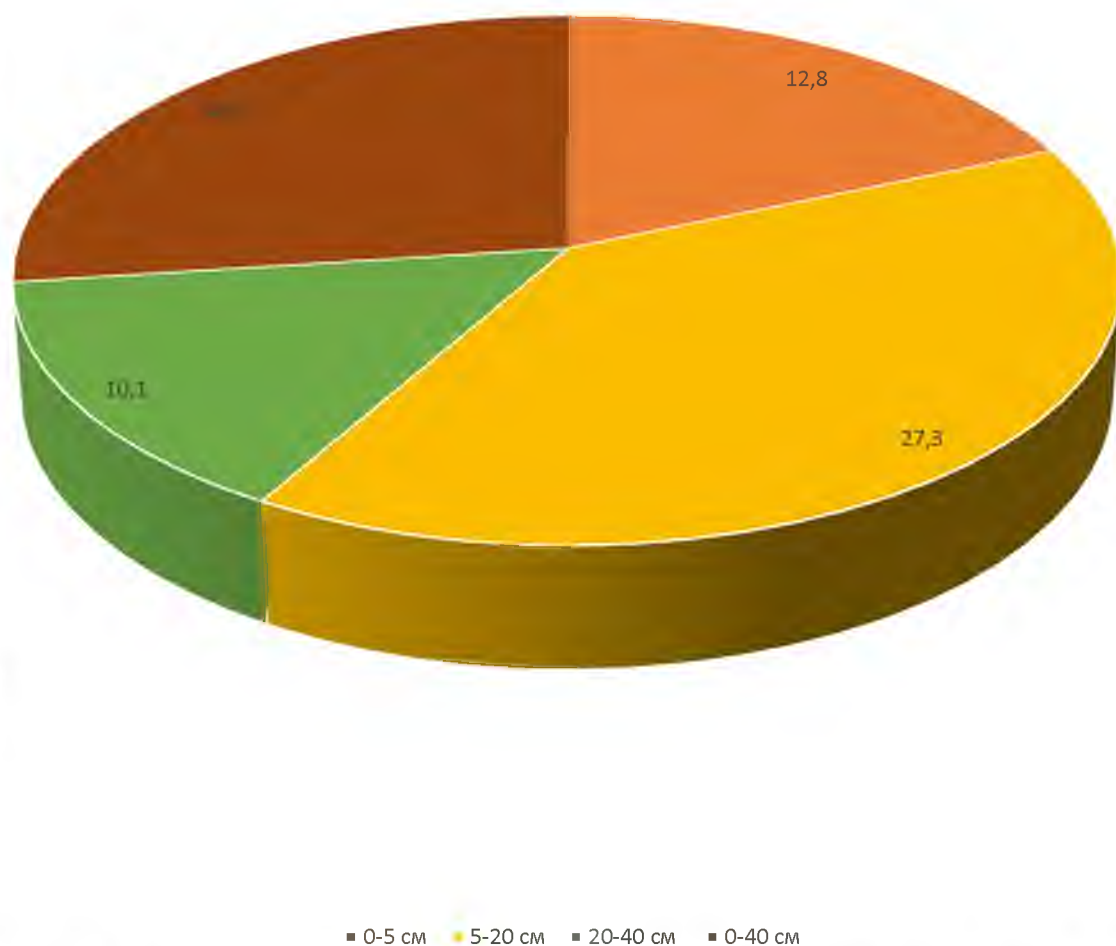


Рис. 3.7. Чисельність мікроміцетів (тис. КУО в 1 г ґрунту) в дерново-підзолистих ґрунтах Сарненського району Рівненської області в період онтогенезу озимої пшениці сорту «Красвид»

Найбільша чисельність мікроміцетів в дерново-підзолистих ґрунтах Сарненського району Рівненської області в період онтогенезу озимої пшениці сорту «Краєвид» спостерігалася в орному шарі ґрунту 5-20 см та досягла 21,3 тис. КУО в 1 г ґрунту (Рис. 3.7).

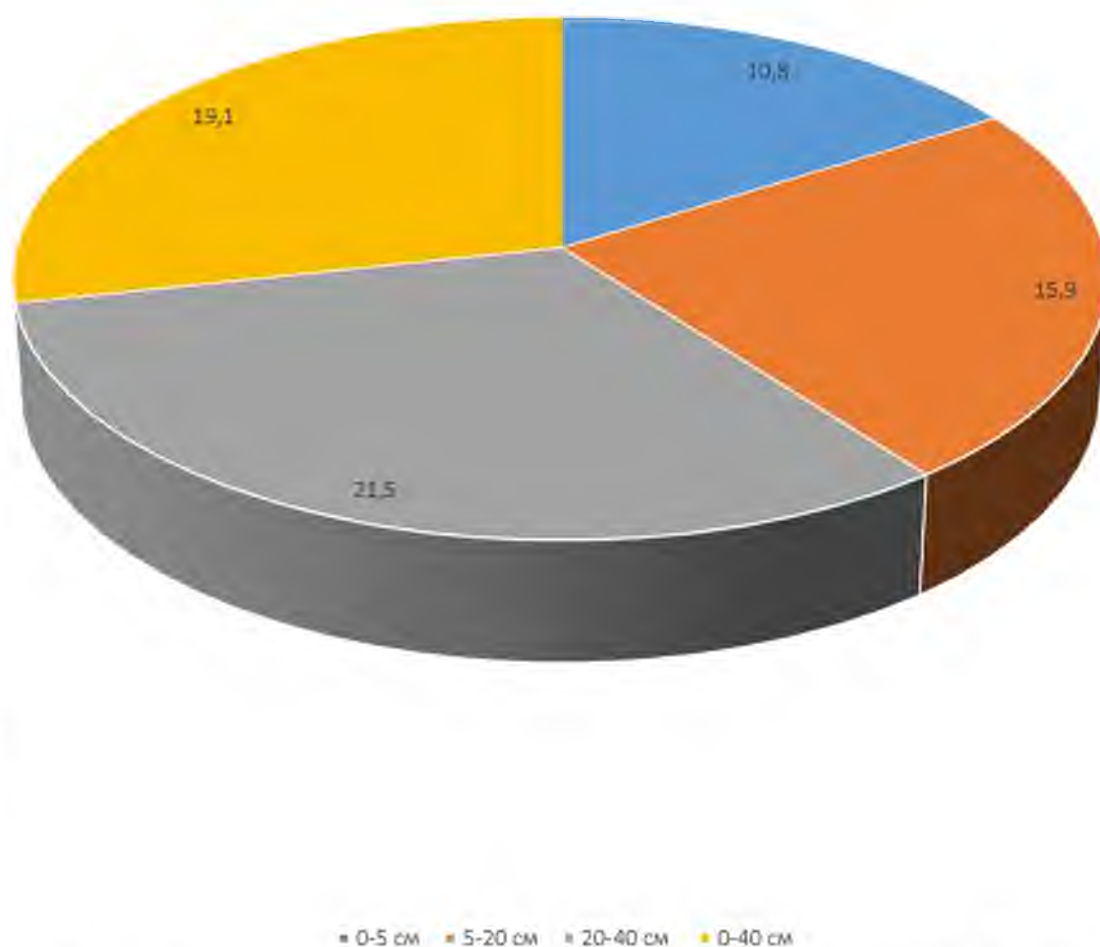


Рис. 3.8. Чисельність мікроміцетів (тис. КУО в 1 г ґрунту) в дерново-підзолистих ґрунтах Вараського району Рівненської області в період онтогенезу озимої пшениці сорту «Краєвид»

Найбільша чисельність мікроміцетів в дерново-підзолистих ґрунтах Вараського району Рівненської області в період онтогенезу озимої пшениці

сорту «Красвид» спостерігалася на глибині 20 – 40 см та досягла 21,5 тис. КУО в 1 г ґрунту (Рис. 3.8)

НУБІП УКРАЇНИ

НУ

НУ

НУ

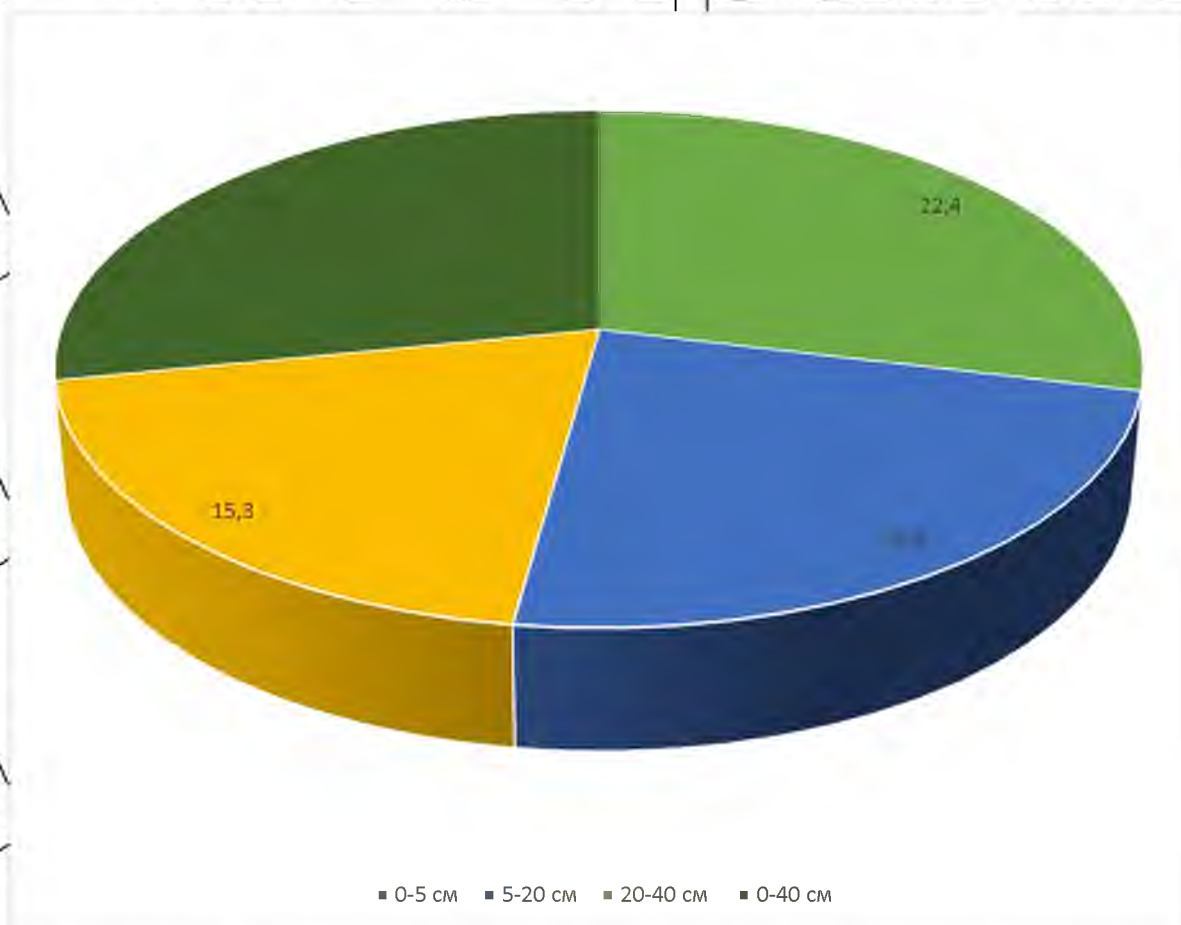


Рис. 3.9 Чисельність мікробів (тис. КУО в 1 г ґрунту) в дерново-підзолистих ґрунтах Рівненського району Рівненської області в період онтогенезу озимої пшениці сорту «Красвид»

НУБІП УКРАЇНИ

Найбільша чисельність мікробів в дерново-підзолистих ґрунтах Рівненського району Рівненської області в період онтогенезу озимої пшениці сорту «Красвид» спостерігалася на глибині 0 – 5 см та досягла 22,4 тис. КУО в 1 г ґрунту (Рис. 3.9).

НУБІП УКРАЇНИ

Найбільша чисельність мікробів в дерново-підзолистих ґрунтах Дубенського району Рівненської області в період онтогенезу озимої пшениці сорту «Красвид» спостерігалася на глибині 5 – 20 см та досягла 25,7 тис. КУО в 1 г ґрунту (Рис. 3.10).

НУБІП УКРАЇНИ

На рисунках 3.11 – 3.12 продемонстровано отримані морфотипи мікроміцетів та стрептоміцетів з дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області на період 2021 – 2022 рр.

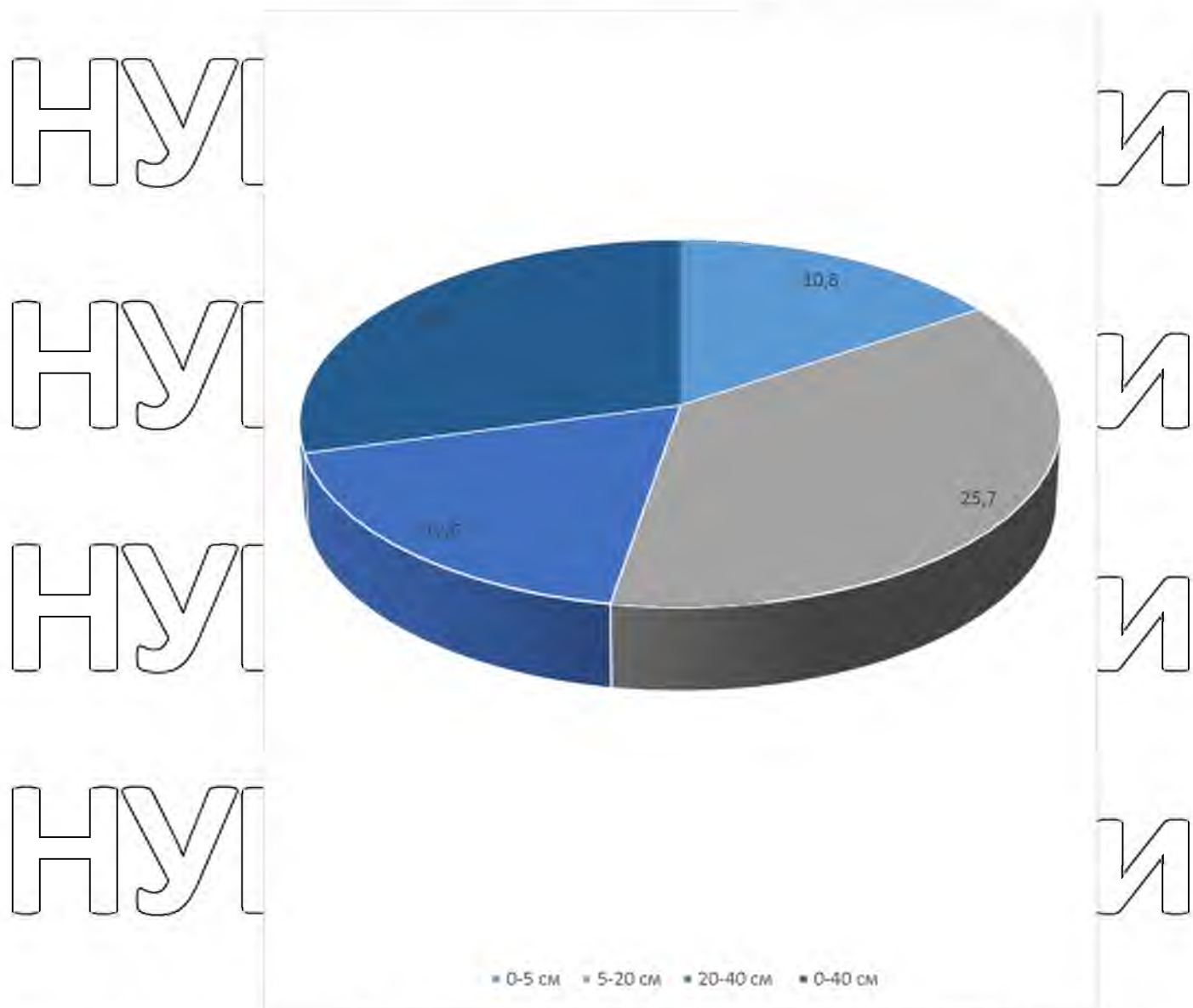


Рис. 3.10. Чисельність мікроміцетів (тис. КУО в 1 г ґрунту) в дерново-підзолистих ґрунтах Дубенського району Рівненської області в період онтогенезу озимої пшениці сорту «Красвид»

НУБІП України

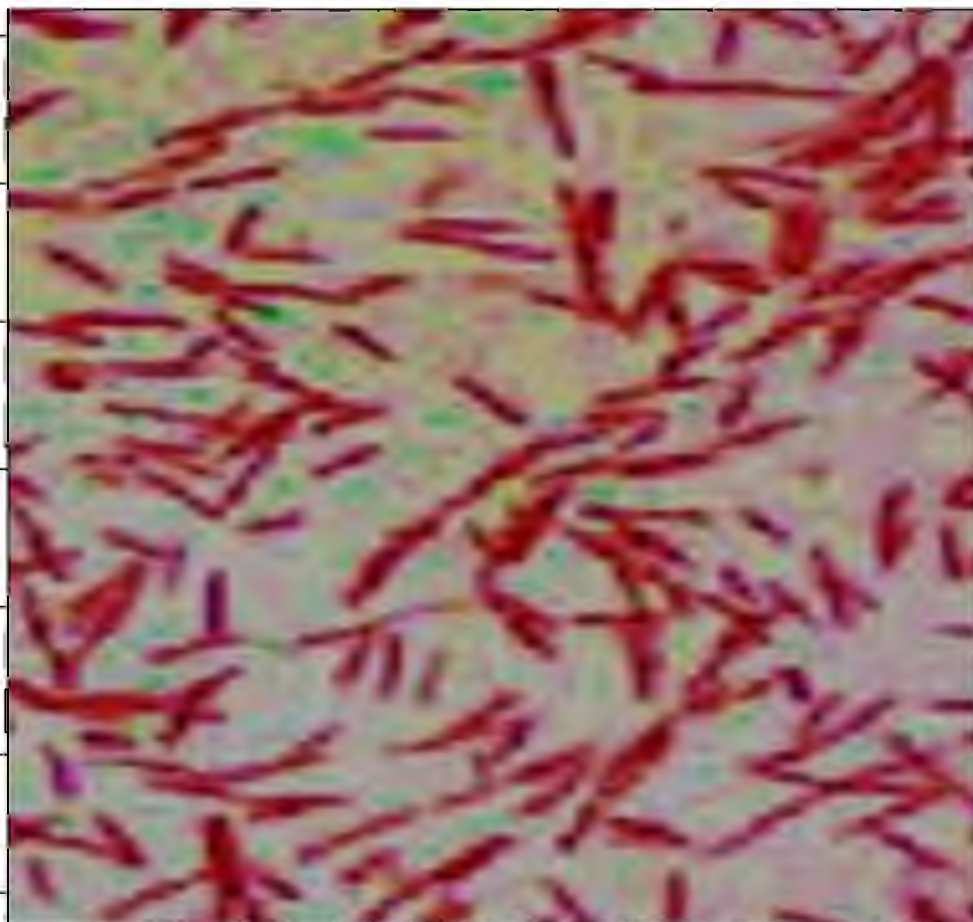


Рис. 3.11. Мікроскопія виявлених морфотипів 1-3

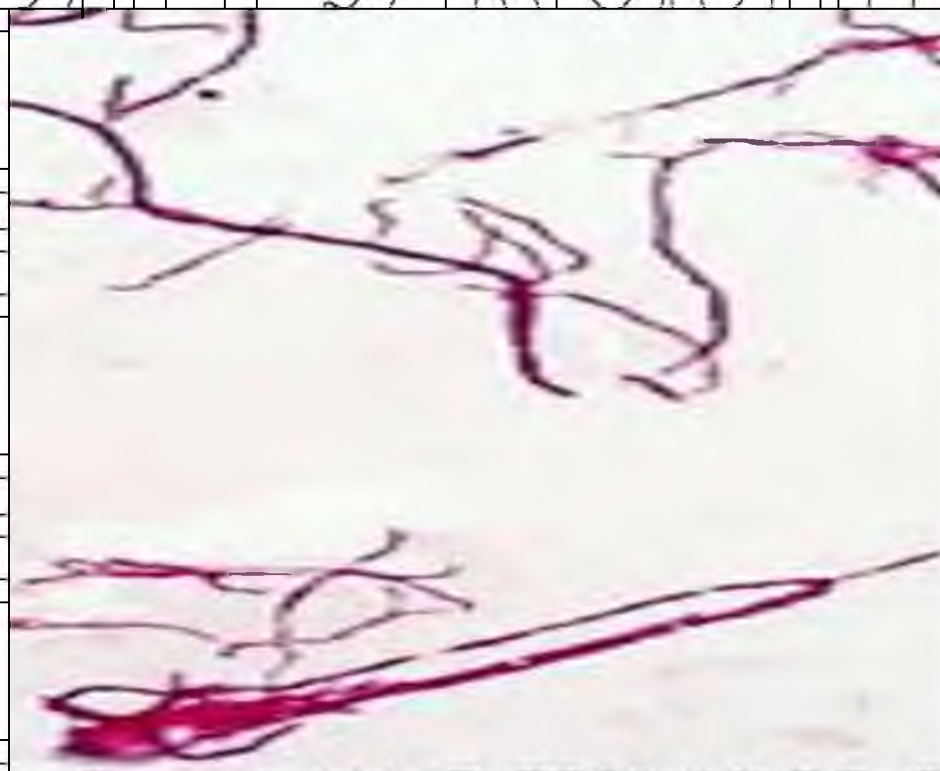


Рис. 3.12. Мікроскопія виявлених морфотипів 3-6

Проаналізувавши отримані результати, можна стверджувати, що при диференційованому обробітку дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області створюються оптимальні умови для оптимізації гумусоутворення, про що свідчать мікроскопія отриманих морфотипів (вони беруть активну участь в процесах гумусоутворення) та їх чисельності в 1 г ґрунту (Рис. 3.11 – 3.12).

3.2. Мікробна активність при вирощуванні сорту пшениці «Краєвид»

Активна мікробна біомаса є вагомим фактором впливу на біогеохімічні параметри дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області. Результати дослідження вміст активної мікробної біомаси при диференційованому обробітку у ризосфері озимої пшениці «Краєвид» адміністративних районів Рівненської області представлений у формі таблиці 3.1.

Вміст сумарної активної мікробної біомаси при диференційованому обробітку у ризосфері озимої пшениці «Краєвид» на початку її фази сходів в адміністративних районах Рівненської області був у межах 186,21 – 199,01 мг/кг (найнижчий показник – Рівненський район, найвищий показник –

Дубенський район). Під час фази цвітіння сорту озимої пшениці «Краєвид»

вміст сумарної активної мікробної біомаси у її ризосфері при диференційованому обробітку варював у межах 214,91 – 246,38 мг/кг (найнижчий показник – Сарненський район, найвищий показник – Рівненський

район).

Отже, ми спостерігаємо приріст сумарної активної мікробної біомаси, який був зумовлений збільшенням кореневих виділень озимої пшениці сорту «Краєвид» в процесі її онтогенезу.

НУБІП УКРАЇНИ

Таблиця 3.1. Вміст активної мікробної біомаси (С, мг/кг) у ризосфері озимої пшениці «Краєвид» адміністративних районів Рівненської області

Мікробна біомаса	Адміністративні райони Рівненської області			
	Сарненський	Вараський	Рівненський	Дубенський
Фаза сходів				
Сумарна	195,26 ± 8,98	187,97 ± 6,6	186,21 ± 4,77	199,01 ± 6,66
Бактеріальна	168,01 ± 7,59	159,06 ± 5,42	163,97 ± 2,76	171,00 ± 5,37
Мікроміцетна	27,25 ± 1,39	28,91 ± 1,18	22,24 ± 2,01	28,01 ± 1,29
Фаза цвітіння				
Сумарна	214,91 ± 6,12	229,77 ± 4,37	246,38 ± 5,89	239,70 ± 4,64
Бактеріальна	183,04 ± 3,47	191,58 ± 2,51	201,07 ± 3,84	196,91 ± 2,68

НУБІП УКРАЇНИ

Мікроміцетна	31,87 ± 2,65	38,19 ± 1,86	45,31 ± 2,05	43,79 ± 1,96
--------------	--------------	--------------	--------------	--------------

3.3. Передумови формування мікробного різноманіття дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області

Важливим показником екологічного стану ґрунту є мікробне різноманіття його ценозу, тому нами було досліджено формування морфологічних типів ґрунтових мікроорганізмів у дерново-підзолистих ґрунтах Рівненської області (період 2021 – 2022 рр.) в процесі онтогенезу пшениці озимої сорту «Краєвид».

В ризосфері пшениці озимої «Краєвид», за допомогою використання різних за складом поживних середовищ, виявлено різні за морфологією групи мікроорганізмів.

У результаті дослідження культурально-морфологічних особливостей (методом мікроскопіювання) виділених бактерій описано культурально-морфологічні особливості мікроорганізмів, які схожі за властивостями з представниками *Azotobacter*, тобто вони мали однорідну структуру, краплеподібні краї, капсулярні колонії (виділення слизу), на середовищі МПА мали пігментацію коричневого кольору – ізолят 1/4 (Табл. 3.2).

Порівнявши дослідні ізоляти 1/2, 2/3, 3/2 з еталонними культурами мікроорганізмів (колекція) *Rhizobium rhizogenes* та *Rhizobium leguminosarum*, виявили подібні культурально-морфологічні особливості – відсутність пігментації та форма бактерій (як у представників родини *Rhizobiaceae*).

За результатами досліджень морфотипів, можна попередньо стверджувати про формування оптимальних умов для розвитку ґрунтової мікробіоти.

НУБІП УКРАЇНИ

Таблиця. 3.2. Культурально-морфологічні особливості отриманих ізолятів

Ізолят бактерій	Вигляд колоній мікроорганізмів на поживному середовищі	Форма мікроорганізмів	Присутність пігментації
1/2	Дрібні, край – рівний, опуклі, структура – однорідна	Паличкоподібні	Без пігментації
1/4	Край – рівний, опуклі, гладкі, структура – однорідна, дрібні	Паличкоподібні	Пігментація коричневого кольору
2/3	Дрібні, структура – однорідна, край – рівний, опуклі	Паличкоподібні	Без пігментації
3/2	Форма – ризоїдна, пласка; матова	Паличкоподібні	Прозора пігментація
3/4	Структура – однорідна, форма – кругла, розмір – середній	Паличкоподібні диплококи	Без пігментації

<p>4/2</p> <p>НУБІП</p>	<p>Структура – однорідна, форма – кругла, розмір – середній</p>	<p>Паличкоподібні диплококи</p>	<p>Без пігментації</p> <p>України</p>
-------------------------	---	-------------------------------------	---------------------------------------

3.4. Заходи поліпшення біологічного стану дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області в умовах аграрного використання

Дослідивши біологічний стан дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області в умовах аграрного використання можна запропонувати наступні методи з метою збереження та управління мікробним біорізноманіттям:

- застосування біологічних препаратів;
- відновлення полезахисних лісосмуг;
- внесення гноєвих компостів;
- використання деструкторів.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВИСНОВКИ

1. Для біоіндикації та аналізу стану дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області доцільно здійснювати дослідження активності мікробної біомаси, чисельності та представленості морфотипів мікроорганізмів ґрунту з

урахуванням умов вирощування пшениці озимої сорту «Красвид»

2. Встановлено, що вміст сумарної активної мікробної біомаси у ризосфері озимої пшениці на початку онтогенезу (фаза сходів) в адміністративних районах Рівненської області був у межах 186,21 – 199,01

мг/кг (найнижчий показник – Рівненський район, найвищий показник – Дубенський район). Під час цвітіння озимої пшениці вміст сумарної активної мікробної біомаси змінювався до показників 214,91 – 246,38 мг/кг (в умовах Сарненського району та Рівненського району відповідно).

3. В умовах польових досліджень встановлено, що зростання вологості ґрунту до 24,0% на дослідних ділянках з сортом озимої пшениці «Красвид» в адміністративних районах Рівненської області зумовлено збільшенням кількості опадів в період початку цвітіння сорту.

4. Мікробіологічний аналіз активності ґрунту при вирощування пшениці озимої показав присутність бактерій (виділений ізолят 1/4), які за морфологічними ознаками і при мікроскопуванні подібні до опису представників *Azotobacter*, а саме: однорідна структура, краплеподібний край, капсулярні колонії (виділення слизу), на середовищі МПА – пігментація коричневого кольору). Ґрунтові ізоляти 1/2, 2/3, 3/2 при порівнянні з еталонними культурами мікроорганізмів *Rhizobium rhizogenes* № Т6 та *Rhizobium leguminosarum* № 35 поєднано віднесені до представників родини *Rhizobiaceae* (за ознаками відсутності пігментації та морфотипом).

6. Біологічна індикація дерново-підзолистих ґрунтів Рівненської області та аналіз мікробних угруповань в умовах аграрного використання дають можливість визначити ефективні методи збереження та управління біорізноманіттям агроценозів. Найбільш дієвими науково-методичними

підходами в цьому напрямку є: застосування мікробних (біологічних) препаратів; екологічно доцільних норм внесення добрив, обробіток ґрунту, комплексний захист від патогенних організмів.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аналіз хімічного складу ґрунту: навчально-методичний посібник / Хацевич О.М., Ковальська Ю.І. / Факультет природничих наук; ДВНЗ —Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника. - Івано-Франківськ: ПНТ Голивей, 2019. – 70 с.
2. Господаренко Г. М. Агрохімія: підручник / Г.М. Господаренко. – Ж.: Аграрна освіта, 2013. – 406 с.
3. Грушка І.Г. Методи і засоби вимірювання вологості. Наук. праці УкрНДІГМІ. 2005. Вип. 254. С. 170 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://ulmi.org.ua/pub/grp/254/13_Metod_Grushka.pdf.
4. Ґрунтознавство з основами геології. Мелітополь, 2016 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.tsatu.edu.ua/rosi/wp-content/uploads/sites/20/srlr-15.reakcija-hruntovoho-rozchynu-rn-hruntu..pdf>.
5. ДСТУ ISO 18512: Якість ґрунту. Настанови з довго та короткострокового зберігання зразків ґрунту (ISO 18512:2007, IDT).
6. ДСТУ ISO 10381-5: Якість ґрунту. Пробовідбирання. Частина 5. Настанови з процедури дослідження міських та промислових ділянок щодо забруднення ґрунту (ISO 10381-5:2005, IDT).
7. Іванюк Г. Біопродуктивність ґрунтів = Bioproductivity of soils : навч. посіб. [для студ. вищ. навч. закл.] / Галина Іванюк. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2009. – 14 – 20 с [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://geography.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2021/01/Ivanuk_2009.pdf.
8. Коваль С.І. Методичні вказівки для виконання лабораторних робіт з дисципліни «Ґрунтознавство» та варіанти контрольних завдань для студентів заочної форми навчання напряму 6.080101 «Геодезія, картографія та землеустрій» за професійним спрямуванням «Землепорядкування та кадастр». 2013. – 7 с [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://studfile.net/preview/10002529/page:2/>.

9. Коріновська О.М., Гришко В.М. Загальна характеристика чисельності та видового складу мікроміцетів в ґрунтах, забруднених сполуками важких металів. 2012. – С. 187 [Електронний ресурс]. Режим доступу:

http://ibhb.chnu.edu.ua/uploads/files/vb/BS_T4_V2_2012/4_C_176179_Korinovska.pdf.

10. Марфеница С.Е. Антропогенная экология почвенных грибов – М.: Медицина для всех, 2005. – С. 45-47.

11. Мельничук М.Д., Кляченко О.Л., Бородай В.В., Коломієць Ю.В.

Загальна (промислова) біотехнологія: навчальний посібник. Київ: ФОП Корзун ДЮ., 2014. – 241-251 с.

12. Недвига М.В. Лабораторний практикум з ґрунтознавства / М.В.Недвига, О.С. Осадчий, М.Ю. Хомчак, Л.Д. Бойко. – К.: Агропромвидав.

1999. – 240 с.

13. Орловецька Н.Ф. Фармацевтична енциклопедія. Стерильність [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://www.pharmacyclopedia.com.ua/article/645/sterilnost>.

14. Панас Р. М. Ґрунтознавство: навч. посіб. / Р.М. Панас. – Львів : Новий світ – 2000, 2005. – 372 с.

15. Пашієв П.Д. Фармацевтична енциклопедія. Автоклавування [Електронний ресурс]. Режим доступу:

<https://www.pharmacyclopedia.com.ua/article/2615/avtoklavuvannya>

16. Практикум з мікробіології: методичні рекомендації / Віннікова О. І., Моргуль І. М. – 2-ге вид., доповнене. – Х.: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2009. – 33 с.

17. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студентов высших учеб. заведений / [А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук и др.]; Под ред. А. И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 600-608 с.

18. Чебан Л.М. Загальна біотехнологія: навчально-методичний посібник. Модуль. – Чернівці: Чернівецький нац.ун-т, 2017. – 40-41 с [Електронний ресурс]. Режим доступу:

https://archer.chnu.edu.ua/bitstream/handle/123456789/2600/Cheban_Biotech_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

19. Чуб М.І. Мікробіологія і хімія води : конспект лекцій. – Харків: ХНУМГ ім. О. М. Бекетова, 2019. 122 с [Електронний ресурс]. – Доступ до ресурсу: <https://core.ac.uk/download/pdf/187144086.pdf>.

20. Abawi G.S., Widmer T.L. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. 2019. Page 37-47 [Electronic resource]. – Way of access: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092913930000070>.

21. Alexander, S, J.Min and H. Alexander. (2006). Dictyostelium discoideum to human cells: pharmacogenetics studies demonstrate a role for sphingolipids in chemoresistance. *Biochimica Biophysica Acta*. 1750, 301-309 pp.

22. Bao, Y., Aggarwal, P., Robbins, N. E., Sturrock, C. J., Thompson, M. C., Tan, H. Q., et al. (2014). Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 9319-9324. doi: 10.1073/pnas.1400966111

23. Bi, L., Yu, D. T., Du, S., Zhang, L. M., Zhang, L. Y., Wu, C. F., et al. (2020). Diversity and potential biogeochemical impacts of viruses in bulk and rhizosphere soils. *Environ. Microbiol.* 23, 588-599. doi: 10.1111/1462-2920.15010.

24. Blossfeld, S, Perriguet, J., Sterckeman, T., Morel, J. L., and Lüscher, R. (2010). Rhizosphere pH dynamics in trace-metal-contaminated soils, monitored with planar pH optodes. *Plant Soil* 330, 173-184. doi: 10.1007/s11104-009-0190-z.

25. Dobbelaere S. & Okon Y., 2007. The plant growth promoting effects and plant responses. In: Elmerich C. & Newton W.E. eds. *Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations (Nitrogen fixation: origins, applications and research progress)*. Heidelberg, Germany: Springer, 145-170 pp.

26. Gao, J., Sasse, J., Lewald, K. M., Zhalnina, K., Cornmesser, L. T., Duncombe T. A., et al. (2018). Ecosystem fabrication (EcoFAB) protocols for the construction of laboratory ecosystems designed to study plant-microbe interactions. *J. Vis. Exp.* 2018:e57170. doi: 10.3791/57170.

27. Gao, Z., Karlsson, I., Geisen, S., Kowalchuk, G., and Jousset, A. (2019). Protists: puppet masters of the rhizosphere microbiome. *Trends Plant Sci.* 24, 165–176. doi: 10.1016/j.tplants.2018.10.041.

28. Canarini, A., Kaiser, C., Merchant, A., Richter, A., and Wanek, W. (2019). Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli. *Front Plant Sci.* 10:157. doi: 10.3389/fpls.2019.00157

29. Cao Jianjun, Jiaoa Yumeng, Ched Rongyiao, Holdene Nicholas M., Zhangfg Xiaofang, Biswash Asim, Feng Qi. The effects of grazer enclosure duration on soil microbial communities on the Qinghai-Tibetan Plateau. 2022 [Electronic resource]. – Way of access:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048969722033356>.

30. Cenci, R.M. and Jones, R.J.A. (2009). Holistic approach to biodiversity and bioindication in soil. EUR 23940 EN, Office for the Official Publications of the European Communities, 5 – 43 pp [Electronic resource]. – Way of access: https://esdac.jrc.ec.europa.eu/ESDB_Archive/eusoils_docs/other/EUR23940.pdf.

31. Cordis. EU research results Biotechnology of soil: monitoring, conservation and remediation. 2022 [Electronic resource]. – Way of access: <https://cordis.europa.eu/project/id/2347>.

32. Phyco Terra. What is the current research about soil additions to help soil biology? 2022 [Electronic resource]. – Way of access: <https://soilsmatter.wordpress.com/2022/05/15/what-is-the-current-research-about-soil-additions-to-help-soil-biology/>.

33. Hilla G.T., Mitkowskia N.A., Aldrich-Wolfieb L., Emelea L.R., Jurkoniea D.D., Fickea A., Maldonado-Ramirez S., Lynch S.T., Nelsona E.B. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. 2000. Pag. 25 – 36 [Electronic resource]. – Way of access: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092913930000069X>.

34. José Luis Urrea. How can we measure the health of soil simply and cheaply? 2018 [Electronic resource]. – Way of access:

<https://blog.ciat.cgiar.org/how-can-we-measure-the-health-of-soil-simply-and-cheaply/>.

35. Mon-oo Yee, Peter Kim, Yifan Li, Anup K. Singh, Trent R. Northern and Romy Chakraborty. Specialized Plant Growth Chamber Designs to Study Complex Rhizosphere Interactions. 2021 [Electronic resource]. – Way of access:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.625752/full>

36. Singh S. et al., 2007 Evaluation of mulching, intercropping with Sesbania and herbicide use for weed management in dry-seeded rice (*Oryza sativa* L.). Crop Prot., 26, 518-524 pp.

37. Venant Ndirimbere, Marc Ongena, Maïté Smargiassi & Philippe Thonart. Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. 2020 [Electronic resource]. – Way of access: <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=7578>.

38. Weldemichael A. Tesfahuneya, Wijnand Swarta, Leon D. Van Rensburga, Karen Wolmarans, Sue Walker, Hung Chung Yu. Soil microbial activity as influenced by crusted runoff strip length and mulch cover under in-field rainwater harvesting (IRWH). 2022 [Electronic resource]. – Way of access:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1474706522001516>.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України