

УДК 633.581.48:547.466:579.64.631

В. П. Патика, доктор біологічних наук

Інститут агроєкології та біотехнології

В. Ф. Петриченко, доктор сільськогосподарських наук

Інститут кормів УААН

МІКРОБНА АЗОТФІКСАЦІЯ У СУЧАСНОМУ КОРМОВИРОБНИЦТВІ

Наведені основні завдання щодо використання можливостей біологічної фіксації азоту в кормовиробництві, суть яких полягає в одержанні високоякісної, біологічно чистої продукції рослинництва. Для одержання високих урожаїв сільськогосподарських культур доброї якості потрібно поряд з використанням природних факторів, науково обґрунтовано застосовувати помірні норми і правильне співвідношення основних елементів живлення та мікроелементів. Щоб дати обґрунтовані рекомендації з охорони навколишнього середовища і врожаю від забруднення добривами чи іншими речовинами, необхідне глибоке і всебічне вивчення цих питань у різних зонах держави в розрізі не тільки видів сільськогосподарських культур, а й рекомендованих сортів.

***Ключові слова:** біологічна фіксація азоту, продукція рослинництва, елементи живлення, мікроелементи, добрива, пестициди.*

Органо-біологічне землеробство ведеться з метою зниження негативної дії хімізації землеробства, покращання ґрунтової родючості, збереження рівноваги в екологічній системі рослина-тварини-людина, тобто рівноваги між природними умовами і заходами, що проводяться людиною. Проте, основним завданням цієї системи землеробства є одержання високоякісної, біологічно чистої продукції рослинництва та тваринництва без якої неможливо говорити про здоровий спосіб життя людини. Ця проблема в останні роки набуває першочергового значення. Важлива роль у цьому належить застосуванню добрив, пестицидів та інших засобів хімізації [1, 2, 3].

Поряд з підвищенням урожайності сільськогосподарських культур добрива створюють передумови вимивання азоту в глибокі шари, підґрунтова вода, збільшення його вмісту у вирощуваних культурах. Відомо, що

© Патика В.П., Петриченко В.Ф., 2004

підвищення концентрації нітратів у продуктивних частинах токсично діє на людей і тварин, в організмах яких вони перетворюються в нітрити – речовини більш шкідливі токсичні, які спричиняють отруєння, онкологічні та інші захворювання. Особливо гостро проблема нагромадження нітратів у продукції рослинництва стоїть у зрошуваних зонах України, де вирощують понад 50% кормових і 90-95% овочевих культур від загальної кількості, що вирощується на зрошувальних землях. Відповідно тут і найбільше навантаження добрив і хімічних засобів захисту у перерахунку на гектар, тому що більше половини сільськогосподарських угідь зазнавало активної хімізації для штучної підтримки рівня врожайності, одержання певного тимчасового ефекту, що в більшості випадків призводить до порушення ґрунтової родючості – зміни процесів гумусоутворення, забруднення ґрунту і навколишнього середовища. Основними джерелами цих небажаних явищ є хімічні засоби захисту рослин, у тому числі гербіциди та мінеральні добрива. Якщо ці хімічні речовини застосовувати неправильно, у необґрунтованих нормах, з порушенням строків внесення, то вони негативно впливають на елементи гумусо-органічної речовини в ґрунті, не стимулюють поліпшення його структури і в цілому родючості [1, 4, 7, 9, 10].

Без застосування добрив високий урожай одержати неможливо. Згідно з узагальненими даними вітчизняних і зарубіжних дослідників, на частку добрив припадає від 45 до 75% приросту врожаїв. В Україні за рахунок добрив одержують близько 50% приросту. Серед основних факторів, що визначають урожай, наприклад, зернових культур, на добрива припадає 30 %, сорти – 20, погодні умови і захист рослин – по 15, ефективну родючість та обробіток ґрунту – по 10%. Потреба зернобобових культур в азоті при різних рівнях продуктивності наведена в табл. 1. В умовах зрошення на добрива припадає значно більша частка. Однак застосовувані мінеральні добрива не завжди використовуються достатньо ефективно. Згідно з даними Інституту агроєкології і біотехнології УААН, польові культури, наприклад, використовують азот із мінеральних добрив 24-45, фосфору – 10-33 і калію – 25-77%. Решта добрив і домішок нагромаджується в ґрунті, забруднюючи повітря, водні джерела й урожай сільськогосподарських культур. Особливо велика небезпека забруднення оточуючого середовища при внесенні значної кількості добрив [1, 9, 10].

Численними дослідженнями встановлено, що чим родючіший ґрунт і більша доза добрив, тим нижчі коефіцієнти їх використання. Це призводить не тільки до низької віддачі добрив, а й до забруднення навколишнього середовища, передусім нітратами, до зниження якості рослинницької продукції. З іншої сторони, чим продуктивніше культура використовує до-

брива, тим вищий приріст урожаю, тим менше нітратів буде нагромаджуватись і у продукції, тим менші будуть непродуктивні витрати добрив [10].

1. Потреба зернобобових культур в азоті при різних рівнях продуктивності та білковості

Показник	Горох	Кормові боби	Соя
Урожайність насіння, ц/га	20-50	25-60	15-40
Вміст білка, %	27-36	24-36	30-42
Вміст азоту в рослинних рештках (коріння, солома)	48-80	60-120	50-100
Сумарний азот у рослині, кг/га	130-380	160-480	125-380

Надмір азоту в ґрунтах призводить не тільки до забруднення навколишнього середовища, нагромадження в рослинах нітратів, а й до погіршення смакових якостей картоплі, овочів, плодів, зниження вмісту найважливіших поживних речовин: цукрів, вітамінів, амінокислот та ін. Підвищена кількість нітратів, які згодом перетворюються в нітрити, негативно впливає на ферментативну систему людини і тварин [1, 2, 3, 6].

У більшості випадків зменшенню кількості нітратів у рослинах сприяє застосування дуже поширених в останні роки азотфіксуючих та фосфатомобілізуєчих бактеріальних препаратів. Використання біопрепаратів азотфіксуючих бактерій під бобові, злакові та овочеві культури замінює 20-50 кг/га мінеральних добрив. Біопрепарати фосфатомобілізуєчих бактерій здатні перетворювати важкорозчинні фосфати ґрунту у легкорозчинні, доступні рослинам сполуки [8].

Дослідження з даного напрямку широко проводяться у багатьох країнах світу. Завдяки високій ефективності азотфіксуючих препаратів, обсяги їх виробництва значно зросли і становлять: в Угорщині 200 тис. га/порцій, Великобританії, Югославії і Польщі – по 50 тис., Румунії – більше 1 млн., Індії – 3 млн., Канаді – 4 млн. і Австралії – 6 млн. га/порцій. У США азотний дефіцит ґрунту покривається бактеріальними добривами на 45%; в еквівалентному обчисленні тут використовується 13 млн. т біологічного азоту, тоді як мінеральних азотних добрив близько 9 млн. тонн [5, 8].

Біологічна азотфіксація є найбільш яскравим і добре вивченим прикладом використання мікробно-рослинної взаємодії, її значення навряд чи можна переоцінити. Вивчаючи азотфіксуючі мікроорганізми, вдалось виділити цілий ряд господарсько цінних видів, позитивно діючих на врожай сільськогосподарських рослин. Причому баланс між симбіотрофним і автотрофним азотним живленням рослин явно на користь першого.

Біопрепарати азотфіксуючих мікроорганізмів не тільки підвищують врожай рослин, але й підвищують у них вміст повноцінного білка на 0,5-3,0% і більше [8]. Застосування біопрепаратів сприятливо діє і на ґрунтову родючість. З кореневими і поживними залишками (особливо бобових) у ґрунті накопичується значна кількість азоту – від 7 до 100 кг/га, що сприяє позитивному впливу на врожай наступних культур сівозміни (табл. 2).

2. Середній розмір симбіотичної фіксації азоту та його надходження у ґрунти України (Бабич А.О., 2000 р.)

Культура	Розміри загальної азотфіксації, кг/га рік	Частка біологічного азоту у формуванні урожаю, %	Залишок азоту в ґрунті, кг/га
Однорічні бобові культури			
Горох	50-70	35-50	5-10
Соя	80-18	55-90	25-40
Кормові боби	70-140	55-75	30-40
Люпин жовтий	120-210	70-90	30-50
Вика яра	60-86	40-50	5-10
Квасоля	40-60	30-40	0-5
Багаторічні бобові культури			
Люцерна посівна	180-250	80-100	90-120
Конюшина лучна	115-208	70-90	60-80
Буркун білий	100-130	70-80	60-80
Еспарцет піщаний	110-150	70-85	60-80
Лядвенець рогатий	90-140	70-80	60-80

Вищезазначені результати вдалося одержати при використанні методу ацетиленової редукції. Висока чутливість, експресність і відносна простота ацетиленового методу обумовила його надзвичайно широке використання. Принципово нові результати, досягнуті за допомогою цього методу, це виявлення спроможності до азотфіксації широкого кола бактерій. Азотфіксація була виявлена в організмів, що відносяться до різних фізіологічних і таксономічних груп – у еубактерій і архей: хемолітотрофів, фототрофів і гетеротрофів, аеробів, мікроаерофілів і анаеробів, трахомних, брунькуватих і міцеляльних, грампозитивних і грамнегативних. Що найбільш важливо, це кінцево вдалось виключити з числа азотфіксаторів еукаріотні організми – гриби, рослини і тварини, повідомлення про які періодично з'являлось у друці [5, 8].

Іншим важливим досягненням є виявлення підвищеної азотфіксації діазотрофних бактерій на корінні і в ризосфері рослин, яке одержало назву

асоціативної азотфіксації. Рослини стимулюють їх діяльність і визначають добову і сезонну динаміку азотфіксації за рахунок фотосинтетатів, корневих ексудатів. Ці результати дали можливість зробити висновок, що тісна взаємодія рослин і діазотрофних мікроорганізмів, раніше відома тільки для вузького кола бобових рослин і бульбочкових бактерій, притаманна всім рослинам і забезпечує їм автономність у відношенні азотного живлення. Якраз вивчення цього явища дало змогу зробити висновок про провідну роль асоціативної азотфіксації в наземних екосистемах у підтриманні азотного балансу всієї біосфери. Було встановлено, що в більшості ґрунтів України за рахунок азотфіксації зв'язується за сезон не 5-10 кг на гектар, як вважалося раніше, а не менше 40-60 кг, а в сприятливі за кліматичними умовами роки і більше [3,8,11].

Ризосферні асоціативні азотфіксуючі бактерії в мікроаерофільних (обмежена кількість кисню) умовах можуть переходити до протилежного процесу -денітрифікації (використанню нітратів при диханні), що призводить до втрат доступних сполук азоту з ґрунту. При цьому одні і ті ж бактерії можуть, в залежності від умов, бути азотфіксаторами або денітрифікаторами і їх активність визначається оточуючим середовищем. На сьогоднішній день така «подвійність» виявлена у представників *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Aguaspirillum*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Desulfovibrio*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Methanobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Spirillum*, *Thiobacillus*, *Vibrio*, *Xanthomonas* [8].

Еукаріотні бактерії самі не володіють властивістю відновлювати азот повітря, але мають численні можливості для використання азотфіксуючих бактерій як джерела доступного азоту. Так, окрім уже згаданих азотфіксуючих симбіозів бульбочкових бактерій з рядом бобових рослин, описані і ретельно вивчаються симбіози діазотрофних стрептоміцетів (*Frankia*) з деякими небобовими (актинорізними) рослинами. Актинорізні симбіози виявлені у представників 8 сімейств: *Betulaceae*, *Casuarinaceae*, *Coriariaceae*, *Datisceae*, *Elaeagnaceae*, *Myricaceae*, *Rhamnaceae*, *Rosaceae*. Встановлено, що такі симбіози більш ефективні в присутності так званих бактерій – “хелперів” (*Pseudomonas*, *Bradyrhizobium* та інші).

Описані і ретельно вивчаються симбіози ціанобактерій (*Anabaena*, *Nostoc*) з водними папоротями, інших бактерій з рослинами *Astragalus*, *Aeschynomene*, *Sesbania*. Об'єктами досліджень є також симбіози діазотрофних бактерій з тваринами – з комахами (терміти, таракани), гризунами і жуйними [5].

Мікробіологічні препарати на основі азотфіксуючих мікроорганізмів не забруднюють довкілля, проявляють високу селективну дію та післядію, зручні для виробництва [2]. В табл. 2 наведені узагальнені дані деяких біопрепаратів, технологія яких розроблена до регіонального малотоннажного виробництва.

2. Деякі дані мікробіологічних препаратів

Назва біопрепарату	Препаративна форма	Призначення та властивості
Ризобіфіт (Ризоторфін)	Гельна, торф'яна, вермикулітна, рідка	Добриво під бобові культури. Забезпечує рослини на 30 і більше відсотків дешевим, екологічно чистим азотом. Підвищує врожай бобових рослин на 10-30% і вміст білка на 1-3%. Норма витрати 100-300 г (мл) на гектарну норму насіння
Діазофіт (Ризоагрін), Ризоентерін Діазобактерін	Гельна, торф'яна, вермикулітна, рідка	Забезпечують рослини біологічним азотом, сприяють росту і якості врожаю зернових: озимої та ярої пшениці – на 3-7 ц/га, озимого та ярого ячменю – на 4-5 ц/га, підвищують врожай злакових трав, пригнічують розвиток фітопатогенних грибів. Норма твердої форми – 300 г, гельної та рідкої – 100 мл на гектарну норму насіння
Агрофіл	Торф'яна, рідка	Препарат знаходить широке використання при вирощуванні овочів у закритому і відкритому ґрунтах. Підвищує стійкість рослин до інфекційних захворювань і підвищує їх врожайність у відкритому ґрунті на 20-50 ц/га в залежності від культури, сорту, ґрунтово-кліматичних умов і 2-4 кг/м ² закритого ґрунту. Норма витрат препарату для відкритого ґрунту 400 г (мл) на гектарну норму насіння, картоплі – 2500 г (мл).
Флавобактерін, мизорін	Торф'яна, рідка	Широкий спектр дії біопрепаратів – ячмінь, жито, овес, сорго, кормові трави, картопля, овочеві культури. Підвищує врожай зерна на 3-5 ц/га, овочів – 30-80, цукрового буряка – 60-70 ц/га; вміст крохмалю у картоплі – на 1,5-2%, цукру в буряків – на 1-2%. Норма витрат препаратів: злакові трави – 400 г на гектарну норму насіння, зернові, соняшник, кукурудза, цукрові і кормові буряки – 600 г, для картоплі – 2500 г.
Екстрасол Псевдобактерин-2	Торф'яна, рідка	Використовують для передпосівного обробітку насіння і бульб, особливо картоплі. Прибавка врожаю складає 40-60 ц/га або 20-30%. Норми витрат торф'яної форми – 3 кг, рідкої – 3 л на гектарну норму посадкового матеріалу картоплі.

Одним з найбільш важливих напрямлень на перспективу з біологічної фіксації азоту є розробка альтернативних шляхів забезпечення небобових рослин доступним азотом за рахунок використання потенціалу азотфіксуючих бактерій, що дасть змогу перейти до стратегії стійких агроландшафтів і агроєкосистем. У зв'язку з вищезазначеним у якості перспективи розглядаються наступні шляхи збільшення активності азотфіксації: пря-

мий переніс *nif*-генів з бактеріальних клітин в рослини; використання для інокуляції рослин генетично модифікованих за *nif*- геном штамів бактерій; створення та селекція рослин з підвищеною здатністю до азотфіксації; створення рослин, заселених діазотрофами через стадію змішаного калусу за рахунок використання тотипотентності рослинних клітин формування штучних симбіозів, у тому числі і за рахунок паранодуляції на корінні небобових рослин.

Хоча сьогодні селекція високоєфективних штамів азотфіксуючих бактерій залишається головною ланкою в роботі по підвищенню продуктивності біологічної азотфіксації, але вона не може бути відірвана від селекції як бобових, так і злакових рослин. При селекції рослин окрім господарсько цінних ознак, повинні враховуватись і ознаки, що характеризують їх здатність до фіксації азоту атмосфери. Подальше поліпшення ефективності бобово-ризобіальних і асоціативних взаємовідношень, яке базується тільки на селекції азотфіксуючих мікроорганізмів, певно недоцільно. Для успішного вирішення проблеми необхідно підвищити чутливість рослин на застосування біопрепаратів азотфіксуючих бактерій [2, 5, 8].

В останні роки в багатьох країнах створюються програми селекції бобових і злакових рослин, в яких враховуються і ознаки симбіозу і асоціативності. У деяких бобових (соя, червона конюшина, горох, люцерна, тощо) описані гени, що визначають їх вступ в ефективний симбіоз з бульбочковими бактеріями. Для генів, які контролюють азотфіксацію, алельні взаємовідношення більш різноманітні. У люцерни і конюшини при схрещуванні контрастних за цією ознакою рослини здатні до азотфіксації домінують над неспроможністю. У сої, навпаки, вона є рецесивною ознакою. Однією з перших робіт по вивченню азотфіксуючої активності різних сортів бразильських пшениць була робота Ж.Доберейнер [8]. Автором показана суттєва різниця між сортами, незважаючи на високу варіабельність нітрогеназної активності (коефіцієнт варіації сягав 86%). Отримані дані дали змогу класифікувати сорти бразильських пшениць за ознакою асоціативної азотфіксації.

Таким чином, високий азотфіксуючий потенціал, яким характеризуються рослини, ставить перед селекціонерами завдання більш повного його використання. Це перш за все пошук сортів-донорів *nif*- ознаки і направлена селекція, яка дасть можливість отримати сорти з підвищеною активністю асоціативної азотфіксації. Одержані нами результати представляють як теоретичний, так і практичний інтерес. У практичній селекційній роботі для створення сортів рослин з підвищеною активністю

азотфіксації можна обмежитись проведенням непрямих доборів рослин з цінними для виробництва ознаками.

Враховуючи показники родючості ґрунту, можливості біологічної фіксації азоту і біологічної мобілізації важкорозчинних фосфорних сполук ґрунту, можна приблизно розрахувати норми азотних і фосфорних мінеральних добрив, необхідних для одержання запланованого врожаю у конкретних зональних умовах, у тому числі і для конкретного поля.

У різних регіонах України при картуванні ґрунтів використовують різноманітні методи визначення вмісту азоту, які можна використовувати в запропонованій методиці (головне – необхідно включити показник біологічної фіксації азоту). Крім того, в розрахунках також необхідно враховувати, що коефіцієнти використання азоту будуть різні для того чи іншого регіону [5]. Наприклад, у господарстві планують одержати урожай насіння сої 2,5 т/га. Для формування 1 т насіння вона використовує 85 кг азоту. Ґрунт ділянки – чорнозем південний суглинковий, рН – 6,8-7,0, вміст азоту, що легко гідролізується, – 6,2 мг на 100 г ґрунту. В орному шарі ґрунту міститься 186 кг/га азоту. При зрошенні коефіцієнт використання азоту з ґрунту дорівнює 60-75%. Значить з ґрунту рослини можуть засвоювати 139,5 кг/га азоту. Для одержання планового врожаю рослинам необхідно додатково 73 кг/га азоту. Нестача елемента азотного живлення може поповнитися завдяки симбіотичній азотфіксації азоту з атмосфери в кількості 106 кг/га (50% за рахунок біологічної фіксації), що з надлишком задовольняє потребу рослини. Аналогічно ведуться розрахунки і по фосфору.

Таким чином, ефективне використання діяльності бульбочкових бактерій, які фіксують азот повітря і мобілізують важко доступні форми фосфору ґрунту, дає змогу підвищити родючість ґрунту, і у кінцевому результаті дає можливість зекономити значну кількість мінеральних азотних і фосфорних добрив і одержувати стабільні врожаї.

Бібліографічний список

1. Білявський Г.О., Бутченко Л. І. Основи екології: теорія та практика. Навч. посіб.– К.: Лібра, 2004. – 368 с.
2. Бомба М.Я., Періг Г.Т., Рижук С.М., Мартинюк І.В., Патица В.П. Землеробство з основами ґрунтознавства, агрохімії та агроєкології.– К.: Урожай, 2003.– 400 с.
3. Бойко А.Л. Основи екології та біофізики вірусів.
4. Вернадський В.И. Біосфера. – М.: Мысль, 1967.– 326 с.

5. Мікроорганізми і альтернативне землеробство /Патика В.П., Тихонович І.А., Філіп'єв І.Д., Гамаюнова В.В., Андрусенко І.І., за ред. В.П. Патики.– К.: Урожай, 1993.– 176 с.
6. Одум Ю. Основы экологии.– М.: Мир, 1975.– 436 с.
7. Патика В.П., Тараріко О.Г. Агроекологічний моніторинг та паспортизація сільськогосподарських угідь.– К.: Фітосоціоцентр, 2002.– 296 с.
8. Патика В.П., Коць С.Я., Волкогон В.В., Шерстобоева О.В., Мельничук Т.М., Калініченко А.В., Гриник І.В. (за ред. В.П. Патики).– Біологічний азот.– К.: Світ, 2003.– 424 с.
9. Черников В.А., Алексахин Р.М., Голубев А.В. и др.; Под ред. В.А. Черникова, А.И. Чекереса.– М.: Колос, 2000.– 536 с.
10. Шикун М.К., Антонєць С.С., Андрієнко В.О. та ін. (за ред. М.К. Шикуні).– Відтворення родючості ґрунтів у ґрунтозахисному землеробстві. К.: Оранта, 1998.– 680 с.
11. Ярмолюк М.Т., Зінчук М.П., Польовий В.М. Культурні пасовища в системі кормовиробництва.– Рівне. Волинські обереги, 2003.– 292 с.