

УТВОРЕННЯ БІОПЛІВКИ НА КОРЕНЯХ СІЛЬСЬКО-ГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР МІКРООРГАНІЗМАМИ-АГЕНТАМИ ОРГАНО-МІНЕРАЛЬНОГО ДОБРИВА DIAMOND GROW МАРКИ HUMI [K] BIO + «PLUS»

А.А. Бунас, В.В. Дворецький, Є.Д. Ткач, О.В. Шерстобоєва

Інститут агроєкології і природокористування НААН (м. Київ, Україна)

e-mail: bio-206316@ukr.net; ORCID: 0000-0003-4806-7004

e-mail: dvchim@ukr.net; ORCID: 0000-0001-8427-7813

e-mail: bio_eco@ukr.net; ORCID: 0000-0002-0666-1956

e-mail: ovsher@ukr.net; ORCID: 0000-0001-8239-0847

Мікробіом ґрунту сільськогосподарських культур є ключовим компонентом агроєко-систем, що впливає на ріст, розвиток та стійкість рослин агроценозу. Всі взаємодії рослина—мікроорганізми не є випадковими, а — результат тривалої коєволюції, що часто призводить до асоціацій, у яких господар (рослина) та його мікробіота співпрацюють у взаємовигідний спосіб. Формування біоплівки — це стратегія, що викорис-товують мікроорганізми для стабільної колонізації поверхні кореня рослин. Біоплівки складаються з мікроорганізмів, упроваджених у самостійно вироблений позаклітинний матрикс, який забезпечує захист від стресів навколишнього середовища та імунних реакцій рослин. Дослідження здатності мікроорганізмів до утворення біоплівки та адгезії на коренях рослин є одним з елементів формування мікробіому сільськогосподар-ських рослин за дії біопрепаратів, окремих штамів чи багатокомпонентних композицій ґрунтових мікроорганізмів. Розуміння процесу утворення біоплівки на коренях рослин дає можливість прогнозувати та розробляти стратегії взаємодій між рослинами і мікроорганізмами для пом'якшення абіотичного стресу, а саме посухи, засолення та забруднення важкими металами і формування сталих продуктивних агроєкосистем. У процесі дослідження встановлено, що рівень утворення та сформованості біоплівки на коренях проростків тест-культур істотно залежав від видової належності рослин, і менше залежав від концентрації застосованого ОМД DG H[K]B «Plus». Через 48 год дослідження на коренях усіх досліджуваних тест-культур відмічали формування біо-плівок, але з різним рівнем сформованості. Виявлено, що і найнижчу щільність біоплівки демонстрували тест-культури родини Fabaceae, найвищу — Roaceae. У результаті до-слідження виявлено, що інтенсивність утворення біоплівок та мікробної адгезії змен-шувалась у такій послідовності: кукурудза > пшениця > ячмінь > помідори > перець > огірки > кабачки > горох посівний > нут > горох овочевий > квасоля.

Ключові слова: адгезія, корені, ґрунт, мікробіом, угруповання мікроорганізмів, консорції.

ВСТУП

Мікробіом сільськогосподарських рос-лин — це складне і динамічне угрупован-ня бактерій, мікроміцетів та археїв, які за-селяють філо й ризосферу рослин. Саме угруповання мікроорганізмів відіграють ключову роль в онтогенезі та стійкості рослин до стресів. Однак рослина зали-шається центральним ядром у консорції рослина—мікроорганізми, яка визначає

заселеність кореневої зони, структуру і функціонування мікробіому. Це пов'язано з метаболізмом і складом кореневих виді-лень рослини, будовою кореневої системи, її активністю, тривалістю онтогенетичних періодів.

Всі взаємодії рослина—мікроорганізми не є випадковими — це результат тривалої коєволюції, що часто призводить до асо-ціацій, у яких господар (рослина) та його мікробіота співпрацюють у взаємовигід-ний спосіб [1]. Нещодавно в науковій лі-

тературі опубліковано дані, які вказують на випадки крайньої залежності рослин-господарів від мікробіому до повної відсутності будь-якої взаємодії з певною мікробіотою [2–4].

Однак, перший етап у встановленні взаємодії між мікроорганізмами та рослиною є адгезія мікроорганізмів до коренів рослин. Цей процес включає слабкі гідрофобні й електростатичні взаємодії, що можуть переходити у більш стійке прикріплення, індуковане специфічними сигналами навколишнього середовища та рослиною господаря [5]. Наступним етапом цієї взаємодії є експресія генів, відповідальних за синтез екзополісахаридів із подальшим утворенням біоплівки. Утворені біоплівки мають вигляд слизових складноорганізованих оболонок навколо коренів, які забезпечує довготривале та сприятливе середовище не лише для прикріплення мікроорганізмів до рослин, а й їх існування [6].

З огляду на це, **метою нашого дослідження** було виявлення здатності до утворення біоплівок на коренях різних сільськогосподарських культур мікроорганізмами агентами органо-мінерального добрива Diamond grow марки Humi [K] Bio + «Plus», як одного з показників ефективності формування штучного мікробіому.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

В явищі адгезії мікроорганізмів інтродукованих чи аборигенних до коренів рослин виділяють чотири основних етапи: початковий (хемотаксис), незворотна адгезія, формування біоплівки, консорція мікроорганізми–рослина.

Відомо, що такі мікроорганізми, як *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Agrobacterium* та *Rhizobium*, спочатку наближаються до коренів рослин завдяки хемотаксису, відповідь на хімічні сигнали, зокрема флавоноїди. Колективи вчених, Musa і Akande та Li і Narayanan, наголошують, що з початком етапу незворотної адгезії, де вирішальна роль визначається наявністю специфічних адгезивних молекул, виявлено, що у *Bacillus amyloliquefaci* — це колагенопо-

дібні білки (CLPs) ens, а у *Pseudomonas fluorescens* — високомолекулярні адгезивні білки типу LapA. Ці молекули сприяють міцному прикріпленню мікроорганізмів до кореневої поверхні та ініціюють формування мікроколоній [7–9]. Після адгезії мікроорганізми утворюють біоплівки — структуровані спільноти клітин, занурених у матрикс екзополісахаридів (EPS), екстрацелюлярної ДНК, білків та ліпідів. Цей матрикс забезпечує захист від несприятливих умов, як-от зміни рН, осмотичний стрес та УФ-випромінювання, а також сприяє обміну поживними речовинами й генетичним матеріалом між клітинами [8; 10]. Біоплівка мікроорганізмів у кореневій зоні рослин може призводити до негативної або позитивної взаємодії з рослинами залежно від природи залучених мікробів. Тому, адгезія та формування біоплівок є ключовими для встановлення взаємовигідних відносин між мікроорганізмами та рослинами.

Отже, аборигенний чи штучно створений мікробіом ґрунту кореневої зони і надземної частини рослин є основним чинником у формуванні всіх важливих властивостей ґрунту, які визначають інтенсивність і спрямованість процесів ґрунтоутворення, зокрема гумусу; виявляє біодинамічну рівноваженість процесів синтезу і розкладу органічної речовини та доступність поживних речовин для рослин [11–14].

Дослідженнями низки вітчизняних та зарубіжних вчених, а саме: J. Schmidt, A. Kent, A. Pandit, A. Bhattacharyya, Н. Воробей, С. Коць, О. Дем'янюк, В. Волкогон, О. Надкернична, Д. Крутило та ін. [5; 10; 15–20] доведено ефективність штучно сформованих мікробіомів сільськогосподарських рослин; показано значний вплив на розвиток і врожайність рослин, екологічний стан та фітопатогенний статус ґрунту, функціонування агроєкосистеми як структурної одиниці біосфери.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У лабораторному досліді визначали адгезивні властивості мікроорганізмів-агентів

органо-мінерального добрива Diamond grow марки HUMI [K] BIO+ «PLUS» (далі — ОМД DG H[K]B «Plus»).

Дослідження проведено в лабораторії екології мікроорганізмів, відділу агроєкології і біобезпеки, Інституту агроєкології і природокористування НААН (м. Київ, Україна).

Для дослідження було обрано нове, сучасне ОМД DG H[K]B «Plus», у складі якого поєднано комплекс макро- й мікроелементів, гумінові кислоти, екстракт водоростей, та комплекс штамів 16 мікроорганізмів, а саме: *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *Glomus intraradices*, *G. mosseae*, *G. aggregatum*, *G. etunicatum*, *Rhizopogon villosulus*, *R. luteolus*, *R. amylopogon*, *R. fulvigleba*, *Pisolithus tinctorius*, *Scleroderma cepa*, *S. citrinum*. Титр бактеріальної складової в добриві — $3,07 \cdot 10^8$ КУО/г, ендомікоризних мікроміцетів — $2,2 \cdot 10^3$ пропагул/кг, ектомікоризних мікроміцетів — $1,87 \cdot 10^6$ пропагул/кг.

Для досліду застосовували тест-рослини: пшениця яра Токата, ячмінь Себастьян, кукурудза Хорол, огірок Родничок F₁, перець солодкий Айвенго, помідор Санька, кабачок Елеонора F₁, квасоля Шахиня, нут Тріумф, горох овочевий Драгон, горох посівний Меценат, гарбуз Вест.

Здатність до утворення біоплівки на поверхнях рослин вивчали експрес-методом. Насіння тест-рослин стерилізували за допомогою 25% перекису водню впродовж 1 хв, потім триразово промивали стерильною водою та пророщували в умовах вологої камери три доби.

Робочий розчин добрива готували на стерильному фізіологічному розчині з розрахунку 10 л/т насіння. Досліджували 3 норми добрива: 0,1 кг/т (1/2 від рекомендованої норми); 0,2 кг/т (рекомендована норма); 0,4 кг/т (збільшена у 2 рази від рекомендованої). Робочий розчин ОМД DG H[K]B «Plus» об'ємом 1,5 мл вносили у лунки планшету (96 лунок). Для однієї тест-культури рослин одночасно використовували по 10 лунок у 3-разовому повторенні. Потім у кожен лунку поміщали проросток відповідної тест-культури. Інкуба-

цію планшетів із проростками проводили в термостаті за 37°C. Утворення біоплівки на коренях рослин визначали через 24 і 48 год. Після інкубації проростки промивали у фізіологічному розчині. Утворені біоплівки на поверхнях проростків фіксували 96% етанолом упродовж 15 хв із подальшим фарбуванням 1% розчином акридинового помаранчевого, експозиція 5–7 хв.

Забарвлені проростки рослин висушували на предметних скельцях, після цього корінці обстежували на наявність біоплівки під мікроскопом. Рівень сформованості біоплівки оцінювали за системою плюсів, інформацію подано в табл. 1 [21; 22]. Аналізували по 10 проростків з кожного варіанта дослідження; сформованість біоплівки оцінювали в 10-кратному полі зору. Обробка даних здійснювалася за допомогою програмного забезпечення MS Excel, Statistica 12.0.

Таблиця 1. Критерії оцінювання сформованості біоплівки на проростках сільськогосподарських рослин [21; 22]

Значення	Критерії
–	Адгезія бактерій не фіксується, без формування біоплівки
+	Біоплівка представлена адгезивними клітинами практично без мікроколоній
++	Біоплівка представлена поодинокими сформованими мікроколоніями
+++	Біоплівка середньої товщини, фіксуються розриви у структурі
++++	Біоплівка середньої або більшої товщини

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У лабораторних дослідженнях встановлювали рівень сформованості біоплівки на коренях проростків тест-культур за дії мікроорганізмів, що є в ОМД DG H[K]B «Plus». Результати дослідження представлені в табл. 2.

Таблиця 2. Утворення біоплівки мікроорганізмами-агентами на коренях сільськогосподарських культур

№	Культура	Норми добрива, кг/т					
		0,1	0,2	0,4	0,1	0,2	0,4
		24 год			48 год		
1	Пшениця яра	+	++	+++	++	++++	+++
2	Ячмінь	+	+	++	+++	++++	++++
3	Кукурудза	+	+	++	++++	++++	++++
4	Квасоля	-	+	+	+	++	++
5	Нут	-	+	+	+	++	++
6	Горох овочевий	-	+	+	+	++	++
7	Горох посівний	-	-	+	+	+	++
8	Помідор	+	++	++	++++	++++	++++
9	Перець солодкий	+	+	+	++	+++	+++
10	Огірок	-	+	+	++	+++	++++
11	Кабачок	+	++	++	++	+++	++
12	Гарбуз	-	+	+	+	++	++

Під час досліджень встановлено, що рівень сформованості значною мірою залежав як від видової належності тест-культури рослин і меншою мірою залежав від концентрації застосованого ОМД DG H[K]B «Plus». У досліді через 24 год за концентрації 0,1 кг/т насіння фіксували або повну відсутність адгезії мікроорганізмів (квасоля, нут, горох посівний та овочевий, огірок, гарбуз) або поодинокі колонії мікроорганізмів на коренях проростків (пшениця яра, ячмінь, кукурудза, помідор, перець, кабачок). За застосування концентрацій 0,2 і 0,4 кг/т насіння, утворення біоплівки відмічали на коренях усіх досліджуваних тест-культур, але з різним рівнем сформованості біоплівки. Через 24 год за концентрації 0,2 і 0,4 кг/т насіння найвищий рівень формування біоплівки відмічено на пшениці, ячмені та кукурудзі.

Через 48 год дослідження на коренях усіх досліджуваних тест-культур відмічали утворення біоплівок, але з різним рівнем сформованості. Найнижчий рівень сформованості біоплівок характерний для всіх

тест-культур, окрім злакових за зменшеної норми застосування (0,1 кг/т насіння). Під час використання ОМД DG H[K]B «Plus» у концентрації 0,2 і 0,4 кг/т насіння, спостерігали утворення біоплівки середньої товщини на пшениці, ячмені, кукурудзі, помідорі, перці, огірку та кабачку.

У загальному, найінтенсивніше формування біоплівкових структур незалежно від часу експозиції і концентрації спостерігалися на проростках пшениці (*Triticum aestivum*), кукурудзи (*Zea mays*), ячменю (*Hordeum vulgare*) та помідорів (*Solanum lycopersicum*), що свідчить про високий рівень мікробної колонізації в умовах оптимального мікробіологічного середовища та найвірогідніше пов'язано з активністю первинних коренів (висока видільна здатність) злакових культур. Також виявлено, що мікроорганізми, наявні в ОМД DG H[K]B «Plus», проявляють високу спроможність щодо прикріплення до поверхні ризодерми завдяки продукції позаклітинних полісахаридів, які позитивно впливають на формування біоплівки й підвищують стій-

кість мікробної популяції до несприятливих умов. Особливої уваги заслуговують результати щодо утворення біоплівки на коренях бобових культур — гороху овочевого, гороху посівного, нуту та квасолі. Встановлено, що саме ці тест-культури демонстрували нижчу щільність біоплівки або повну відсутність адгезії мікроорганізмів до коренів. На нашу думку, це найвірогідніше пов'язано з видовим складом мікроорганізмів ОМД DG H[K]B «Plus». Усі 16 штамів мікроорганізмів, що входять до складу ОМД DG H[K]B «Plus», не є симбіотичними азотфіксаторами, а відносяться до мікоризоутворюваних мікроміцетів та вільноіснуючих мікроорганізмів.

Отримані нами дослідження подібні до результатів спостереження [23], де визначали адгезивну здатність п'яти ґрунтових бактеріальних штамів, які належали до різних родів. Усі бактеріальні штами були здатні формувати колонії та біоплівки різного ступеня міцності на полістиролі, що свідчить про їхню спроможність до адгезії та формування біоплівок. Однак прямої залежності між видом мікроорганізмів, рослинами та рухливістю бактеріальних клітин не знайдено. Втім наукова спільнота підтверджує, актуальність і доцільність подібних досліджень для створення і прогнозування продуктивності систем рослин-мікроорганізми.

На підставі досліджень адгезивних властивостей та здатності формувати біоплівки під час застосування добрива ОМД DG H[K]B «Plus» встановлено певну градацію для утворення біоплівки серед досліджуваних тест-культур сільськогосподарських рослин. Цей показник формування біоплівки на коренях знижувався у такій послідовності: злакові → пасльонові → гарбузові → бобові. Така тенденція вказує на різний ступінь афінності кореневої екосфери рослин до мікроорганізмів-агентів наявних у складі добрива.

ВИСНОВКИ

У лабораторному досліді виявлено адгезивні властивості мікроорганізмів-агентів ОМД DG H[K]B «Plus» та здатність утворювати біоплівки на коренях сільськогосподарських культур.

Встановлено, що рівень сформованості біоплівки на коренях сільськогосподарських культур залежав від видової приналежності культури та концентрації досліджуваного добрива. Найвищий рівень сформованості біоплівки спостерігали на проростках пшениці, кукурудзи, ячменю та помідорів. Визначено, що рівень утворення і сформованості біоплівки до тест-культур за використання ОМД DG H[K]B «Plus» має такий вигляд: злакові → пасльонові → гарбузові → бобові.

ЛІТЕРАТУРА

1. Koskella, B. & Bergelson, J. (2020). The study of host-microbiome (co)evolution across levels of selection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375. DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0604>.
2. Fisher, R. M., Henry, L. M., Cornwallis, C. K., Kiers, E. T., & West, S. A. (2017). The evolution of host-symbiont dependence. *Nat. Commun.*, 8, 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms15973>.
3. Metcalf, C. J. E., Henry, L. P., Rebolledo-Gómez, M., & Koskella, B. (2019). Why Evolve Reliance on the Microbiome for Timing of Ontogeny. *MBIO*, 10, 5. DOI: <https://doi.org/10.1128/mbio.01496-19>.
4. Tobin, J. H., Sanders, J. G., & Fierer, N. (2019). Not all animals need a microbiome. *FEMS Microbiology Letters*, 366, 10. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz117>.
5. Schmidt, J. E., Kent, A. D., & Brisson, V. L. (2019). Agricultural management and plant selection interactively affect rhizosphere microbial community structure and nitrogen cycling. *Microbiome*, 7, 146. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0756-9>.
6. Chen, S.-J., Hong, X.-Y., Wang, L.-Zh., & Wu, H.-M. (2025). Plant exudates-driven microbiome recruitment and assembly facilitates plant health management. *FEMS Microbiology Reviews*, 49. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaf008>.
7. Ghitti, E., Rolli, E., Vergani, L., & Borin, S. (2024). Flavonoids influence key rhizocompetence traits for early root colonization and PCB degradation potential of Paraburkholderia xenovorans LB400. *Sec. Plant Symbiotic Interactions*, 15. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1325048>.
8. Musa, O. I., Akande, S. A., Ijah, U. J. J., & Abioye, O. P. (2024). Biofilms communities in the soil: characteristic and interactions using mathematical model. *Research in Microbiology*, 175, 3, 104–149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104149>.

9. Li, Y., Narayanan, M., Shi, X., Chen, X., Li, Zh., & Ma, Y. (2024). Biofilms formation in plant growth-promoting bacteria for alleviating agro-environmental stress. *Science of The Total Environment*, 907. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167774>.
10. Pandit, A., Adholeya, A., Cahill, D., Brau, L., & Kochar, M. (2020). Microbial biofilms in nature: unlocking their potential for agricultural applications. *Journal of Applied Microbiology*, 129, 199–211. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.14609>.
11. Valle, I. D., Webster, T. M., Cheng, H.-Y., Thies, J. E., & Kessler, A. (2020). Soil organic matter attenuates the efficacy of flavonoid-based plant-microbe communication. *Science Advances*, 6. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax8254>.
12. Srivastava, P., Jamir, A., Jamir, S., Ukey, P., & Singh, B. V. (2023). Harnessing Microorganisms for Sustainable Agriculture: Promoting Environmental Protection and Soil Health. *Bionature*, 43(1), 26–29. DOI: <https://doi.org/10.56557/bn/2023/v43i11851>.
13. Demyanyuk, O. S., Patyka, V. P., Sherstoboeva, O. V., & Bunas, A. A. (2018). Formation of the structure of microbiocenoses of soils of agroecosystems depending on trophic and hydrothermal factors. *Bio-systems Diversity*, 26(2), 103–110. DOI: <https://doi.org/10.15421/011816>.
14. Волкогон, В. В. (2024). Роль мікроорганізмів у первинних процесах формування родючості ґрунтів. *Сільськогосподарська мікробіологія*, 39, 3–21. DOI: <https://doi.org/10.35868/1997-3004.39.3-21>.
15. Bhattacharyya, A., Mavrodi, O., Bhowmik, N., Weller, D., Thomashow, L., & Mavrodi, D. (2023). Bacterial biofilms as an essential component of rhizosphere plant-microbe interactions. *Methods Microbiol.*, 53, 3–48. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2023.05.006>.
16. Vorobey, N. A., Kukol, K. P., Pukhtaievych, P. P., & Kots, S. Y. (2023). Complex inoculation of soybeans with nodule bacteria *Bradyrhizobium japonicum* as a measure to optimize symbiotic nitrogen fixation. *Agricultural Microbiology*, 38, 29–39. DOI: <https://doi.org/10.35868/1997-3004.38.29-39>.
17. Volkogon, V. V., Dimova, S. B., Volkogon, K. I., Sidorenko, V. P., & Volkogon, M. V. (2021). Biological nitrogen fixation and denitrification in rhizosphere of potato pin response to the fertilization and inoculation. *Front. Sustain. Food Syst.*, 5, 606379. DOI: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.606379>.
18. Bunas, A. & Tkach, Y. (2023). Activity of the microbiocenose of the root zone of corn plants under the action of plant protection agents. *International Journal of Ecosystems & Ecology Sciences*, 13(4), 11. DOI: <https://doi.org/10.31407/ijees13.402>.
19. Крутило, Д. В., Надкернична, О. В., Шерстобоева, О. В., & Ушакова, М. А. (2018). Корекція ризобіальних угруповань ґрунту за інтродукції *Bradyrhizobium japonicum* різних генетичних груп. *Агроекологічний журнал*, 2, 73–81. DOI: <https://doi.org/10.33730/2077-4893.2.2018.157839>.
20. Шерстобоева, О. В., Бунас, А. А., & Дем'янюк, О. С. (2020). Вплив попередників та передпосівної інюкуляції насіння штамом *Azotobacter vinelandii* 12М на врожайність кукурудзи і активність процесу азотфіксації. *Збалансоване природокористування*, 1, 120–128. DOI: <https://doi.org/10.33730/2310-4678.1.2020.203941>.
21. Галкін, М. Б., Ліманська, Н. В., Філіпова, Т. О., & Іваниця, В. О. (2012). Формування біоплівки бактеріями *Lactobacillus plantarum* на коренях рослин *Lepidium sativum* L. *Мікробіологія і біотехнологія*, 3, 34–43.
22. Tverdokhlib, V. S., Limanska, N. V., Krylova, K. D., & Ivanytsia, V. O. (2018). Ability of *Lactobacillus plantarum* ONU 12 and *Bacillus megaterium* ONU 484 to stimulate growth of wheat seedlings and to form biofilms. *Мікробіологія і біотехнологія*, 4, 6–18. DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2018.4\(44\).149360](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2018.4(44).149360).
23. Shaffique, S., Imran, M., Wani, S. H., Khan, M. A., Kang, S. M., Adhikari, A., & Lee, I.-J. (2022). Evaluating the adhesive potential of the newly isolated bacterial strains in research exploitation of plant microbial interaction. *Sec. Plant Abiotic Stress*, 13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1004331>.

Стаття надійшла до редакції журналу 05.03.2025