

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ АССОЦИАТИВНЫХ АЗОТФИКСАТОРОВ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ СЕМЯН РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЮГА ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

А.М. Стрелецкий¹, О.Ф. Хамова², к.б.н., Н.А. Поползухина¹, д.с.-х.н., Н.Н. Шулико², к.с.-х.н., П.В. Поползухин², к.с.-х.н., ¹Омский ГАУ, ²СибНИИСХ, e-mail: sibniish@bk.ru

Наиболее отзывчивы на инокуляцию семян ассоциативными диазотрофами сорта ячменя зернофуражного направления Омский 95, Омский 91, Саша. На общую численность микроорганизмов в ризосфере исследуемых сортов влияло взаимодействие факторов – вида биопрепарата и сложившихся погодных условий в период вегетации, на количество автотрофных нитрификаторов и почвенных грибов – сорта культуры и инокуляция семян биопрепаратами.

Ключевые слова: ячмень, ассоциативная азотфиксация, ризосфера, биопрепарат, микроорганизмы, сорт, урожайность.

DOI

В связи с поиском путей увеличения растениеводческой продукции при одновременном снижении доз минеральных удобрений и улучшения экологической обстановки возрос интерес к препаратам, созданным на основе высокоэффективных штаммов ассоциативных микроорганизмов, применяемых для инокуляции семян зерновых культур.

Создание сортов полевых культур с повышенной отзывчивостью к ассоциативной азотфиксации открывает перспективы получения более высокого урожая зерновых с экологически безопасной продукцией высокого качества.

Ячмень – одна из древнейших сельскохозяйственных культур, имеющая кормовое, продовольственное, техническое и агротехническое значение.

Улучшить азотное питание культуры способны ассоциативные азотфиксаторы, микроорганизмы, которые, размещаясь в корневой зоне растений, в благоприятных условиях могут обеспечить до 45% потребности растений в азоте.

Внесенные при инокуляции диазотрофы образуют эффективные азотфиксирующие ассоциации с ячменем, способные в десятки раз повышать ассоциативную азотфиксацию в ризосферной зоне [1].

По мнению [2] максимальный эффект от применения ассоциативных бактерий можно получить только от тех штаммов, которые в большей степени соответствуют исследуемым видам и сортам растений. Не каждый интродуцируемый штамм бактерий может вступать в активную ассоциацию с любым видом и сортом растения, поскольку их корневые выделения имеют специфические свойства [2].

Цель наших исследований - выявить влияние ассоциативных ризобактерий на численность микроорганизмов ризосферы ячменя различной хозяйственной направленности, выделить сорта, наиболее отзывчивые на инокуляцию.

Методика. Для изучения были отобраны сорта ярового ячменя зернофуражного и пивоваренного назначения: Омский 95, Саша, Омский 90, Омский 91 и Омский голозерный 1.

Для инокуляции семян использовали препараты комплексного действия ризоагрин и азоризин на основе

штаммов ассоциативных бактерий *Agrobacterium radiobacter* 204 и *Azospirillum lipoferum* 137 [3].

Почва опытного участка – лугово-черноземная среднесуглинистая с содержанием гумуса 6,5%, рН_{вод.} – 6,5. Обеспеченность азотом нитратов слоя 0-40 см перед посевом в годы исследований была низкой (5,5-7,2 мг/кг), содержание подвижного фосфора в пахотном слое 0-20 см – высокое (189-198 мг/кг), обменного калия – очень высокое (362-385 мг/кг).

Площадь делянки 3 м², повторность – пятикратная. Посев осуществляли сеялкой ССФК-7,0 с нормой высева 5 млн всхожих зерен на 1 га. Предшественник – зерновые, вторая культура после пара. Азотные удобрения вносили в дозе 30 кг д.в./га как фон перед посевом.

Отбор проб на микробиологический анализ проводили в фазы кущение, колошение и в период налива зерна ячменя.

Содержание азота нитратов устанавливали дисульфифеноловым методом по Грандваль – Ляжу, фосфора и калия – по методу Чирикова в модификации ЦИНАО [4]. Учет микроорганизмов ризосферы растений проводили на твердых питательных средах: мясопептонный агар (МПА) – для бактерий, утилизирующих органические соединения азота; крахмалоаммиачный агар (КАА) – для микроорганизмов, потребляющих минеральный азот; олигонитрофилы определяли на среде Мишустинной; нитрификаторы – на выщелоченном агаре с добавлением двойной аммонийно-магниево-фосфорной кислоты; грибы – на подкисленной среде Чапека [5].

Математическую обработку данных проводили дисперсионным анализом по Б.А. Доспехову [6].

Погодные условия вегетационного периода 2014 г. для развития зерновых культур в целом сложились неблагоприятно. Количество осадков за май – август было недостаточно – 135 мм, или 68% от нормы. Наиболее засушливым был июнь (15 мм осадков), при существенном недоборе тепла в июле (на 3°C ниже нормы), ГТК за май-август составил 0,68. Относительно благоприятными для зерновых культур были вегетационные периоды 2015 и 2016 гг., ГТК составлял, соответственно, 1,08 и 1,09 (май – август).

В 2015 г. засушливым был июль (80% осадков к норме). Недостаток тепла во второй половине лета (ниже нормы на 1,2 °C) затянул сроки созревания зерновых.

В 2016 г. в мае выпало лишь 21% осадков от нормы, ГТК составил 0,54. В течение второй половины июня-июле количество выпавших осадков превысило норму на 74%. Жарким и засушливым был август (ГТК=0,27). Несмотря на превышение нормы по количеству выпавших осадков на 15%, распределение их в течение вегетационного периода было неравномерным.

Таким образом, различия погодных условий в годы исследований могли существенно отразиться на эффективности инокуляции растений и активности азотфиксации.

Результаты и их обсуждение. Определение численности бактерий на мясопептонном агаре (МПА), утилизирующих органические азотсодержащие соединения, показало отсутствие достоверных различий между сортами ячменя различного хозяйственного направления и существенного влияния биопрепаратов на эту группу микроорганизмов. На численность бактерий-сапрофитов и разложение органических остатков в ризосфере достоверно воздействовал фактор года исследований (фактор С), т.е. температурные условия и увлажнение почвы в течение вегетационного периода [7]. Следует отметить положительное влияние биопрепаратов на количество бактерий-сапрофитов в ризосфере сорта Омский 95, которое увеличилось на 44-85% к контролю.

Количество микроорганизмов на крахмалоаммиачном агаре (КАА), усваивающих аммонийный азот, высвобождающийся при разложении растительных остатков, также достоверно изменялось под воздействием погодных условий. Влияние на численность микроорганизмов на КАА сортов (А) и биопрепаратов (В) было незначительно ($F_{\text{факт}} < F_{05}$), за исключением сорта Омский 95. Под влиянием биопрепаратов ризоагрин и азоризин (раздельно и в сочетании) количество ризосферных микроорганизмов, иммобилизующих азот, увеличилось на 47-74% к контролю.

Изменения численности олигонитрофилов, микроорганизмов, способных развиваться при очень низком содержании азота в субстрате, были недостоверны при оценке влияния всех трех изучаемых факторов. Лишь у сорта ячменя Омский 95 под влиянием инокуляции количество олигонитрофилов в ризосфере увеличилось от 31 до 73% к контролю.

Наиболее чувствительными к изменениям почвенной ситуации в ризосфере были нитрифицирующие бактерии. Численность нитрификаторов в ризосфере зернофуражных сортов ячменя составляла (в среднем по сорту) 1,57-1,65 тыс. КОЕ/г, достоверно увеличиваясь до 1,93 тыс. КОЕ/г в ризосфере пивоваренного ячменя разных сортов (фактор А).

В среднем по фактору В (биопрепараты) наибольшее положительное влияние на численность нитрификаторов оказал ризоагрин, 44% к контролю. В вариантах обработки семян ячменя Омский голозерный 1, Омский 90 ризоагрином количество нитрифицирующих бактерий в ризосфере культуры превысило контроль на 85 и 21% соответственно.

Влияние лет исследований выразилось в повышении количества нитрификаторов в ризосфере ячменя в 2015 г. по отношению к предыдущему 2014 г. Известно, что нитрифицирующие бактерии чувствительны как к не-

достатку влаги, так и к избыточному увлажнению почвы. В 2014 г. в условиях засушливого вегетационного периода их количество составляло 1,7 тыс. КОЕ/г, увеличиваясь в 2015 г. на 22% при выпадении достаточного количества осадков (среднее из трех определений).

В 2016 г. в течение июня-июля количество осадков превысило норму на 74%. Видимо, избыточное увлажнение почвы послужило причиной снижения количества нитрифицирующих бактерий в почве, на 19% в сравнении с 2014 г. и на 33 % по отношению к 2015 г.

Достоверное влияние на численность нитрифицирующих бактерий оказало взаимодействие факторов: сорта и инокуляции семян биопрепаратами (АВ), сорта и лет исследований (АС), вида биопрепарата и лет исследований (ВС).

Почвенные грибы разрушают органическое вещество, участвуют в минерализации растительных и животных остатков, образовании гумуса [8].

Количество почвенных грибов наиболее значительным было в ризосфере пивоваренного ячменя Омский 90 - на 42 и 86% выше, чем у сортов ячменя Омский голозерный 1 и Омский 95 соответственно.

Инокуляция семян биопрепаратами, улучшая питательный режим микроорганизмов, способствовала увеличению количества грибов в ризосфере ячменя: у сорта Омский 95 на 51-106%, Омский голозерный 1 - до 32, Омский 90 (ризоагрин + азоризин) - на 42%.

Достоверным было влияние на численность грибов лет исследований. В засушливом 2014 г. она была наиболее высокой - до 100 тыс. КОЕ/г. С повышением увлажнения в 2015 и 2016 гг. количество грибов снижалось, что связано с ростом численности и подавляющим влиянием бактерий.

Суммарное количество микроорганизмов в ризосфере ячменя зависело от взаимодействия факторов: влияния биопрепарата и погодных условий вегетационного периода. Инокуляция семян ячменя ассоциативными диазотрофами в наибольшей степени повлияла на общую численность микроорганизмов в ризосфере сорта Омский 95, которая увеличилась на 36-69,5% к контролю (табл. 1).

Содержание в почве питательных веществ и условия азотного питания растений определяют непрерывно идущие процессы минерализации-иммобилизации азота.

Для оценки активности этих процессов были рассчитаны коэффициенты минерализации и иммобилизации по соотношению групп микроорганизмов на МПА и КАА, отражающие доминирующее действие той или иной группы, а также представлен коэффициент трансформации органического вещества - Пм [9, 10]. Величина Пм свидетельствует о балансе между разложением органических остатков и синтезом органического вещества почвы. Снижение Пм связано с угнетением развития аммонификаторов и процесса иммобилизации азота [9].

Исследования показали, что наиболее высокий коэффициент минерализации в ризосфере пленчатых сортов - Омский 90 и Омский 95, в среднем по фактору - 0,87 и 0,95 ед. В ризосфере голозерного ячменя коэффициент минерализации снизился до 0,76 ед.

Соответственно, коэффициент иммобилизации (МПА/КАА) минерального азота и его перевода в азотсодержащие органические соединения (Пм) наиболее высокий в ризосфере голозерного ячменя - 1,36 и 121

ед. соответственно, в среднем по фактору. Самое низкое соотношение МПА/КАА и Пм у зернофуражного ячменя Омский 95.

1. Численность микроорганизмов в ризосфере разных сортов ячменя (фактор А) при инокуляции семян биопрепаратами (фактор В) (среднее за 2014-2016 гг., фактор С)

Сорт (А)	Бактерии, растущие на МПА	Микроорганизмы, растущие на КАА	Олигонитрофилы	Нитрификаторы, КОЕ/г	Грибы, тыс. КОЕ/г	Общее коли- чество мик- роorganiz- мов, млн КОЕ/г	
	млн КОЕ/г						
Омский 95: К	25,5	23,5	101,0	1,40	32,9	150,0	
А	36,7	34,7	132,2	1,54	49,8	203,7	
Р	40,1	39,0	175,2	1,39	51,6	254,3	
А+Р	47,4	40,9	137,3	1,94	67,8	225,6	
Среднее	37,5	34,5	136,4	1,57	50,5	208,4	
Омский голозерный 1: К	35,1	34,4	140,9	1,20	56,8	210,4	
А	45,1	35,0	160,6	1,29	73,5	240,8	
Р	39,8	32,1	124,4	2,23	75,0	196,4	
А+Р	45,3	32,1	132,3	1,86	57,9	209,7	
Среднее	41,3	39,0	139,6	1,65	65,8	214,3	
Омский 90: К	48,5	33,7	174,0	1,89	88,8	261,5	
А	45,0	32,5	157,5	2,05	103,7	236,3	
Р	53,0	31,2	164,6	2,30	92,2	250,2	
А+Р	39,0	34,1	106,8	1,49	90,2	177,2	
Среднее	46,4		150,7	1,93	93,7	231,3	
НСР ₀₅ : А	F _{факт} <F ₀₅	F _{факт} <F ₀₅	F _{факт} <F ₀₅	0,31	21,1	F _{факт} <F ₀₅	
В				0,36	F _{факт} <F ₀₅		
С				0,31	21,1		
АВ	F _{факт} <F ₀₅			0,62	F _{факт} <F ₀₅		
АС							
ВС							
						135,3	

Примечание. К-контроль, А-азоризин, Р-ризоагрин, А+Р- азоризин+ризоагрин (В).

Применение биопрепаратов усиливало иммобилизационные процессы в ризосфере всех изучаемых сортов, но наиболее высоким коэффициент трансформации

органического вещества или Пм был у голозерного ячменя - >100 ед. (табл. 2).

2. Соотношения групп микроорганизмов, утилизирующих азот, в ризосфере ячменя в зависимости от сорта (А), применения биопрепарата (В) при инокуляции семян перед посевом [2014-2016 гг. (С)]

Сорт	Коэффициент минерализации, КАА/МПА				Коэффициент иммобилизации, МПА/КАА				Коэффициент трансформации органического вещества, Пм (МПА+КАА) x МПА/КАА			
	К	А	Р	среднее	К	А	Р	среднее	К	А	Р	среднее
Омский 95	0,92	0,96	0,96	0,95	1,09	1,05	1,06	1,07	53	75	83	70
Омский голозерный 1	0,80	0,75	0,74	0,76	1,25	1,35	1,148	1,36	109	105	148	121
Омский 90	0,96	0,79	0,85	0,87	1,05	1,27	1,21	1,18	71	104	91	89

Примечание. К-контроль, А-азоризин, Р-ризоагрин.

Применение биопрепаратов ассоциативных азотфиксаторов для инокуляции семян разных сортов ячменя оказало по одним сортам положительное влияние на урожайность зерна ячменя, а по другим - достоверно снизило его продуктивность.

Таким образом, подтвердилось мнение, что для установления эффективных ассоциативных взаимоотношений между растениями и микроорганизмами необходим тщательный отбор соответствующего штамма не только к культуре, но и к сорту [2].

Положительный эффект от инокуляции семян ячменя ризоагрином был у сортов Омский 95, Омский 91; азоризином – у сортов Омский 95, Саша, Омский 91. Достоверно отрицательной на инокуляцию биопрепаратами по урожайности зерна ячменя была реакция сорта Омский голозерный 1, на ризоагрин – Омский 90 (табл. 3). Можно предположить, что одной из причин отсутствия эффекта от агроприема было преобладание процесса иммобилизации азота в ризосфере этих сортов. Фиксированный микроорганизмами молекулярный азот

в результате различных сложных превращений включается в состав фракции почвенного органического вещества, пополняя запасы азота в почве. Только после отмирания микроорганизмов он используется в виде продуктов, поступающих в окружающую среду [11].

3. Урожайность зерна различных сортов ярового ячменя в зависимости от инокуляции семян биопрепаратами, т/га (2014-2016 гг.).

Сорт (А)	Контроль	Инокуляция (В)		± к контролю	
		Азори-зин	Ризоаг-рин	Азори-зин	Ризоагрин
Омский 95	2,72	2,82	2,98	0,10	0,26
Саша	1,92	2,33	1,87	0,41	-0,05
Омский голозерный 1	2,35	2,0	1,85	-0,35	-0,50
Омский 90	3,18	3,08	2,94	-0,10	-0,24
Омский 91	2,93	3,62	3,14	0,69	0,21
НСР ₀₅ : А		0,19			
В		0,15			
АВ		0,34			

Ранее проведенными в СибНИИСХ исследованиями с сортами яровой мягкой пшеницы (2011-2013 г.) установлено, что определяющее влияние на урожайность оказывают условия выращивания (75,4%), доля генотипа растений составляет 11,7%, инокуляции (генотип бактерии) – 1,6% [12].

Снижение урожайности ячменя в вариантах с инокуляцией семян биопрепаратами связано также с генотипическими особенностями этих сортов. Инокуляция низкоактивных по *nis*-признаку генотипов (способность к азотфиксации) приводит к уменьшению биомассы растений. Высокая внутрисортная изменчивость по *nis* обусловлена влиянием среды на проявление признака и генотипической неоднородностью сортов в отношении факторов, определяющих уровень нитрогеназной активности в ризосфере [13].

Между общей численностью микроорганизмов, олигонитрофилов и урожайностью ячменя установлены корреляционные зависимости средней степени ($r=0,36$; $0,40$ соответственно), что свидетельствует об участии почвенной микрофлоры в создании урожая.

Заключение. Таким образом, в результате исследований по влиянию биопрепаратов ассоциативных diaзотрофов на различные сорта ярового ячменя установлено:

1. Численность микроорганизмов ризосферы ячменя в основном зависела от применяемого биопрепарата для инокуляции семян и сложившихся погодных условий, у автотрофных нитрификаторов – от сорта, вида биопрепарата и сложившихся погодных условий, почвенных грибов – от сорта ячменя.
2. Применение биопрепаратов для инокуляции семян ячменя в наибольшей степени способствовало увеличению численности микроорганизмов в ризосфере сорта Омский 95. При этом общее суммарное количество микроорганизмов увеличилось от применения азоризина на 36 %, ризоагрина – на 69,5, их сочетания – на 50%.
3. В ризосфере исследуемых сортов преобладали иммобилизационные процессы. Высокий коэффици-

ент синтеза органического вещества (Пм) > 120 ед. был у сорта Омский голозерный 1 и 89 ед. у сорта Омский 90, что оказало влияние на их продуктивность.

4. Наиболее отзывчивыми на инокуляцию ассоциативными азотфиксаторами были сорта ячменя зернофуражного направления - Омский 95, Омский 91, Саша.

Литература

1. Белимов А.А. Эффективность инокуляции ячменя смешанными культурами diaзотрофов: автореф. дис. канд. биол. наук / Белимов А.А. – Л., 1990. – 20 с.
2. Воробейков Г.А., Павлова Т.К., Кондрат С.В. Исследование эффективности штаммов ассоциативных ризобактерий в посевах различных видов растений // Известия Российского ГПУ им. А.И. Герцена. – 2011. – № 141. – С. 114-121.
3. Новые технологии производства и применения биопрепаратов комплексного действия / Под ред А.А. Завалина, А.П. Кожемякова. – СПб: Химиздат, 2010. – 64 с.
4. Ариунушкина Е.В. Руководство по химическому анализу почв. – М.: МГУ, 1970. – 325 с.
5. Теплер Е.З. Шильникова В.К. Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.
6. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
7. Хамова О.Ф., Шулико Н.Н., Тукмачева Е.В. Численность микроорганизмов ризосферы ячменя при длительном применении минеральных удобрений, соломы и инокуляции семян ассоциативными diaзотрофами // Омский научный вестник. – 2015. – №1 (138). – С. 127-131.
8. Бабеева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. – М.: Изд. МГУ, 1989. – 336 с.
9. Муха В.Д. О показателях, отражающих интенсивность и направленность почвенных процессов// Сб. науч. трудов Харьковского СХИ. – Харьков, 1980. – Т. 273. – С. 13-16.
10. Коробова Л.Н., Танатова А.В., Ферантонтова С.А., Шинделов А.В. Научно-методические рекомендации по использованию микробиологических показателей для оценки состояния пахотных почв Сибири. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2013. – 39 с.
11. Шабаев В.П., Умаров М.М., Смолин В.Ю. Количественная оценка микробиологической азотфиксации и роли атмосферного азота в питании небобовых и бобовых растений. – Пушкино, 1985. – 34 с.
12. Аужанова А.Д. Оценка действия абиотических факторов и биопрепарата ризоагрина на микробиологическую активность почвы, адаптивность и продуктивность яровой мягкой пшеницы: автореф. дис. канд. биол. наук. – Омск, 2015. – 18 с.
13. Карашаева А.С. Ассоциативные diaзотрофы и их взаимодействие с растениями // Молодой ученый. – 2016. – №6(110). – С.350-353.

EFFECTIVENESS OF ASSOCIATE NITROGEN FIXERS IN THE INOCULATION OF DIFFERENT BARLEY VARIETIES SEEDS UNDER CONDITIONS OF THE SOUTH WESTERN SIBERIA

A.M. Streletsky¹, O.F. Khamova², N.A. Popolzukhina¹, N.N. Shuliko², P.V. Popolzukhin²

¹ Omsk State Agrarian University, Institutskaya sq. 1, 644008 Omsk, Omsk region, Russia

² Siberian Research Institute of Agriculture, Akademika Korolyova pr. 26, 644012 Omsk-12, Omsk region, Russia, e-mail: sibniish@bk.ru

The most responsive to the seeds inoculation by associative diazotrophs were forage barley varieties Omski 95, Omski 91, Sasha. The number of microorganisms in the rhizosphere of the investigated varieties was influenced by the interaction of factors – the type of biopreparation and the prevailing weather conditions during the growing season. The number of autotrophic nitrates bacteria and soil fungi in the rhizosphere depended on the barley varieties.

Key words: barley, associative nitrogen fixation, rhizosphere, biopreparation, microorganisms, variety, yield.