

ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ *BACILLUS SP.* НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ И ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЧЕРНОЗЁМА

*В.Д. Приходько, В.В. Вилкова, К.Ш. Казеев, д.г.н., М.С. Нижельский,
В.В. Лыгановская, А.Н. Федоренко, С.И. Колесников, д.с.-х.н.,
Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Иванковского
344090, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1
т. 89612691548; E-mail: kamil_kazeev@mail.ru*

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности (№ FENW-2023-0008), гранта на создание Лаборатории молодых ученых (№ ЛабНОЦ-21-01АБ) и ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-449.2022.5)

Представлены результаты влияния микробиологического препарата с фунгицидным действием в отношении грибов рода *Fusarium* на основе консорциума штаммов аэробных спорообразующих бактерий рода *Bacillus* на продуктивность ярового ячменя и активность почвенных ферментов (каталаза, дегидрогеназы, фосфатаза, инвертаза). Объектом исследования был чернозём миграционно-сегрегационный (*Harlic Chernozem Loamic*). Исследование проведено путём посева ярового ячменя и его дальнейшей обработки биопрепаратом в различных дозах: рекомендуемая (РД – 0,00001 мл/л), десятикратная (РД·10 – 0,0001 мл/л) и стократная (РД·100 – 0,001 мл/л). В результате исследования было отмечено увеличение активности фосфатазы и дегидрогеназ, выявлены фунгицидное воздействие препарата для почвенных микромицетов, а также увеличение продуктивности ярового ячменя при внесении рекомендуемой дозы.

Ключевые слова: микробиологические препараты, ячмень яровой, ферментативная активность, чернозем, фунгицидное действие.

Для цитирования: Приходько В.Д., Вилкова В.В., Казеев К.Ш., Нижельский М.С., Лыгановская В.В., Федоренко А.Н., Колесников С.И. Влияние микробиологического препарата на основе *bacillus sp.* на продуктивность ярового ячменя и ферментативную активность чернозёма// Плодородие. – 2023. – №5. – С. 84-87. DOI: 10.25680/S19948603.2023.134.21.

В России яровой ячмень по размерам посевных площадей занимает четвертое место, следуя после пшеницы, ржи и кукурузы [1]. Яровой ячмень относится к одной из важнейших продовольственных, кормовых и технических культур, в зерне которого в зависимости от сортовых особенностей и условий возделывания содержится от 7 до 16% белка, до 2 жира, около 65% углеводов, от 2,0 до 2,8 золы и 5-5,5% клетчатки [11]. Урожайность сельскохозяйственных культур напрямую зависит от плодородия почвы, которая в свою очередь подвержена воздействию различных факторов среды. Многие исследователи занимаются разработкой методик повышения плодородия [8, 13], а также восстановления поврежденных почв [2, 10] с помощью различных мелиорантов.

Биологические методы мелиорации почв применяют уже давно, они представляют собой различные формы органических удобрений [5]. В настоящее время большой интерес вызывают биопрепараты, содержащие разнообразные микроорганизмы, обладающие способностью усиливать процесс усвоения растениями питательных веществ. Биодоброения служат эффективной альтернативой опасным синтетическим удобрениям [4, 12]. Среди биопрепаратов, которые используются в сельском хозяйстве, можно выделить достаточно большую группу биофунгицидов, основу которых образуют микроорганизмы рода *Bacillus*. Биопрепараты на основе микроорганизмов рода *Bacillus* включают селекционированные природные штаммы микроорганизмов, которые обладают выраженной биологической активностью и без-

опасностью для всех экологических ниш (почва, растения, насекомые, животные и человек) [9]. Микроорганизмы рода *Bacillus* используют как биоагенты в микробных препаратах, они имеют ряд существенных преимуществ: легко культивируются, могут длительно храниться. Поэтому их можно использовать в виде спор, что облегчает инокуляцию посевного материала, а также увеличивают длительность действия биопрепарата в природной среде [15]. Для повышения урожайности сельскохозяйственных культур наиболее эффективно использование консорциума из нескольких штаммов микроорганизмов. В этом случае действие биопрепарата может достигать более высокой производительности даже в неблагоприятных условиях [16].

Несмотря на большой потенциал микробиологических препаратов, они по-прежнему мало используются в широких масштабах [17], что обуславливает актуальность данного исследования.

Цель исследований – оценить способ улучшения экологического состояния почв агроландшафтов при применении фунгицидного биопрепарата.

Методика. Модельный микроделяночный опыт проводили в полевых условиях на пахотном участке ботанического сада Южного федерального университета. Почвы данной территории представлены чернозёмом обыкновенным карбонатным. Этот объект широко используют при мониторинге окружающей природной среды, в том числе почвенного покрова [3, 7]. Через 14 сут после посева ярового ячменя площадку разделили на 12 делянок площадью по 1 м², затем – на каждые три делянки, за исключением

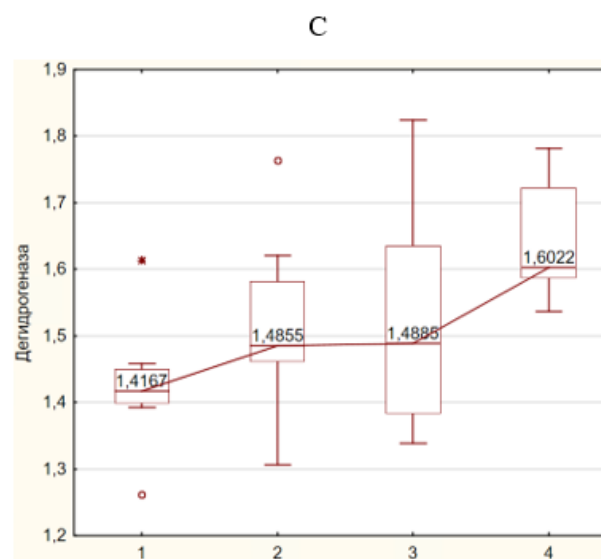
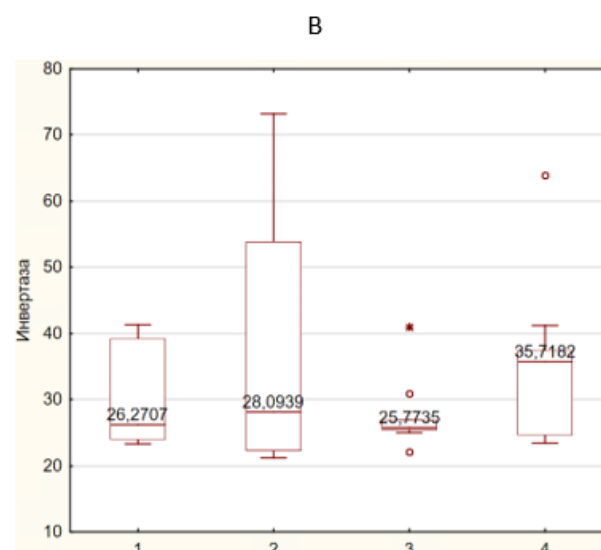
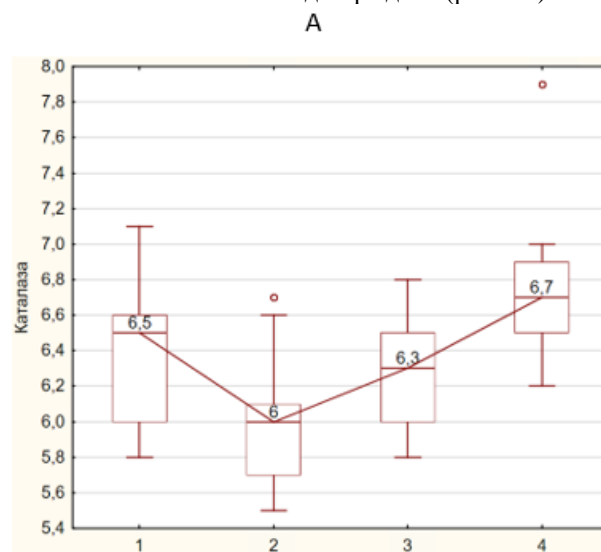
контрольного варианта (К), который был обработан водой (1 л) без добавления биопрепарата. Микробиологический препарат с биофунгицидным действием в отношении грибов рода *Fusarium* на основе консорциума штаммов аэробных спорообразующих бактерий *B. amyloliquefaciens* V3.14 и R4.6, *P. polymyxa* R5.31, а также *P. peoriae* O1.27, O2.11, R3.13, R4.5 и R6.14, и *P. jamielae* K1.14, R4.24 был разработан в лаборатории новых биопрепаратов Академии биологии и биотехнологии Южного федерального университета. Биопрепарат основан на технологии жидкофазной ферментации культурами бактерий жидкой питательной среды на основе 2,5% свежесквашенной мелассы от объёма и комплекса солей (Азофоска) в концентрации 1,95 г/л, что соответствует 1:25 по соотношению N (азот): C (углерод) [17]. Концентрация жизнеспособных спор бактерий в получаемом биопрепарате не менее $1 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Были внесены разные дозы микробиологического препарата (Ф1): рекомендуемая (РД – 0,00001 мл/л), десятикратная (РД·10 – 0,0001 мл/л) и стократная (РД·100 – 0,001 мл/л). Рекомендуемую дозу применяют на полях для подавления грибов р. *Fusarium* при обработке растений по листу [17].

Через 30 дней после внесения биопрепарата провели отбор почвенных образцов (0–5 см) и выполнили серию анализов ферментативной активности (каталаза, дегидрогеназы, фосфатаза, инвертаза). Через 60 дней после внесения биопрепарата сделали повторный пробоотбор для проведения количественного анализа колоний микромицетов. Далее, через 90 дней после посева ярового ячменя, с каждой учётной площадки собрали урожай. Затем определили урожайность культуры, а также с каждой деланки произвели измерения длины растений и их массы.

Образцы почв анализировали, используя методы определения активности ферментов: каталазы – по А.Ш. Галстяну, инвертазы – колориметрическим методом с реактивом Феллинга, фосфатазы – с помощью модифицированного метода А.Ш. Галстяна и Э.А. Арутюняна [6]. Метод определения активности каталазы основан на определении объема кислорода, выделяющегося при разложении перекиси водорода. Метод определения активности фосфатазы основан на учете п-нитрофенола при гидролизе п-нитрофенилфосфата натрия. Метод определения активности инвертазы почв основан на изменении оптических свойств реактива Феллинга при восстановлении меди глюкозой из инвертированного раствора сахарозы после воздействия фермента. Учёт колоний микромицетов проводили чашечным методом посева на агар Чапека-Докса. Чашки инкубировали в термостате при +28°C, учет выросших колоний проведен на 7-й день после посева. Урожайность культуры определяли согласно справочнику [14].

Статистическая обработка данных выполнена с помощью программного обеспечения Statistica for Windows 10.0, MS Excel. Использовали методы описательной статистики – проверка нормальности распределения данных выборки производилась с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Применяли методы параметрической статистики с использованием критерия Стьюдента, дисперсионного анализа и критерия Тьюки. Для выборок с ненормальным распределением была использована непараметрическая статистика – критерий Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. В результате исследования установлено, что при внесении РД и РД·10 наблюдается тенденция к подавлению активности каталазы, хотя это статистически не подтверждено (рис. 1А).



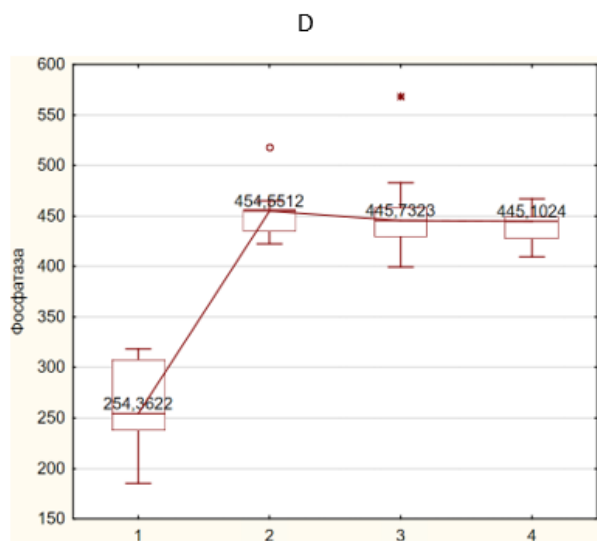


Рис. 1. Характеристика медианы и межквартильного размаха для активности:

А – каталазы (мл O_2 /г/мин), В – инвертазы (мг глюкозы/г/24 ч), С – дегидрогеназы (мг ТФФ/10 г/24 ч), Д – фосфатазы (мг п-нитрофенола/г/ч) в зависимости от концентрации биопрепарата, где на оси абсцисс 1 – контроль (К), 2 – рекомендуемая доза (РД), 3 – 10-кратное увеличение рекомендуемой дозы (РД·10), 4 – 100-кратное увеличение рекомендуемой дозы (РД·100)

Доза РД·100 нивелирует данное снижение и превосходит РД и РД·10, однако достоверных отличий в паре сравнения контроль – РД·100 не наблюдается. Таким образом, внесение препарата в низких концентрациях может привести к снижению активности каталазы, а стократное увеличение концентрации не оказывает какого-либо воздействия относительно контроля.

Для инвертазы было характерно отсутствие динамики активности вне зависимости от концентрации препарата. Можно отметить, что активность инвертазы показала слабый отклик на внесение разных доз микробиологического препарата и характеризуется консервативностью своей природы.

Положительный эффект на активность дегидрогеназы в сравнении с контрольными образцами оказывала только концентрация РД·100, а фосфатаза, вне зависимости от количества внесенного биопрепарата, демонстрировала близкие, но достоверно различающиеся значения активности относительно контроля.

Кроме того, была изучена численность микромицетов в почве на исследуемых участках (рис. 2). Статистический анализ показал достоверное снижение численности микромицетов только в варианте с наибольшей дозой внесения препарата (РД·100) относительно контроля, что говорит о возможности его применения в качестве фунгицидного средства.

Исследование морфологических характеристик ярового ячменя показало, что внесение рекомендуемой дозы никак не отразилось на длине растений, однако было зафиксировано достоверное снижение длины наземной части растений при увеличении концентрации препарата (рис. 3).

Также при внесении рекомендуемой дозы урожайность культуры и масса растений увеличиваются относительно контроля, при 10-кратной дозе морфометрические показатели практически не меняются, а при 100-кратной – уменьшаются (табл.).

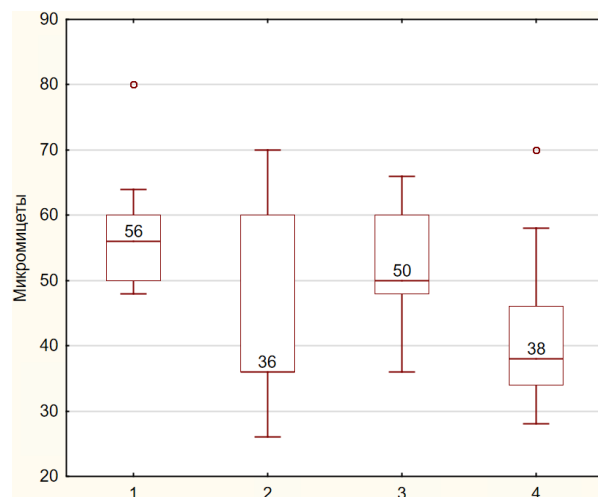


Рис. 2. Характеристика медианы и межквартильного размаха для количества микромицетов (КОЕ/г) на участках с разной дозой внесения препарата на оси абсцисс: 1 – контроль (К), 2 – рекомендуемая доза (РД), 3 – десятикратное увеличение рекомендуемой дозы (РД·10), 4 – стократное увеличение рекомендуемой дозы (РД·100)

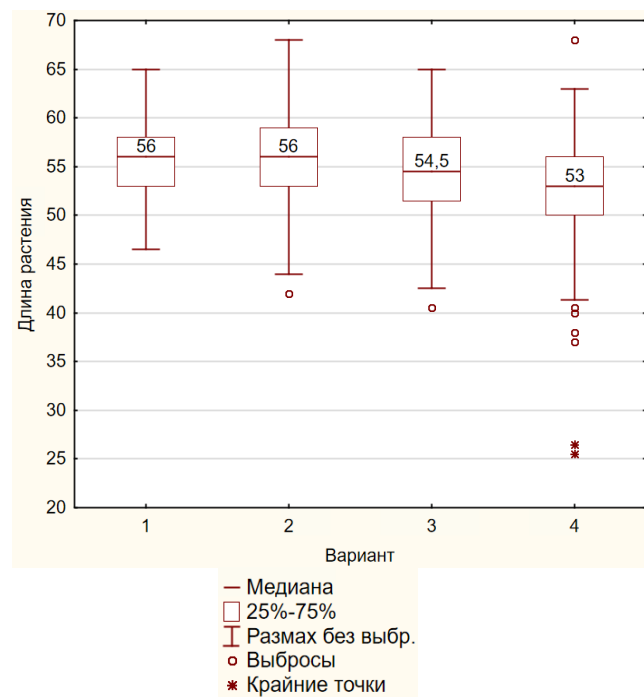


Рис. 3. Характеристика медианы и межквартильного размаха для длины растений (см) на участках с разной дозой внесения препарата на оси абсцисс:

1 – контроль (К), 2 – рекомендуемая доза (РД), 3 – десятикратное увеличение рекомендуемой дозы (РД·10), 4 – стократное увеличение рекомендуемой дозы (РД·100)

| Влияние биопрепарата на продуктивность ярового ячменя | | | | | |
|---|---|-----------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| Вариант | Число продуктивных растений на 1 м ² | Число зерен в колоске | Масса 1000 зерен, г | Урожайность, ц/га | Масса растения, г |
| Контроль | 408 | 26 | 44,3 | 47 | 0,65 |
| РД | 422 | 27 | 44,7 | 51 | 0,71 |
| РД·10 | 416 | 27 | 44,3 | 50 | 0,66 |
| РД·100 | 363 | 24 | 44,7 | 39 | 0,59 |

Выводы. 1. Достоверный положительный эффект от внесения биопрепарата выявлен для активности дегидрогеназ и фосфатазы.

2. Установлено подавляющее действие высокой дозы микробиологического препарата на численность микроорганизмов.

3. Биопрепарат оказывает положительный эффект на урожайность и фитомассу ячменя при внесении рекомендуемой дозы.

Литература

1. Белоус Н.М., Сычев В.Г., Шаповалов В.Ф., Белоус И.Н. Влияние длительного применения средств химизации на продуктивность плодосменного севооборота и плодородие дерново-подзолистой почвы в условиях радиоактивного загрязнения // Плодородие. – 2013. – № 3. – С. 1–3.
2. Вилкова В.В., Казеев К.Ш., Шханацев А.К., Нижельский М.С., Колесников С.И. Влияние пирогенного воздействия на биологическую активность чернозема обыкновенного в модельных экспериментах // АгроЭкоИнфо. – 2021. – № 5.
3. Даденко Е.В., Мясникова М.А., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая активность чернозема обыкновенного при длительном использовании под пашню // Почвоведение. – 2014. – №6. – С. 724–733.
4. Заядан Б.К., Маторин Д.Н., Баймаханова Г.Б., Болатхан К., Ораз Г.Д., Саданов А.К. Консорциумы микроорганизмов, перспективных при получении биоудобрения для рисовых культур // Микробиология. – 2014. – Т. 83. – № 4. – С. 467.
5. Зинковская Т.С., Ковалев Н.Г., Зинковский В.Н. Классификация биологических мелиорантов, применяемых в земледелии // Плодородие. – 2012. – № 4. – С. 20–22.
6. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Акименко Ю.В., Даденко Е.В. Методы биодиагностики наземных экосистем. – Ростов-на-Дону: Изд-во Южного федерального ун-та, 2016. – 356 с.
7. Казеев К.Ш., Трушков А.В., Одабашия М.Ю., Колесников С.И. Постагрогенное изменение ферментативной активности и содержания органического углерода чернозема в первые три года залежного режима // Почвоведение. – 2020. – № 7. – С. 901–910.

8. Конончук В.В., Тимошенко С.М., Штырхунов В.Д., Назарова Т.О. Реакция почвы и растений на внесение азотного удобрения под озимые и яровые зерновые культуры в Центральном Нечерноземье // Агрохимический вестник. – 2021. – № 5. – С. 54–59.
9. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus* Cohn в агроэкосистемах / А.И. Мелентьев. – Рос. акад. наук, Уфимский науч. центр, Ин-т биологии. – М.: Наука, 2007. – 147 с.
10. Нижельский М.С., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Влияние биологических препаратов на ферментативную активность чернозема обыкновенного после фумигации дымом от опилок // Агрохимический вестник. – 2021. – №5. – С. 28–33.
11. Романова И.Н., Терентьев С.Е., Князева С.М., Глушаков С.Н., Перепицай М.Е. Урожай и качество зерна сортового ячменя, а также его пригодность на пивоваренные цели в условиях западной части Нечерноземья // Достижения науки и техники АПК. – 2014. – Т. 28. – № 11. – С. 27–30.
12. Скамарохова А. С., Юрин Д. А. Изучение влияния нового комплексного биоудобрения на всхожесть семян озимой вики // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2022. – Т. 11. – № 1. – С. 332–335.
13. Турусов В.И., Гармашов В.М. Эффективность минеральных удобрений при различных способах обработки почвы // Агрохимия. – 2020. – № 12. – С. 19–27.
14. Церлинг В.В. Диагностика питания сельскохозяйственных культур: Справочник – М.: Агропромиздат, 1990. – 235 с.
15. Berg G., Krechel A., Ditz M., Sikora R.A., Ulrich A., Hallmann J. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi // FEMS Microbiology Ecology. – 2005. – Т. 51. – № 2. – С. 215–229.
16. Chistyakov V.A., Gorovtsov A.V., Usatov A.V., Prazdnova E.V., Mazanko M.S., Bren A.B., Usatova O.A., Vasilchenko N.G. Patent № 2751487 C1 Russia, IPC: A01N 63/22; Method for producing liquid nutrition medium and method for obtaining liquid microbiological agent based on strains mixture of spore-forming bacteria antagonists of phytopathogenic fungi of g. *Fusarium*: № 2020122106: priority 03.07.2020 : publication 14.07.2021.
17. Gautam K., Sirohi C., Singh N.R., Thakur Y., Jatav S.S., Rana K., Chitara M., Meena R.P., Singh A.K., Parihar M. Microbial biofertilizer: Types, applications, and current challenges for sustainable agricultural production // Biofertilizers. – Woodhead Publishing, 2021. – С. 3–19.

INFLUENCE OF MICROBIOLOGICAL PRODUCT BASED ON BACILLUS SP. ON BARLEY PRODUCTIVITY AND ENZYME ACTIVITY OF CHERNOZEM

V.D. Prikhodko, V.V. Vilkova, K.Sh. Kazeev, Ph.D., M.S. Nizhelsky,
V.V. Lyganovskaya, A.N. Fedorenko, S.I. Kolesnikov, Ph.D

Southern Federal University, Academy of Biology and Biotechnology named by D.I. Ivanovsky
344090, Russia, Rostov-on-Don, Stachki st., 194/1. t. 89612691548; E-mail: kamil_kazeev@mail.ru

*The results of the influence of a microbiological preparation with a biofungicidal action against fungi of the genus *Fusarium* based on a consortium of strains of aerobic spore-forming bacteria of the genus *Bacillus* on the activity of soil enzymes (catalase, dehydrogenases, phosphatase, invertase) and the yield of spring barley are presented. The object of the study was Haplic Chernozem Loamic. The study was carried out by sowing spring barley and its further treatment with a biological product in various doses: recommended (RD – 0.00001 ml/l), tenfold (RD * 10 – 0.0001 ml/l) and hundredfold (RD * 100 – 0.001 ml/l). As a result of the study, an increase in the activity of phosphatase and dehydrogenases was noted, a fungicidal effect of the biological product on the studied soil was revealed, as well as an increase in fertility when the recommended dose was applied, as well as an increase in the productivity of spring barley when making the recommended dose.*

Keywords: microbiological preparations, spring barley, enzymatic activity, chernozem, fungal action.

УДК: 631.461:631.582

DOI: 10.25680/S19948603.2023.134.22

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕМЕНТОВ БИОЛОГИЗАЦИИ НА СТРУКТУРУ МИКРОБНОГО ЦЕНОЗА ПОЧВЫ В РАЗЛИЧНЫХ СЕВООБОРОТАХ

В.И. Турусов, ак. РАН, Е.Я. Коновалова,
ФГБНУ «Воронежский ФАНЦ им. В.В. Докучаева»
397463, пос. 2-го участка Института им. Докучаева, квартал 5, д.81, Таловский р-н,
Воронежская обл., Россия, E-mail: niish1c@mail.ru

В условиях юго-востока ЦЧЗ проведены исследования по изучению численности и состава микробиологического сообщества почвы в ризосфере озимой пшеницы с применением элементов биологизации в различных севооборотах. Результаты исследований показали, что введение в структуру севооборотов многолетних бобовых трав разного вида пользования в роли предшественников и бинарного посева, способствовало повышению общей численности