

УДК 579.8, 633.17

DOI: 10.18522/2308-9709-2024-49-1

Ускорение разложения соломы зерновых культур в черноземе с помощью эффективных штаммов микроорганизмов

Черепухина И.В.^{1,2}, Колесникова М.В.³, Безлер Н.В.¹

¹ *Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова, Воронежская область, Рамонский район, п. ВНИИСС, Россия;*

irenius@list.ru

² *Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия*

³ *Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Воронежская область, Рамонский район, п. ВНИИСС, Россия*

Аннотация. В результате проведенных лабораторных и полевых исследований было установлено, что при совместном внесении соломы, целлюлозолитического микромицета и diaзотрофов в почве происходит переформирование микробного сообщества, наибольшую активность получают группы, участвующие в процессах активного разложения соломистого субстрата и в накоплении элементов питания для растений. Использование эффективных штаммов *Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016 совместно с *Azotobacter chroococcum* способно заменить 40 кг действующего вещества азотных удобрений и увеличить скорость разложения соломы зерновых культур на черноземе выщелоченном в условиях зернопаропропашного севооборота. Был выявлен наиболее эффективный штамм diaзотрофа, который при заправке в соломы почву совместно с

целлюлозолитическим микромицетом, способствует увеличению урожайности сахарной свёклы на 12,5% относительно контроля.

Ключевые слова: солома зерновых культур; целлюлозолитический микромицет; diaзотрофы; разложение соломы; микробное сообщество; урожайность.

Acceleration of decomposition of grain straw in chernozem with the help of effective strains of microorganisms

Cherepukhina I.V.^{1,2}, Kolesnikova M.V.³, Bezler N.V.¹

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Sugar Beet and Sugar named after A.L. Mazlumov, Voronezh region, Ramonsky district, VNIISS, Russia;

irenius@list.ru

² Voronezh State University, Voronezh, Russia

³ All-Russian Scientific Research Institute of Plant Protection, Voronezh region, Ramonsky district, VNIISS, Russia

Abstract. As a result of laboratory and field studies, it was found that with the joint introduction of straw, cellulolytic micromycetes and diazotrophs in the soil, the microbial community is reformed, the groups involved in the processes of active decomposition of the straw substrate and in the accumulation of nutrients for plants receive the greatest activity. The use of effective strains of *Humicola fuscoatra* in conjunction with *Azotobacter chroococcum* is able to replace 40 kg of the active substance of nitrogen fertilizers and increase the rate of decomposition of grain straw on leached chernozem under conditions of grain crop rotation. The most effective strain of diazotropha was identified, which, when plowed into straw soil together with a cellulolytic micromycete, contributes to an increase in sugar beet yield by 12.5% relative to the control.

Введение. Для пополнения органического вещества почвы активно разрабатываются и внедряются в практику альтернативные методы утилизации пожнивных остатков, предполагающие более полное их вовлечение в биологический круговорот с применением современных комплексных микробиологических препаратов. Эти препараты позволяют ускорить процесс деструкции и гумификации разнообразных органических, в том числе пожнивных остатков. Применение микробиологических препаратов в комплексе с современной агротехникой позволит реализовать почвенно-климатический потенциал агроландшафта на 60-80% (вместо существующих 20–30 %), а также биологический потенциал сельскохозяйственных растений, который на сегодняшний день используется недостаточно эффективно (Годунов, 1981; Русакова, 2015; Храмцов, 1998; Лазарев, 2000).

Во Всероссийском научно-исследовательском институте сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова в лаборатории эколого-микробиологических исследований почвы из чернозема выщелоченного выделен штамм целлюлозолитического микромицета (*Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016), обладающего высокой активностью. Лабораторные и полевые исследования показали, что его использование приводит к ускорению разложения соломы на 50 % (Безлер, 2009).

Однако для его жизнедеятельности необходимо дополнительное внесение азота. Азотобактер является свободноживущей азотфиксирующей бактерией, которая используется в качестве биоудобрения при выращивании большинства культур. Он вызывает большой интерес у ученых, которые работают над поддержанием высокого уровня эффективного плодородия почвы. Полевые испытания показали, что при определенных условиях окружающей среды инокуляция азотобактером оказывает благоприятное

воздействие на урожайность растений из-за увеличения фиксированного содержания азота в почве и микробной секреции стимулирующих гормонов, таких как гиббереллины, ауксины и цитокинины. *Azotobacter* sp. имеет очень высокую интенсивность дыхания, и его способность фиксировать N_2 в экстремальных условиях является объектом исследований в течение многих лет (Aquilanti, 2004; Rajeswari, 2009). Поэтому, чтобы привнести дополнительный азот для использования его целлюлозолитическими микроорганизмами можно использовать не минеральные удобрения, а свободноживущих diaзотрофов.

Цель исследований – изучить возможность совместного использования эффективных штаммов целлюлозолитического микромицета (*Humicola fuscoatra*) и свободноживущего diaзотрофа (*Azotobacter chroococcum*) для ускорения разложения соломы зерновых культур.

Материалы и методы исследования. В 2010 г. на опытном поле ВНИИСС был заложен многолетний стационарный полевой опыт с запашкой соломы озимой пшеницы и ячменя в зернопаропропашном севообороте с чередованием культур: пар–озимая пшеница–сахарная свекла–ячмень. Почва опытного участка – чернозем выщелоченный тяжелосуглинистый малогумусный на покровных лессовидных суглинках.

Общая площадь полевого опыта составила 1209,6 м², площадь делянки – 75.6 м². Повторность опыта четырехкратная. Доза внесения соломы – 4–5 т/га (при запашке соломы после уборки зерновых культур из расчета их средней урожайности). Дополнительные компоненты (целлюлозолитический микромицет, минеральное удобрение и питательную добавку) вносили вручную непосредственно перед вспашкой. В качестве удобрения, содержащего азот, была использована АФК из расчета 40 кг д.в./га. В качестве питательной добавки (ПД) применяли патоку, которая была использована при разведении 1 : 1000. Расход рабочей жидкости – 200 л/га.

Целлюлозолитический микромицет вносили на делянки в виде инокулюма (344 тыс. КОЕ/м²), предварительное компостирование проводили согласно методу инфицирования почвы (Колесникова, 2014).

Схема опыта, варианты: 1 – контроль (без внесения соломы), 2 – солома озимой пшеницы и ячменя (в соответствии с севооборотом), 3 – солома + минеральное удобрение (солома + N), 4 – солома + минеральное удобрение + *Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016 + патока (солома + N + *H. fuscoatra* + ПД).

Почвенные образцы отбирали в посевах сахарной свеклы в мае, июле, сентябре с глубины 0–15 см. В них был проведен учет численности свободноживущих diaзотрофов методом обрастания почвенных комочков на родоспецифичной для *Azotobacter sp.* агаризованной среде Эшби с маннитом, повторность опыта четырехкратная.

Наиболее активные штаммы, которые проявляли более высокую скорость роста и увеличения биомассы, были отобраны для поддержания в коллекции чистых культур.

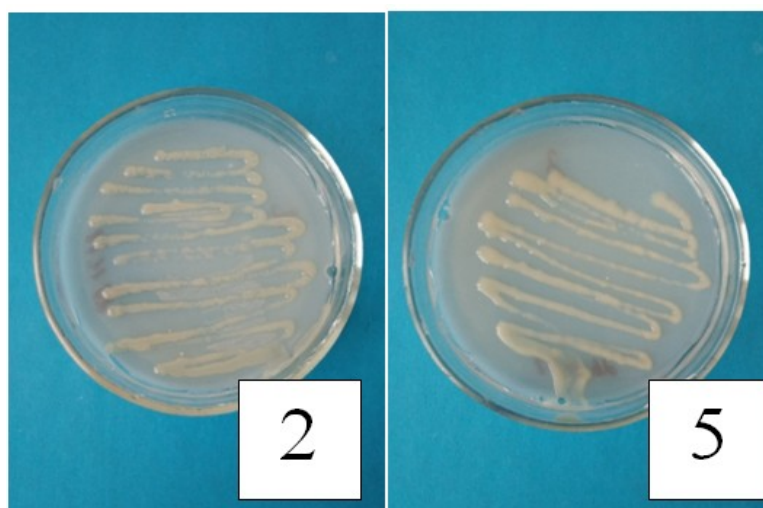


Рис. 1. – Рост чистой культуры через 2 недели

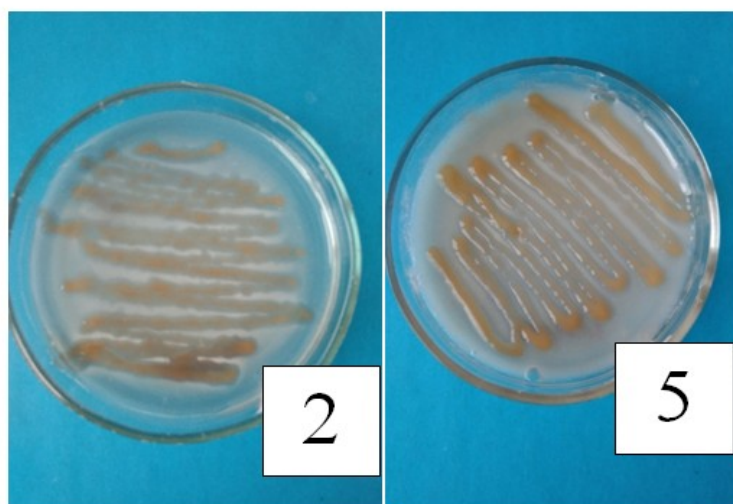


Рис. 2. – Рост чистой культуры через 10 недель

Для выявления степени совместного влияния штаммов *H. fuscoatra* и *A. chroococcum* на скорость разложения соломы в лабораторных условиях проводили опыт по изучению динамики убыли ее массы. Эксперименты осуществляли в трехкратной повторности в моделируемых условиях, приближенных к полевым. Схема опыта: 1 – Солома; 2 – Солома+N; 3 – Солома+N+*H. fuscoatra*, 4 – Солома+*A. chroococcum*, 5 – Солома+*A. chroococcum*, 6 – Солома+*H. fuscoatra*+*A. chroococcum*, 7 – Солома+*H. fuscoatra*+*A. chroococcum*. Остатки соломы измельчали, помещали в чашки Петри по 4 г соломы, а также (согласно схеме опыта) азотное удобрение и штаммы микроорганизмов, затем увлажняли её до 60% ППВ и оставляли в термостате на 2 месяца.

В образцах соломы после инкубации определяли содержание азота (Практикум по агрохимии, 2001).

В почвенных образцах проводили учет численности различных групп микроорганизмов методом высева почвенной суспензии разной степени разведения на селективные питательные среды: автохтонную группу микроорганизмов определяли на нитритном агаре (НА), количество

микробиоты – на подкисленной среде Чапека (Звягинцев, 1992; Теппер, 2004).

Сахарную свеклу убирали поделяночно вручную с последующим подсчетом и взвешиванием корнеплодов, их сахаристость определяли на автоматической линии VENEMA (Методика исследований по сахарной свекле, 2001).

Обработку полученных данных проводили методом дисперсионного анализа и с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение. Количество бактерий рода *Azotobacter* в почве невелико по сравнению с другими видами. Поэтому их численность определяют методом оброста комочков почвы.

Результаты исследований показали, что доля комочков, на которых были идентифицированы бактерии *Azotobacter chroococcum*, составляла 29–30% и не менялась с глубиной. При внесении соломы их количество практически не изменилось и в среднем за вегетационный период составляло – 28–30% (рис. 3).

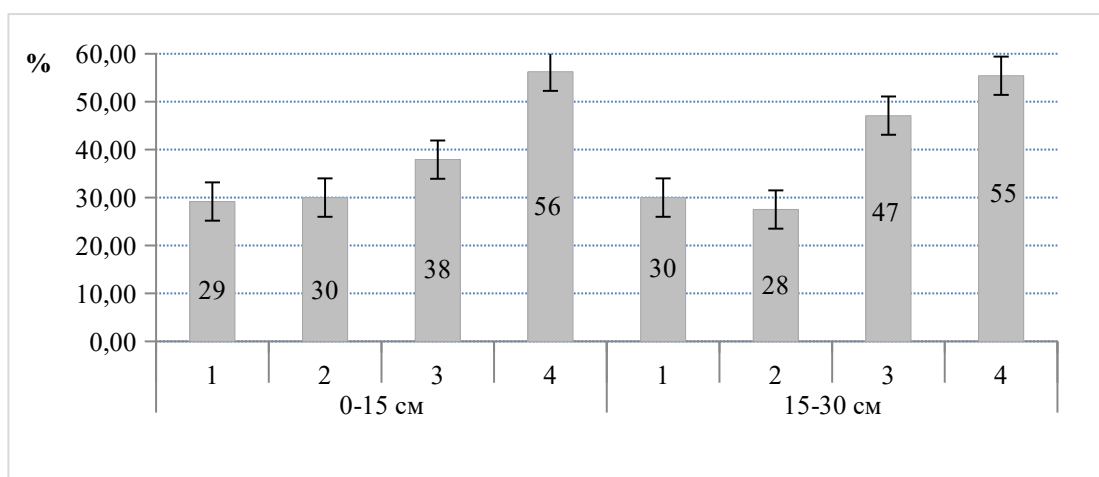


Рис. 3 – Численность *Azotobacter chroococcum* в почве: Обозначения: 1 – Контроль, 2 – Солома, 3 – Солома+N, 4 – Солома+N+ *Humicola fuscoatra*+ПК

Использование дополнительного азота при заправке соломы способствовало увеличению содержания в почве *A. chroococcum*, и доля комочков почвы с этими бактериями составила 38–47%. Максимальное обрастание числа комочков отмечено при использовании соломы с целлюлозолитическим микромицетом (*Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016). В среднем за вегетационный период в слое 0–15 см оно увеличилось до 56%, в слое 15–30 см – до 55%.

В дальнейшем в лабораторных условиях был заложен опыт по изучению ускорения разложения соломы озимой пшеницы при использовании *Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016 и штаммов 2 и 5 *Azotobacter chroococcum* вместо азота. Установлено, что добавление к соломе только активных штаммов diaзотрофов не способствовало увеличению скорости разложения соломы и даже несколько затягивало этот процесс. Однако совместное использование diaзотрофов с целлюлозолитическим микромицетом активировало его без дополнительного использования минерального азота.

При этом наибольшей активностью обладал штамм 5 *A. chroococcum*. Степень разложения соломы через 2 месяца эксперимента составила 87,5%, что практически соответствует внесению 40 кг д.в. (88,7) совместно с *H. fuscoatra* (рис. 2). Близкие значения были выявлены при использовании целлюлозолитического микромицета с азотным удобрением и питательной добавкой, за два месяца солома озимой пшеницы разложилась на 88,7%.

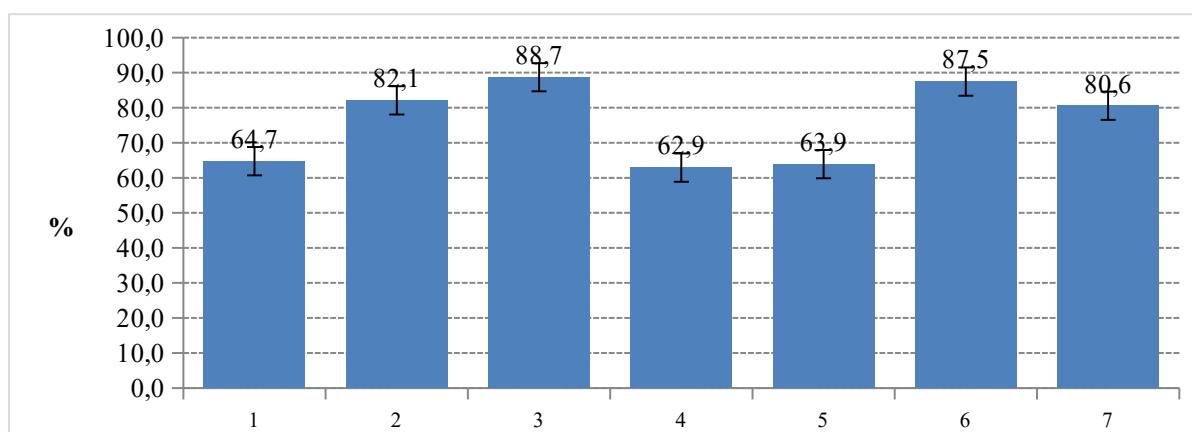


Рис. 4 – Степень разложения соломы через 2 месяца эксперимента, %

Обозначения: 1 – Солома, 2 – Солома+N, 3 – Солома+N+*H.fuscoatra*, 4 – Солома+*A.chroococcum* 2, 5 – Солома+*A.chroococcum* 5, 6 – Солома+*H.fuscoatra*+*A.chroococcum* 2, 7 – Солома+*H.fuscoatra*+*A.chroococcum* 5

В полученном после разложения субстрате определяли содержание общего азота методом мокрого сжигания. Установлено, что меньше всего азота накопилось в вариантах с использованием соломы и *A.chroococcum* штаммы 2 и 5 (рис. 3).

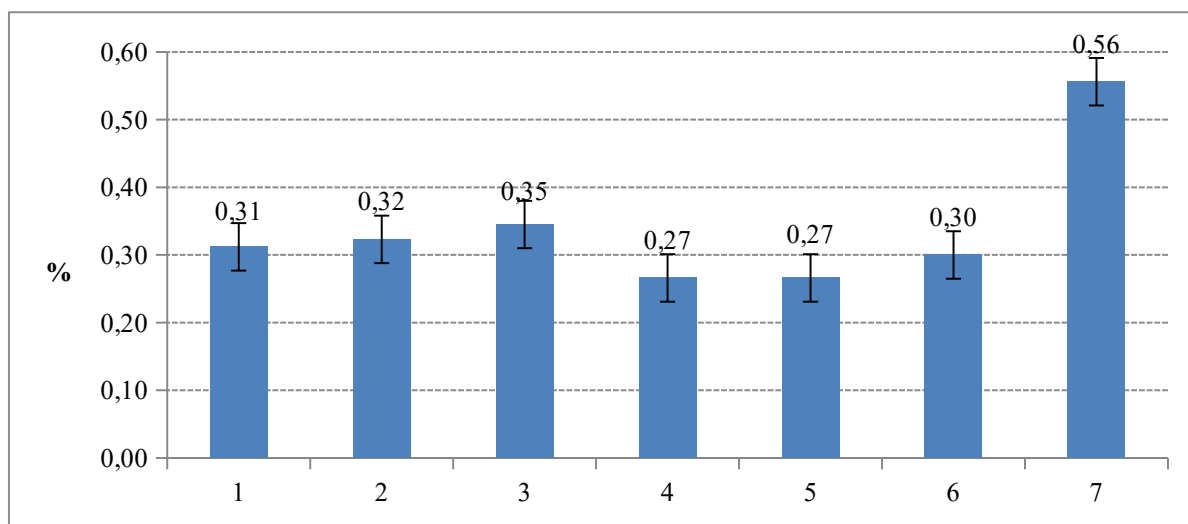


Рис. 5 – Содержание азота в разложившейся соломе, %

Обозначения: 1 – Солома, 2 – Солома+N, 3 – Солома+N+*H.fuscoatra*, 4 – Солома+*A.chroococcum* 2, 5 – Солома+*A.chroococcum* 5, 6 – Солома+*H.fuscoatra*+*A.chroococcum* 2, 7 – Солома+*H.fuscoatra*+*A.chroococcum* 5

Однако использование диазотрофа, штамм 5 совместно с *H.fuscoatra* способствует росту содержания азота в 1,8 раза относительно контроля, в 1,7 раза относительно использования одной соломы и в 1,6 раза – соломы с азотным удобрением.

Полученные в лабораторном опыте результаты позволили предположить возможность применения аборигенных штаммов *A.chroococcum* в полевых условиях. С этой целью с осени был заложен полевой мелкоделяночный опыт. В нём проводили изучение микробного сообщества почвы методом высева почвенной суспензии на элективные питательные среды. Было установлено, что совместная заправка соломы с эффективными штаммами микроорганизмов активизирует жизнедеятельность различных представителей почвенной микрофлоры, что согласуется с ранее проведенными исследованиями по изучению биопрепаратов (Наими и др., 2018).

Автохтонная группа микроорганизмов, которая участвует в разложении гумусовых веществ, развивалась лучше в середине вегетационного периода, чем в начале. В мае меньше всего этих микроорганизмов было обнаружено при внесении соломы со штаммом *Azotobacter chroococcum* под номером 2 (9,93 млн. КОЕ в 1 г а.с.п.), в июле – при внесении соломы, целлюлозолитического микромицета и диазотрофа штамм 5–2,48 млн. КОЕ. Наибольшая численность автохтонной группы микроорганизмов была в июле при внесении в почву соломы только с азотным удобрением – 67,6 млн. КОЕ в 1 г а.с.п.

Численность микромицетов при заправке соломы только с *Azotobacter chroococcum* штамм 2 была на уровне контроля, при внесении штамма 5 увеличилась до 51,5 тыс. КОЕ. Использование соломы с целлюлозолитическим микромицетом и диазотрофом способствовало

установлению численности микромицетов на уровне с контролем, что может свидетельствовать об отсутствии негативного воздействия продуктов разложения соломы, так как среди микромицетов достаточно много фитотоксичных видов.

В конце вегетации сахарной свёклы учитывали её урожайность. Результаты исследований показали, что при внесении в почву соломы с *Azotobacter* штамм 2 урожайность составила 26,7 т/га (в контроле – 25,1), использование штамма 5 повысило урожайность до 28,4 т/га, почти на уровне достоверности. Совместное применение целлюлозолитического микромицета с diaзотрофом (штамм 2) не повлияло на продуктивность сахарной свёклы, в сравнении с применением с одним diaзотрофом, в то время как со штаммом 5 наоборот наблюдалось устойчивая тенденция к росту урожайности, которая составила 28,7 т/га (табл. 1).

Таблица 1 – Урожайность и сахаристость сахарной свёклы при запарке соломы совместно с *H.fuscoatra* и *A.chroococcum*

Вариант	Урожайность, т/га	Сахаристость, %	Сбор сахара, т/га
Контроль	25,1	17,1	4,3
Солома+ <i>A.chroococcum</i> 2	26,7	17,1	4,6
Солома+ <i>A.chroococcum</i> 5	28,4	17,2	4,9
Солома+N+ <i>H.fuscoatra</i> +ПК+ <i>A.chroococcum</i> 2	26,5	17,1	4,5
Солома+N+ <i>H.fuscoatra</i> +ПК+ <i>A.chroococcum</i> 5	28,7	17,1	4,9
<i>HCP</i> ₀₅	2,8		-

Сахаристость корнеплодов при внесении соломы, независимо от добавления штаммов эффективных микроорганизмов, составляла 17,1-17,2%, что было на уровне контроля.

Сбор сахара на контроле составил 4,3 т/га, при внесении штамма 2 как отдельно, так и вместе с целлюлозолитическим микроорганизмом несколько

увеличило этот показатель: до 4,6 и 4,5 т/га соответственно. Наибольший сбор сахара был получен при заправке соломы с diazotroфом штамм 5 и совместном использовании *H.fuscoatra* и *A.chroococcum* 5–4,9 т/га.

Заключение. Таким образом, можно предположить, что использование целлюлозолитического микромицета (*H.fuscoatra*) совместно с diazotroфом (*A.chroococcum*) способствует ускорению разложения соломы и способно заменить 40 кг действующего вещества азота. Выделенные штаммы данного вида diazotрофов могут быть в дальнейшем использованы для создания биопрепарата с набором микроорганизмов для чернозема выщелоченного ЦЧР, чтобы исключить внесение минеральных удобрений и перейти к биологизированному земледелию.

Список литературы

Безлер Н.В. Использование соломы озимой пшеницы в качестве удобрения / Н. В. Безлер, М. В. Колесникова // Сахарная свекла. – 2009. – №7. – С. 20–26.

Годунов И.Б. Использование соломы в качестве удобрения / И.Б. Годунов, А.Д. Дубовик, Т.П. Мотузок. Воронеж, 1981. – 18 с.

Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Д.Г. Звягинцев. М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1992. – 304 с.

Колесникова М.В. Формирование плодородия чернозема выщелоченного при интродукции аборигенного штамма целлюлозолитического микромицета и дополнительных компонентов при заправке соломы озимой пшеницы / М.В. Колесникова, Н.В.Безлер, Б.Л. Агапов // Агрохимия, 2014. – № 8. – С. 17–25.

Лазарев А.П. Влияние соломы в качестве удобрения на свойства, биологическую активность и эффективное плодородие чернозема / А.П. Лазарев, Ю.И. Абрашин // Почвоведение. – 2000. – №10. – С.1266–1271.

Методика исследований по сахарной свекле. Киев: ВНИС, 1986. 292 с.

Наими О.И. Воспроизводство плодородия чернозема обыкновенного карбонатного при внесении соломы и гуминовых препаратов / О.И. Наими, О. С. Безуглова, Е. А. Полиенко, О. Ю. Куцерубова // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32, № 8. – С. 11–16.

Практикум по агрохимии: Учеб. пособие. - 2-е изд., перераб. и доп./Под ред. академика РАСХН В.Г.Минеева. М.: Изд-во МГУ, 2001. – 689 с.

Русакова И.В. Изучение эффективности инокуляции соломы ячменя микробиологическими препаратами / И.В. Русакова, В.В. Московкин // Международный Научно-исследовательский журнал, 2015. Выпуск: №6 (37) часть 2. – С. 58–61.

Теппер Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. М.: Дрофа, 2004. – 255 с.

Храмцов И.Ф. Влияние минеральных удобрений, соломы и средств защиты растений на плодородие чернозёма выщелоченного и продуктивность культур зернопарового севооборота / И.В. Храмцов, Е.В. Безвизонный // Агрохимия, 1998. – №5. – С. 31–37.

Aquilanti L. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples / L. Aquilanti, F. Favillib, F. Clementia // Soil Biology & Biochemistry, 2004.- Vol. 36.- 1475–1483.

Rajeswari K. Molecular characterization of *Azotobacter* spp. *nifH* gene Isolated from marine source / K. Rajeswari, G.M. Kasthuri // African Journal of Biotechnology, 2009. – Vol.8 (24). – P. 6850-6855.

References

Bezler N.V. The use of winter wheat straw as fertilizer / N. V. Bezler, M. V. Kolesnikova // Sugar beet. – 2009. – No.7. – pp.20-26.

Godunov I.B. The use of straw as fertilizer / I.B. Godunov, A.D. Dubovik, T.P. Motuzok. Voronezh, 1981. – 18 p.

Zvyagintsev D.G. Methods of soil microbiology and biochemistry / D.G. Zvyagintsev. M.: Publishing House of Moscow. Unita, 1992. – 304 p.

Kolesnikova M.V. Formation of fertility of leached chernozem during the introduction of an indigenous strain of cellulolytic micromycete and additional components during plowing of winter wheat straw / M.V. Kolesnikova, N.V.Bezler, B.L. Agapov // Agrochemistry, 2014. – No. 8. – pp. 17-25.

Lazarev A.P. The effect of straw as a fertilizer on the properties, biological activity and effective fertility of chernozem / A.P. Lazarev, Yu.I. Abrashin // Soil science. – 2000. – No.10. – pp.1266-1271.

The methodology of research on sugar beet. Kiev: VNIS, 1986. 292 p.

Naimi O.I. Reproduction of the fertility of ordinary carbonate chernozem with the addition of straw and humic preparations / O.I. Naimi, O. S. Bezuglova, E. A. Polienko, O. Yu. Kutserubova // Achievements of science and technology of agro-industrial complex. – 2018. – T. 32, No. 8. – P. 11-16.

Workshop on agrochemistry: Textbook. - 2nd ed., reprint. and add./Ed. academician of RASKHN V.G.Mineeva. M.: Publishing House of Moscow State University, 2001.-689 p.

Rusakova I.V. Studying the effectiveness of inoculation of barley straw with microbiological preparations / I.V. Rusakova, V.V. Moskovkin // International Scientific Research Journal, 2015. – Issue: No.6 (37) part 2. – pp. 58-61

Tepper E.Z. Practicum on microbiology / E.Z. Tepper, V.K. Shilnikova, G.I. Pereverzeva. M.: Bustard, 2004. – 255 p.

Khramtsov I.F. The influence of mineral fertilizers, straw and plant protection products on the fertility of leached chernozem and the productivity of crops of grain-steam crop rotation / I.V. Khramtsov, E.V. Bezikonny // *Agrochemistry*, 1998. – No.5. – pp. 31-37.

Aquilanti L. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples / L. Aquilanti, F. Favilli, F. Clementia // *Soil Biology & Biochemistry*, 2004.- Vol. 36.- 1475–1483.

Rajeswari K. Molecular characterization of *Azotobacter* spp. nifH gene Isolated from marine source / K. Rajeswari, G.M. Kasthuri // *African Journal of Biotechnology*, 2009. – Vol.8 (24). – P. 6850-6855.

Статья поступила в редакцию 15 августа 2024 г.

Поступила после доработки 26 августа 2024 г.

Принята к печати 2 сентября 2024 г.

Received 15, August, 2024

Revised 26, August, 2024

Accepted 2, September, 2024