

УДК579.64:631.461:633.11[631.879.1+631.831

UDC579.64:631.461:633.11[631.879.1+631.831

**ВЛИЯНИЕ ОТХОДОВ ЭЛЕВАТОРОВ И
ЗОЛЫ ОТ ИХ СЖИГАНИЯ НА
МИКРОФЛОРУ РИЗОСФЕРЫ, РИЗОПЛАНЫ
И ФИЛЛОПЛАНЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ**

**IMPACT OF WASTE OF ELEVATORS AND
ASH FROM THEIR BURNING ON THE
MICROFLORA OF THE RHIZOSPHERE,
RHIZOPLANE AND PHYLLOPLANE OF
WINTER WHEAT**

Коростелёва Любовь Андреевна
к.б.н., доцент

Korosteleva Lubov Andreevna
Cand.Biol.Sci., assistant professor

Третьякова Ольга Ивановна
к.б.н., доцент

Tretjakova Olga Ivanovna
Cand.Biol.Sci., assistant professor

Доценко Сергей Павлович
д.х.н., доцент

Dotsenko Sergey Pavlovich
Dr.Sci.Chem., associate professor

Исаева Татьяна Андреевна
студентка факультета перерабатывающих
технологий, группа 1101
*Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Isaeva Tatyana Andreevna
student of the Department of Processing
technologies, group #1101
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

Статья посвящена изучению влияния отходов
элеваторов и золы от их сжигания на микрофлору
ризопланы, ризосферы и филлопланы озимой
пшеницы при выращивании на чернозёме
выщелоченном

The article studies the impact of waste and ash from
the elevators of their burning on the microflora of
rhizoplane, rhizosphere and phylloplane of winter
wheat grown on leached black soil

Ключевые слова: ОТХОДЫ ЭЛЕВАТОРОВ,
ЗОЛА, МИКРОФЛОРА, РИЗОПЛАНА,
РИЗОСФЕРА, ФИЛЛОПЛАНА, ОЗИМАЯ
ПШЕНИЦА

Keywords: WASTE ELEVATORS, ASH,
MICROFLORA, RIZOPLANE, RHIZOSPHERE,
PHYLLOPLANE, WINTER WHEAT

Возможность применения почвогрунта, приготовленного из отходов элеваторов, при выращивании озимой пшеницы показана в ряде работ [1,2]. Их внесение в почву способно улучшить питание растений, повысить их продуктивность и, возможно, изменить условия существования почвенных микроорганизмов, которые также нуждаются в элементах питания. В настоящее время исследованию изменений качественного и количественного состава почвенной микрофлоры при применении различных агрохимических и агротехнических приёмов уделяется значительное внимание [3,4, 5].

Поэтому целью нашей работы стало изучение влияния внесения в почву отходов элеваторов и золы от их сжигания на микрофлору при возделывании озимой пшеницы. Задачами исследований явилось изучение

качественного и количественного состава микрофлоры ризопланы и ризосферы, а также филлопланы озимой пшеницы.

Плодородие почвы тесно связано с жизнедеятельностью микроорганизмов, обуславливающей многие биохимические процессы. С одной стороны, это процессы, определяющие биологическую активность почвы (минерализация, выделение аминокислот, углекислого газа, ферментов, витаминов и других физиологически активных веществ), с другой – её биологическую токсичность (накопление ядовитых продуктов жизнедеятельности микроорганизмов) [6].

Обогащение почвы разнообразными органическими веществами растительного происхождения позволяет направленно воздействовать на биохимическую трансформацию в севооборотах, включающую недостаточно изученные процессы гумификации. Использование тех или иных агроприёмов на фоне природных факторов отражается на биодинамике всех почвенных процессов, отвечающих за формирование плодородия почвы. Результаты многих исследований убеждают в необходимости включения в систему агроэкологического мониторинга изучение состояния микробиоценозов почв как важного фактора сохранения и повышения плодородия почв [7].

Развитие растений пшеницы на ранних стадиях онтогенеза существенно зависит от состава и функционального состояния микрофлоры почвы. Сами растения часто играют роль эдификаторов, формирующих функциональные единицы-консорции, представленные различными сообществами микроорганизмов [8,9]. В связи с этим в наших исследованиях были изучены микробные комплексы ризосферы и ризопланы растений озимой пшеницы в зависимости от добавки к почве различных доз отходов элеватора и зола, состав которых описан ранее [1,2]. Выращивание растений в почвенной культуре проводили в согласии

с известными методиками [10,11]. Почву помещали в растительни, в которые засекали семена пшеницы, исследованию подвергали 7-дневные проростки пшеницы. Исследования микрофлоры ризосферы проводили после удаления прикорневой почвы с корней растений, кратных разведений её в стерильной воде и посева на плотные питательные среды (МПА, КАА, КМЦ, агар Чапека и Эшби).

Для оценки качественного состава микрофлоры ризопланы растений использовали метод аппликации отмытых корней на плотные питательные среды [12], (рис.1А). С целью изучения состава микроорганизмов филлопланы листья проростков пшеницы или их фрагменты накладывались на плотные питательные среды того же состава (метод аппликации) стерильным пинцетом (рис.1Б).

С целью уточнения состава бактериального или грибного комплекса ризосферы и ризопланы растений пшеницы применяли селективное ингибирование развития быстро растущих бактерий, добавляя в среды антибиотик ампициллин, а для ингибирования роста микромицетов - нистатин соответственно. Концентрация антибиотиков составляла 150-200мг/л расплавленной питательной среды.

Учет результатов посева проводили на 2- 5 дни исследования, отмечая культуральные признаки выросших колоний, а также морфологические и физиолого-биохимические признаки микроорганизмов [13,14]. Отбор материала для исследования проводили в период вегетации растений на 7, 15 и 30 сутки. Культивирование засеянных чашек Петри проводили в течение 30 суток с целью наблюдения изменения состава микрофлоры в ходе сукцессии, индуцированной накоплением продуктов метаболизма микробов, изменением влажности среды.

Известно, что на ранних стадиях развития корневой системы многих растений в составе микрофлоры ризопланы доминируют грамотрицательные формы бактерий, как правило, подвижные, с высокой скоростью размножения, часто психрофильные, обладающие антагонистической активностью по отношению к фитопатогенным формам [15]. Колонии бактерий – представителей родов *Pseudomonas*, *Azospirillum* были обнаружены на 2-й день культивирования вдоль корней на МПА при ингибировании развития микромицетов (рис.2,3). При этом в вариантах с внесением золы доминировали пигментированные штаммы этих бактерий.

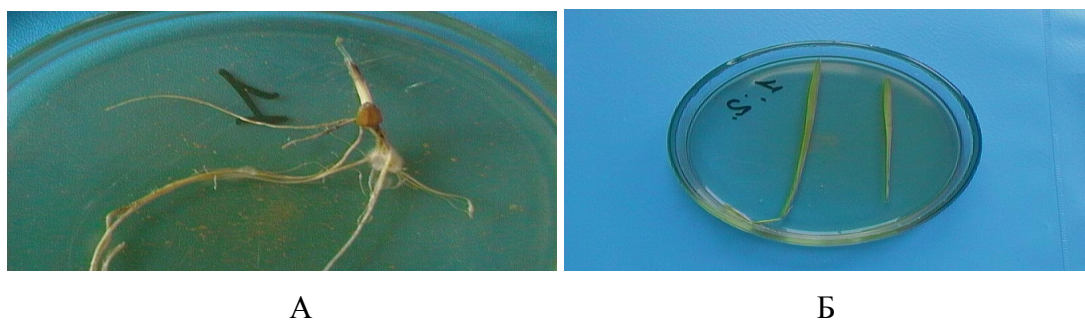


Рис.1. Аппликация корней проростков озимой пшеницы (А) и листьев (Б) на питательный агар .(7-дневные проростки).

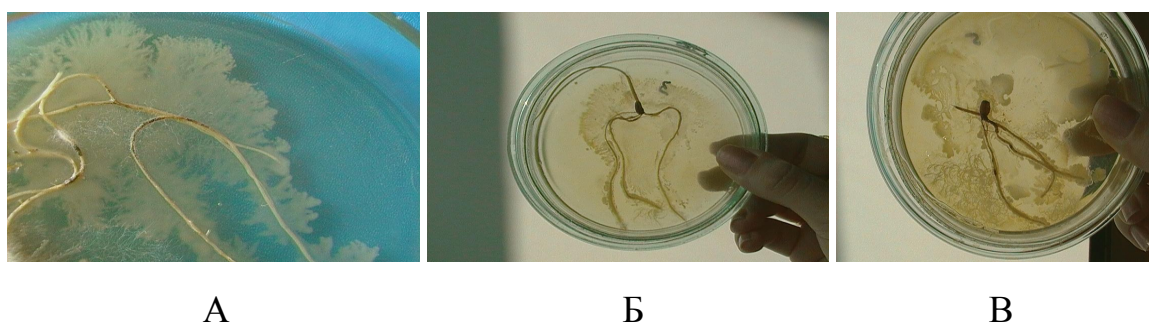


Рис.2. Микрофлора ризопланы проростков пшеницы на агаре с внесением нистатина. А- контроль, Б - 30т/га отходов элеватора, В - 50т/га отходов элеватора.

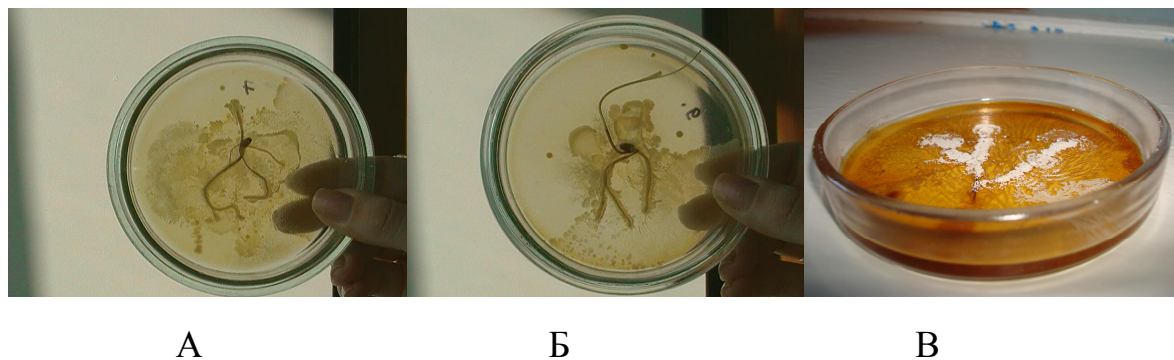


Рис.3. Микрофлора ризопланы пшеницы на агаре с внесением нистатина. А- внесение 500кг/га золы, Б –1000кг/га золы, В – контроль через 30 дней культивирования.

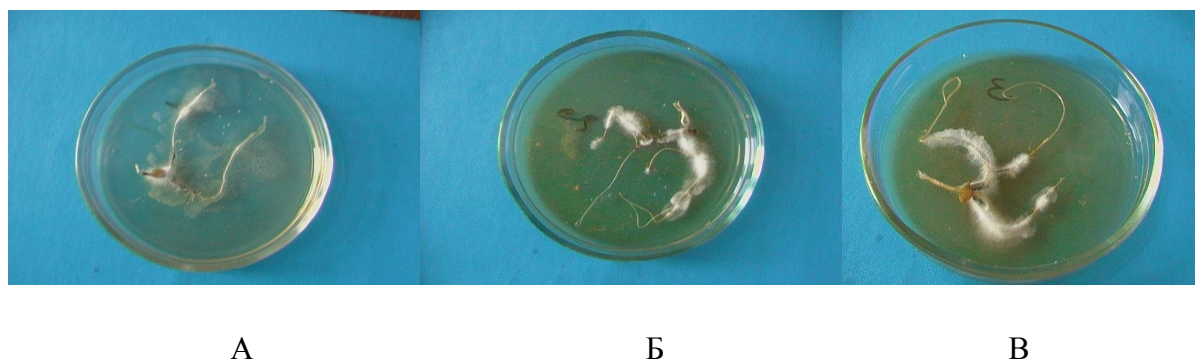


Рис.4. Микрофлора ризопланы пшеницы на агаре с внесением ампициллина. А – контроль, Б -30т/га отходов элеватора, В - 50т/га отходов элеватора.

Среди микромицетов в этот период могут доминировать сапротрофные формы мукоровых грибов, пенициллов и факультативные паразиты, например, микромицеты рода *Fusarium*. Именно представители последнего рода грибов первыми были выявлены в ризоплане проростков пшеницы (рис.4).

Существенных различий по качественному составу микромицетов по вариантам опыта не обнаружено, однако в ходе сукцессии структура комплекса микромицетов ризопланы и ризосферы претерпевает изменения, так же, как и структура бактериального комплекса. Об этом

свидетельствует доминирование актиномицетов в ризоплане при длительном культивировании чашек на средах с добавлением нистатина (рис.3 В). Актиномицетная группа микроорганизмов развивается активно на поздних стадиях микробной сукцессии и играет большую роль в почвообразовании [6].

Микрофлора листьев растений (филлопланы) представлена колониями пигментированных палочковидных бактерий, кокков и бесцветных бацилл (рис. 5). Последние не относят к типичным эпифитам.. Исследование указанных популяций микроорганизмов были продолжены в направлении их идентификации и исследования агрономически полезных свойств. Выделенные чистые культуры из пигментированных колоний были идентифицированы как *Pseudomonas putida*, *Erwinia amylovora* и *Sarcina* sp. [15].

Внесение органических и минеральных удобрений не вызвало изменений в составе микрофлоры наземных органов растений пшеницы. Следует отметить то, что, как и в ризоплане проростков, первыми заселяют поверхность растений псевдомонады, конкурентоспособность которых обусловлена их психрофильностью, ксерофильностью, олиготрофностью, высокой скоростью размножения, подвижностью и пигментообразованием, что важно для колонизации филлопланы.

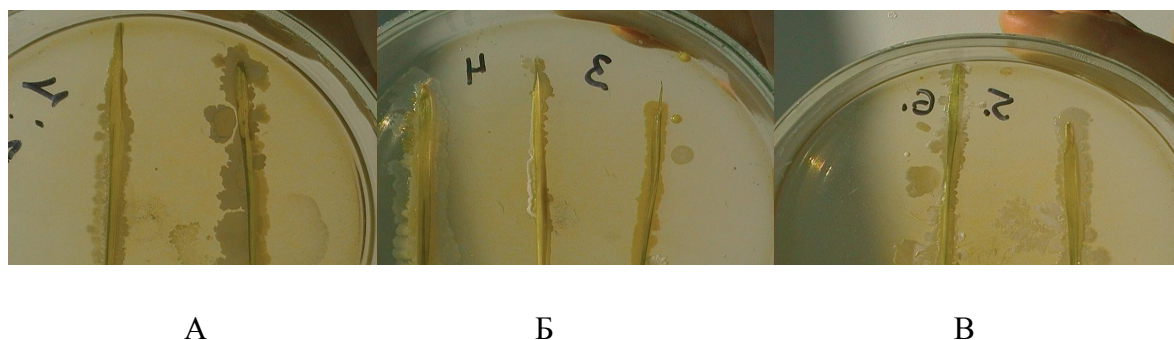


Рис.5. Микрофлора филлопланы пшеницы. А - контроль, Б - 30т/га отходов элеватора, В - 50т/га отходов элеватора.

Поиск естественных антагонистов фитопатогенов предполагает и оценку их чувствительности к известным антибиотикам. Несколько штаммов бактерий-обитателей ризопланы проявили высокую резистентность к ряду антибиотиков и сами обладали антагонистическими свойствами по отношению к другим штаммам. Чувствительность выделенных микроорганизмов к антибиотикам исследовали методом индикаторных дисков. В опыте использовали антибиотики ампициллин, стрептомицин, эритромицин, неомицин, левомицетин, нистатин, гентамицин (рис.6). При этом существенная задержка роста бактерий была вызвана только левомицетином и гентамицином. Высокая резистентность к антибиотикам обитателей поверхности корней молодых растений может свидетельствовать о конкурентоспособности этих популяций, а значит, позволяет рассматривать эти микроорганизмы как исходный материал для поиска антагонистов фитопатогенов.



Рис.6.Определение чувствительности бактерий ризопланы (*Pseudomonas* sp.) к антибиотикам

Результаты оценки численности разных эколого-трофических групп микрофлоры ризосферы представлены в таблице 1. Анализ этих результатов свидетельствует о том, что плотность аммонифицирующих <http://ej.kubagro.ru/2013/03/pdf/40.pdf>

микроорганизмов (использующих органические формы азота) в ризосфере растений пшеницы при внесении в почву органических и минеральных удобрений в форме отходов элеваторов достоверно увеличивается. Исключение составляет вариант с внесением 50т/га отходов элеватора, где плотность этих организмов сохраняется на уровне контроля.

Доминирующие популяции аммонификаторов представлены бактериями родов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* и других. На этом же опытном варианте (50 т отходов на 1 га) отмечено минимальное количество амилолитических микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, однако численность окислителей клетчатки здесь достоверно выше, чем в контроле и варианте внесения 500кг/га золы.

Таблица 1 - Численность эколого-трофических групп микроорганизмов ризосферы проростков озимой пшеницы (млн КОЕ/г почвы) и их соотношение (7-дневные проростки)

Вариант	Аммонифицирующие, млн КОЕ	Амилолитические	Целлюлозолитические	Амилолитические/Аммонифицирующие
Контроль	37,6 ± 2,3	54,6 ± 4,3	2,2 ± 0,3	1,45
30т/га отходов	47,4 ± 5,1	61,8 ± 2,9	7,4 ± 0,6	1,30
50т/га отходов	38,7 ± 2,6	39,4 ± 4,0	6,0 ± 0,2	1,01
500кг/га золы	49,8 ± 4,4	68,3 ± 5,5	4,8 ± 0,5	1,37
1000кг/га золы	58,7 ± 6,2	109,0 ± 8,3	5,5 ± 0,3	1,86

Очевидно, внесение большого количества органических отходов в почву, богатых клетчаткой, стимулирует развитие целлюлозоразрушающих микроорганизмов, при этом плотность аммонификаторов ниже других опытных вариантов. Возможно, это связано с иммобилизацией азота в составе микробной биомассы из-за увеличения соотношения C: N в почве после внесения источников органических веществ.

Достоверных отличий плотности аммонификаторов в ризосфере растений в вариантах внесения в почву 30т/га органических отходов и разных доз золы не отмечено. Вместе с тем численность амилолитических форм увеличивается существенно при внесении золы, содержащей минеральные соединения азота, утилизируемые этой группой организмов. Содержание в прикорневой почве популяций микробов с целлюлазной активностью достоверно выше во всех опытных вариантах по сравнению с контролем.

Метод посева на питательные среды характеризует потенциальную активность микробного сообщества, а актуальная активность зависит от многих трудно учитываемых факторов и меняется в ходе сукцессии. Отношение численности амилолитических форм к таковой аммонификаторов оценивается многими исследователями как показатель минерализации органического вещества почвы. Согласно данным таблицы 1 максимальное значение этого показателя отмечено для варианта внесения в почву 1000 кг/га золы, что, очевидно, связано с активизацией потребления минеральных источников азота, серы, фосфора и других элементов популяциями гидролитиков. Следует отметить, что при внесении высоких доз золы в составе деструкторов клетчатки отмечено большее биоразнообразие, т.е. наряду с микромицетами, представителями родов *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* и стерильным

мицелием обильно были представлены бактерии - цитофаги и актиномицеты рода *Streptomyces*.

Минимальные значения показателя минерализации органического вещества почвы отмечены для варианта внесения 50т/га органических отходов, что может быть связано, как уже говорилось, с иммобилизацией азота и других биогенных элементов микробной биомассой. В остальных вариантах опыта этот показатель был близок к контролю.

Таким образом, применение указанных форм и доз отходов элеваторов оказывает различное влияние на плотность эколого-трофических групп ризосферы проростков пшеницы.

Плотность аммонифицирующих микроорганизмов в ризосфере растений пшеницы при внесении в почву органических и минеральных удобрений в форме отходов элеваторов достоверно увеличивается за исключением варианта максимальной дозы (50т/га органических отходов).

Плотность амилолитических микроорганизмов увеличивается при внесении золы. Внесение всех форм отходов достоверно повышает плотность целлюлозолитиков. При внесении высоких доз золы в составе деструкторов клетчатки отмечено большее биоразнообразие.

Показатель минерализации органического вещества почвы достигает максимального значения в варианте внесения в почву 1000 кг/га золы, что, возможно, связано с доступностью минеральных источников азота, серы, фосфора и других элементов для популяций гидролитиков.

Список литературы

1.Третьякова, О.И. Применение отходов элеваторов при выращивании озимой пшеницы на чернозёме выщелоченном / О.И. Третьякова, С.П. Доценко, Т.А. Исаева // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2012. – №09(83). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2012/09/pdf/09.pdf>, 0,750 у.п.л.

2. Третьякова, О.И. Влияние отходов элеваторов на рост и продуктивность озимой пшеницы/ Третьякова О.И., Исаева Т.А., Доценко С.П. //Тенденции и

<http://ej.kubagro.ru/2013/03/pdf/40.pdf>

перспективы развития современного научного знания: материалы V Международной научно-практической конференции г. Москва, 24-25 декабря 2012 г. В 2 т.: т.1/Науч.-инф.издат. центр «Институт стратегических исследований».-Москва: Изд-во «Спецкнига», 2012.- С.330-338.

3. Доценко К. А. Влияние антропогенного фактора на почвенную альгофлору Северского района Краснодарского края / К. А. Доценко // – Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2009. – № 17. – С. 124-126.

4. Доценко К. А. Альгоиндикация загрязнения почвы южно-предгорной зоны Кубани / К. А. Доценко, О. Д. Филипчук // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. – № 35. – С. 235-238. 5. Коростелева Л. А. Биологическая активность прикорневой почвы в агроценозе озимой пшеницы / Л. А. Коростелева, А. К. Колосов // Материалы Всероссийской науч.-практич. конфер. «Бактериальные болезни растений-глобальная проблема современности». – Краснодар, 2009. – С. 162-168.

6. Звягинцев Д. Г. Биология почв / Д. Г. Звягинцев, И. П. Бабьева, Г. М. Зенова // М.: Изд. МГУ. – 2005. – С. 445.

7. Влияние элементов агротехники на почвенный микробоценоз при возделывании озимой пшеницы по различным предшественникам / Э. А. Пикушова, И. В. Бедловская, Л. А. Коростелева и др. // Агрэкологический мониторинг в земледелии Краснодарского края. – Краснодар, 2008. – С.74-81.

8. Звягинцев Д. Г. Экология актиномицетов / Д. Г. Звягинцев, Г. М. Зенова // М.: Геос. – 2001. – С. 258.

9. Коростелева Л. А. Экология микроорганизмов с основами биотехнологии / Л. А. Коростелева, А. Г. Коцаев // КубГАУ. – Краснодар, 2010. – С. 274.

10. Методика полевых и вегетационных опытов с удобрениями и гербицидами / под ред. А. В. Соколов, Д. Л. Аскинази. – М.: Наука, 1967. – С. 147 - 180.

11. ГОСТ 12038 - 84. Подсчёт энергии прорастания и всхожести семян.

12. Теппер Е. З. Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер, В. К. Шильникова, Г. И. Переверзева // М.: Дрофа. – 2004. – С. 256.

13. Кириленко Т. С. Атлас родов почвенных грибов / Т. С. Кириленко // Киев: Наукова Думка. – 1977. – С. 128.

14. Определитель бактерий Берджи. в 2 томах / под ред. Г. А. Заварзина. – М.: Мир, 1997. – 800с.

15. Добровольская Т. Г. Структура бактериальных сообществ почв / Т. Г. Добровольская // М.: ИКЦ «Академкнига». – 2002. С. 282.