

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.04.01 Биология
Магистерская программа Физиология растений
Форма обучения очная

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

на тему:

**«ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ»**

Студент	<u>Шульпина</u>	Шульпина Любовь Валерьевна
Руководитель	<u>Тимошкин</u>	Тимошкин О.А.
Рецензент	<u>Л. Карпова</u>	Карпова Л.В.
Нормоконтролер	<u>Фатюнина</u>	Фатюнина Ю.А.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 11.06.2020 № 12)

Заведующий кафедрой	<u>Карпова</u>	Карпова Г.А.
---------------------	----------------	--------------

Работа защищена с отметкой 5 отлично
(протокол заседания ГЭК от 22.06.2020 № 1)

Секретарь ГЭК	<u>Фатюнина</u>	Фатюнина Ю.А.
---------------	-----------------	---------------

Пенза, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
 ГЛАВА 1. РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ В ТРАНСФОРМАЦИИ АЗОТА.....	6
1.1 История изучения микроорганизмов	6
1.2 Бактерии в системе живых организмов.....	12
1.3 Физиологические основы трансформации азота при участии бактериальных организмов	25
1.4 Ризобиальная и ассоциативная азотфиксация.....	32
 ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	39
2.1. Характеристика бактериальных препаратов, созданных на основе штаммов ассоциативных азотфиксаторов.....	39
 ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	43
3.1. Ячмень.....	43
3.2. Яровая пшеница.....	54
3.3. Озимая пшеница.....	59
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	65
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	66

ВВЕДЕНИЕ

Продуктивность сельскохозяйственных культур является следствием сложного процесса взаимодействия в системе «растение-почва-атмосфера». Физиологический ответ растений на комплекс воздействующих на него факторов адекватен оказываемому действию. Полноценное обеспечение минерального питания в соответствии с температурным режимом и влагообеспеченностью вызывают активацию роста растений. На фоне благоприятного развития формируется оптимальный для данных условий урожай. Однако невозможность создания идеальных условий для произрастания, требует поиска и внедрение в технологию возделывания сельскохозяйственных культур приемов активизации физиологических процессов, способствующих повышению их урожайности.

Мощным фактором продуктивного функционирования агроценоза является стимулирование микробно-растительного взаимодействия на основе использования бактериальных препаратов [1].

В настоящее время взаимодействие между растениями и почвенными микроорганизмами рассматриваются не только с точки зрения трофических связей (улучшение азотного и фосфорного питания растений), но и целого комплекса физиологических эффектов, вызываемых данным взаимодействием:

- активизация процессов роста и формирования урожая;
- повышение адаптивных возможностей растений (сопротивляемость фитопатогенам);
- повышение устойчивости к стрессовым абиотическим факторам (термоустойчивость, повышение жизнеспособности на фоне низкой влагообеспеченности, солеустойчивость и т.д.);
- увеличение коэффициента использования почвенных микроэлементов [31].

Изучение данных аспектов влияния бактериальных препаратов является физиологической основой и главным направлением получения высококачественной сельскохозяйственной продукции.

Однако в производственную практику введены многие штаммы ризобияльных и ризосферных бактерий, полезное действие которых не приурочено к конкретному виду и сорту растений. Также недостаточный положительный эффект обусловлен особенностями новых сортов растений, которые генетически не способны к взаимодействию с вносимыми микроорганизмами, так как в процессе селекции они утратили способность к ассоциации с бактериями в ризосфере вопреки эволюции [34].

Об эффекте использования бактериальных препаратов целесообразно судить на основе системных исследований, что является актуальным.

В связи с этим, была определена цель работы: изучить влияние бактериальных препаратов на физиологические процессы и формирование урожайности сельскохозяйственных культур.

Задачи исследований:

- на основе данных литературы изучить роль бактериальных организмов в трансформации азота и физиологические основы формирования ризобияльной и ризосферной азотфиксации;
- изучить показатели, характеризующие эффективность использования бактериальных препаратов в сельскохозяйственном производстве;
- используя литературные источники определить влияние инокуляции на формирование биомассы, рост и развитие вегетативных органов растений;
- изучить вклад биопрепаратов в улучшение минерального питания растений;
- используя литературные данные, провести анализ влияния бактериальных препаратов на урожайность и качество продукции зерновых культур.

Научная новизна:

На основе обширных литературных данных проведен системный анализ влияния инокуляции зерновых культур бактериальными препаратами на процессы роста и развития в течение вегетации как физиологической основы повышения урожайности и качества получаемой продукции.

Практическая значимость:

Представленные в работе данные, раскрывающие механизмы взаимодействия растений и микроорганизмов, их влияния на физиологию роста и минеральное питание растений, а также формирование величины и качества урожая зерновых культур, могут быть использованы как справочные и учебные материалы при изучении дисциплин «Физиология растений», «Сельское хозяйство с основами почвоведения» при подготовке бакалавров по направлениям 44.03.05 Педагогическое образование профили «Биология. Химия» и 06.03.01 Биология.

ГЛАВА 1. РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ОРГАНИЗМОВ В ТРАНСФОРМАЦИИ АЗОТА

1.1 История изучения микроорганизмов

Честь открытия микромира принадлежит голландскому ученому А. Левенгуку (1632-1723). Ему удалось создать приборы, дававшие значительно более совершенную картину увеличенных объектов, чем существовавшие в те времена оптические системы. Линейное увеличение систем Левенгука достигало 150-300 раз. С помощью своей оптики он открыл невидимый мир мельчайших существ, которых он назвал «живыми зверьками» и которых он обнаружил в огромных количествах всюду: в капле воды, в зубном налёте, почве и т.д. Точное описание и зарисовки, сделанные Левенгуком, не оставляют сомнений в том, что ему удалось наблюдать все основные формы микроскопических организмов. Опубликованная им в 1695 году книга «Тайны природы, открытые Антонием Левенгуком», произвела большое впечатление и привлекла внимание ученых к микроскопическим исследованиям.

В России с наблюдениями А. Левенгука первым ознакомился Пётр I, которому во время его пребывания в Голландии весной 1698 года Левенгук демонстрировал свои открытия. После двухчасовой беседы царь поблагодарил Левенгука и выразил желание приобрести увеличительные инструменты для русской Кунсткамеры. Однако неизвестно, удалось ли это осуществить Петру I. Тем не менее, уже с 1725 года в мастерских Академии наук в Петербурге стали делать отечественные микроскопы.

Таким образом, мир микроорганизмов вызвал живейший интерес к нему ученых того времени и началось описание разных представителей диковинного микроскопического мира.

На новый путь широкого развития микробиологию вывел великий французский ученый Л. Пастер (1822-1895). Его гениальные открытия

определили начало качественно нового – физиологического периода в науке. Он впервые доказал, что причиной процессов брожения и гниения, протекающих в природе, является ферментативная активность микроорганизмов. Изучая суть процесса брожения, он открыл возможность «жизни без кислорода», т.е. новый тип анаэробного дыхания, свойственный некоторым микробам. По мнению Пастера, брожение есть не что иное, как жизнь без свободного кислорода. При анаэробнозе бактерии отнимают нужный им кислород у органических соединений, вызывая их распад, т.е. брожение.

В 1857 году Л. Пастер выступил с заявлением, что процессы брожения не обуславливаются инертными химическими реакциями, а являются результатом воздействия на бродящие вещества микроскопических живых существ – микроорганизмов. В своих исследованиях разнообразных видов брожения Пастер показал, что для каждого из них имеется свой возбудитель, обосновав, таким образом, специфичность каждого из этих процессов.

Установив живую природу брожений, Пастер одновременно доказал, что и процессы гниения вызываются также микробами. Пастеру принадлежит заслуга выяснения роли микробов как необходимых посредников между живой и мертвой природой, участвующих в тех превращениях, которым подвергаются химические соединения, состоящие из углерода, и имеют разную пространственную структуру.

Фундаментальные исследования в период становления науки, изучающей микроорганизмы, внес Р. Кох (1843-1910). Он внедрил методы посева и выделения микроорганизмов в чистую культуру, ввёл в практику окраску микробов анилиновыми красителями, иммерсионную систему микроскопирования и микрофотографию [22].

Учение о взаимоотношении живой природы с окружающим миром появилось на основах трудов Ч. Дарвина, как становление точки зрения о видах и их эволюции, и представляет виды как основные единицы систематики и как компонент различных сообществ. Только при

утверждении действительного факта наличия видов у бактерий, можно говорить об их экологии.

В 1861 году Л. Пастер обнаружил «жизнь без воздуха» и охарактеризовал *Vibrio butyrique* – первую бактерию, которая получает энергию при отсутствии кислорода и является источником процесса превращения органических веществ в масляную кислоту. Это чрезвычайно увеличило сферу, где возможна жизнь и выяснилось, что в действительности есть виды бактерий, приспособленные к узкой среде обитания [24].

С. Н. Виноградский – основатель науки о взаимоотношении живой природы с окружающим миром. Особое значение для выяснения роли отдельных форм бактерий в осуществлении различных этапов круговорота компонентов в природе имел разработанный им метод элективных культур, представления о котором были сформированы им в 1895 году. Например, для выявления азотфиксирующих бактерий применяется среда без соединений азота, для выделения нитрификаторов – среда с солями аммония или нитратами как единственным источником энергии. Использование метода элективных культур позволило микробиологам выявить многообразие форм бактерий со специфическими функциями, что в конечном итоге сделало возможным создание целостного представления о процессах круговорота веществ в природе.

Решающее значение для становления экологии бактерий, наряду с работами С. Н. Виноградского, имели исследования голландского микробиолога М. Бейеринка, открывшего *Azotobacter*, получившего и исследовавшего чистые культуры клубеньковых бактерий, изучавшего бактериальную денитрификацию.

Уже в конце XIX века наметился ряд направлений исследований в области экологической бактериологии. Особенно большое значение для развития основных положений экологии бактерий имели работы в области раздела науки, изучающего микроорганизмов, которые населяют почву. Возникновение раздела науки, изучающего микроорганизмов, которые

населяют почву, сопряжено с трудами С. Н. Виноградского, открытие им форм бактерий, приспособленных к узкой среде обитания, позволило связать их деятельность с теми или иным процессами трансформации веществ, идущими в почве. Также им были сформулированы представления об автохтонной микрофлоре почвы, куда входят постоянные её обитатели, использующие гумусовые вещества почвы.

Бактерии распространены повсеместно и присутствуют везде, где есть какая-либо жизнь. Следует, однако, различать условия, в которых бактерии развиваются активно, и условия, в которых они сохраняются, но не активны. По существующим представлениям в атмосфере активного развития бактерий не происходит, хотя они могут присутствовать здесь в большом числе.

Ряд закономерностей географического распространения некоторых почвенных бактерий был установлен Е. Н. Мишустинным. Наиболее показательными в этом отношении оказались почвенные спорообразующие бациллы. Все бациллы – космополиты, однако для каждого вида имеются зоны оптимального размножения. *B. cereus* характерна для почв Крайнего Севера; в подзольных почвах средней полосы в больших количествах встречаются *B. mycoides* и *B. cereus*; для чернозёмов характерны *B. idosus* и *B. megaterium*. Отмеченная закономерность не является строгой, в любой почве, кроме перечисленных, могут быть обнаружены и представители других видов бацилл. Кроме того, окультуривание почвы приводит к изменению в составе доминирующих форм.

Определённые тенденции обнаружены также в отношении и географического распространения различных видов анаэробных спорообразующих бактерий рода *Clostridium*. В северных почвах наблюдается обильное развитие *Cl. pasteurianum*, в почвах юга преобладает *Cl. acetobutylicum* [10].

Большее число почвенных бактерий (до 80-90%) присутствует в адсорбированном состоянии на почвенной отдельности, корнях, на

органическом веществе, состоящем из отмирающих надземных и подземных частей растений. Небольшое количество микроорганизмов переправляется в жидкую фазу почвы. Значительная часть бактерий находится в почве в инертном состоянии в виде эндоспор, микроцист, покоящихся вегетативных клеток. Все множество микроорганизмов образует пул почвы или совокупность всех микробов населяющих почву. Функция пула почвы состоит в сохранении устойчивого равновесия с учетом изменения условий среды по наличию органических и минеральных веществ, гумуса, разлагающихся минералов и т. п. Микробный запас почвы характеризуется поступлением в неё минеральных веществ, корневыми выделениями у растений, наличием гумуса. Таким образом, почва, как естественная среда, обеспечивает селекционирующее воздействие на её микрофлору, а микробный запас обеспечивает средообразующее действие [22].

Строение каждого участка почвы разнообразно и находится в следующих циклах: твердом, жидком, газообразном.

Твердый цикл представлен в виде кварца, слюды, полевого шпата, минералов и гумуса.

Поглощение бактерий происходит на твердой почве, это обеспечивает им прямую взаимосвязь с природными компонентами, исключает возможность их вымывания, увеличивает безопасность губительного действия окружающей атмосферы.

Жидкое состояние почвы представлено почвенной водой, которая движется по волосным промежуткам между частицами почвы, из которой бактерии впитывают воду и полезные вещества.

Концентрация смеси и газов в почве обусловлена ее строением и содержанием влаги, отличается по составу от воздуха атмосферы. Содержание углекислого газа гораздо больше и сравнительно меньше содержания кислорода. Количество углекислого газа и кислорода в воздухе почвы обуславливает взаимосвязь организмов, нуждающихся в кислороде и организмов с отсутствием зависимости кислорода в микробоценозе.

Биологическая реализация, происходящая в почве, имеет важнейшее значение для воздуха атмосферы.

Актуальными аспектами окружающих условий, при которых формируется совокупность микроорганизмов, населяющих грунт, являются рН среды, количество соли в почве, температура и др.

Бактерии, которые питаются образовавшимися после распада органическими веществами и определяющие физико-химические и окислительно-восстановительные процессы органического опада, были названы зимогенной микрофлорой.

Бактерии, влияющие на основное органическое вещество почвы, названы автохтонной микрофлорой. Оба названия предложены С. Н. Виноградским.

Бактерии, которые живут на почвах с низкой концентрацией питательных веществ, обозначены термином – олиготрофная микрофлора. Эти микроорганизмы синтезируют питательные вещества из растворов с минимальным скоплением азотсодержащих и углеродсодержащих веществ, олигонитрофилы и олигокарбофилы соответственно.

Бактерии, синтезирующие неорганические вещества, образуя белки, углеводы и др., объединены в группу автотрофной микрофлоры.

На изменении числа бактерий в почве действуют резкие изменения, которые зависят от погодных условий, времен года, типов растительности, генетических горизонтов, типов почвы и других факторов. Действие распада веществ растительного опада начинает зимогенная микрофлора, в виде бактерий, которые в качестве питания используют распадающиеся органические вещества. В начале процесса распада органических веществ участвуют неспорообразующие бактерии родов *Pseudomonas*, *Proteus*, *Arthrobacter* и др. Продолжение процесса минерализации сопровождается сменой микроорганизмов, т. е. в процесс вступают бациллы.

Продукты растительного и животного опада, продукты обмена веществ микробов преобразуются в перегной, который подвергается воздействию

автохтонной микрофлоры. Она представлена актиномицетами и проактиномицетами, характеризующимися наличием внушительного действия ферментов, которые окисляют сложные циклические соединения.

Завершение этапа распада веществ при минимальном их содержании проходит с участием олиготрофных бактерий. Эта группа бактерий объединена с сапрофитами и, вполне вероятно, содержит виды сапрофитных бактерий, которые живут на субстратах с низким содержанием питательных веществ.

Продукты, образованные в процессе распада органических веществ, поглощаются в результате функционирования автотрофных бактерий, которые используют их в составе источников энергии во время энергетического метаболизма клетки.

Микроорганизмами заселена вся биосфера. Благодаря наличию разнообразных свойств и адаптаций, бактерии живут в предоставленных им разнообразных условиях. Благодаря выработанным в процессе эволюции механизмам изменчивости и распространения генетического материала, обладая многочисленным количеством популяций, бактерии свободно адаптируются в любых условиях как на живой, так и на представителях неживой природы.

Бактерии являются экологическим фактором для организмов, поскольку они контактируют не только напрямую, как взаимодействующие партнеры, с возложением на одного функции регулирования своих отношений, как живущие за счет других организмов, но и косвенно, участвуя в процессах движения элементов. Таким образом, бактерии являются не только жителями, но и основателями современно биосферы. Что нужно учитывать при рассмотрении экологии бактерий [22].

Экология бактерий – быстро прогрессирующее учение, развитие которого осуществляется плодотворным проведением определенных исследований в области экологии и удачами в разных сферах микробиологии. Наличие в данный период времени опыта о безграничном многообразии

контактов микроорганизмов с атмосферой и организмами, несомненно, недостаточно. Можно уверенно сказать, что в дальнейшем экологическая микробиология удивит интересными находками в своей сфере.

Современный этап становления в науке о микробах плотно сопряжен с новейшими достижениями науки и техники, и актуальными проблемами общества [10].

1.2 Бактерии в системе живых организмов

У бактерий индивидуальная позиция в системе живых организмов. По результатам исследований, проведенных микроскопическим, бактериологическим, иммунологическим методами установлено, что по форме, размерам, строению и функционированию клетки бактерий заметно разнятся с клетками высших растений и животных. Всего несколько групп микроорганизмов имеют свойства растений и животных.

В связи со схожестью значительного числа качеств и показателей бактерий и растений, пытались сгруппировать их с сине-зелёными водорослями. Но из-за неимения хлорофилла бактерии были обособлены в независимую группу грибов дробянок, чем делался упор на схожесть их с грибами и репродуктивное деление. Впрочем, они разнятся с грибами несколькими отличительными признаками (например, жгутики) и индивидуальностью процессов жизнедеятельности, что определяет отдельную категорию бактерий, составляющих системную естественно – историческую совокупность микроорганизмов, которые не похожи на водоросли и грибы.

Большая часть прокариотических организмов представляет собой одну клетку, размеры ее очень малы. Бактерии и их составные части измеряют такими единицами, как микрометр (мкм) и нанометр (нм).

Бактерии нельзя увидеть без оптических приборов (предел разрешения человеческого глаза лежит в области 70-80 мкм). Основным методом изучения морфологии микроорганизмов является микроскопическое исследование их как в живом состоянии, так и убитых микробных клеток,

подвергнутых окрашиванию. Для рассмотрения прокариотического организма и его состава используют световые и электронные микроскопы. Предел разрешения светового микроскопа равняется 0,2 мкм, предел разрешения лучших электронных микроскопов составляет 0,15-0,3 нм. Современные микроскопы повышают разрешающую способность человеческого глаза в 250-500 тысяч раз.

Размер средней клетки прокариот находится в пределах 0,5-3 мкм. Интервал значений величины бактерий многочислен, имеются и «гиганты» и «пигмеи». Притом бактерии – исполины обитают в природе крайне редко. У большинства палочковидных бактерий длина клетки обычно не превышает 5 мкм при диаметре 1 мкм, у шаровидных бактерий диаметр клетки от 0,5 до 1-2 мкм. Самые мелкие прокариоты олицетворяют собой группу микоплазм, размер их клеток составляет 0,12-0,15 мкм. Подсчитали, что в клетке микоплазм присутствует 1200 молекул белка и протекает около 100 ферментативных реакций. По-видимому, это наименьшее количество процессов, при котором может быть обеспечен показатель простой жизни на клеточном уровне.

Величина микробов зависит от их внутреннего строения и может варьировать в зависимости от возраста культуры, состава питательной среды и действия других факторов. У всех прокариот велико отношение поверхности клетки к её объёму, что обуславливает высокую метаболическую активность микроорганизмов. Благодаря малым размерам и минимальной массе микробы разносятся токами воздуха на очень большие расстояния и оказываются вездесущими [22].

Известны три базовые формы прокариот: шарообразная (кокки), палочковидная (цилиндрическая) и извитая.

Круглые бактерии именуются кокками (одна клетка – кокк). Они различаются между собой по взаимному расположению отдельных клеток, которое зависит от способа их деления. Группа из двух кокков носит название диплококков (от греческого *diploos* – двойной). Кроме правильной

круглой формы, кокки могут иметь овальную или ланцетовидную форму (например, пневмококки). Некоторые кокки имеют сходство с бобом или кофейным зерном (например, гонококк).

Если деление кокков протекает однонаправленно и образующиеся кокки не разъединяются, то получается нить из шариков в виде цепи, длина которой зависит от числа кокков. Эта форма носит название стрептококка (*Streptococcus*, от греческого *Streptos* – плетёный).

При делении в двух взаимно перпендикулярных направлениях возникают сочетания по четыре кокка – тетракокки (*Tetracoccus*) – редко встречающаяся форма.

Если деление происходит в трёх взаимно перпендикулярных направлениях, кокки соединяются в виде пакетов (кубиков) и получают название сарцин (*Sarcina*, от латинского *Sarcio* – соединяю).

Делясь в разных направлениях без особой правильности, кокки образуют беспорядочные нагромождения клеток, походящие на виноградные грозди, поэтому получили название стафилококков (*Staphylococcus*, от греческого *Staphylos* – виноградная гроздь).

Палочковидная форма представлена самой многочисленной и самой разнообразной группой бактерий. Преобладание палочковидных бактерий можно объяснить преимуществом их цилиндрической формы, при которой в наибольшей степени обеспечивается обмен поверхности клетки с питательной средой. Ранее палочки цилиндрические формы назывались бациллами. Слово «бацилла» произошло от латинского *bacillum*, что обозначает – маленькая палочка (уменьшительно от *baculum* – палка). После 1875 года, когда немецкий ботаник Кон открыл существование спор (особые протоплазматические тельца, окружённые плотными оболочками, образующиеся внутри бактериальных клеток) у так называемой сенной палочки, палочковидные формы бактерий, образующие споры, стали именовать бациллами, а не образующие споры – бактериями. У палочковидных бактерий концы бывают округлые или заострённые.

Разнообразно и расположение клеток после деления – одиночные палочки, по две, цепочками, некоторые палочки располагаются под углом, образуя фигуры наподобие буквы X или цифры V.

Обычно сталкиваются с извитыми и спиральными формами бактерий. К первой группе относятся спириллы, обладающие длинной изогнутой конфигурацией палочек, имеющих один или порядочное количество витков, и вибрионы, схожие с запятой и сколько-нибудь относящиеся к фрагменту оборота спирали. Вторая группа извитых бактерий – спирохеты – представляет собой длинные и тонкие клетки с большим количеством мелких завитков.

Хотя в пределах трёх основных форм бактерий существует достаточно большое разнообразие и наличие различных переходных форм (коккобациллы, ветвящиеся, зернистые формы), все же одни морфологические признаки недостаточны для того, чтобы распознать их отдельные виды, так как нередко обширные роды или семейства родственных микробов обладают совершенно одинаковой морфологией.

Необходимо иметь в виду и то обстоятельство, что морфология бактерий изменчива в пределах одного вида. Отдельные особи имеют некоторые отличия даже при существовании их в чистой культуре. Изменения морфологии клеток всегда связаны с изменением их физиологического состояния [26].

Организм бактерии представляет собой одну клетку чрезвычайно малой величины. Преимущественно кокки обладают размером где-то 0,5-1 мк. Группа прокариотов, имеющая тип палочек, в большинстве случаев обладает шириной от 0,5 до 1 мк, а длина равна нескольким микронам в длину. Очевидно, иногда их длина может составлять 200 и даже 500 мк. На возможное существенное изменение габаритов бактерий оказывает влияние температура, состав среды и т.д.

На твёрдых питательных средах бактерии образуют слизистые либо пастовидные, заметные невооружённым глазом аккумуляции – колонии. В

отдельных случаях колонии бывают пигментированы. Иногда внешний вид колоний бактерий настолько характерен, что позволяет без особых трудностей произвести их идентификацию.

Клетка прокариот, несмотря на относительно малые размеры, имеет все составные элементы, присущие любой клетке. Между компонентами бактерий дифференцируют: стержневые части – клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, цитоплазму с различными цитоплазматическими включениями и нуклеоид; непостоянные части, которые клетка несёт всего - навсего на определённых стадиях онтогенеза – капсулу, жгутики, фимбрии, у других бактериальных клеток – эндоспоры.

Оболочка клетки характеризуется определенной твердостью, неподатливостью, но наряду с этим и пластичностью и умеет изгибаться, при этом выдерживает внутриклеточное давление до $2 \cdot 10^6$ Па. Оболочка клетки разрушается под воздействием ультразвука, фермента лизоцима и т.д. Наряду с этим внутренность клетки – цитоплазма – с накопленными продуктами метаболизма в виде капель, зерен, гранул изливается и принимает форму шара. Из чего можно заключить, что оболочка придаёт бактерии определённую форму. Освобождённый от клеточной оболочки протопласт может довольно долго сберегаться в жизнеспособном состоянии. Протопласт осуществляет процессы жизнедеятельности – дышит, синтезирует белки, ферменты и другие соединения, обуславливает обмен веществ с внешней средой и может размножаться. Протопласт может существовать только в растворах с достаточным осмотическим давлением, которое предохраняет его от вхождения избыточных количеств воды.

В составе клеточных оболочек различных групп микроорганизмов был обнаружен ряд макромолекулярных комплексов. Мукополисахариды и мукопротеиды, часто называемые мукокомплексами, найдены в оболочках у всех бактериальных клеток. У отдельных видов бактерий преобладают мукополисахариды, у противоположных – мукопротеиды.

Различная совокупность компонентов оболочки клетки бактерий сказывается на их способности окрашиваться по Граму. Такое название носит метод окраски, изобретенный в 1884 году учёным из Дании Грамом, дающий возможность определять бактерии. По завершении окраски бактерий генцианвиолетом и обработки их раствором йода клетки одних бактерий обесцвечиваются спиртом, а клетки других остаются окрашенными в сине – фиолетовый цвет. Поэтому бактерии могут быть разделены на два типа: окрашивающиеся по Граму – грамположительные и обесцвечивающиеся, или грамотрицательные [22].

Оболочка клетки зачастую обнесена слоем слизи, это поверхностная структура бактерий, расположена снаружи клеточной стенки или капсула, которая отличается у разных бактериальных клеток, как по толщине, так и по насыщенности. По химическому составу капсулы бактерий можно разделить на два типа (один тип капсул имеет в составе полисахариды, другой из полипептидов). Многочисленные бактериальные клетки имеют в капсуле пептиды, состоящие главным образом из череды молекул глютаминовой кислоты. Наличие слоя слизи не является видовым признаком микроорганизма. У многих бактерий есть капсульные и бескапсульные штаммы. Образование капсулы зависит от штамма микроба, возраста культуры бактерий и условий выращивания. Капсула защищает клетку от изменений в физической среде, окружающей внешней среде. У многих почвенных микроорганизмов в условиях жаркого засушливого климата слизистый слой спасает клетку от увядания. Капсулированные бактерии способны обитать в условиях, не пригодных для роста бактерий, лишенных капсул. Иногда вещество капсулы применяется микроорганизмами как пищевой ресурс, если есть недостаток в питании. Наконец, капсулы могут быть ненужными продуктами трансформации (обмена веществ).

К оболочке клетки внутри плотно примыкает цитоплазматическая мембрана, окаймляющая цитоплазму клетки. Выполняет функцию основного осмотического барьера клетки: работает как полупроницаемая мембрана и

координирует транспорт ионов и молекул в клетку и из клетки. Применение электронного микроскопа для исследований ультратонких срезов бактерий продемонстрировало состав цитоплазматической мембраны, состоящей из трёх слоёв – бимолекулярного листка липида и слоем белка на поверхности. Зачастую мембрана даёт внутрицитоплазматические ответвления (инвагинации). Локальные инвагинации, описанные у разных групп бактерий, получили название мезосом. Мезосомы бактерий разнообразны по форме (везикулы, пластинчатые и тубулярные), размерам и локализации в клетке, выполняют функции, свойственные митохондриям высших организмов. Большинство грамотрицательных бактерий имеют мезосомы, которые относительно просто организованы (исключение составляют группы азотфиксаторов и нитрификаторов).

Цитоплазма бактерий представляет собой коллоидную систему, состоящую из воды, белков и других веществ. При отсутствии включений она обычно оптически гомогенна. При изучении в электронном микроскопе обнаружена зернистость цитоплазмы, а у некоторых видов бактерий наблюдаются многочисленные, часто параллельно расположенные образования.

Наблюдения показывают, что в процессе жизнедеятельности клетки структура и свойства цитоплазмы меняются. При этом могут появляться вакуоли, зернистость. Часто эта зернистость обусловлена скоплением продуктов обмена клетки или же отложением запасных питательных веществ. В таком случае в цитоплазме образуются включения различной химической природы. Отложения неорганических веществ наблюдаются у бактерий-сапрофитов – серобактерий, железобактерий и др. У ряда бактерий могут откладываться в виде обособленных масс питательные вещества – белки, жиры, углеводы.

Изучению ядра у бактерий и оценке его роли в жизни клетки посвящены многочисленные исследования. В настоящее время наличие

ядерной субстанции в бактериальной клетке доказано при помощи химических методов.

В состав ядра входят нуклеопротеиды, представляющие собой соединения белков с нуклеиновыми кислотами. При этом нуклеиновые кислоты ядра и цитоплазмы отличаются друг от друга по химическому составу: в ядре содержится дезоксирибонуклеиновая кислота, дающая после кислотного гидролиза характерное фиолетовое окрашивание с фуксинсернистой кислотой, а в цитоплазме содержится рибонуклеиновая кислота, не дающая этой реакции. Указанная нуклеальная реакция показала наличие тимонуклеиновой кислоты в бактериальных клетках. Таким образом, были получены несомненные доказательства существования ядерной субстанции в теле бактерий.

В некоторых стадиях развития бактерий, например при старении, или при образовании инволюционных форм, хроматиновые зерна, дифференцируясь от остальной протоплазмы, образуют большие скопления и становятся видимыми под электронным микроскопом. Ядерная природа этих скоплений несомненна, однако такие образования, представляя собой химический эквивалент ядра, не идентичны истинному ядру более высокоорганизованных клеток. Генетический материал бактерий представлен кольцевой молекулой ДНК.

Многие бактерии обладают активной подвижностью. Подвижными являются все спираиллы и вибрионы. Среди палочковидных форм подвижностью обладают многие виды. Кокки неподвижны, за исключением единичных видов. Подвижность бактерий осуществляется при помощи жгутиков – тонких эластических нитей, иногда спиралеобразно извитых. Длина жгутиков во много раз превосходит величину клетки, но так как поперечник их очень мал, то они невидимы при обычных способах микроскопии. По числу жгутиков и их расположению бактерии делятся на следующие группы: 1) монотрихи, имеющие на конце своего тела один жгутик (холерный вибрион); 2) лофотрихи с пучком жгутиков на конце; 3)

перитрихи, у которых жгутики расположены вокруг тела (брюшнотифозная палочка). В химическом отношении жгутики представляют белок и денатурируются при нагревании. Простое встряхивание разрушает жгутики. Они не являются жизненно важной структурой для бактериальной клетки. Бактериальные клетки – монотрихи, перемещаясь под влиянием жгутика вдоль своей оси, наряду с этим совершают воронкообразное движение. У перитрихов наблюдается оживлённое кувыркание.

Кроме жгутиков, клетки бактерий могут иметь прямые отростки – фимбрии, которые значительно короче и тоньше жгутиков, но более многочисленны и обнаружены как у подвижных, так и у неподвижных организмов. Наличие фимбрий помогает бактериальной клетке прилипать к другим клеткам или к субстрату, и поэтому считают, что фимбрии – органы прикрепления [24].

Некоторые бактерии способны образовывать споры (эндоспоры), тельца сферической или эллиптической формы, очень устойчивые против неблагоприятных условий. Они не являются органами размножения. Образованная спора бактерии является защитой клетки и обеспечивает устойчивость в неблагоприятных условиях. Они выдерживают относительно высокие и низкие температуры, длительное высушивание, воздействие радиации, токсических веществ, высокого осмотического давления и т.д. При благоприятных условиях клетки с плотной оболочкой прорастают в вегетативные клетки. Она увеличивается в размерах не только за счет всасывания воды, но и за счет деления клетки благодаря резервному материалу. Под давлением, образованным в результате деления клетки, оболочка клетки разрывается и образуется вегетативная клетка.

Бактериальные клетки по наличию химических веществ не отличаются от клеток других живых организмов – вода, органические вещества, представленные белками, нуклеиновыми кислотами, липидами, углеводами и минеральными солями. Вода в клетке бактерий составляет 80-90% от общей массы. Биологическая роль воды в клетке разнообразна. Она растворяет

органические и минеральные вещества, является дисперсионной средой для коллоидов, выполняет роль источника водородных и гидроксильных ионов, выступает в качестве среды для метаболических реакций. На долю белков, углеводов, жиров, нуклеиновых кислот в прокариотной клетке приходится 10-20% от общей массы. Простейшее формирование сухих веществ прокариотной клетки характеризуется следующими данными (в % к сухой массе): углерод-50, кислород-20, азот-10-15, водород-10, фосфор-2-6, остальную часть составляют сера и прочие элементы (Mo, Ca, K, Na, Mg, Fe, Mn и др.). Органические полимерные соединения, представленные в основном белками (50-80% сухой массы) являются значимым весом в сухом веществе клетки бактерий. Белки бактерий и эукариот сходны по своему химическому составу. В состав белков прокариот входят 20 аминокислот (из специфических – диаминопимелиновая и диаминомасляная кислоты). Нуклеиновые кислоты представлены ДНК и РНК. РНК сконцентрирована во внутренней среде клетки и насчитывает около 16% сухой массы. ДНК (3-4% сухой массы) создает нуклеоид и в клетках некоторых бактерий обособленные от хромосом небольшие молекулы ДНК. Число жиров в клетке бактерий изменяется от 5 до 30% и подчиняется виду микроорганизма, возрасту культуры и составу питательной среды. Углеводы представляют основной энергетический источник клетки (от 10 до 30% сухой массы). 1,3-13,% сухой массы составляют минеральные соединения.

Чтобы синтезировать основные органические соединения клетка в качестве источников питания должна получать углерод, водород, кислород, фосфор, серу, азот, микроэлементы, зольные элементы и другие в виде более или менее сложных соединений, что обеспечено химическим составом прокариотной клетки.

Среди всех вышеуказанных элементов наибольшее значение имеет углерод, так как он входит в состав любого органического соединения прокариотной клетки. Все бактериальные клетки в качестве источника энергии используют углерод и по источнику делятся на две группы:

автотрофы, потребляющие в качестве главного источник углерода углекислый газ, и гетеротрофы, усваивающие углерод из органических соединений. Углеводы являются преимущественным источником углерода для большинства гетеротрофов, поскольку наряду с углеродом клетка обеспечивается кислородом и водородом.

Бактерии нуждаются в азоте для комбинирования аминокислот, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. В природе азот встречается в форме окисленных и восстановленных соединений, а также в виде молекулярного азота атмосферы. Большинство прокариот используют азот в восстановленной форме в виде солей аммония (NH_4^+) и аммиака (NH_3). Многие бактерии используют органические азотсодержащие вещества – белки, аминокислоты, мочевины, разрушая их с выделением аммиака. Окисленные формы азота – нитриты, нитраты – также усваиваются различными группами бактерий. Среди прокариот известно большое число организмов, способных фиксировать молекулярный азот атмосферы для построения всех необходимых компонентов клетки.

Фосфор в клетках прокариот входит в состав важнейших органических соединений – нуклеиновых кислот, фосфолипидов, ко – ферментов. Такие соединения фосфора, как АДФ и АТФ, являются аккумуляторами энергии клетки и принимают активное участие в обмене веществ. В фосфатах калия или натрия определяется местонахождение фосфора, а из углеродсодержащих соединений нуклеиновые кислоты.

Сера в клетке чаще всего существует в восстановленной форме и является частью органических соединений с содержанием карбоксильных и аминных групп, низкомолекулярных органических соединений с простым строением и ко – факторов. Для подавляющей части бактерий источником серы служат сульфаты, восстанавливающиеся в клетках в сульфиды.

Процесс питания микробов отличается такими своеобразными особенностями, как поступление питательных веществ через всю

поверхность клетки, исключительная быстрота их ассимиляции и диссимиляции, необычайная способность приспособления к окружающим условиям. Богатство разнообразных ферментов позволяет микробам использовать для питания многочисленные вещества путём их расщепления. В этом заключается выдающаяся роль микробов как участников круговорота веществ в природе.

Избирательное поступление веществ питательного субстрата в клетку прокариот регулируется цитоплазматической мембраной. У некоторых бактерий клеточная стенка обладает избирательной проницаемостью для низкомолекулярных соединений, основанной на взаимном притяжении разнозаряженных частиц. Цитоплазматическая мембрана клетки несёт ответственность за поступление воды и веществ питательного субстрата в клетку и определяет выход продуктов обмена наружу. Изучено несколько механизмов переноса питательных веществ в клетку.

Метаболизм прокариот состоит из двух противоположно направленных процессов – катаболизма (совокупность реакций окисления различных восстановленных органических и неорганических соединений, сопровождающихся выделением энергии, аккумулируемой клеткой в форме фосфатных связей) и анаболизма (совокупность реакций биосинтеза компонентов клетки за счёт веществ питательного субстрата и промежуточных продуктов, образующихся при катаболизме; осуществляется за счёт энергии, аккумулированной в фосфатных связях в форме АТФ или других богатых энергией соединений). Процессы катаболизма и анаболизма в клетке протекают синхронно и непосредственно взаимно связаны, характеризуются совокупностью планомерных ферментативных реакций, отличаются удивительным разнообразием. В основе этого разнообразия лежит способность микроорганизмов применять в качестве источников энергии и исходных веществ биосинтеза практически безграничный набор органических и неорганических соединений. Эта способность прокариот

обусловлена наличием в их клетке разнообразных ферментов, утилизирующих любой исходный субстрат.

Ведущая роль прокариот в процессах трансформации элементов в биосфере определяется, прежде всего, огромной численностью микроорганизмов, повсеместным распространением их, а также универсальностью ферментативного аппарата микробной клетки, способной перерабатывать любые вещества субстрата [26].

1.3 Физиологические основы трансформации азота при участии бактериальных организмов

Основоположник научного почвоведения В. В. Докучаев тесно увязывал свою работу с запросами сельскохозяйственной практики, большое внимание уделял условиям, определяющим плодородие почвы. Разрабатывая научные основы почвоведения, В. В. Докучаев отмечал огромную роль живых организмов, и в частности микроорганизмов в формировании почвы. Мнение о большом значении биологического фактора в почвообразовании утвердилось в русской науке со времён М. В. Ломоносова.

В 1838 году Ж. Буссенго обнаружил, что бобовые растения обогащают почву азотом. В 1888 году вышла в свет работа Г. Гельригеля и Г. Вильфарта, где было показано, что функция фиксации азота связана у бобовых растений с образованием клубеньков. Ранее М. С. Воронин установил наличие в клубеньках большого количества палочковидных и раздутых клеток. Это были клубеньковые бактерии, чистая культур которых была получена в 1888 году М. Бейеринком. Функция клубеньков бобовых растений была существенно уточнена работами К. А. Тимирязева и Л. С. Коссовича, выполненными в конце XIX века.

В 80-х годах девятнадцатого века М. Бертелло установил способность микроорганизмов почвы фиксировать молекулярный азот. Вскоре С. Н. Виноградский выделил чистую культуру анаэробной бактерии – *Clostridium pasteurianum*, которая могла усваивать элементарный азот. В 1901 году М.

Бейеринг установил такую же способность у аэробной бактерии *Azotobacter chroococcum*.

Участие в жизнедеятельности бактерий как показателей плодородия во второй половине прошлого века был настолько велик, что на VIII съезде естествоиспытателей и врачей в Санкт-Петербурге в 1890 году, в прозвучавших докладах прослеживалась микробиологическая концепция. В. И. Ковалевский в послании «Запросы современного сельского хозяйства к естествознанию» повышенный интерес проявил к значению микроорганизмов в создании плодородия почвы. Г. Г. Густавсон, профессор Петровской сельскохозяйственной академии представил речь «О микробиологических основах агрономии», в которой толково продемонстрировал, что почва олицетворяет собой живую систему, важное значение в которой, играют низшие существа.

К концу XIX века созрело мнение о возможности широкого использования в сельском хозяйстве «биологического» азота. В этом заверил в своем выступлении Б. Л. Исаченко в 1899 году на собрании сельских хозяев в Санкт-Петербурге, где он изложил доклад на тему «О бактериальном способе удобрения растений азотом».

Таким образом, точка зрения о бактериях, как могущественном показателе плодородия почвы сформировалось уже к концу XIX века [10,22].

Важнейшим компонентом, обозначающим высоту урожая сельскохозяйственных культур, является азот. Обитающее в почве гигантское обилие соединений азота, растения могут применить в питание, в основном, минеральные формы этого элемента. Растения не могут использовать внушительный ресурс газообразного азота, имеющегося в воздухе. Вследствие чего тема трансформации соединений азота в почве при действии микроорганизмов становится объектом большого внимания [28].

Период преобразования азота и соединений имеющих его в составе в почве весьма сложен. Отдельная часть атмосферного азота связывается свободноживущими или симбиотическими микроорганизмами растений. В

результате этой функции почва и растения насыщаются азотом [23]. Органические соединения в тканях растений и животных, попадая в почву, подвергаются минерализации и превращаются в соединения аммония. Некоторое число остатков растений преобразуется в тёмноокрашенное, содержащее азот вещество – перегной (гумус). Аммонийная форма азота подвергается в почве окислению нитрифицирующими бактериями и превращается в соединения азотной кислоты. При определенных условиях нитраты могут восстанавливаться и теряться из почвы в форме молекулярного азота. Довольно значительная часть азотсодержащих соединений ассимилируется микроорганизмами и временно переходит в недоступную растениям форму [26].

Период преобразования азотсодержащих веществ представлен порядком взаимозависимых процессов.

Аммонификация – процесс минерализации органических азотсодержащих веществ, которому сопутствует выделение аммиака, в результате чего наша планета освобождается от продуктов растительного, животного и микробного опада. Белки могут разлагаться многими микроорганизмами – аэробными и анаэробными бактериями, грибами и актиномицетами. Эти микроорганизмы выделяют протеолитические ферменты, разрывающие большую молекулу белка на ряд простых соединений, в основном аминокислот. Эти вещества используются микроорганизмами как питательный субстрат. Они могут разрушаться микроорганизмами и дальше.

Процесс разрушения аминокислот как внутри клетки, так и вне ее может быть разнообразным. Возможны следующие процессы:

- дезаминирование, происходящее путём отщепления аммиака;
- окислительное дезаминирование при участии молекулярного кислорода;
- восстановительное дезаминирование;
- декарбоксилирование.

Образующиеся из белков аминокислоты обогащаются неорганическими солями, органическими веществами разными темпами. Некоторые аминокислоты более устойчивы, а другие, наоборот, очень легко разлагаются. Из аргинина и триптофана аммиак образуется быстро, а треонин и метионин более устойчивы. Будущая участь продуктов, содержащих углерод, участников процесса дезаминирования аминокислот может быть разнородной. Некоторые из них (пировиноградная, щавелевоуксусная кислоты) напрямую действуют в процессах обмена веществ клетки, остальные (большинство органических кислот) претерпевают последующие преобразования.

При аэробном распаде белка основными конечными продуктами разложения белка является CO_2 , аммиак, сульфаты и вода.

В анаэробных условиях при распаде белка образуются аммиак, амины, скатол, CO_2 , органические кислоты, индол и сероводород. Многие из этих веществ обладают плохим запахом или имеют токсические свойства. Вследствие чего в обыденной жизни процесс анаэробной аммонификации белков именуется гниением.

В процессе разложения белков задействованы различные группы микроорганизмов, поочередно сменяя друг друга. В аэробных условиях аммонификацию белков начинают неспорообразующие бактерии, относящиеся к родам *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, а также микобактерии и плесневые грибы. Сменяют их различные виды бацилл (*Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides* и др.). На завершающих этапах в процесс аэробной аммонификации включаются актиномицеты. В анаэробных условиях процесс аммонификации ведут бактерии рода *Clostridium* (*Clostridium sporogenes*, *Clostridium cadaveris* и др.).

Сложными полимерными соединениями являются нуклеиновые кислоты – ДНК и РНК. Аммонификация нуклеиновых кислот начинается с гидролитического расщепления их на мононуклеотиды при участии ферментов рибонуклеазы и дезоксирибонуклеазы. Далее от мононуклеотида

отщепляется сначала остаток фосфорной кислоты, затем сахар. Образовавшиеся азотсодержащие основания разлагаются до мочевины и аминокислот. Аминокислоты в конечном итоге разлагаются до аммиака и органических кислот.

Дезаминированию могут подвергаться и органические азотсодержащие вещества небелковой природы, такие как мочевина, мочевая и гиппуровая кислоты. Мочевина является одним из продуктов жизнедеятельности грибов и образуется при гидролитическом распаде аргинина. Многие микроорганизмы способны использовать мочевины в качестве источника азота для синтеза собственных белков. Под действием фермента уреазы, выделяемой микроорганизмами, происходит гидролиз мочевины с образованием углекислого аммония, который мгновенно разлагается на составные части – аммиак, углекислый газ и воду.

В цикле трансформации азота в процессе аммонификации белков и других органических азотсодержащих веществ небелковой природы образуется аммиак [32] .

Аммиак, образующийся в процессе аммонификации в почве, навозе и воде при разложении органических веществ довольно быстро окисляется в азотистую, а затем азотную кислоту.

О микробиологической природе процесса нитрификации впервые высказал предположение Л. Пастер. Позднее, в 1890-1892 гг., С. Н. Виноградским было выделено две группы нитрифицирующих бактерий: одна, получающая энергию для клеточного синтеза окислением аммиака до NO_2 , другая – окислением нитритов до NO_3 .

Первая группа нитрозных бактерий, окисляющих аммиак или соли аммония до нитритов, относится к родам *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus*. Из нитрозных бактерий наиболее подробно изучен вид *Nitrosomonas europaea*. В разных почвах обнаружены морфологически несколько различные виды этого микроорганизма. *Nitrosomonas europaea*, свойственный почвам Европы, имел крупные клетки, но более короткий

жгутик, чем *Nitrosomonas javanensis*, встречающийся в почвах Явы. Позднее были описаны и другие виды *Nitrosomonas*. Они отличаются друг от друга по форме клетки, подвижности, чувствительности к температуре и т.д. Все эти виды очень близки. Они имеют форму небольших эллипсоидных телец (от 0,4-0,6 мк до 1,0-1,8 мк), неспорообразующие и чаще всего обладают длинным жгутиком, одиночные или в коротких цепочках.

Вторая группа нитратных бактерий, окисляющих нитриты в нитраты, относится к родам *Nitrobacter*, *Nitrospina*, *Nitrococcus*. Лучше других нитратных бактерий изучен *Nitrobacter winogradskyi*, клетки которого имеют грушевидную форму размером 0,5-1,0 мк. Размножается почкованием, дочерняя клетка, имеющая один латерально расположенный жгутик, обычно подвижна.

Все нитрифицирующие бактерии – облигатные аэробы. Присутствие органических веществ в среде, в концентрациях, обычных для гетеротрофов, ингибирует рост нитрифицирующих бактерий. Наилучшим образом нитрифицирующие бактерии развиваются при температуре 25-30⁰С и pH 7,5-8,0. Они обитают во всех типах почв, в морской и пресной воде озёр, морей и океанов. Гетеротрофная нитрификация активно протекает в почвах, богатых углеродом и азотсодержащими органическими соединениями, при щелочной реакции pH.

Этапность процесса нитрификации является характерным примером метабиоза, т.е. такого рода взаимоотношений микробов, когда один микроорганизм развивается после другого на отходах жизнедеятельности первого. Как было показано, аммиак – продукт жизнедеятельности гнилостных бактерий используется нитрозными микроорганизмами, а нитриты, образуемые последними, служат источником жизни для нитратных бактерий.

Процесс нитрификации – второе важное звено в цикле трансформации азотсодержащих веществ. Нитраты служат одной из форм минерального азота, необходимого для питания растений. Накопление нитритов и нитратов

в почве вызывает подкисление почвенного раствора, что положительно сказывается на повышении растворимости некоторых соединений фосфора и железа и способствует лучшему усвоению их растениями.

Нитраты в почве расходуются очень интенсивно. Часть их потребляется в процессе питания растений и самих микроорганизмов, часть вымывается из почвы, а некоторое количество нитратов восстанавливается до газообразной формы азота (NO , N_2O , N_2) в процессе денитрификации.

Различают денитрификацию прямую и косвенную. Основным процессом, вызывающим потерю азота из почвы в форме окислов и газообразного азота, является микробиологическая или прямая денитрификация. Это своеобразный дыхательный акт, в котором кислород нитратов используется бактериями вместо молекулярного кислорода. Азот при этом редуцируется до молекулярной формы. Косвенная денитрификация – это чисто химический процесс взаимодействия нитритов с аминокислотами, в результате которого образуется молекулярный азот.

В природе более распространена прямая денитрификация. Она подразделяется на ассимиляционную и диссимиляционную. При ассимиляционной денитрификации нитраты потребляются в качестве источника азота и восстанавливаются до аммиака, который расходуется клеткой в процессе биосинтеза. В процессе диссимиляционной денитрификации нитраты и нитриты выступают в роли акцепторов электронов в реакциях катаболизма денитрифицирующих бактерий.

Способностью к денитрификации обладают только специфические формы бактерий. Преобладающими родами денитрификатов в почве являются *Pseudomonas*, *Micrococcus* и *Achromobacter*. Помимо мезофильных микроорганизмов, денитрификацию могут вызывать и термофильные бактерии, растущие при температуре $55-65^{\circ}\text{C}$. Ими являются спорообразующие бактерии, которые относятся к роду *Bacillus*.

Клетки денитрифицирующих бактерий имеют достаточно совершенную дыхательную цепь, позволяющую им вести процессы катаболизма как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

Из всех видов денитрификации основной ущерб сельскому хозяйству наносит диссимиляционная денитрификация, так как именно она и приводит к снижению запасов азота в почве. Подсчитано, что потери азотных удобрений, вносимых в почву, в результате денитрификации составляют 5-10%. Особенно активно денитрификация протекает на тяжёлых, сильно переувлажнённых почвах. Для борьбы с денитрификацией рекомендуется рыхление почвы в целях создания аэробных условий жизни денитрифицирующим бактериям [10,24].

Поскольку функция биологического азота имеет кардинальное значение в общем азотном балансе биосферы, тема биологической фиксации азота актуальна. Ресурсы газообразного азота в атмосфере действительно безграничны. Однако для растений необходим азот минеральных соединений, и они испытывают нужду в этом элементе, будучи окружены огромными запасами молекулярного азота.

1.4 Ризобиальная и ассоциативная азотфиксация

Азотфиксация – это уникальный процесс, характерный только для прокариотической клетки. Все азотфиксирующие микроорганизмы можно подразделить на две группы: свободноживущие в почве и симбиотические, вступающие в симбиоз с высшими растениями. Азотфиксирующие микроорганизмы способствуют повышению плодородия почвы. Рациональное использование биологической фиксации молекулярного азота даёт возможность существенно повысить урожай и экономнее расходовать минеральные удобрения [34].

Типичными представителями свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов являются бактерии родов *Clostridium* и *Azotobacter*. В

качестве источника азотного питания бактерии рода *Clostridium* могут использовать соли аммония, соли азотной кислоты и многие содержащие азот органические соединения. При дефиците азота усваивается молекулярный азот. Наиболее активным азотфиксатором является *Cl. pasteurianum*, выделенный в чистую культуру С. Н. Виноградским в 1893 году. Морфологически данный микроб представлен крупными палочковидными клетками, длиной 1,5-8 мкм, в молодой культуре подвижен за счёт перитрихиально расположенных жгутиков; при старении образует спорангии кlostридиального типа. Энергию для процессов жизнедеятельности и азотфиксации *Cl. pasteurianum* получает за счёт маслянокислого брожения. Средняя активность азотфиксации составляет 10-12 мг азота на 1 г сброженного сахара. *Cl. pasteurianum* выделяется из всех типов почв.

Много внимания привлёк к себе *Azotobacter* - аэробный фиксатор азота, открытый М. Бейеринком в 1901 г. Для азотобактера характерна полиморфность клеток от палочковидной до кокковидной, диаметром 2-4 мкм. Иногда кокковидные клетки покрываются толстой оболочкой и превращаются в цисты. Наиболее обычен для почвы *Azotobacter chroococcum*. В качестве источника углерода азотобактер использует широкий набор органических веществ – углеводы, спирты, органические кислоты. Источником азота для него служат минеральные соли либо аминокислоты. При недостатке азота в среде азотобактер переходит к фиксации молекулярного азота за счёт энергии, получаемой в процессе аэробного окисления органических соединений. Активность азотфиксации в культурах азотобактера составляет 15-20 мг на 1 г потреблённого органического вещества. Химическая природа усваиваемого азотобактером вещества сказывается на продуктивности фиксации азота. Чем выше в органическом соединении содержание водорода, тем более высока продуктивность усвоения азота. Внедрение в молекулу дополнительных атомов кислорода даёт обратный результат и приводит к сокращению

размера фиксации азота. Для своего роста нуждается в элементах минерального питания, предъявляя высокие требования к фосфору и кальцию. В связи с чем, этот организм используют в качестве биологического индикатора при определении наличия фосфора и кальция в почве. Азотобактер – организм нейтральной среды, поэтому в сколь либо кислых почвах не развивается. Он нуждается в большем количестве влаги, чем другие бактерии. Отмеченные физиологические особенности азотобактера объясняют экологию данного организма. Азотобактер выделяется из относительно плодородных, хорошо аэрированных и достаточно увлажнённых почв. На юге, в условиях сухого и жаркого климата, микроб ведёт себя как типичный эфемер, активно развиваясь только в благоприятные по условиям влажности и температуры периоды весны и осени.

Найдены аэробные бактерии – фиксаторы азота, относящиеся к другим семействам. Связывать молекулярный азот способны анаэробные пурпурные и зелёные фотосинтезирующие бактерии, встречающиеся в грязевых озёрах, иле и затопляемых почвах. Азотфиксирующая способность установлена у микобактерий, которые оказались достаточно широко распространёнными в почвах. Обычно микобактерии энергичнее фиксируют молекулярный азот в смешанных культурах, т.е. когда они развиваются с некоторыми сапрофитными бактериями. Большую роль в биологической азотфиксации играют сине – зелёные водоросли. Эта способность установлена более чем у 40 видов цианобактерий. Способность к фиксации азота очень широко распространена у разных микроорганизмов.

На корнях бобовых растений под воздействием особых бактерий образуются клубеньки, где связывается молекулярный азот. Между проникшими в корни растений бактериями и бобовым растением налаживаются тесные, взаимовыгодные для партнеров, взаимоотношения. Растения семейства бобовых насчитывают около 10 000 видов, применяется для обеспечения населения продовольствием 200 из них. Они выполняют

значительную работу в насыщении почвы азотом. Микроорганизмы используют в пищу углеродсодержащие соединения, переработанные растением, а ему, в свою очередь, достаются из клубеньков связанные соединения азота. Название «клубеньковые» обусловлено способностью этих бактерий вызывать опухолевидные разрастания клеток паренхимы коры корня. Впервые клубеньковые бактерии в клетках клубеньков люпина в 1866 году описал М. С. Воронин [10].

В современной систематике прокариот клубеньковые бактерии объединены в один весьма обширный род *Rhizobium*. Бактерии определенных растений, которые способны связывать неорганический атмосферный азот, немного разнятся друг с другом. Поэтому род *Rhizobium* нужно изучать, как целую группу микроорганизмов, основанных на отношениях родства. Клубеньковые бактерии – типичные обитатели почв. Эти бактерии характеризуются, как грамтрицательные, неспорообразующие, аэробные палочки шириной от 0,5 до 0,9 мк и длиной от 1,2 до 3,0 мк. Представители рода *Rhizobium* подвижны. Одни из них представляют собой бактерии с одним жгутиком, который располагается на одном из полюсов клетки, другие бактерии с расположенными по всей поверхности клетки жгутиками. При процессе постепенного нарушения и потери важных функций организма или его частей, клубеньковые бактерии утрачивают подвижность и переходят в стадию так называемых опоясанных палочек. На этой стадии в цитоплазме клеток окрашенные участки чередуются с неокрашенными в виде поясков. Это находится в прямой зависимости от того, что с возрастом бактериальная клетка наполняется жировыми включениями, не воспринимающими окраску. Молодое поколение *Rhizobium* окрашиваются равномерно. В клубеньках при старении культуры *Rhizobium* образуются утолщённые, разветвлённые, грушевидные или почти сферические образования. Они несравненно массивнее обыкновенных клеток клубеньковых бактерий. Аналогичные увеличенные в габаритах клетки и именуются бактериоидами. Движение у бактериоидов отсутствует, и они

лишены способности к размножению. Некоторые учёные считают бактериоды регрессирующими формами. Вместе с тем чрезвычайно активный процесс усвоения азота в клубеньках наблюдается в том случае, когда клубеньковые бактерии принимают форму бактериодов.

Наиболее распространенным ресурсом азота для клубеньковых бактерий являются различные соединения – соли аммония и азотной кислоты, многие аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания и т.д. Клубеньковые бактерии умеют синтезировать всевозможные углеводы, в том числе и некоторые полисахариды (гликоген). При расщеплении углеводов часть культур образуют кислоты. Также им доступны многие органические кислоты и многоатомные спирты. Необходимый фосфор бактерии могут брать из минеральных и органических соединений, обладают фосфатазой.

У значительной части культур *Rhizobium* наиболее благоприятное значение pH находится в пределах pH 6,5-7,5, а при pH 4,5-5,0 и 8,0 их рост замедляется.

Большинство клубеньковых бактерий проявляет высокую специфичность в отношении бобового растения – хозяина. Эта характеристика является основополагающей в систематике клубеньковых растений. Иногда отмечается не только видовая, но и сортовая специфичность клубеньковых растений.

Для успешного инфицирования корневой системы бобового растения наибольшим смыслом характеризуется вирулентность клубеньковых растений, т.е. способность клубеньковых бактерий проникать в ткань корня, размножаться там и вызывать образование клубеньков. Энергичное усвоение азота может быть лишь тогда, когда растение инфицируется вирулентной культурой *Rhizobium*. Однако, вирулентная культура бактерий должна уметь противостоять конкурентам в почве и не притесняться другими микроорганизмами.

Заражение бобовых растений клубеньковыми бактериями происходит при прорастании семени, когда корневые волоски корня вступают в почву в контакт с бактериями. На растущем в земле корне бобового растения начинает распространяться обильная микрофлора, составляющая свойства ризосферы растений, в т. ч. и определенные для данного вида растений клубеньковые бактерии. Корневой волосок под влиянием размножающихся вблизи него клубеньковых бактерий начинает изгибаться, приобретая форму ручки зонтика. Эта стадия предшествует проникновению в корневой волосок клубеньковых бактерий, скопившихся на его поверхности. В ответ на выделение бактериями полисахаридов корневой волосок выделяет фермент полигалактуроназу. Небольшое его число постоянно присутствует в корневых волосках и, влияя на фрагментарное растворение компонентов оболочки, «открывает ворота инфекции». Клубеньковые бактерии активно размножаются, выделяют слизь и в виде инфекционной нити передвигаются к основанию волоска, к клеткам эпидермиса. Передвижение нити может быть ограничено давлением, которое формируется при развитии бактерий внутри нити. Инфицированные бактериями клетки корня активно делятся, вызывая также деление соседних незаражённых клеток. Деление обычно начинается на расстоянии 1-2 слоёв клеток от конца инфекционной нити, формируя ткань клубенька.

Клубеньковые бактерии в клетках корня проходят стадию опоясанной палочки. В этом состоянии внутри каждой полости размножение у них продолжается. Впоследствии клетки клубеньковых бактерий трансформируются в бактериоиды. Бактериоиды не могут делиться, но они существенно прибавляются в объёме. Усиленное размножение заражённых и находящихся под активизирующим влиянием соседних неинфицированных клеток приводит к формированию вздутия – клубенька. Бактериоиды, окружённые клеточной мембраной, представляют собой азотфиксирующую единицу. В пространстве между бактериоидами и окружающими их мембранами локализуется леггемоглобин, который осуществляет функцию

переносчика кислорода к бактериоидам для процессов катаболизма. Однако в ткани клубенька наблюдается низкое парциальное давление кислорода, так как он подавляет активность ферментной системы азотфиксации.

К концу фазы цветения бобового растения обыкновенно протекает дегенерация клубеньков. В клетках клубенька возникают пространства, заполненные клеточным соком, бактериоиды постепенно лизируются, и клубеньок отмирает. Исследования показали, что передача связанного азота из ткани клубенька в растение происходит не только после лизиса бактериоидов, но и в период их активной жизнедеятельности. Транспорт азотсодержащих веществ из клубеньков в наземную часть растения осуществляется в форме аминокислот.

Тесные взаимовыгодные взаимоотношения клубеньковых бактерий с бобовыми растениями, а соответственно и процесс активной азотфиксации определяется комплексом факторов: условиями аэрации, погодным фоном, реакцией pH, наличием в среде макро- и микроэлементов.

Несмотря на высокую эффективность фиксации азота, симбиотические азотфиксирующие микроорганизмы в общем азотном балансе биосферы занимают лишь второе место, уступая первое свободноживущим азотфиксаторам [3]. Это определяется, прежде всего, незначительной долей бобовых культур в естественных биоценозах. Нередко в зрелых экосистемах бобовых культур вообще не имеется.

С другой стороны, свободноживущие азотфиксирующие микроорганизмы весьма разнообразны, многочисленны и распространены во всех типах почв всех географических зон. И хотя активность их азотфиксации значительно ниже, чем у клубеньковых бактерий, общая доля свободноживущих азотфиксаторов в азотном балансе биосферы несравнимо выше. Активность их азотфиксации ещё больше возрастает, если азотфиксирующие микроорганизмы формируются в зоне ризосферы растений, т. е. в ассоциации с растением, ибо уровень азотфиксации прямо пропорционально зависит от количества доступной энергии. В ассоциации с

растением свободноживущие азотфиксирующие микроорганизмы в качестве источника энергии используют корневые выделения, слизи и продукты прижизненного опада корней [4,12].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Характеристика бактериальных препаратов, созданных на основе

штаммов ассоциативных азотфиксаторов

Прямая инокуляция семян или корней растений в период вегетации штаммами ризосферных микроорганизмов существенно изменяет режим минерального питания растений, не только за счет увеличения фиксированного бактериями азота, но и мобилизации малодоступных соединений других органоенов.

Созданные на основе определенных штаммов бактерий бактериальные препараты используются в сельскохозяйственном производстве. Эффективность их применения возможно изучать в лабораторных исследованиях, а также в полевых стационарных и мелкоделяночных опытах. Целесообразно использовать стабильный изотоп ^{15}N для определения роли источников азота в минеральном питании растений.

Согласно существующим рекомендациям по оценке эффективности бактериальных препаратов опыты по инокуляции закладываются на двух фонах минерального питания растений [29]. Первый включает в себя только фосфоро-калийные компоненты, второй – азот, фосфор и калий. Опыты, проводимые на двух фонах, позволяют получить наиболее достоверные данные о роли азотфиксации в корневой зоне небобовых растений.

Для определения физиологической роли ризосферных микроорганизмов в формировании урожайности зерновых культур необходимо системное наблюдение за ростом и развитием растений в период вегетации с фиксацией наиболее значимых показателей:

- лабораторной и полевой всхожести семян;
- динамики формирования корневой системы;
- динамики формирования биомассы;
- содержания NPK в зеленой массе растений;
- урожайность и качество урожая.

На основе наиболее изученных штаммов бактериальных организмов ВНИИ Сельскохозяйственной микробиологии созданы препараты, рекомендованные к использованию в производстве.

Агрофил – препарат, содержащий в 1г 5-10 млрд. бактериальных клеток, находящихся в активном состоянии, создан на основе штамма 10 (*A. radiobacter*), который относится к роду *Agrobacterium*. Используется в виде порошковидного торфяного субстрата влажностью 50-55%, с обогащением в виде витаминов, микроэлементов, углеводов. Применяют в открытом грунте для повышения урожайности овощных культур, для профилактики заболеваемости у растений, защищает от корневых гнилей. Отмечено положительное действие препарата на корневую систему ягодных и плодовых культур. Препарат применяется как в условиях открытого грунта, так и теплицах. Урожайность в открытом грунте при благоприятных условиях для культур агрофил обеспечивает с заметной прибавкой на 20-50 ц/га. В условиях закрытого грунта урожай увеличивается 2-4 кг/м². Для овощных культур в открытом грунте используют 200-300 г/га, для корнеплодов-2500 г/га, для плодовых и ягодных культур-200г/га.

Флавобактерин – препарат, содержащий в 1г 5-10 млрд. бактериальных клеток, создан на основе штамма Л 30, который относится к роду *Flavobacterium* sp. Используется в виде порошковидного торфяного обогащенного субстрата влажностью 45-50%. Характерной чертой препарата является то, что он применяется для большого числа сельскохозяйственных и кормовых культур. Так же хорошие результаты обработки зафиксированы у овощных культур. Способность бактерий к фиксации молекулярного азота, ускорение роста растений, выработка фитогормонов, корректировка минерального питания, активизация физиологических процессов, а так же мощная способность борьбы с болезнями растений отмечены при применении препарата. Он обеспечивает повышение урожайности у зерна 3-5 ц/га, у овощей 30-80 ц/га, у сахарной свеклы 60-70 ц/га. Отмечается улучшение качественных показателей культур, а именно у картофеля увеличение количества крахмала, у сахарной свеклы – сахара, у подсолнечника – масличности. При применении флавобактерина в отношении картофеля, в дозе 2500 г/га наблюдалось прибавление количества

клубней и снижалось количество растений, пораженных фитофторой. Для выращивания многолетних трав необходимо 200-300 г/га препарата, для зерновых и кормовых культур 600 г/га.

Мизорин – препарат, содержащий в 1г 5-10 млрд. бактериальных клеток, создан на основе штамма 7 (*A. mysorens*), который относится к роду *Arthrobacter*. Используется в виде порошковидного торфяного субстрата с обогащением в виде питательных веществ влажностью 45-55 %. Активное действие препарата выявлено при предпосевной обработке семян злаковых, кормовых, овощных и технических культур. Отмечается повышение белка в кормах с улучшением его качественного состава. Действие препарата влияет на всхожесть семян, активизирует и прибавляет растениям устойчивости к болезням, повышает содержание витамина С на 30-50%. Непосредственно для картофеля мизорин адаптирует и оздоравливает от инфекций, дает прибавку урожая 17-20%. На действие препарата не влияет недостаточное количество влаги в почве. Поэтому он применим в условиях богарного земледелия у овощных и технических культур. Для зерновых, кормовых культур используют препарат в количестве 600 г/га, для злаковых трав 400 г/га, для обработки картофеля 2500 г/га.

Ризоагрин – торфяной препарат, содержащий в 1г 5-10 млрд. бактериальных клеток, создан на основе штамма 204 (*A. radiobacter*), который относится к роду *Agrobacterium*. Используется для обработки злаковых, кормовых и других культур, производимых сельским хозяйством. Применение препарата увеличивает количество белка в зерне на 0,5-1 %. Добавление препарата в посевы злаковых культур в количестве 500 г/га обеспечивает получение добавочного урожая (озимая и яровая пшеница 3-7 ц/га, озимая рожь 4-8 ц/га, ячмень 3-6 ц/га).

Биоплант - К – препарат, содержащий в 1г 4-10 млрд. бактериальных клеток, создан на основе *Klebsiella planticola*. Используется в жидком виде и в виде торфяной массы, влажностью 55-60 %. Применяется для увеличения урожая у злаковых, овощных и кормовых культур. Действие препарата на

растения выражается в способности снижать количество нитрата у овощей, фиксировать атмосферный азот, создавать фитогормоны и витамины. Семена обрабатываются препаратом в день посева или непосредственно перед посевом в открытый и закрытый влажный грунт. Обработанные семена ограждают от перегрева и прямых лучей солнца.

Внесение препаратов при постановке лабораторного эксперимента и мелкоделяночного полевого опыта возможно путем ручной инокуляции. Перед внесением препараты обрабатывают водой для увеличения степени адгезии на поверхности семян.

При постановке стационарных полевых опытов производят механизированную обработку семян с использованием машин ПС-10. В данном случае используют различные прилипатели (растворы казеина, патоки и др.).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Ячмень

Научная работа, которая проводилась в области роста и развития растений, показала, что действие бактериальных препаратов на семена обнаруживается в последующих стадиях развития растений [39]. Объяснение следующее: при прорастании семян протекают метаболические процессы, которые впоследствии влияют на скорость и силу обменных процессов, свойственных растению на протяжении всего периода формирования.

Следуя этому условию, в самом начале развития сортов ячменя оценено внесение препаратов ризосферных diaзотрофов (далее – препаратов), полученных на основе бактерий: ризоагрин (*Agrobacterium radiobacter*), флавобактерин (*Flavobacterium* sp.). Основываясь на результатах проведённых исследований, отмечено, что всхожесть семян ячменя определяется спецификой их сорта (таблица 1). При постановке опыта сорт Винер показал низкие результаты по всхожести. При обработке семян этого сорта ризоагрином было выявлено повышение числа проростков, при этом действие других препаратов не оказало никакого влияния на рост. Внесение препаратов на высокопродуктивные сорта ячменя (Луч и Андрей) не повлияло на всхожесть семян этих сортов. При обработке семян сортов Риск и Добрый ризоагрином отмечается увеличение количества проросших семян.

Таким образом, при применении препаратов интенсивность прорастания семян ячменя зависит не только от штамма микроорганизма, применяемого к растениям, но и от особенностей сортов растений, обусловленных их генотипами [9]. Семена сорта Винер, новые сорта Риск и Добрый отвечают положительной динамикой всхожести при внесении ризоагрина.

По результатам обработки семян препаратами характерные изменения общего состояния организма (формирование биомассы растений) отлично от влияния на разные органы растений.

Таблица 1 – Влияние бактериальных препаратов на растения ячменя на первых этапах развития по результатам лабораторного опыта

Сорт (а)	Инокуляция (в)			НСР(а)	НСР(в)
	контроль	ризоагрин	флавобактерин		
Всхожесть семян, %					
Винер	74	82	80	9	8
Луч	84	86	89		
Андрей	82	79	83		
Риск	88	96	91		
Добрый	86	94	86		
Масса листьев, г/10 растений					
Винер	0,13	0,17	0,14	0,02	0,02
Луч	0,12	0,12	0,11		
Андрей	0,15	0,19	0,14		
Риск	0,14	0,16	0,13		
Добрый	0,14	0,15	0,13		
Масса корней, г/10 растений					
Винер	0,14	0,17	0,11	0,03	0,02
Луч	0,09	0,11	0,16		
Андрей	0,14	0,15	0,13		
Риск	0,12	0,12	0,12		
Добрый	0,11	0,13	0,11		
Биомасса (листья+корни), г/10 растений					
Винер	0,27	0,28	0,25	0,03	0,03
Луч	0,21	0,23	0,28		
Андрей	0,29	0,34	0,27		
Риск	0,26	0,28	0,25		
Добрый	0,25	0,28	0,24		

На сорта с низкой урожайностью (сорт Винер) ни один из препаратов не оказал действия и, напротив, у высокоурожайных сортов отмечены положительные тенденции: у сорта Луч при воздействии флавобактерина увеличилась масса растений, на сорта Андрей, Добрый и Риск оказал своё влияние ризоагрин.

Итак, увеличение биомассы растительных организмов обусловлено штаммом микроорганизмов применяемого биопрепарата и особенностями сорта ячменя.

При внесении азотного удобрения под ячмень наблюдается подобный принцип произрастания сортов ячменя (таблица 2). Внесённые удобрения совместно с биопрепаратами разнопланово влияли на растения: у сорта Андрей наблюдалось увеличение всхожести семян, без изменений сорт Добрый и сорт Риск ответил снижением показателей.

Таблица 2 - Всхожесть разных сортов ячменя, %

Вариант	Сорт		
	Риск	Добрый	Андрей
1. РК – фон 1 (Ф1)	80	92	92
2. Ф1 + ризоагрин	90	95	93
3. Ф1 + флавобактерин	90	95	93
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	89	94	92
5. Ф2 + ризоагрин	85	96	95
6. Ф2 + флавобактерин	86	93	95

Р, % 2,5

НСР₀₅сорт 2,6

НСР₀₅удобрение 2,1

При недостатке атмосферных осадков во время прохождения растением фазы кущения масса растения накапливается в малых количествах. У ячменя также наблюдаются особенности его сотов. При проведении исследований было выяснено, что первый фон (Ф1) действовал на каждый сорт по-разному, хотя к фазе кущения у сорта Андрей биомасса

была немного меньше. Применение фосфорно - калийных удобрений в связке с ризоагрином не изменило показатели массы растений, а применение флавобактерина на их фоне содействовало её прибавлению [2] .

Внесение азотного удобрения очень эффективно сказалось на развитии растений всех сортов, то есть второй фон оказался мощнее фона один. Применение биопрепаратов в совокупности с азотным удобрением способно интенсивно воздействовать на рост растений (ризоагрин на сортах Риск и Андрей, для сорта Добрый – флавобактерин).

В фазу трубкования на фоне применения минеральных удобрений масса растений сортов Добрый и Риск одинакова, у сорта Андрей отмечается уменьшение массы. После применения азотного удобрения у всех растений различных сортов ячменя отмечается уверенное увеличение массы растений, что существенно отличается от показателей массы РК-фона. Применение флавобактерина на РК-фоне не изменило массу растений, только сорт Добрый ответил положительной динамикой на применение ризоагрина. В эту фазу на фоне внесения азотного удобрения ризоагрин прибавил массу сорту Андрей.

На формирование массы растений ячменя в фазу колошения действуют погодные явления. В эту фазу на РК-фоне масса всех растений примерно одинакова, только масса сорта Риск несколько меньше. С применением биопрепаратов на РК-фоне масса растений увеличилась. Однако внесение азотных удобрений в фазе колошения никак не повлияло на биомассу растений (таблица 3).

Формирование массы корней ячменя находится в зависимости от условий погоды в вегетационный период, применения удобрений и биопрепаратов, не стоит обходить вниманием и особенности сорта растения. Масса корней сорта Добрый чуть больше аналогичного показателя сортов Риск и Андрей [5] .

Таблица 3 - Масса растений ячменя под влиянием инокуляции и азотного питания, г/м²

Вариант	Сорт		
	Риск	Добрый	Андрей
Фаза кущения			
1. РК – фон 1 (Ф1)	43,0	43,5	39,5
2. Ф1 + ризоагрин	43,7	43,0	39,0
3. Ф1 + флавобактерин	47,3	44,7	39,8
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	50,7	53,2	45,0
5. Ф2 + ризоагрин	57,3	55,8	51,5
6. Ф2 + флавобактерин	53,0	60,0	45,8
Фаза выхода в трубку			
1. РК – фон 1 (Ф1)	307	310	258
2. Ф1 + ризоагрин	298	365	247
3. Ф1 + флавобактерин	290	295	257
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	337	342	290
5. Ф2 + ризоагрин	302	327	335
6. Ф2 + флавобактерин	305	340	302
Фаза колошения			
1. РК – фон 1 (Ф1)	578	598	615
2. Ф1 + ризоагрин	722	710	668
3. Ф1 + флавобактерин	725	673	615
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	780	758	695
5. Ф2 + ризоагрин	730	770	630
6. Ф2 + флавобактерин	730	740	715

Отмечено, что при улучшении минерального питания в совокупности с атмосферными осадками, происходит увеличение массы корней всех сортов ячменя.

При подведении итогов экспериментов, стало ясно, что биопрепараты ризоагрин и флавобактерин благоприятно воздействовали на сорт Риск, увеличивая массу его корней, у других сортов этого не отмечалось. Развитие мощной корневой системы обусловлено применением минеральных удобрений для всех сортов ячменя в сравнении с РК-фоном. Только сорт Андрей отреагировал увеличением корневой системы на применение биопрепаратов (таблица 4).

Таблица 4 - Масса корней ячменя под влиянием инокуляции и условий минерального питания на, г/м²

Вариант	Риск	Добрый	Андрей
1. РК – фон 1 (Ф1)	137	188	165
2. Ф1 + ризоагрин	195	178	160
3. Ф1 + флавобактерин	178	175	173
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	185	212	178
5. Ф2 + ризоагрин	188	190	222
6. Ф2 + флавобактерин	197	212	195

По данным В. И. Кирюшина, во время фаз вегетации в растениях ячменя накапливается азот, что характеризует условия экологии, при которых возделывается культура [18]. Содержанию азота в растениях способствует внесение азотных удобрений и обработка семян биопрепаратами.

Сорт Андрей характерен тем, что в фазу кущения и фазу трубкования без обработки семян и внесения азотных удобрений, количество накапливаемого азота было небольшим. При обработке семян всех сортов биопрепаратами у сорта Андрей отмечалось незначительное увеличение азота, тогда как сорта Риск и Добрый ответили накоплением азота. На фоне внесенного азотного удобрения с применением биопрепаратов у сорта Андрей возросло накопление азота, а на другие сорта влияние этого приёма оказано не было.

На РК-фоне во время фазы трубкования растений ячменя применяемые ризоагрин и флавобактерин действовали следующим образом: у сорта Риск не изменялось количество накопленного азота, явное увеличение наблюдалось у сорта Добрый, сорт Андрей ответил увеличением количества азота только на применение ризоагрина. При применении азотных удобрений у всех сортов ячменя было отмечено повышение количества азота [7].

Обработка семян ризоагрином и флавобактерином на фоне применённых азотных удобрений никаким образом не повлияла на накопление азота растениями. Растения всех сортов, обработанные биопрепаратами, во время фазы колошения отличаются большим накоплением азота, чем на РК-фоне. Однако внесение азотных удобрений даёт увеличение азота только у сорта Добрый, на фоне применения ризоагрина (таблица 5).

Опытным путём установлено, что эффективное применение биопрепаратов для ячменя обеспечивается внесением азотных удобрений, погодными условиями во время вегетативного периода и условиями почвы [27]. На урожайность ячменя, посеянного в светло-серую лесную почву оказывают влияния погодные изменения (22-27%), большая роль отводится азотным удобрениям (32,5%), хотя при недостатке осадков показатели снижались. Однако, недостаток влаги лучше сказывался на действии биопрепаратов, они становились активнее (13%), такая же доля принадлежит и характерным чертам сортов ячменя.

На продуктивность ячменя слабо влияют его сортовые особенности. Погодные условия, которые сопровождают вегетационный период, значительно способствуют повышению урожайности, то есть сбор зерна в 1,5-2 раза выше при оптимальной погоде, чем во время недостатка влаги. В меньшей зависимости от погодных колебаний находится сорт Риск, его урожайность снижается в 1,50-1,65 раз, у сортов Андрей и Добрый в 1,85-1,95 раз и 1,94-2,04 раза соответственно.

Таблица 5 - Динамика накопления азота сортами ячменя в зависимости от инокуляции и азотного удобрения, г/м²

Вариант	Сорт		
	Риск	Добрый	Андрей
Кущение			
1. РК – фон 1 (Ф1)	1,35	1,27	1,17
2. Ф1 + ризоагрин	1,47	1,68	1,30
3. Ф1 + флавобактерин	1,80	1,65	1,25
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	1,83	2,40	1,53
5. Ф2 + ризоагрин	2,35	2,22	2,07
6. Ф2 + флавобактерин	2,02	2,40	1,78
Выход в трубку			
1. РК – фон 1 (Ф1)	7,42	6,98	5,30
2. Ф1 + ризоагрин	7,27	8,83	6,17
3. Ф1 + флавобактерин	7,15	7,80	5,63
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	8,83	8,42	7,20
5. Ф2 + ризоагрин	7,78	8,78	7,35
6. Ф2 + флавобактерин	8,45	8,73	7,12
Колошение			
1. РК – фон 1 (Ф1)	10,02	11,47	10,35
2. Ф1 + ризоагрин	13,20	13,30	12,52
3. Ф1 + флавобактерин	11,95	13,45	11,68
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	13,50	14,02	11,88
5. Ф2 + ризоагрин	13,05	15,73	11,78
6. Ф2 + флавобактерин	13,63	15,12	14,10

Действие ризоагрина эффективно при оптимальных погодных условиях, применении минеральных удобрений и учёте особенностей сорта растений ячменя [21]. При применении ризоагрина в условиях недостатка влаги на фоне РК сорта Риск и Андрей дали незначительную прибавку (20%), однако у сорта Добрый 71%. В период оптимального увлажнения сорт Риск максимально прибавил урожайность, у сортов Добрый и Андрей увеличение незначительное. В засушливых условиях на фоне применения ризоагрина только у сорта Андрей отмечалась прибавка урожая.

Действие флавобактерина на РК-фоне в отношении сорта Риск обеспечило повышение урожайности на 30%, без учёта влияния погодных условий. Однако, на фоне внесения азотных удобрений обработка флавобактерином дала эффект в приросте урожая в год, когда наблюдалось уменьшение количества осадков. Применение флавобактерина в период неблагоприятных погодных условий периода вегетации на фоне внесения азотных удобрений положительно сказалось на сорте Добрый. У этого же сорта ячменя при инокуляции флавобактерином наблюдалось увеличение урожайности на 25% по отношению к РК-фону [14].

Сорт Андрей отреагировал на обработку флавобактерином увеличением урожайности, но только на РК-фоне, что соответствовало показателям по внесению азотных удобрений (таблица 6).

Сортовые особенности ячменя влияют на количество азота в растении. Максимальное содержание накопленного азота отмечается у сорта Риск. При внесении дозы N_{30} отмечается повышение содержания азота у сортов Риск, Добрый и Андрей на 0,74%, 0,17% и 0,23% соответственно.

Обработка семян ячменя ризоагрином на фоне РК увеличивает концентрацию азота в сорте Риск на 13%. На повышение содержания азота в сорте Андрей на 13-18% повлияла обработка и ризоагрином и флавобактерином. Незначительное изменение количества азота в зерне сортов Риск и Добрый наблюдалось при применении биопрепаратов в

сочетании с азотным удобрением, однако флавобактерин способствовал увеличению числа азота у растений сорта Андрей (таблица 7).

Таблица 6 - Урожайность сортов ячменя под влиянием бактериальных препаратов, г/м²

Вариант	1 год	2 год	3 год	Средняя
Риск				
1. РК – фон 1 (Ф1)	460	522	435	473
2. Ф1 + ризоагрин	547	875	442	620
3. Ф1 + флавобактерин	547	753	553	617
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	588	1015	475	693
5. Ф2 + ризоагрин	602	915	507	675
6. Ф2 + флавобактерин	558	860	585	667
Добрый				
1. РК – фон 1 (Ф1)	312	715	435	488
2. Ф1 + ризоагрин	535	955	455	647
3. Ф1 + флавобактерин	435	860	535	610
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	390	983	473	615
5. Ф2 + ризоагрин	480	1073	488	680
6. Ф2 + флавобактерин	563	953	468	661
Андрей				
1. РК – фон 1 (Ф1)	400	610	385	465
2. Ф1 + ризоагрин	480	753	450	560
3. Ф1 + флавобактерин	563	760	450	590
4. N ₃₀ РК – фон 2 (Ф2)	370	955	483	598
5. Ф2 + ризоагрин	385	917	460	590
6. Ф2 + флавобактерин	358	993	463	605
Р, %	4,8	3,7	3,6	4,4
НСР _{0,5}	105	162	130	78

Таблица 7 - Содержание азота, % на сухое вещество

Вариант	1 год	2 год	3 год	Средняя
Риск				
1. РК – фон 1 (Ф1)	1,49	1,70	2,06	1,75
2. Ф1 + ризоагрин	1,80	1,96	2,15	1,97
3. Ф1 + флавобактерин	1,50	1,80	1386	1,72
4. N30PK – фон 2 (Ф2)	1,60	1,76	2,51	1,96
5. Ф2 + ризоагрин	2,05	1,76	2,27	2,03
6. Ф2 + флавобактерин	2,31	1,84	1,98	2,04
Добрый				
1. РК – фон 1 (Ф1)	1,62	1,68	1,80	1,70
2. Ф1 + ризоагрин	1,40	1,63	2,29	1,77
3. Ф1 + флавобактерин	1,37	1,78	2,05	1,73
4. N30PK – фон 2 (Ф2)	1,75	1,71	2,15	1,87
5. Ф2 + ризоагрин	1,47	1,74	2,13	1,78
6. Ф2 + флавобактерин	1,89	1,75	2,19	1,94
Андрей				
1. РК – фон 1 (Ф1)	1,20	1,71	1,85	1,59
2. Ф1 + ризоагрин	1,58	1,98	1,83	1,80
3. Ф1 + флавобактерин	1,75	2,00	1,89	1,88
4. N30PK – фон 2 (Ф2)	1,52	1,93	1,83	1,82
5. Ф2 + ризоагрин	1,68	1,95	2,02	1,88
6. Ф2 + флавобактерин	1,62	1,78	2,16	2,00

Таким образом, установлена закономерность реакции растений ячменя всех сортов на обработку семян биопрепаратами, которая имеет зависимость от погоды в период вегетации. Данных, говорящих о действии биопрепаратов на урожайность сортов ячменя немного [37,38], при этом в различных трудах была описана роль сортовых особенностей культуры в ассоциации микроорганизм – высшее растение [8,13].

3.2 Яровая пшеница

В результате проведения опыта с применением биопрепаратов в отношении разных сортов яровой пшеницы обнаружено, что каждый сорт растений реагирует по-своему [6]. По данным Л. В. Виноградовой, исследования проведены в Московской области на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве [13]. Биомасса растений, как показал опыт, формировалась при благоприятных климатических условиях, достаточном минеральном питании и при влиянии особенностей каждого сорта растений. Например, накопление биомассы у сорта Иргина шло интенсивнее, чем у сорта Приокская. Однако Приокская пшеница лучше отвечает на использование удобрений, которые в увеличенной дозе способствуют наращиванию биомассы. В начальные сроки вегетации, а так же в фазу трубкования, засуха отражалась на количестве биомассы сортов Иргина и Приокская. В меньшей степени влияние засухи отразилось на растениях в фазу цветения. К моменту наступления молочной спелости отсутствие влаги не имело большого значения. Отмечено, что фон, на котором применялись биопрепараты, влиял на формирование биомассы. А именно, РК-фон способствовал флавобактерину, а полное минеральное питание – ризоагнину. Поскольку фиксация азота в корнях интенсивна во время прохождения фазы цветения, зафиксировано, что применение биопрепаратов более результативно в этот период, чем в фазу трубкования. Однако при повышении количества минеральных удобрений, отмечается сортовая разница по доле колосьев в урожае, а именно, у сорта Приокская она немного

уменьшалась; применение diaзотрофов во время прохождения фазы цветения не влияет на количество колосьев, сформированных растениями (таблица 8).

При наличии достаточного количества влаги отмечено, что вегетативные органы формируются интенсивнее, чем колосья. По РК-фону с дозами вносимого минерального азота в количествах 30, 60 и 90 кг/га было отмечено не только заметное повышение количества растений на единице площади, но и всхожесть семян.

По данным Л. А. Ежовой, исследовано применение diaзотрофов на светло-серой лесной почве [11], в отношении семян яровой пшеницы. Опыт показал, что всхожесть семян была изменена (таблица 9).

Таблица 8 – Доля колоса в общей биомассе, в фазу цветения, %

Вариант	Иргина				Приокская			
	1 год	2 год	3 год	сред- няя	1 год	2 год	3 год	сред- няя
1.РК – фон	24,3	27,8	26,9	26,3	26,3	27,9	28,6	27,6
2.РК + РА *	27,2	25,6	25,7	26,2	25,6	26,3	27,9	26,6
3.РК + ФБ*	25,8	26,4	25,2	25,8	27,0	25,4	26,35	26,3
4.N30РК	23,3	25,1	26,3	26,0	26,8	27,2	27,5	27,2
5.N30РК + РА	24,5	27,3	26,3	24,9	24,4	27,3	28,4	26,7
6.N30РК + ФБ	22,3	24,6	23,9	23,6	24,3	23,0	25,6	24,3
7.N60РК	18,2	25,8	24,1	22,7	25,8	20,1	26,7	24,2
8.N60РК + РА	24,0	26,3	25,2	25,2	26,9	24,3	29,1	26,8
9.N60РК + ФБ	26,2	24,7	27,0	26,0	25,1	23,2	22,5	23,6
10.N90РК	-	23,5	26,2	24,9	24,3	21,5	26,7	24,2

Примечание: РА – ризоагрин, ФБ – флавобактерин

По данным П. Н. Семенова, проведенные исследования по применению препаратов на сортах яровой пшеницы в условиях дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы [36] выявили, что на количество азота

в растениях влияло наличие минеральных удобрений, климатические изменения в период вегетации, обработка семян диазотрофами. Во время фазы всходов и фазы цветения при дефиците влаги отмечается снижение количества азота в стеблях и листьях.

В периоды, характеризующиеся достаточным выпадением осадков, применение биопрепаратов благотворно влияло на увеличение числа азота в растениях яровой пшеницы.

При возрастании доз азотного удобрения, применяемого для сортов Иргина и Приокская, содержание азота увеличивалось, что отмечено во время прохождения всех фаз роста.

Принципиальным моментом является следующее: при примененных азотных удобрениях и препаратов в период фазы цветения вегетативные органы обогащались азотом больше, чем колосья. При применении препаратов в период фаз цветения яровой пшеницы, отмечается увеличение азота во всех органах растения, причем впечатляюще действовал флавобактерин. Под воздействием ризоагрина и особенно флавобактерина, содержание азота повышалось в колосе, в результате чего биомасса колосьев увеличилась [17].

*Таблица 9 - Содержание азота в биомассе яровой пшеницы
(% на воздушно – сухое вещество, фаза трубкования)*

Вариант	Иргина				Приокская			
	1 год	2 год	3 год	сред- няя	1 год	2 год	3 год	сред- няя
1.РК – фон	1,88	1,73	1,65	1,75	2,35	1,00	1,55	1,63
2.РК + РА	1,79	1,60	1,67	1,69	2,67	1,76	2,10	2,18
3.РК + ФБ	1,24	1,69	1,52	1,48	1,82	2,10	2,19	2,04
4.N ₃₀ РК	1,56	2,03	1,46	1,68	2,06	1,95	2,28	2,10
5.N ₃₀ РК + РА	-	2,19	1,90	2,04	2,11	2,31	2,15	2,19
6.N ₃₀ РК + ФБ	1,67	2,01	2,04	1,91	2,13	2,01	2,08	2,07

7.N ₆₀ PK	1,92	2,18	2,19	2,10	2,02	2,14	2,01	2,06
8.N ₆₀ PK + PA	2,12	2,46	2,35	2,31	2,05	2,23	2,35	2,21
9.N ₆₀ PK + ФБ	2,09	2,03	2,38	2,17	2,41	2,58	2,64	2,54
10.N ₉₀ PK	2,05	2,15	2,23	2,14	2,53	2,36	2,33	2,41

По данным Н. Х. Сергалиева, на встречающейся в Нечерноземной зоне дерново-подзолистой среднесуглинистой почве, проведен мелкоделяночный опыт для того, чтобы обозначить функцию растений, в процессе ассоциативной азотфиксации в отношении яровой пшеницы сортов Иргина и Приокская [16,37]. Для определения функции растений посевам были созданы условия с применением ФАВ (физиологически активные вещества). Применение их способствовало имитации периодов вегетации, когда образуются необходимые для ассоциативной азотофиксации выделения корневой системы, поскольку для этого процесса необходимо сотрудничество растения с микроорганизмом.

По данным Л. Д. Прусаковой, используемые ФАВ (кампозан-М, препарат эль-1, гумат натрия) [33], характеризуются многогранным действием на растения, стимулируют рост растений, препятствуют развитию болезней у растений, способны укорачивать и удлинять периоды вегетации. По данным В. С. Шевелухи, обработка проводилась гуматом натрия, эль-1 в начале, кампозаном-М в конце молочной спелости [40].

Урожайность сортов яровой пшеницы при применении ризоагрина на фоне отсутствия ФАВ увеличивалась, причем сорт Иргина прибавил больше чем Приокская; так же на этом фоне отмечено увеличение сбора соломы. По данным Т. М. Кандауровой и Л. С. Черновой, доля зерна в урожае стала больше, поскольку формирование и отток питательных веществ становится лучше [15]. На количество азота в зерне применение ризоагрина не оказало должного воздействия, однако чем выше урожайность, тем больше количество вынесенного урожаем азота и соломы относительно контрольного фона (таблица 10).

Таблица 10 - Урожайность яровой пшеницы

Вариант	Сбор зерна, г/м ²			Среднее за 2 года	
	1 год	2 год	средний	K _{хоз}	N в зерне, %
Иргина					
N ₆₀ PK – фон 1 (Ф1)	203	197	200	0,40	2,42
Ф1 + гумат натрия	297	365	331	0,51	2,56
Ф1 + эль – 1	184	182	183	0,33	2,63
Ф1 + кампозан	134	180	157	0,35	2,60
N ₆₀ PK + ризоагрин – фон 2 (Ф2)	387	372	380	0,46	2,42
Ф2 + гумат натрия	252	369	310	0,46	2,39
Ф2 + эль – 1	244	353	296	0,48	2,39
Ф2 + кампозан	142	158	150	0,35	2,42
Приокская					
N ₆₀ PK – фон 1 (Ф1)	257	263	260	0,42	2,25
Ф1 + гумат натрия	289	312	300	0,44	2,30
Ф1 + эль – 1	325	280	302	0,46	2,29
Ф1 + кампозан	301	268	284	0,42	2,17
N ₆₀ PK + ризоагрин – фон 2 (Ф2)	276	290	283	0,46	2,11
Ф2 + гумат натрия	260	295	278	0,38	2,18
Ф2 + эль – 1	245	264	254	0,44	2,14
Ф2 + кампозан	277	315	296	0,46	2,13
P%	3,0	0,8	2,0		
HCP ₀₅ сорт	6	2	4		
HCP ₀₅ фон питания	7	2	4		
HCP ₀₅ ФАВ	8	3	5		

3.3 Озимая пшеница

По данным Т. А. Рутор, применение биопрепаратов в Краснодарском крае в условиях выщелоченного чернозема [35] оказало благоприятное действие на озимую пшеницу. Действие ризоагрина и флавобактерина на РК – фоне N_{40} выражается увеличением биомассы растений, образованием крупных листьев, при внесении азотных удобрений в количестве 80 кг/га в сочетании с препаратами подобных изменений не зафиксировано.

По данным П. Н. Семенова, озимая пшеница, выращенная на дерново – подзолистой легкосуглинистой почве [36] в условиях минерального питания, обеспечена компонентами минеральных веществ [25]. При прохождении фазы кущения с внесением азотного удобрения количество азота возрастало с 3,46 до 3,64-3,80%, применении препаратов не оказало никакого действия.

В результате внесения азотного удобрения, с применением возрастающих его доз, в процессе фазы трубкования отмечено увеличение количества азота. Обработка биопрепаратами на фоне РК и при внесении 30 кг/га азотных удобрений показала одинаковый результат в этой фазе; применение полного минерального удобрения в сочетании с биопрепаратами обеспечили устойчивое прибавление количества азота в растениях.

Во время прохождения фазы колошения на РК-фоне обработка семян ризоагрином и флавобактерином, так же при внесении азотного удобрения (N_{30}) и при внесении полного минерального удобрения отмечается тенденция увеличения количества азота в растениях. При увеличении доз азотного удобрения происходит прибавление азота в растениях.

Содержание фосфора в растениях не связано с применением удобрений и биопрепаратов. P_2O_5 увеличивался в растениях в фазы кущения, трубкования, колошения на 0,93-1%; 0,75-0,83%; 0,54-0,60% соответственно.

Содержание калия в растениях не зависит от минерального питания растений, однако при применении фосфорно-калийного удобрения отмечается робкая попытка увеличения калия. Растениями было

аккумулировано K_2O в фазы кущения, трубкования, колошения 3,42-3,70%; 2,90-3,24% и 1,50-1,68% соответственно (таблица 11).

Таблица 11 – Содержание элементов питания в растениях озимой пшеницы в период вегетации, % на воздушно-сухое вещество

Вариант	Кущение			Трубкавание			Колошение		
	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O	N	P_2O_5	K_2O
1.Без удобрений	3,29	0,93	3,42	2,01	0,75	3,42	1,07	0,54	1,50
2. $P_{45}K_{60}$ – фон 1	3,46	0,99	3,56	2,06	0,78	3,56	1,11	0,57	1,60
3.Ф1 + ризоагрин	3,55	0,97	3,64	2,14	0,79	3,64	1,26	0,59	1,60
4.Ф1 + флавобактерин	3,24	0,97	3,66	2,16	0,80	3,66	1,19	0,56	1,60
5.Ф1 + ризоагрин + флавобактерин	3,58	0,96	3,58	2,10	0,80	3,58	1,19	0,55	1,57
6. $N_{30}P_{45}K_{60}$ – фон 2	3,64	0,97	3,67	2,18	0,78	3,67	1,23	0,56	1,61
7.Ф2 + ризоагрин	3,62	1,00	3,70	2,32	0,81	3,70	1,34	0,60	1,64
8.Ф2 + флавобактерин	3,62	0,97	3,64	2,35	0,82	3,64	1,34	0,58	1,66
9.Ф2 + ризоагрин + флавобактерин	3,62	0,97	3,63	2,39	0,81	3,63	1,32	0,58	1,66
10. $N_{30}P_{45}K_{60}$ + N_{30} весной	3,80	0,99	3,63	2,57	0,83	3,63	1,56	0,60	1,68

В России под посев озимой пшеницы отданы большие земельные площади. По статистическим данным П. Н. Семенова об урожайности озимой пшеницы высокая продуктивность на дерново-слабоподзолистой среднесуглинистой почве Республики Марий Эл обеспечена климатическими условиями во время прохождения вегетационного периода [36].

Продуктивность озимой пшеницы в разные годы варьировалась. В неблагоприятные периоды количество зерна изменялось незначительно. Использование фосфорно-калийных удобрений повлияло на увеличение

урожайности. Применение биопрепаратов незначительно повлияло на урожай. Внесение азотного удобрения не изменило текущих показателей.

Дальнейшее применение ризоагрина и флавобактерина на фоне азотных удобрений обеспечило прибавку урожая от 2,4 до 2,6 ц/га, при этом двойное прибавление дозы азотного удобрения обеспечило увеличение урожая на 3,5 ц/га.

В следующий год опыта погода складывалась неблагоприятным образом для растений озимой пшеницы, что сказалось на урожае (сбор от 15 до 20,5 ц/га). На фоне РК не отмечено увеличение урожая зерна. Посев же обработанными биопрепаратами семенами на РК-фоне дал увеличение урожайности 2,9-3,2 ц/га. При внесении полного минерального удобрения обработанные семена дали прибавку урожая от 3,0 до 3,3 ц/га; внесение азотного удобрения в дозе 60 кг/га обеспечило увеличение сбора зерна до 20,5 ц/га.

Дальнейшее наблюдение показало, что при наступлении необходимых климатических условий в период вегетации озимая пшеница ответила максимальным урожаем, который превысил предыдущие показатели. Обработка семян биопрепаратами на фоне $P_{45}K_{60}$ обеспечила повышение урожайности с 35,9 до 37,8-38,8 ц/га. Так же внесение азотного удобрения в дозе 30 кг/га увеличило урожай до 42,6 ц/га. То есть, при отсутствии дефицита влаги азотное удобрение в дозе 30 кг/га превосходит действие биопрепаратов на растения озимой пшеницы.

Самый высокий показатель урожайности зафиксирован на фоне применения полного минерального удобрения за счет обработки семян ризоагрином, флавобактерином и смесью биопрепаратов (46,2-46,8 ц/га).

Таким образом, действие биопрепаратов на продуктивность озимой пшеницы обеспечило дополнительный сбор 2,3-2,6 ц/га, что означает равнозначность действия препаратов. Применение биопрепаратов на фоне РК, на фоне азотного удобрения дает прибавку урожайности, что доказывает их эффективность (таблица 12).

*Таблица 12 – Влияние удобрений и биопрепаратов на урожайность
зерна озимой пшеницы, ц/га*

Вариант	1 год	2 год	3 год	Средняя
1.Без удобрений	14,6	15,0	35,1	21,5
2.Р ₄₅ К ₆₀ – фон 1	15,8	16,0	35,9	22,6
3.Ф1 + ризоагрин	18,1	18,9	37,8	25,0
4.Ф1 + флавобактерин	17,8	19,0	37,8	24,9
5.Ф1 + ризоагрин + флавобактерин	18,0	19,2	38,5	25,2
6.Н ₃₀ Р ₄₅ К ₆₀ – фон 2	16,8	16,2	42,6	25,2
7.Ф2 + ризоагрин	19,2	19,3	46,2	28,2
8.Ф2 + флавобактерин	19,4	19,2	46,8	28,5
9.Ф2 + ризоагрин + флавобактерин	19,6	19,5	46,8	28,6
10.Н ₃₀ Р ₄₅ К ₆₀ + Н ₃₀ весной	20,3	20,5	49,2	30,0

Р, %	2,4	3,2	1,5	1,2
НСР ₀₅	1,2	1,7	1,8	0,8

Изменение количества зерен в колосе зависит от преобразования состояния минерального питания. Обработка семян биопрепаратами на фоне отсутствия азотных удобрений повышает количество зерен в колосе на 0,1-0,3 штуки, при этом внесение N₃₀ на число зерен не влияет. На фоне применения как полного минерального, так и азотного удобрения за счет обработки биопрепаратами прослеживается тенденция прибавления зерен в колосе. Из чего можно заключить, что микроорганизмы биопрепаратов содействуют повышению озерненности колоса [19].

По данным А. Н. Павлова величина массы 1000 зерен, которая увеличивается при благоприятных условиях жизни, связана с урожайностью растений [30].

При достаточном количестве влаги комплектуется самая большая масса 1000 зерен, а самая малая при дефиците влаги. Применение фонов РК и азотного удобрения дает увеличение массы с 41,5 до 42,2 г, применение биопрепаратов на том же фоне повысило массу на 1,1-1,3 г., более значительное увеличение массы отмечено на фоне полного минерального удобрения с применением ризоагрина и флавобактерина [20]. Таким образом, использование биопрепаратов положительно влияет на массу 1000 зерен.

Содержание сырого белка, сырой клейковины и ее деформация – являются основными критериями оценки качества зерна озимой пшеницы. Сырой белок накапливается в зерне в период его налива в условиях недостатка влаги и повышенных температур.

В соответствии с ГОСТ 9353-90 по количеству содержания сырой клейковины зерно делится на шесть групп. Высшее качество зерна характеризует более 36% присутствия клейковины, при количестве клейковины менее 18% зерно по качеству относят к 4 и 5 группам. Содержание сырой клейковины в зерне зависит от погоды в период налива зерна, то есть максимум клейковины образуется в условиях дефицита влаги, малое ее количество отмечено при увеличении урожайности и влажности.

На протяжении всего периода исследований было выявлено положительное действие минеральных удобрений и ризосферных диазотрофов на количество в зерне сырой клейковины. Например, на фоне без азотных удобрений биопрепараты обеспечили стремление к повышению количества сырой клейковины в зерне. Внесение азотного удобрения, а так же в сочетании с применением биопрепаратов содействовало повышению количества сырой клейковины в зерне (таблица 13).

Таблица 13 – Влияние бактериальных препаратов качество зерна

Вариант	Сырая клейковина, %				Показатель ИДК, ед.			
	1 год	2 год	3 год	Сред.	1 год	2 год	3 год	Сред
1.Без удобрений	21,6	23,0	14,0	19,5	70	87	40	66
2.Р ₄₅ К ₆₀ – фон 1	21,7	23,3	14,0	19,6	75	75	40	63
3.Ф1 + ризоагрин	22,6	26,0	14,0	20,9	75	87	40	67
4.Ф1 + флавобактерин	22,5	25,2	15,0	20,9	63	85	40	63
5.Ф1 + ризоагрин + флавобактерин	22,8	26,0	14,0	20,9	68	85	40	64
6.Н ₃₀ Р ₄₅ К ₆₀ – фон 2	22,8	25,5	16,0	21,4	60	90	40	63
7.Ф2 + ризоагрин	24,0	26,6	16,0	22,2	75	77	40	64
8.Ф2 + флавобактерин	24,5	26,8	16,0	22,4	75	75	40	63
9.Ф2 + ризоагрин + флавобактерин	24,1	26,9	16,0	22,3	78	80	40	66
10.Н ₃₀ Р ₄₅ К ₆₀ + Н ₃₀ весной	23,9	28,5	16,0	22,6	63	77	40	60

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе системного анализа данных литературы изучена роль бактериальных организмов в трансформации азота и физиологические основы формирования ризобияльной и ризосферной азотфиксации, а также показатели, характеризующие эффективность использования бактериальных препаратов в сельскохозяйственном производстве. Определено влияние инокуляции на формирование биомассы, рост и развитие корневой системы и листовой поверхности сельскохозяйственных растений. Показан вклад биопрепаратов в улучшение минерального питания растений. Установлено влияние бактериальных препаратов на урожайность и качество продукции зерновых культур.

На основе проведенного исследования можно заключить, что использование бактериальных препаратов в разных почвенно-климатических условиях регионов России во многом определяется условиями температуры, влагообеспеченности и минерального фона питания растений. Эффективность ассоциации «бактерии-растения» значительно выше в годы с благоприятными гидротермическими условиями. Однако возможность использования бактериальных препаратов с экологической точки зрения и хозяйственной целесообразности, делает возможным применение данной технологии при выращивании зерновых культур.

Представленные в работе данные, раскрывающие механизмы взаимодействия растений и микроорганизмов, их влияния на физиологию роста и минеральное питание растений, а также формирование величины и качества урожая зерновых культур, могут быть использованы как справочные и учебные материалы при изучении дисциплин «Физиология растений», «Сельское хозяйство с основами почвоведения» при подготовке бакалавров по направлениям 44.03.05 Педагогическое образование профили «Биология. Химия» и 06.03.01 Биология.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Базилинская М.В. Использование биологического азота в земледелии. Обзорная информация. М., 1985. 55с.
2. Байрамов Л.Э. Азотное питание и продуктивность ячменя при использовании биопрепаратов: Автореф. дис... канд. биол. наук. М.: ВИУА, 2000. 25с.
3. Берестецкий О.А., Васюк Л.Ф. Азотфиксирующая активность в ризосфере и на корнях небобовых растений // Известия АН СССР Сер. Биол. 1983. №6. С. 1-44.
4. Васюк Л.Ф. Ассоциативные азотфиксаторы и условия их эффективного применения // Бюллетень ВНИИСХМ. Л., 1985. №42. С. 16-19.
5. Ваулин А.В., Никулина Л.В. Роль инокуляции семян ячменя азотфиксирующими diaзотрофами // Бюллетень ВИУА №110. М., 1998г. С.7.
6. Виноградова Л.В. Роль ассоциативных diaзотрофов в формировании урожая сортов яровой пшеницы. Автореф. дисс... канд. биол. наук. М., 1999. С. 17.
7. Волков Е.Г. Влияние биопрепаратов и азотного удобрения на урожайность и качество зерна озимой ржи и ячменя на дерново-слабоподзолистой среднесуглинистой почве. Автореферат дис... канд. с.-х. наук. М.: НИИСХ ЦНРЗ. 2003. 17 с.
8. Гамзикова О.И. Генетика агрохимических признаков пшеницы. Новосибирск, 1994. 220с.
9. Герцуский Д.Ф. Анатомо-морфологические признаки и генотипическая отзывчивость растений на азотные удобрения // Труды ВИУА «Физиологические основы действия удобрений на урожай зерна и его качество». М., 1990. С. 93-118.
10. Громов Б.В., Павленко Г.В. Экология бактерий. Л.: Изд-во ЛГУ. 1989. 246с.

11. Ежова Л.А. Формирование продуктивности посевов яровой пшеницы в зависимости от уровня азотного питания и ассоциативных азотфиксаторов в условиях светло-серых лесных почв Юго-Востока Нечерноземья: Автореф. дис... канд. с.-х. наук. Балашиха: РГАЗУ, 2001. 19с.
12. Емцев В.Т., Чумаков М.И. Об эффективности азотфиксирующего ассоциативного симбиоза у небобовых растений // Почвоведение. 1990. №11. С.116-126.
13. Завалин А.А., Виноградова Л.В. Влияние ассоциативных diaзотрофов на формирование урожая сортов яровой пшеницы // Агрохимия. 2000. №10. С. 38-44.
14. Завалин А.А., Духанина Т.М., Хусайнов Х.А. и др. Действие удобрений и биопрепаратов на продуктивность сортов ячменя // Агрохимия. 2003. №1. С. 30-37.
15. Завалин А.А., Кандаурова Т.М., Чернова Л.С. Влияние препаратов азотфиксирующих микроорганизмов на продуктивность яровой пшеницы // Агрохимия. 1997. №3. С. 33-40.
16. Завалин А.А., Сергалиев Н.Х. Влияние условий азотного питания и физиологически активных веществ на формирование величины и качества урожая зерна яровой пшеницы // Агрохимия. 2000. №1. С. 23-29.
17. Кандаурова Т.М. Роль азотфиксаторов в перераспределении азота между вегетативными и репродуктивными органами яровой пшеницы // Бюлл. ВИУА №110. М., 1997. С 13-14.
18. Кирюшин В.И., Южаков А.И., Ткаченко Г.И. и др. Режим азота в почвах Сибири и диагностика обеспеченности им растений // Плодородие почв и питание растений. Новосибирск, 1986. С. 4-25.
19. Кожемяков А.П., Доросинский Л.М. Эффективность использования препаратов азотфиксирующих микроорганизмов в сельском хозяйстве // Труды ВНИИСХ микробиологии. Т.59. Л., 1989. С. 5-13.

20. Кожемяков А.П., Хотянович А.В. Перспективы применения биопрепаратов ассоциативных азотфиксирующих микроорганизмов в сельском хозяйстве // Бюлл. ВИУА №110.1997. С. 4-5.
21. Куренкова С.В., Табаленкова Г.Н. Влияние ризоагрина на рост и продуктивность ячменя // Агрохимия. 2004. №3. С.25-32.
22. Лукомская К.А. Микробиология с основами вирусологии. М.: Просвещение, 1987. 190с.
23. Мишустин Е.Н. Круговорот азота и его соединений в природе // Роль микроорганизмов в круговороте газов в природе. М.: Наука, 1979. С. 68-92.
24. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. М.: Колос, 1970. 344с.
25. Мосолов И.В. Физиологические основы применения минеральных удобрений. М.: Колос, 1979. 255с.
26. Нетрусов А.И. Микробиология. Университетский курс: учебник. М.: Академия, 2012. 383с.
27. Ницэ Л.К. Микробиологическая активность почвы в условиях адаптивного земледелия: Автореф. дис... докт. биол. наук. М.: МСХА, 1995. 48с.
28. Осипов А.И., Соколов О.А. Экологическая безопасность и устойчивое развитие. Книга 4. Роль азота в плодородии почв и питании растений. С-Пб., 2001. 360с.
29. Оценка эффективности микробных препаратов в земледелии / Под ред. Завалина А.А. М.: Россельхозакадемия, 2000. 82с.
30. Павлов А.Н. Повышение содержания белка в зерне. М.: Наука, 1984. 119с.
31. Патыка В.Ф., Калининченко А.В., Колмаз М.В., Кислухина М.В. Роль азотфиксирующих микроорганизмов в повышении продуктивности сельскохозяйственных растений // Микробиологический журнал. 1997. Том 59. №4. С. 3-14.
32. Посыпанов Г.С. Биологический азот: проблемы экологии и растительного белка. М.: Изд-во МСХА, 1993г. 268с.

33. Прусакова Л.Д., Чиждова С.И., Нугуманова Н.И. Ускорение созреваия зерновых культур с помощью регуляторов роста // Сельскохозяйственная биология. 1985. №5. С. 115-117.
34. Родынюк И. С. Биологическая фиксация азота. Новосибирск. Наука, 1991. С. 142.
35. Рутор Т.А. Продуктивность озимой пшеницы в зависимости от уровня минерального питания и использования биологического азота на выщелоченном черноземе Краснодарского края : Автореф. дис... канд. с.-х. наук. Краснодар: КубГАУ, 1999. 25с.
36. Семенов П.Н. Влияние биопрепаратов и азотного удобрения на урожайность и качество зерна озимой пшеницы и озимой тритикале на агро-дерново-слабоподзолистой среднесуглинистой почве: Автореф. дис... канд. с.-х. наук.М.: НИИСХ ЦРНЗ, 1997. 20с.
37. Сергалиев Н.Х. Влияние условий азотного питания и физиологически активных веществ на формирование величины и качества урожая зерна яровой пшеницы: Автореф. дис...канд. биол. наук. М.: ВИУА, 1998. 17с.
38. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация. М.: МГУ, 1986. 136с.
39. Шабает В.П. Роль биологического азота в системе «почва-растения» при внесении ризосферных микроорганизмов: Автореф. дис... докт. биол. наук. М.: МГУ, 2004. 46с.
40. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. М.: Колос, 1992. 594с.

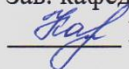
МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки
06.04.01 Биология
Магистерская программа «Физиология растений»

Утверждаю:
Зав. кафедрой
 Г.А. Карпова

« 5 » декабря 20 18

Задание

По ВКР студента: Шульпиной Любови Валерьевны

Тема работы: «Физиологические основы повышения урожайности сельскохозяйственных культур под воздействием бактериальных препаратов»

Утверждена приказом по Университету от «28» ноября 201 8 г. № 1036/0

Срок сдачи студентом законченной работы «26» мая 20 20 г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВКР

№ п/п	Перечень подлежащих разработке вопросов:	Сроки выполнения этапов	Примечания
1.	Определение цели, задач и предмета исследования по теме магистерской диссертации.	Декабрь 2018-январь 2019	<i>выполнено</i>
2.	Анализ учебной, научной, справочной литературы по теме: «Физиологические основы повышения урожайности сельскохозяйственных культур под воздействием бактериальных препаратов».	Февраль 2018-апрель 2019	<i>выполнено</i>
3.	Изучение методов экспериментального исследования, материалов исследования. Изучение особенностей ассоциативной азотфиксации.	Май-август 2019	<i>выполнено</i>
4.	Проведение экспериментальных и аналитических исследований влияния бактериальных препаратов на ростовые, физиологические процессы и продуктивность сельскохозяйственных культур.	Сентябрь 2019-апрель 2020	<i>выполнено</i>
5.	Оформление результатов исследования.	Май 2020	<i>выполнено</i>

Дата выдачи задания « 5 » декабря 2018 г.

Руководитель: *Тимошкин* О.А. Тимошкин

Задание принял к исполнению *Шульгина*

ОТЗЫВ
РУКОВОДИТЕЛЯ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Тема выпускной квалификационной работы «Физиологические основы повышения урожайности сельскохозяйственных культур под воздействием бактериальных препаратов»

Автор (студент/ка) Шульпина Любовь Валерьевна

Факультет физико-математических и естественных наук

Кафедра «Общая биология и биохимия»»

Группа 18 ФБм4

Направление подготовки 06.04.01 Биология

Магистерская программа Физиология растений

Руководитель Тимошкин Олег Алексеевич, д.с.-х.н., профессор кафедры ОБиБ

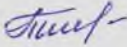
Показатели оценки выпускной квалификационной работы

Показатель оценивания	Критерии			
	Отлично	Хорошо	Удовлетв.	Неудовл.
Актуальность и обоснование выбора темы	+			
Логика работы, полнота и соответствие теме	+			
Уровень владения предметными знаниями		+		
Самостоятельность	+			
Достоверность выводов	+			
Оформление ВКР	+			
Качество подготовленного доклада	+			
Литература		+		
Возможность внедрения	+			
Общая оценка	отлично			

Отмеченные достоинства: магистрант проявил высокую степень самостоятельности при работе над диссертацией, проработан достаточный теоретический материал по изучаемому вопросу, работа отличается логичностью изложения, научностью.

Отмеченные недостатки: значительных недостатков не отмечено

Заключение: Работа выпускника магистратуры полностью соответствует требованиям ФГОС, предъявляемым к уровню подготовки соискателя степени магистра.

Руководитель: 

« 9 » июня 2020 г.

РЕЦЕНЗИЯ

на магистерскую диссертацию

Рецензент – Карпова Лидия Васильевна
доктор с.-х. наук, профессор кафедры «Селекция, семеноводство и биология
растений» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный аграрный универси-
тет»

Соискатель степени магистра – студент Шульпина Любовь Валерьевна
представил на рецензию магистерскую диссертацию на тему:
«Физиологические основы повышения урожайности сельскохозяйственных
культур под воздействием бактериальных препаратов»
объемом 69 стр. (А-4), выполненную на кафедре «Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.04.01 Биология
Магистерская программа Физиология растений

1. Анализ существа и основных положений магистерской диссертации

Невозможность создания идеальных условий для произрастания сельскохозяйственных культур, требует поиска и внедрение в технологию их возделывания различных приемов активизации физиологических процессов, способствующих повышению урожайности. Исследования в области ассоциативной азотфиксации и ее влияние на продуктивность зерновых культур проводились в различных регионах нашей страны и за рубежом. Сведения весьма разноплановы. Системный анализ литературных данных в этой области с целью объективности оценки применяемых технологий в сельскохозяйственном производстве весьма актуален.

В работе автором приведены данные по влиянию ризоагрина и флаво-бактерина на культуры, имеющие первостепенное значение в сельскохозяйственном производстве. Показано влияние инокуляции на формирование биомассы, рост и развитие вегетативных органов растений, вклад биопрепаратов в улучшение минерального питания, урожайность и качество получаемой продукции. Грамотное построение структуры работы и изложение материала делает возможным ее использование в учебном процессе, что важно с практической точки зрения.

2. Основные выводы по магистерской диссертации:

Работа выполнена на достаточном научном уровне, хорошо иллюстрирована, изложена логично и грамотно. Работа выпускника магистратуры полностью соответствует требованиям ФГОС, предъявляемым к уровню подготовки соискателя степени магистра.

Рассмотренная магистерская диссертация рекомендуется к защите в ГЭК на соискание академической квалификационной степени магистра по направлению 06.04.01 Биология

Рецензент

Л. Карпова



Личную подпись Карповой Л.В.
удостоверяю
Начальник управления кадров
Л.Е. Бычко

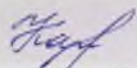


АНТИПЛАГИАТ
ТВОРИТЕ СОБСТВЕННЫМ УМОМ

Пензенский государственный
университет

СПРАВКА о результатах проверки текстового документа на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Шульпина Любовь Валерьевна
Подразделение	кафедра "Общая биология и биохимия"
Тип работы	Магистерская диссертация
Название работы	ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ
Название файла	Шульпина Магистерская.docx
Процент заимствования	25.05 %
Процент самоцитирования	0.00 %
Процент цитирования	5.65 %
Процент оригинальности	69.30 %
Дата проверки	13:02:21 09 июня 2020г.
Модули поиска	Модуль поиска ИПС "Адилет"; Модуль выделения библиографических записей; Сводная коллекция ЭБС; Модуль поиска "Интернет Плюс"; Коллекция РГБ; Цитирование; Модуль поиска переводных заимствований; Модуль поиска переводных заимствований по eLibrary (EnRu); Модуль поиска переводных заимствований по интернет (EnRu); Коллекция eLIBRARY.RU; Коллекция ГАРАНТ; Коллекция Медицина; Диссертации и авторефераты НББ; Модуль поиска перефразирований eLIBRARY.RU; Модуль поиска перефразирований Интернет; Коллекция Патенты; Модуль поиска "ПГУ"; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Кольцо вузов
Работу проверил	Карпова Галина Алексеевна ФИО проверяющего
Дата подписи	9 июня 2020 г.  Подпись проверяющего

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.