

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 Биохимия и молекулярная биология

Форма обучения очная

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

на тему:

«ВЛИЯНИЕ УДОБРЕНИЙ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ
AZOTOBACTER»

Студент



Аслаева Светлана Максимовна

Руководитель



Заплатин Б.П.

Рецензент



Невитов М.Н.

Нормоконтролер



Клыченков С.В.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 14.06.22 № 13)

Заведующий кафедрой



Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой хорошо

(протокол заседания ГЭК от 22.06.22 № 1)

Секретарь ГЭК



Клыченков С.В.

Пенза, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	5
1.1 Биологические свойства <i>Azotobacter</i>	5
1.1.1 Морфология рода <i>Azotobacter</i>	5
1.1.2 Физиологические и метаболические свойства азотобактера.....	8
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	12
2.1 Объекты и методика исследований.....	12
2.2 Характеристика взятых образцов почвы.....	16
2.3 Отбор почвенных проб для микробиологического анализа и требования к ней.....	25
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.....	28
3.1 Выделение и идентификация штамма азотобактер в почвенных образцах.....	28
3.2 Ростовая активность штаммов <i>Azotobacter chroococcum</i>	29
3.3 Агрохимические показатели почвы и содержание минеральных веществ в ней.....	29
3.4 Влияние минеральных элементов питания, содержащихся в почве, на штаммы <i>Azotobacter chroococcum</i>	31
3.5 Влияние удобрений, внесенных в почву, на штаммы <i>Azotobacter chroococcum</i>	36
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	56
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	Ошибки! Закладка не определена.

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе развития крайне актуальной является зеленая повестка, производство экологически чистых продуктов питания. В связи с этим, альтернативой внесению химических удобрений является использование естественной микрофлоры. При этом, вместе с отсутствием химических загрязнений, уменьшаются энергетические затраты в сельском хозяйстве и химической промышленности и, таким образом, уменьшаются издержки процесса производства, что в свою очередь, приводит к удешевлению продуктов питания для населения. Кроме того, именно экологически чистые продукты гарантированно являются максимально безопасными в аспекте здоровья человека.

Минимизация химического воздействия на почву обуславливает сохранность естественных физико-химических параметров почвы и сохранность почвенной биоты. А почва является тем базисом, на котором

зиждётся развитие всей биосферы в целом.

Azotobacter является свободно живущим микроорганизмом и поэтому может использоваться при возделывании любых сельскохозяйственных культур для обогащения почвы азотом естественным путём. В связи с этой особенностью, именно этот азотофиксатор часто используется в составе современных микробиологических удобрений.

Вместе с тем, на современном этапе развития сельского хозяйства, в большинстве случаев, мы наблюдаем традиционную систему земледелия – с максимальным использованием химических удобрений. Такая агротехника приводит к сокращению численности и разнообразия почвенной микрофлоры. При деградации почв страдает и крайне ценный, с точки

зрения полезности для сельского хозяйства, такой прокариот как *Azotobacter* [11].

Поэтому азотобактер вызывает наибольшее внимание в аспекте биологизации сельского хозяйства и требует расширения современных представлений о влиянии удобрений на жизнеспособность штаммов *Azotobacter* в агроценозах, что придает актуальность нашей работе.

Цель нашей работы — изучить действие удобрений на жизнеспособность штаммов *Azotobacter* в различных агроценозах Пензенской области.

Исходя из цели, нами были сформулированы следующие задачи:

1. Провести выделение и идентификацию различных штаммов азотобактера.
2. Выявить различия по ростовой активности выделенных штаммов азотобактера в нескольких агроценозах.

3. Определить содержание минеральных элементов в почве агроценозов;
4. Изучить влияние минеральных элементов почвы на штаммы азотобактера;

5. Изучить влияние удобрений на жизнеспособность штаммов азотобактера, выделенных из различных агроценозов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Биологические свойства *Azotobacter*

1.1.1 Морфология рода *Azotobacter*

В почвах обитают различные бактерии, один из которых азотобактер, который помогает перерабатывать газообразный азот в усвояемую для растений форму.

Этот род относится к грамотрицательным бактериям, обитающим в нейтральных и щелочных почвах. Эти бактерии играют большую роль в природе. Они связывают атмосферный азот и образуют ионы аммония, тем самым, накапливая азот в почвах и помогают растениям.

В 1901 году Мартин Бейеринк описал *Azotobacter chroococcum*typus.

По современной классификации в это род входят шесть видов азотобактера (табл. 1)

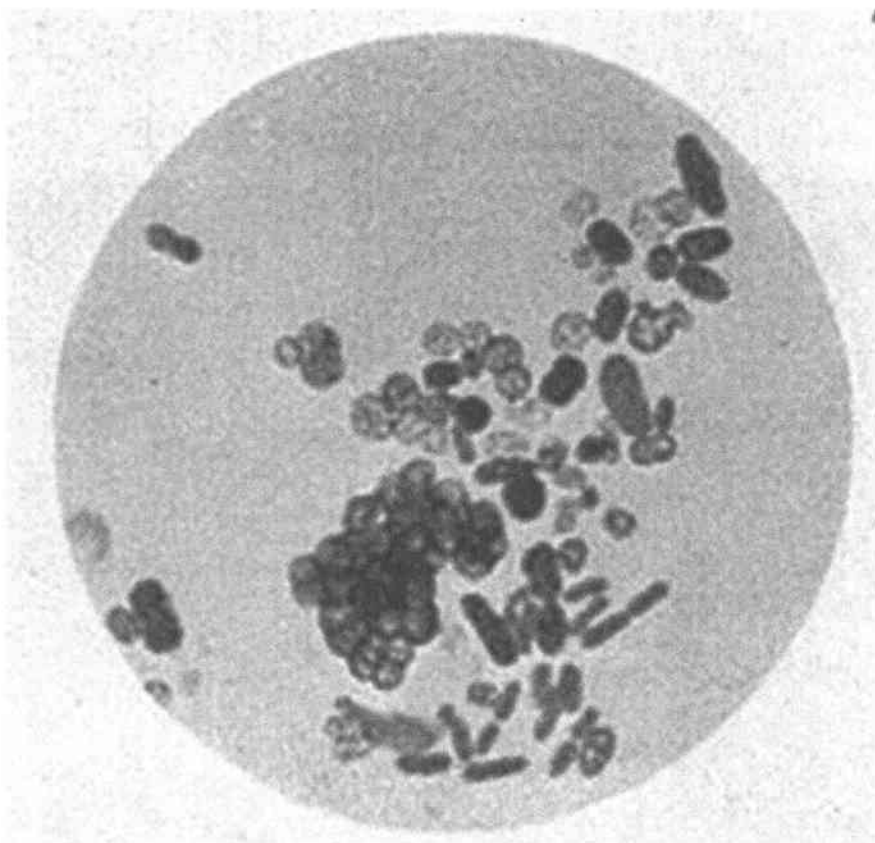
Таблица 1 - Классифицирующая азотобактера

Царство: Бактерии	Виды:
Тип: Протеобактерии	<i>Azotobacter armeniacus</i>
Класс: Гамма Proteobacteria	<i>Azotobacter beijerinckii</i>
Порядок: Pseudomonadales	<i>Azotobacter chroococcum</i> typus
Семейство: Pseudomonadaceae	<i>Azotobacter nigricans</i>
Род: Азотобактер	<i>Azotobacte salinestris</i>
Латинское название: <i>Azotobacter</i>	<i>Azotobacter vinelandii</i>

Клетки *Azotobacter* крупные, с развитым полиморфизмом. Через микроскоп наблюдается одиночные либо небольшие скопления клеток или бактерии располагаются одиночно. Формирующиеся цисты могут являться покоящимися формами, т.е. не образуют спор.

кокоцидных и палочковидных форм

Рисунок 1. Клетки азотобактера, представленные в виде



Azotobacter, который входит в состав пептона [60, 54].

Баилле А. et al., исследуя *Azotobacter* увидел что в молодом состоянии они могут активно передвигаться, так как у них имеются много жгутиков [18], а при рассмотрении более поздних культур, можно было видеть, что клетки стали меньше двигаться, округлились и приняли почти шаровидную форму и ими выделяется много слизи, вследствие этого вырабатывается капсула клетки и форма клетки азотобактера меняется. С помощью пептона можно вызывать полиморфизм, и могут образовываться «грибовидные» клетки. Вела G. R., Rosenthal R. S. установили, что аминокислота глицин оказывает стимулирующее влияние на полиморфизм у представителей рода *Azotobacter*, который входит в состав пептона [60, 54].

Под микроскопом можно заметить, что часть включений окрашивается, а часть – нет. Jones D. H., исследуя клетки, сделал вывод, что включения, которые окрасились – это и есть «зародышевые» клетки, которые принимают участие в размножении [32]. Впоследствии Lewis I. M. обнаружил, что в размножении гранулы не принимают участия, так как не имеют репродуктивных клеток [55]. Источниками питания азотобактера являются запасные зерна волютина (рис. 2), которые могут в дальнейшем понадобиться клетке [38].

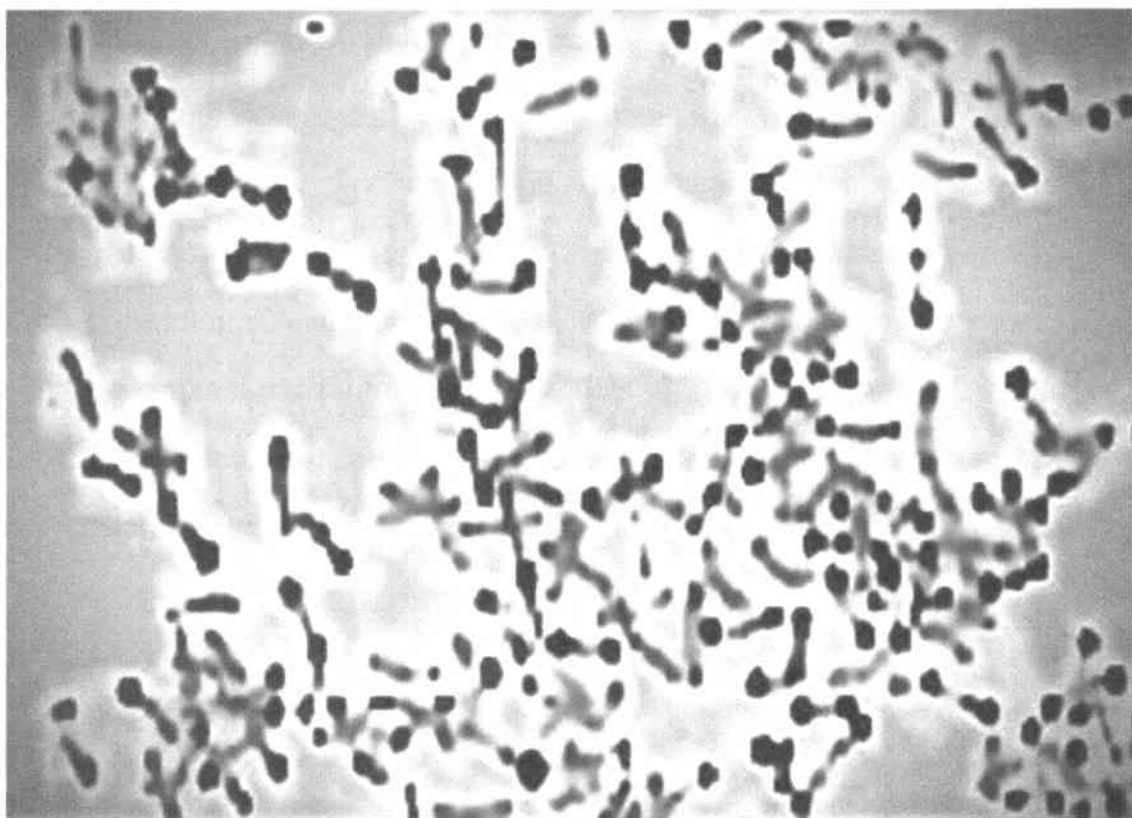


Рисунок 2. Гранулы волютина

мг азота на 1 г источника углерода [11].

Самсонов К.С. отметил, что у бактерий рода *Azotobacter* способность усваивать азот, некоторые штаммы азотобактера могут зафиксировать до 15

1.1.2 Физиологические и метаболические свойства азотобактера

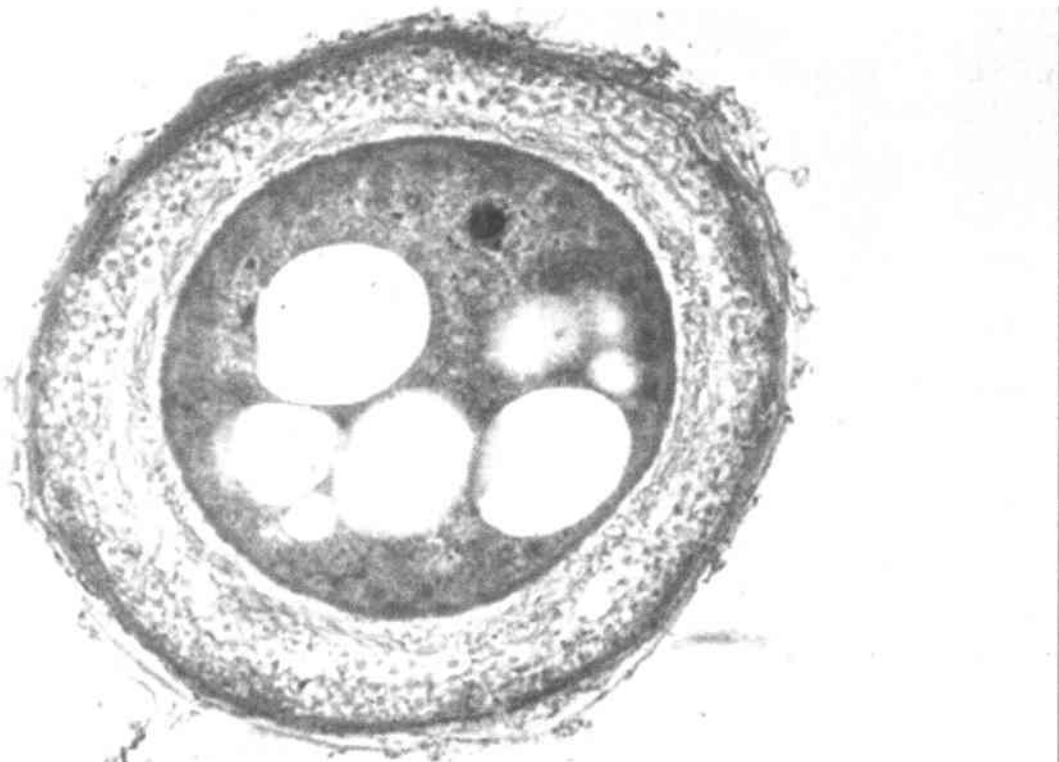
добавляют углерод и глюкозу после чего наблюдается изменение [41, 57].

Чтобы у цист наблюдать интенсивность синтеза белков и РНК,

разрушается, и клетка высвобождается от оболочки [57].

способны прорасти, размножаясь путем деления. После 4–6 часов экинна ароматических колец. Когда появляются благоприятные условия — цисты экинну и интину, представляющие структуру из алифатических цепей и неблагоприятных факторов внешней среды. Сферическое тело цист имеет На рисунке 3 представлены цисты, которые служат для перенесения

Рисунок 3. Цисты азотобактера



Е.Н. Мишустиным и В.К. Шильниковой отмечено, что азотобактер использует моно-, ди- и полисахариды, и другие соединения [9, 14].

например такие как;

- Пары этилового спирта
- Ацетон

Также было установлено что азотобактер способен синтезировать биологически активные вещества [4, 8];

- Витамины В

- Гибберелины

- Цитокины

- ауксины

Фунгистатическое вещество, является важным аспектом азотобактера, представляющий метиловый эфир и тетраеновую кислоту. Придачной Н.И. предоставил информацию о антибиотике, который угнетает развитие грибов. Тем самым рост конкурентов приостанавливается [10].

Так, культура *Az. chroococcum* снимает угнетающее действие фитотоксичного гриба *Alternaria* на кукурузу, а рост не зараженного растения стимулирует.

Общезвестно, что азотобактер при окислительно-восстановительных реакций, использует органические соединения. Так как, нужный кислород образует каталазу и ксидазу. Следует отметить, что он молибдена играет важную роль в фиксации азота.

Part B отмечает, бактерии могут расти и в диапазоне pH от 4, 8 до 8, 5 [49]. В среде в которой содержится манниты могут расти азотобактер так как в природе водород доступен в почвах [30, 47].

саликатового и даже пурпурного цвета (рис.5) [33].

Автор Jensen H. L. убежден в том, что *Azotobacter* образует пигменты

Температура развития 25–35 °C [12].

Азотобактер относится к мезофильным микроорганизмам.

слизистой массой (рис.4)

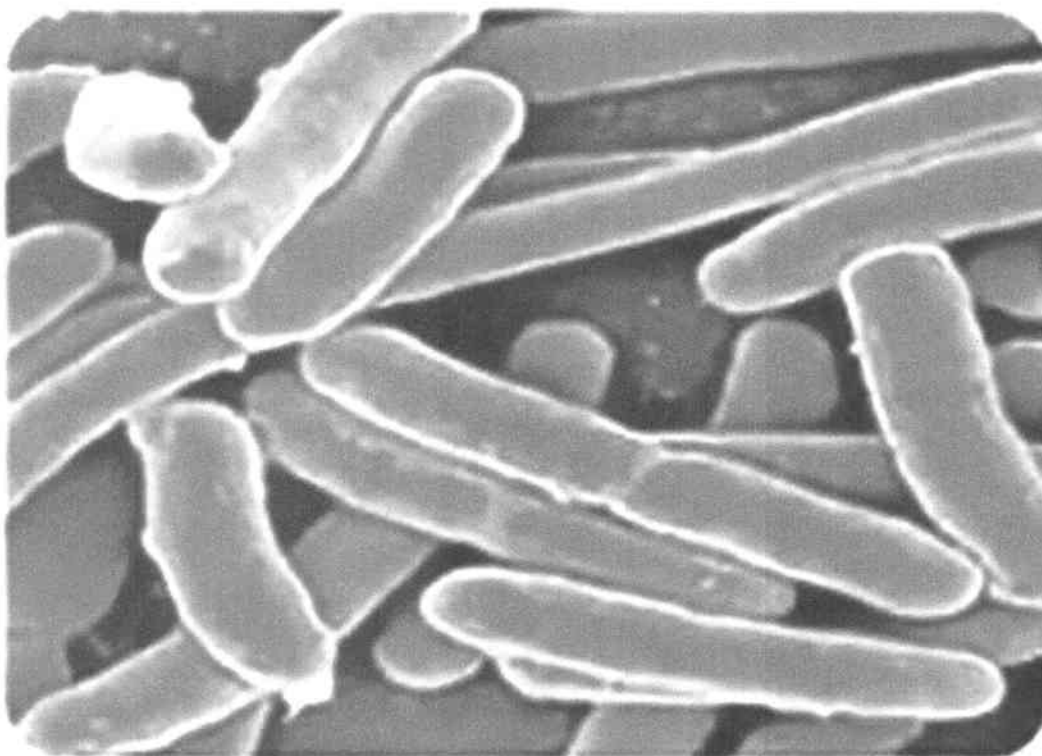
Azotobacter образует колонии на плотных средах, которые покрыты

Рисунок 4. Колонии азотобактера



Отличительная особенность бактерий рода *Azotobacter*, их преимущество перед другими азотфиксаторами состоит в том, что они являются свободно живущими прокариотами. Это обстоятельство позволяет использовать *Azotobacter* в горах более широко на фоне севооборотов, по сравнению с симбиотическими азотфиксаторами.

Рисунок 5. Пример нитинового цвета бактерии



ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты и методика исследований

Исследования проводили на полях ООО «Сады Суры», которые находятся на территории с. Чертоково. Село находится в центральной части Пензенской области, в пределах западных склонов Приволжской возвышенности, в лесостепной зоне, на берегах реки Колоярки, на расстоянии примерно 7 километров (по прямой) к северо-западу от села Бессоновки, административного центра района. Абсолютная высота – 175 метров над уровнем моря (рисунок 6, 7).



Рисунок 6. Схема расположения участков ООО «Сады Суры»

Схема расположения участков Сады Суры Бессоновский район

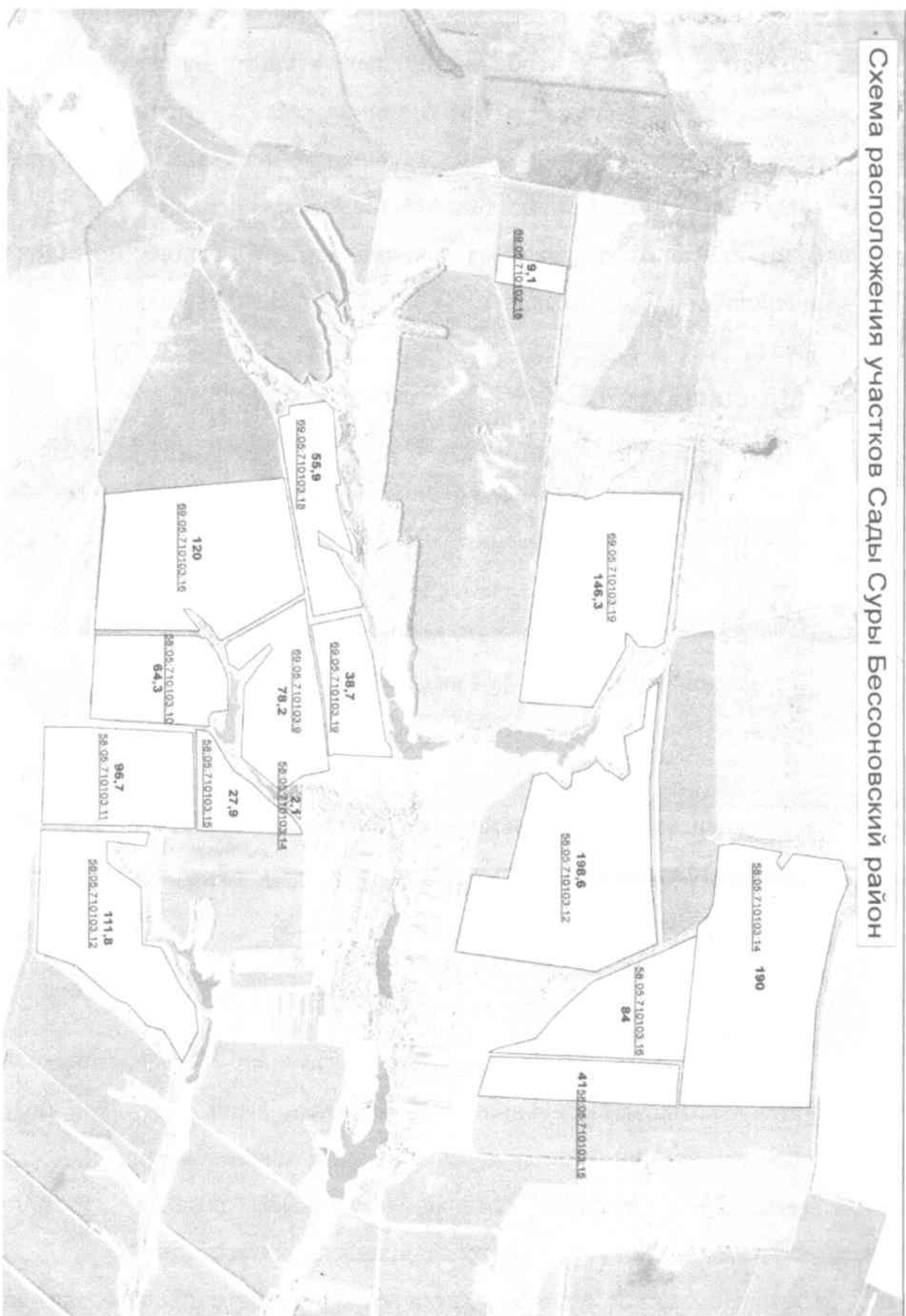


Рисунок 7. Схема расположения участков ООО «Сады Суры»

Агроклиматические условия сельскохозяйственного производства на данной территории характеризуется следующими показателями;

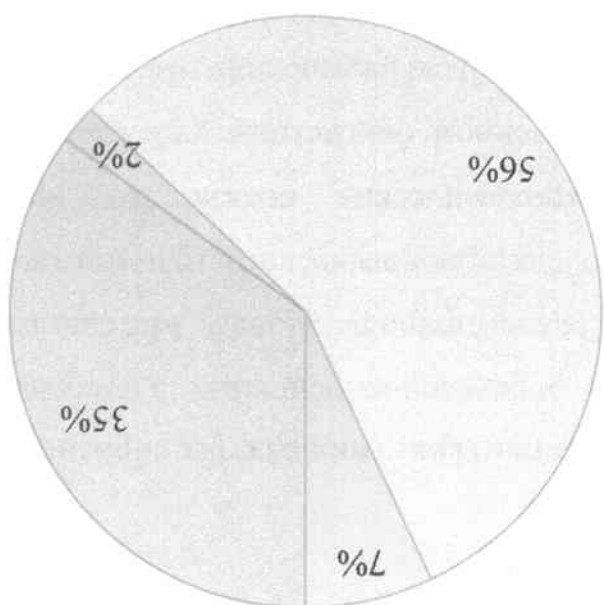
- Температура воздуха: средняя температура воздуха +3, 80С; абсолютный минимум -420С; абсолютный максимум +380С.
- Продолжительность периода с температурой выше 0 0С – 208 дней, выше 5 0С – 170 дней, выше +10 0С – 136 дней. Сумма температур за период выше +10 0С составляет 2200 0С.
- Продолжительность безморозного периода составляет – 140 дней.
- Средняя высота снежного покрова – 34 см
- Глубина промерзания почвы – 82см.
- Продолжительность периода с устойчивым снежным покровом – 148 дней.
- Среднегодовое количество осадков – 549 мм.
- Вегетационный период – 174 дня.
- Сумма осадков за период с температурой выше 10 0С составляет 293 мм.

- Преобладающее направление ветра в летний период – западное и юго-западное, в зимний период – юго-западное и южное, суховейных ветров – юго-восточное, среднее число дней с суховеями – 27, 6, период действия суховейных ветров с мая по август.

Землепользование хозяйства по температурным условиям влагообеспеченности относится к I агроклиматическому району, по району достаточного увлажнения, с гидротермическим коэффициентом 1, 0 – 1, 1.

Таким образом, климатические условия района при применении определенного комплекса агротехнических, мелноративных, гидротехнических и других мероприятий, направленных на максимальное сохранение и рациональное использование влаги, благоприятны для получения высоких и устойчивых урожаев всех сельскохозяйственных культур. Плодородные почвы на территории сельского (рис.8)

располагаются только в поймах рек. Они имеют повышенное содержание гумуса, азота, калия и фосфора. Смытые и намывные почвы оврагов и балок составляют 280 га (2 %).



- Лугово-черноземные 485 га
- Серая лесная на площади 69 га
- Аллювиально-дерновые почвы 860га
- Лугово-болотные 465 га

Рисунок 8. Владимирская сельсовет

Оценка сельскохозяйственных угодий равна 69 баллам в сравнении со средним баллом в районе 57, пашни – 72 баллам в сравнении со средним баллом в районе 61.

Почвы, вовлеченные в сельскохозяйственный оборот, нуждаются в постоянном улучшении и поддержании плодородия, необходимо строгое соблюдение агротехнических норм.

Наряду с уменьшением содержания гумуса, произошло уменьшение мощности гумусового горизонта на почвах, расположенных на приовражных пологих склонах, где выделены эродированные почвы. Образование

Справочник типов почв	Светло-серая лесная 0410
сера лесная 0420	Кормовой
Темно-серая лесная 0430	Прифермский 3
Чернозем оподзоленный 2510	Специальный 5
Чернозем выщелоченный 2520	Зернопаровой 01
Чернозем типичный 2530	Зернопаропашной 02

Таблица 2 - Расшифровка кодов режимного почвенного плодородия

Отор почв на определение основных элементов производится по ГОСТ 17.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. Определение агрохимических показателей почвы проводили в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный центр агрохимической службы «Пензенский» (ФГБУ ГИАС «Пензенский»). Почва – чернозем выщелоченный, расположенный на территории ООО «Савы Сурь», согласно группировке почв имеет содержание по азоту низкое, по фосфору среднее, калию высокое, по гумусу среднее, по сере низкое и по реакции почвенной pH_{KCl} слабокислотное (рис.9-13, табл.2-7).

2.2 Характеристика взятых образцов почвы

Отор почв на определение основных элементов производится по ГОСТ 17.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. Определение агрохимических показателей почвы проводили в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный центр агрохимической службы «Пензенский» (ФГБУ ГИАС «Пензенский»). Почва – чернозем выщелоченный, расположенный на территории ООО «Савы Сурь», согласно группировке почв имеет содержание по азоту низкое, по фосфору среднее, калию высокое, по гумусу среднее, по сере низкое и по реакции почвенной pH_{KCl} слабокислотное (рис.9-13, табл.2-7).

В целом сельскохозяйственные угодья используются правильно и интенсивно. Почвы низкого качества в долинах рек, оврагов, смывы и намывы почвы, поврежденные водной эрозией, используются под пастбища и реже – под сенокосы.

эродированных почв произошло из-за недостаточности требований к обработке склоновых земель.

Таблица 2 - Расшифровка кодов реквизитов паспортной ведомости

(продолжение)

Справочник типов почв	Справочник типов севоборогов	Чернозем карбонатный 2550	Зернопропашной 03
		Чернозем солонцеватый 2640	Зернотравяной 04
		Луговой-чернозем 2900	Плодосменный 05
		Солонец черноземный 3040	Травопольный 06
		Солонец луговой-степной 3080	Пропашной 07
		Лугово-болотная 3420	Травяно-пропашной 08
		Аллювиально-дерновая 3800	Овощной 09
		Пойменно-зern. Дерновая 3820	Сидеральный 10
		Пойменная дерновая слонс. 3820	Запольный участок 10
		Аллювиально-луговая 3900	Сады 12
		Овраго-балочный комплекс 6800	Сенокос 12
		Пастбища 14	Справочник эродированных почв
		Справочник механистава почв	Водная слабая 11
		Глинистый 11	Водная средняя 12
		Тяжелосуглинистый 12	Водная сильная 13
		Среднесуглинистый 13	
Легкосуглинистый 14			
Супесчаный 15			
Песчаный 16			

Таблица 3 - Группировка почв по содержанию гидролизного азота по Корфиду

Номера групп	Содержание азота, мг\кг почвы	Степень обеспеченности
1	<100	Очень низкая
2	101-150	Низкая
3	151-200	Средняя
4	>200	Повышенная

Таблица 4 - Группировка почв по содержанию фосфора и обменного калия

Номера групп	Содержание. Мг\кг почвы		Степень обеспеченности
	фосфора	калия	
1	<20	<20	Очень низкая
2	21-50	21-40	Низкая
3	51-100	41-80	Средняя
4	101-150	81-120	Повышенная
5	151-200	121-180	Высокая
6	>200	>180	Очень высокая

Таблица 5 - Группировка почв по содержанию подвижной серы

Номер групп	Содержание, мг\кг почвы	Степень обеспеченности
1	<6	низкая
2	6.0-12.0	Средняя
3	>12.0	Высокая

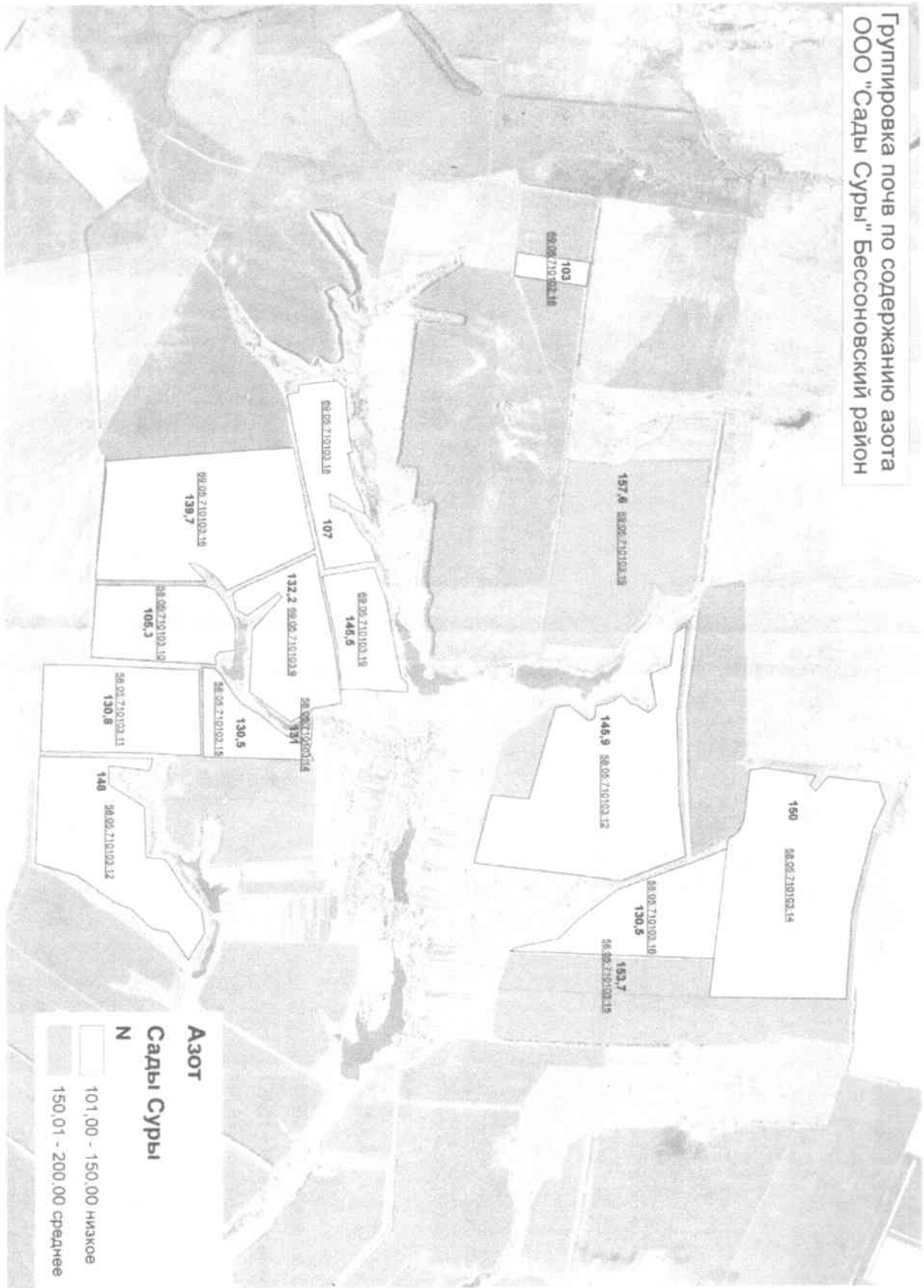
Номера групп	Степень насыщенности основанииями	%	Гидролитическая кислотность	
1	Очень низкая	Менее 30	Очень сильнокислая	>6.0
2	Низкая	30,1-50	Сильнокислая	5.1-6.0
3	Средняя	50,1-70	Среднекислая	4.1-5.0
4	Повышенная	70,1-90	Слабокислая	3.1-4.0
5	Высокая	Боле 90	Близкая к нейтральной	2.1-3.0
6	-	-	нейтральная	<2.0

Таблица 6-Группировка почв по степени насыщенности основанииями и гидролитической кислотности

Номера групп	Степень насыщенности основанииями	%	
1	0-2,0	Очень низкая	
2	2,1-4,0	Низкая	
3	4,1-6,0	Средняя	
4	6,1-8,0	Повышенная	
5	8,1-10,0	Высокая	
6	Боле 10,0	Очень высокая	

Таблица 7-Группировка почв по содержанию гумуса

Группировка почв по содержанию азота
ООО "Сады Суры" Бессоновский район



Азот
Сады Суры
N

101.00 - 150.00 низкое
150.01 - 200.00 среднее

Рисунок 9. Группировка почв по содержанию азота

Группировка почв подвижного фосфора
ООО "Сады Суры" Бессоновский район

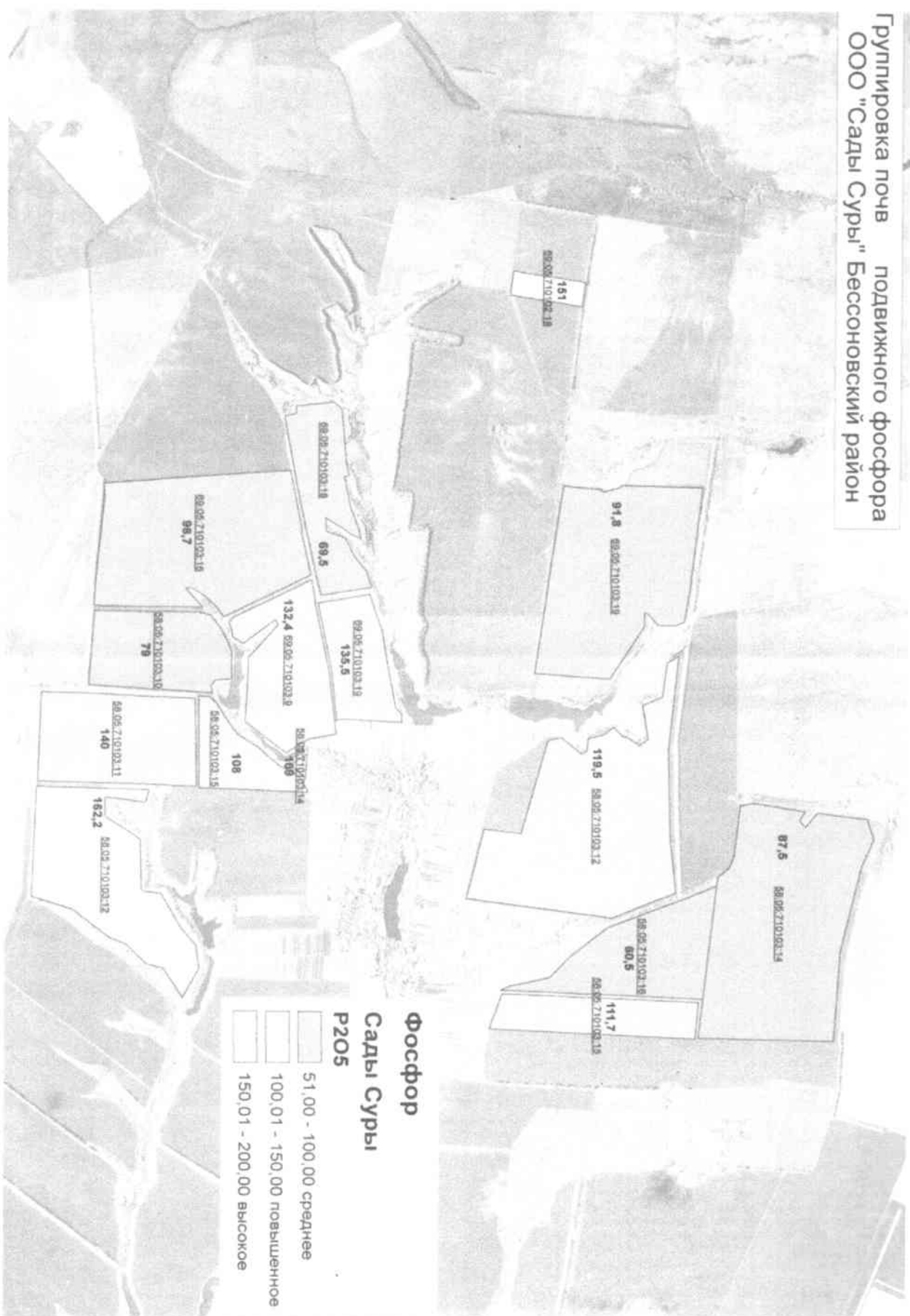


Рисунок 10. Группировка почв по содержанию подвижного фосфора

Группировка почв подвижного фосфора
ООО "Сады Суры" Бессоновский район

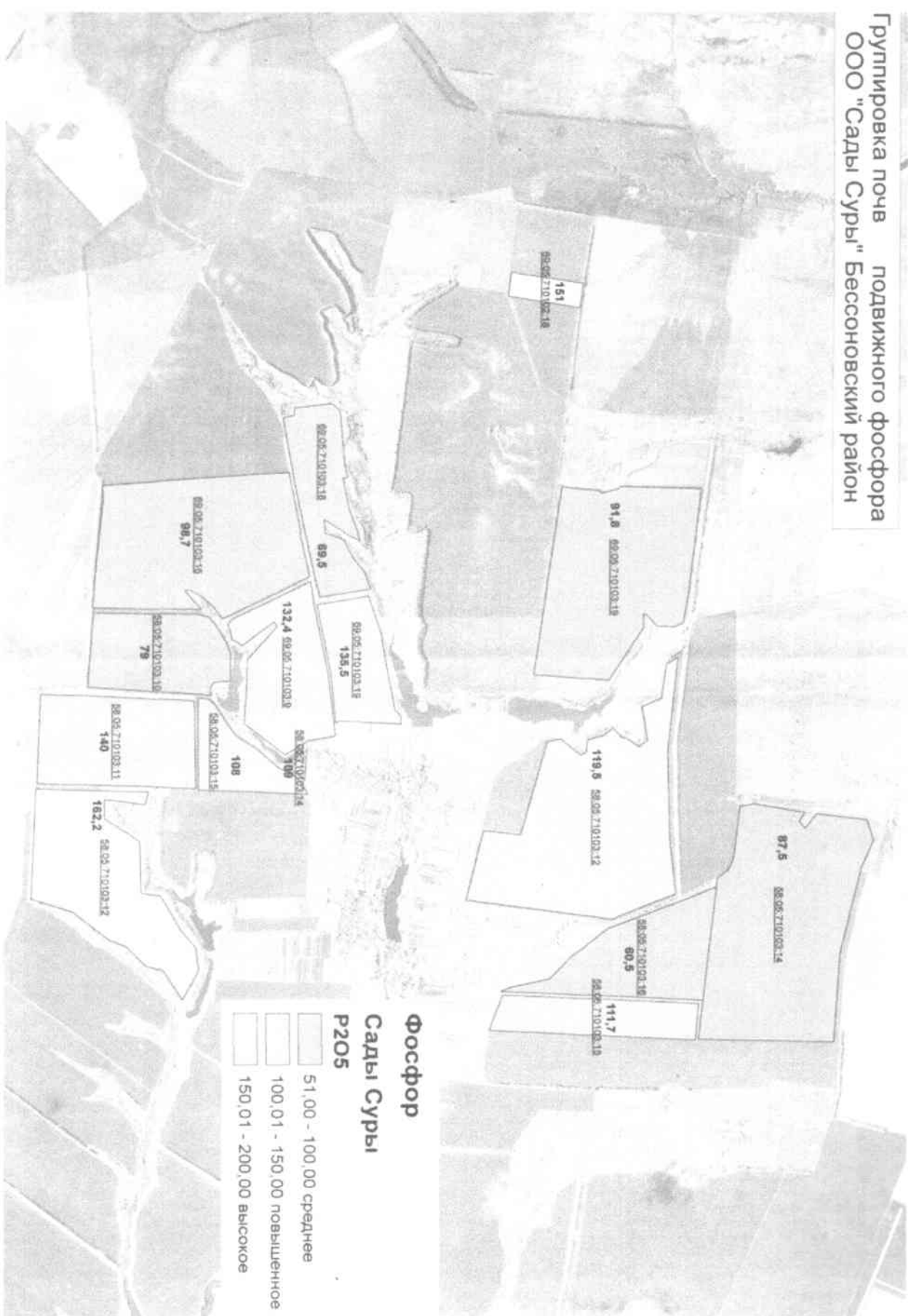


Рисунок 11. Группировка почв по содержанию подвижного фосфора

Группировка почв по содержанию гумуса
ООО "Сады Суры" Бессоновский район

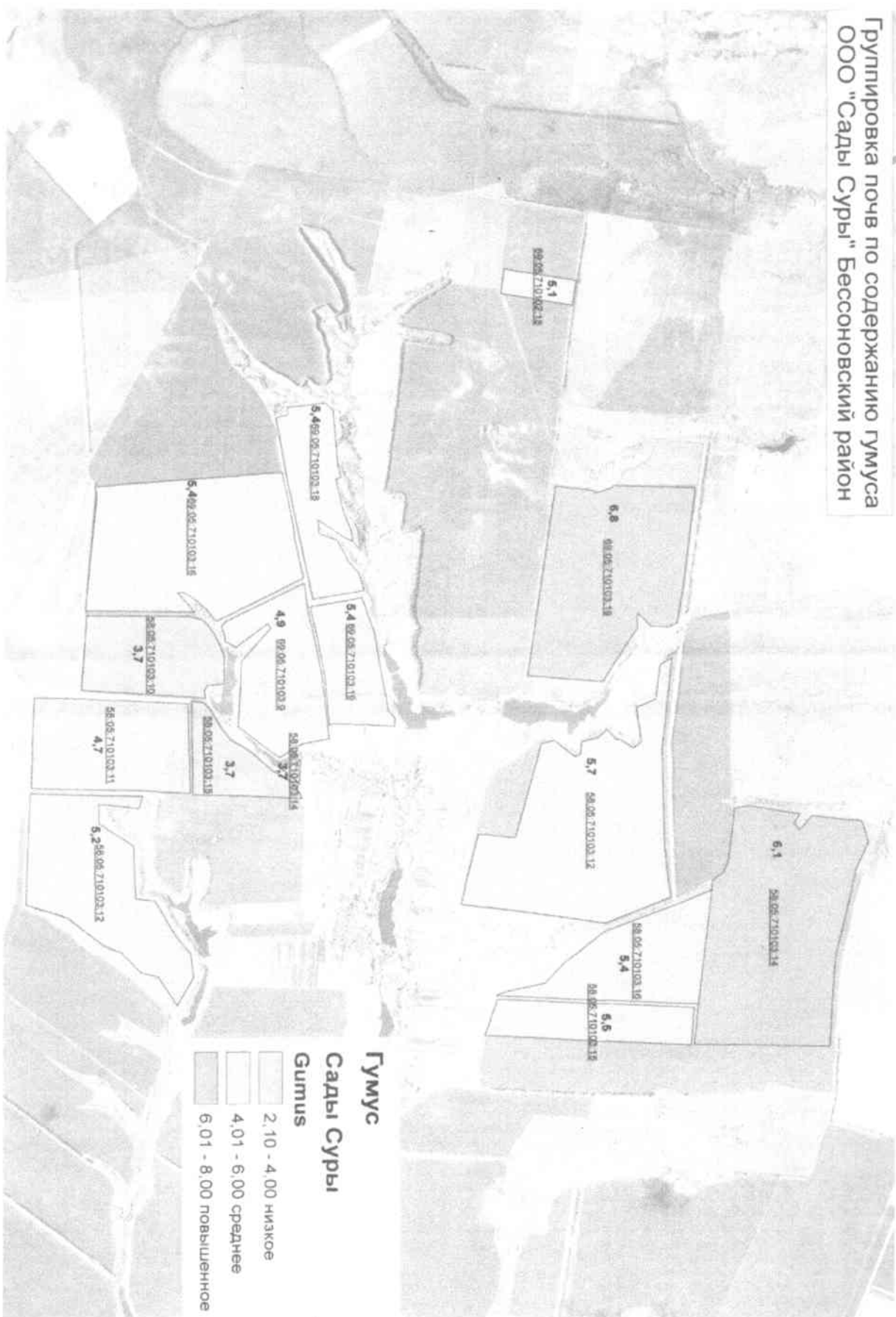


Рисунок 12. Группировка почв по содержанию гумуса

Группировка почв по реакции почвенной среды
ООО "Сады Суры" Бессоновский район



Рисунок 13. Группировка почв по реакции почвенной среды

2.3 Отбор почвенных проб для микробиологического анализа и требования к ней

В весенний период отбирались почвенные пробы. Лопаткой которая обязательно обрабатывалась спиртом.

Вначале был удален самый верхний слой 2–3 см. Образцы были помещены полиэтиленовый пакет весом. Так же обязательно была этикетка с названием района и характеристикой почвы. После приезда почвы были помещены в холодильник [63].

Были отобраны небольшие порции почв, что в дальнейшем были размешены ровным слоем на стекло и освобождены от корешков и другого мусора [63].

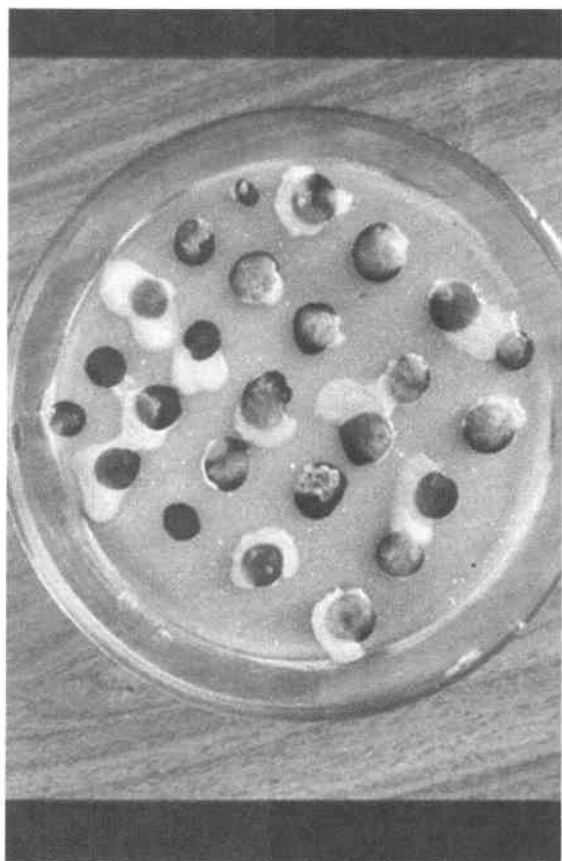
Для культивирования азотобактера была приготовлена среда Эшби [64].

Среда была простерилизована автоклавированием в течение 40 мин, после добавления маннита еще 30 минут [9].

В качестве выделения культур использовалась 6 образцов почв, выделяя из них азотобактер.

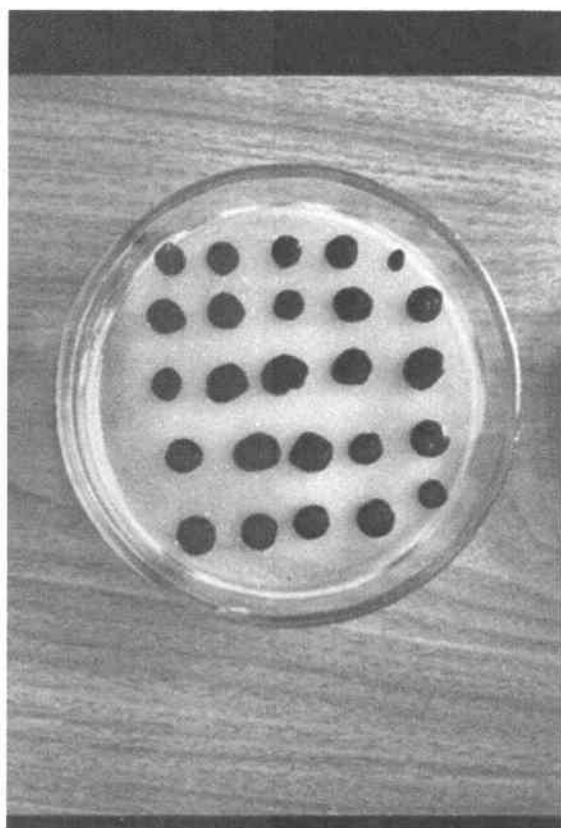
Культуры азотобактера используются как посевной материал. Почвы были увлажнены и с помощью капель и разложены комочками на поверхность среды Эшби в чашки Петри. Закрытые чашки выдерживали в течение 3–4 суток. (рис.14)

Рисунок 15. Колонии азотобактера



Через несколько дней появляются слизистые колонии. (Рис. 15)

Рисунок 14. Почвенные комочки



Этот метод почвенными комочками является надежным, так как он

подходит к естественным условиям [9, 15, 25, 6].

В дальнейшем Колонии были распределены методом истощающегося штриха на среде Эшби, приготовив препарат для дальнейшего изучения азотобактера. Идентификацию выделенных штаммов проводили по комплексу ключевых признаков согласно определителю Берги (1997) (табл.

8).

Таблица 8 – Признаки дифференцировки азотобактера

Признаки	<i>Az.chroococcum</i>	<i>Az.vinelandii</i>	<i>Az.beijerinckii</i>
Пигмент	черный	зеленый	св. коричневый
Использование углеводов: крахмала маннита	+	—	—
Подвижность	+	—	+
Жгутики	+	—	+
Образование цист	+	+	+
Образование капсульной слизи	+	+	+

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1 Выделение и идентификация штамма азотобактер в почвенных образцах

В результате исследования образцов почвы с разных почвенных участков расположенных на территории ООО «Сады Суры» Бессоновского района Пензенской, в шести почвенных пробах черномзема выщелоченного, наблюдались выделение азотобактера при посеве (табл. 9).

Таблица 9 – Почвенные образцы, содержащие бактерии рода *Azotobacter*

Номер почвенного образца	Культура выращиваемая на участки	Признаки					Род и вид
		Пигмент	Подвижность	Жгутики	Образование капсульной слизи		
1	Яровая пшеница	черный	+	+	+	род Azotobacter, вид Azotobacter chroococcum	
2	Ячмень	черный	+	+	+	род Azotobacter, вид Azotobacter chroococcum	
3	Чистый пар	черный	+	+	+	род Azotobacter, вид Azotobacter chroococcum	
4	Озимая пшеница	черный	+	+	+	род Azotobacter, вид Azotobacter chroococcum	
5	Лен масличный	черный	+	+	+	род Azotobacter, вид Azotobacter chroococcum	
6	Яблоневый сад	черный	+	+	+	род Azotobacter, вид Azotobacter chroococcum	

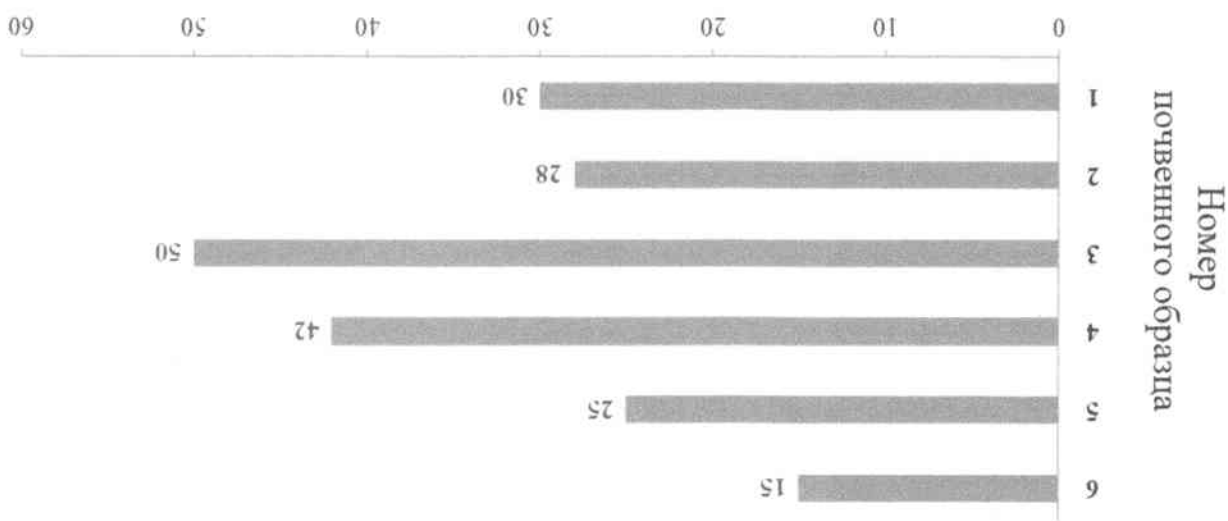
На всех исследуемых участках был чернозем, выщелоченный глинистый с содержанием гумуса 3, 7–6, 8 %, с реакцией почвенной среды 4, 9–5, 3 ед. pH. Содержание элементов питания колебалось в следующих пределах: азота 105, 3–157, 6 мг/кг почвы, фосфора – 79, 0–140, 0 мг/кг

3.3 Агрохимические показатели почвы и содержание минеральных веществ в ней

Самым активным штаммом оказался *Azotobacter chroococcum* выделенный из почвенного образца № 3 с участка чистый пар, а замедленное развитие азотобактера наблюдалось выделенного из почвенного образца № 6

яблоневый сад.

Рисунок 16. Содержание клеток азотобактера, КОЕ %
1 Яровая пшеница, 2 Яровой ячмень, 3 Чистый пар, 4 Озимая пшеница, 5 Лен масличный, 6 Яблоневый сад.



Проведенный анализ почвенных образцов по определению азотобактера, выделенного из почвенных образцов разных участков, показал, что ростовая активность была не одинакова (рис. 16).

3.2 Ростовая активность штаммов *Azotobacter chroococcum*

Исследование почвенных образцов отобранных с почвенных участков по содержанию минеральных веществ питания в почве показали, что наибольшее содержание азота было отмечено в почвенных образцах, отобранных на участке № 5 перед посевом лена масличного 138, 8 кг/га, а наименьшее в почвенных образцах, отобранных на участке № 3 перед посевом ярового ячменя 101, 4 кг/га.

Анализ по содержанию соединений фосфора в почвенных образцах, взятых с почвенных участков, свидетельствует о том (табл. 4 и приложения 1-7, 9-13), что наименьшее содержание было зафиксировано на участках

№	Гумус, %	pH _{KCl}	мг/кг почвы					мг-экв./кг почвы	
			N	P ₂ O ₅	K ₂ O	S	Ca	Mg	
1	3, 7	4, 9	105, 3	79, 0	163, 7	4, 6	23, 1	4, 9	
2	4, 7	5, 3	130, 8	140, 0	162, 8	4, 0	23, 2	4, 6	
3	5, 7	5, 3	145, 9	119, 5	149, 1	3, 8	25, 1	4, 5	
4	6, 8	5, 1	157, 6	91, 8	136, 5	3, 9	25, 5	4, 5	
5	4, 9	5, 0	132, 2	132, 4	156, 5	4, 1	24, 9	3, 6	
6	5, 4	5, 2	139, 7	98, 7	137, 2	4, 8	23, 0	4, 9	
среднее	5, 2	5, 1	135, 3	110, 2	151, 0	4, 2	24, 1	4, 5	

Таблица 10 – Агрохимические показатели почвы участков ООО «Сады
Сурь»

(табл. 10).

почвы, калия – 136, 5-163, 7 мг/кг почвы, серы 3, 8-4, 8 мг/кг почвы, кальция 23, 1-25, 5 мг-экв./кг почвы и магния 3, 6-4, 9 мг-экв./кг почвы

№ 1, № 2 перед посевом яровой пшеницы, ярового ячменя и на участке № 4 с растениями озимой пшеницы.

Таблица 11 – Содержание минеральных элементов в почвенных образцах перед посевом культур

Номер почвенного образца	Культура выращиваемая на участке	Содержание, кг/га		
		азота	фосфора	калия
1	Яровая пшеница	109, 4	35, 9	53, 7
2	Ячмень	101, 4	35, 8	54, 0
3	Чистый пар	111, 0	48, 7	65, 2
4	Озимая пшеница	111, 0	31, 0	56, 0
5	Лен масличный	138, 8	59, 6	61, 0
6	Яблоневый сад	112, 0	40, 4	57, 9

Содержание калия в почвенных образцах, отобранных на исследуемых участках, колебалось от 53, 7 кг/га до 65, 2 кг/га. Наибольшее содержание было отмечено в почвенных образцах на участке № 5 перед посевом льна масличного 61, 0 кг/га (табл. 11).

3.4 Влияние минеральных элементов питания, содержащихся в почве, на штаммы *Azotobacter chroococcum*

Влияние минеральных элементов питания, содержащихся в почве, на штаммы *Azotobacter chroococcum* проводили на среде Эшби по наличию вокруг комочков слизи (блестящего или черного налета).

Наши исследования по изучению влияния минеральных элементов питания в почве на рост и развитие штаммов *Azotobacter chroococcum* показали (табл. 5, рис. 5), что на 4-е сутки колонии *Azotobacter chroococcum*

присутствуют на всех почвенных образцах. Самыми активно растущими оказались штаммы азотобактеров на почвенных образцах, отобранных на участке № 3, где располагался чистый пар. Количество обросших комочков глизы составило 30 % от исходных. Из этого количества 12, 5 % колоний имели окраску с черным пигментом, характерным для штаммов *Azotobacter chroococcum*. Наименее активными были штаммы *Azotobacter chroococcum* в почвенных образцах, взятых на почвенных участках, где располагается облоневый сад. Количество обросших комочков почвы глизы составило 17, 5 % от исходных. Колоний, имевших окраску с черным пигментом, характерным для штаммов *Azotobacter chroococcum* не обнаружено.

На 7-е сутки колонии *Azotobacter chroococcum* были зафиксированы на всех почвенных образцах. Активность штаммов азотобактера на всех почвенных образцах по количеству обросших комочков колебалась от 32, 5 % до 72, 5 % от исходных. Колоний, имеющих окраску с черным пигментом составили 12, 5-37, 5 %.

Наименьшую активность проявляли штаммы *Azotobacter chroococcum* в почвенных образцах, отобранных с участка облоневого сада, где обрастание комочков почвы достигало 32, 5 % от исходного, а 12, 5 % колоний имели окраску с черным пигментом, характерным для штаммов *Azotobacter chroococcum* (табл. 12, рис. 24).

Таблица 17 – Влияние минеральных элементов питания, содержащихся в почве на штаммы *Azotobacter chroococcum*

Номер почвенного образца	Культура выращиваемая на участке	Всего почвенных комочков, шт.	Количество обросших комочков, шт.	Количество колоний, имевших окраску, шт.	Процент, %
1	2	3	4	5	6
1	Яровая пшеница	40	15	37, 5	0
1	7	3	4	5	6

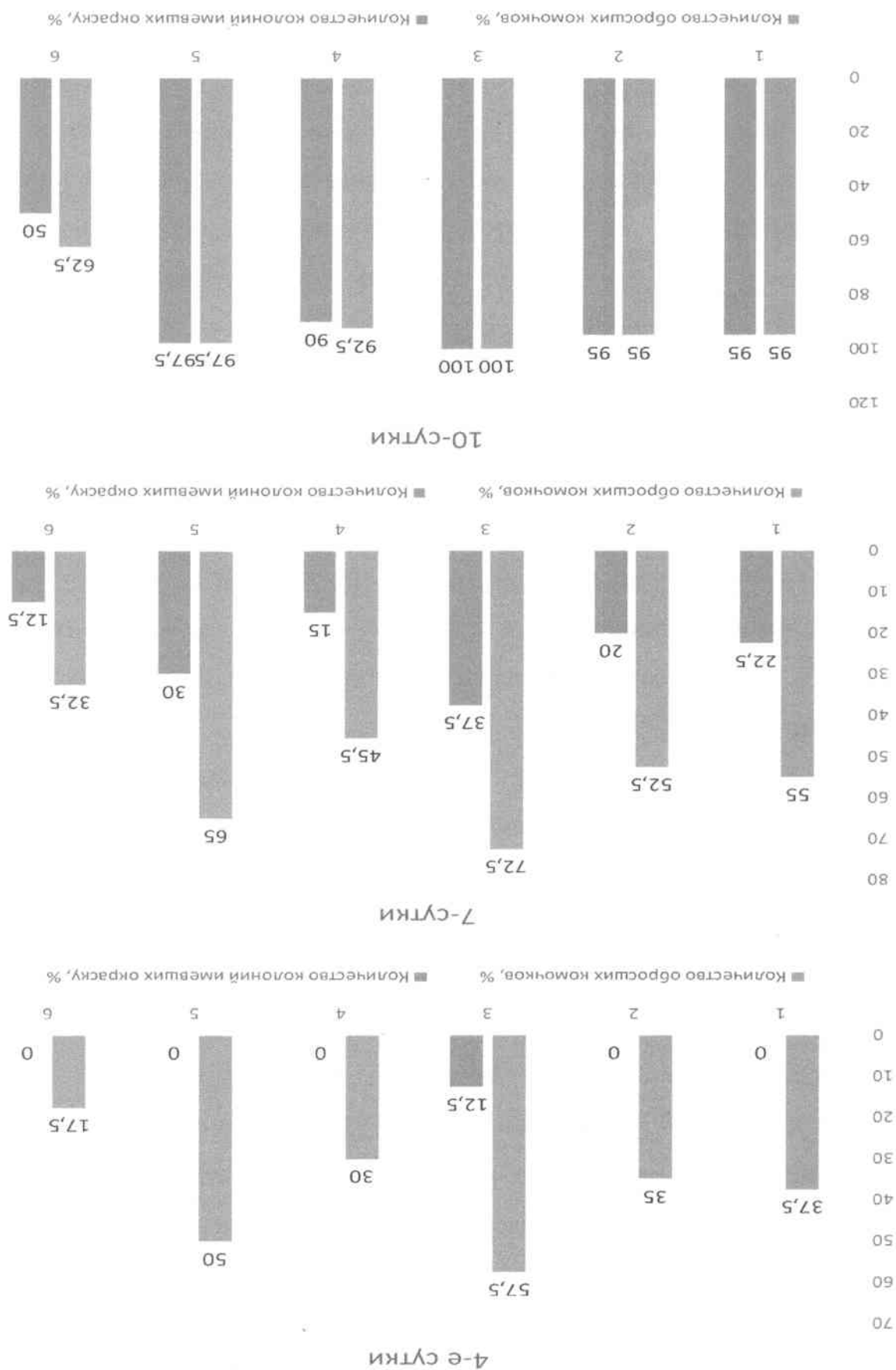
Таблица 17 – Влияние минеральных элементов питания, содержащихся в

почве на штаммы *Azotobacter chroococcum* (продолжение)

Номер почвенног о образца	Культура выращиваемая на участке	Всего почвенны х комочков, шт.	Количество обросших комочков		Количество колоний, имевших окраску	
			шт.	%	шт.	%
6	Яблоневый сад	40	25	62, 5	20	50, 0

Анализ активности штаммов *Azotobacter chroococcum* на 10-е сутки показал, что на всех почвенных образцах активность штаммов азотобактера по количеству обросших комочков колебалась от 62, 5 до 100 % от исходных, а колонии штаммов *Azotobacter chroococcum*, имевших окраску с черным пигментом, достигали 50–100 %. Наибольшая активность штаммов *Azotobacter chroococcum* была зафиксирована в почвенных образцах, отобранных с участков чистого пара, где образование комочков почвы слизью колониями с окраской черного пигмента, характерным для штаммов *Azotobacter chroococcum* достигало 100 % от исходного (табл. 12, рис. 17).

Рисунок 17. Влияние минеральных элементов питания содержащихся в почве



3.5 Влияние удобрений, внесенных в почву, на штаммы *Azotobacter chroococcum*

Изучение влияния удобрений на штаммы *Azotobacter chroococcum* было проведено методом отбора почвенных образцов с участков, расположенных в почвенно-климатических условиях ООО «Сады Суры» Бессоновского района Пензенской области. Почвенные образцы отбирались с почвенных участков, где было внесено комплексное универсальное удобрение NPK(S) с содержанием питательных элементов N – 15, P₂O₅ – 15, K₂O – 15, S – не менее 10 % и MgO 1 % д.в. и pH 6, 0–7, 2 ед., оно рекомендовано для применения на любых почвах под все культуры. Минеральное удобрение вносилось в почву под запланированный урожай зерновых, технических и плодовых растений согласно расчетам, проведенным в хозяйстве (табл. 17-25).

Исследования по влиянию удобрений на штаммы *Azotobacter chroococcum* проводили в динамике через 30, 60 и 90 дней после внесения минерального удобрения на почвенные участки, занятые зерновыми, техническими и плодовыми растениями.

Анализ полученных данных по росту и развитию штаммов *Azotobacter chroococcum* на среде Эшби по наличию комочков слизи показали, что активность бактерий через 30 дней после внесения удобрения колебалась от 52, 5% до 95, 5 % на 4–е сутки, 75–100 % на 7–е сутки и 97, 5–100 % на 10 сутки. Самая наибольшая активность штаммов *Azotobacter chroococcum* была зафиксирована на почвенном образце, отобранном на участке яблоневого сада, т.к. уже на 7–сутки она достигала 100 % и 87, 5 % колоний, имевших окраску для данного вида бактерий. Наименьшая активность *Azotobacter chroococcum* наблюдалась на почвенных образцах, отобранных на участках яровой пшеницы и ярового ячменя при 52, 5–55, 0 % на 4–сутки. На 10–е

сутки была зафиксировано 100 % обрастание комочков слизию и 97, 5–100 % колоний, имевших окраску черного цвета (табл. 14, рис. 18).

Таблица 13 – Количество минеральных удобрений, внесенных в почву под заглавную урожай зерновых, технических и плодовых растений

Номер почвенного образца	Культура выращиваемая на участке	Доза внесения питательных веществ в почву удобрений под заглавную урожай, кг/га		
		N	P ₂ O ₅	K ₂ O
1	Яровая пшеница	43, 0	13, 0	47, 0
2	Яровой ячмень	55, 0	17, 0	46, 0
3	Чистый пар	74, 0	17, 0	65, 0
4	Озимая пшеница	74, 0	34, 0	74, 0
5	Лен масличный	180, 0	100, 0	218, 0
6	Яблоневый сад	188, 0	160, 0	243, 0

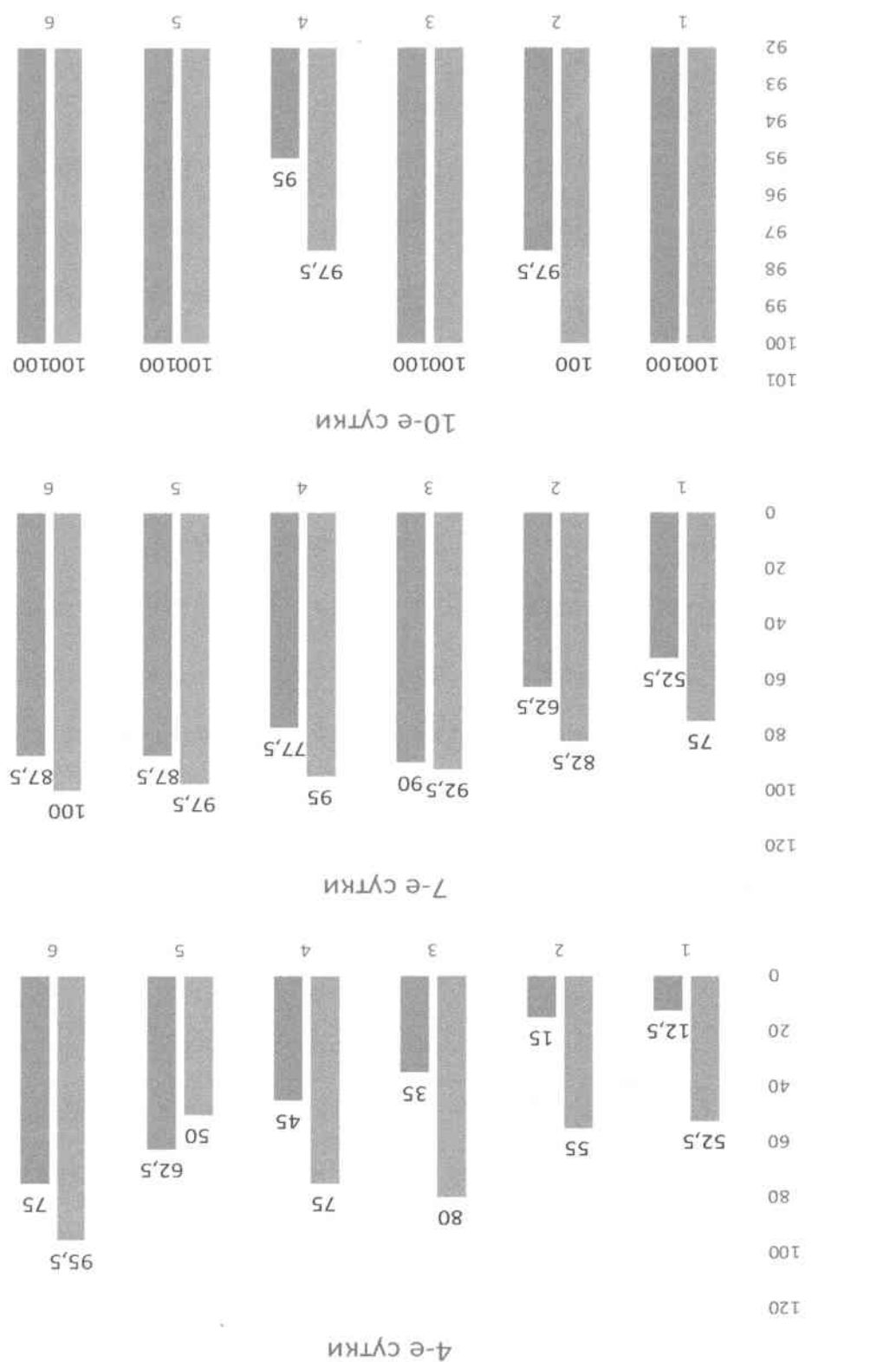
Таким образом, полученные данные при проведении эксперимента по влиянию минерального удобрения, внесенного в почву, на штаммы *Azotobacter chroococcum*, свидетельствуют о том, что через 30 дней после внесения удобрения активность бактерий повышается на участке с яблоневым садом. Минеральные удобрения стимулировали рост и развитие штаммов *Azotobacter chroococcum* (почва между деревьями находилась в заленном состоянии, т.е. не обрабатывалась).

Таблица 14– Влияние минеральных удобрений, внесенных в почву под заглавную урожай зерновых, технических и плодовых растений, на штаммы *Azotobacter chroococcum*, через 30 дней после внесения

Номер почвенног о образца	Культура выращиваемая на участке	Всего почвенны х комочков, шт.	Количество обросшихся комочков		Количество колоний имевших окраску	
			шт.	%	шт.	%
4-е сутки						
1	Яровая пшеница	40	21	52,5	5	12,5
2	Яровой ячмень	40	22	55,0	6	15,0
3	Чистый пар	40	32	80,0	14	35,0
4	Озимая пшеница	40	30	75,0	18	45,0
5	Лен масличный	40	35	50,0	25	62,5
6	Яблоневый сад	40	38	95,5	30	75,0
7-е сутки						
1	Яровая пшеница	40	30	75,0	21	52,5
2	Яровой ячмень	40	33	82,5	25	62,5
3	Чистый пар	40	37	92,5	36	90,0
4	Озимая пшеница	40	38	95,0	31	77,5
5	Лен масличный	40	39	97,5	35	87,5
6	Яблоневый сад	40	40	100,0	35	87,5
10-сутки						
1	Яровая пшеница	40	40	100,0	40	100
2	Яровой ячмень	40	40	100,0	39	97,5
3	Чистый пар	40	40	100,0	40	100,0
4	Озимая пшеница	40	39	97,5	38	95,0
5	Лен масличный	40	40	100,0	40	100,0
6	Яблоневый сад	40	40	100,0	40	120,0

штаммы *Azotobacter chroococcum*, через 30 дней после внесения удобрений, на запланированный урожай зерновых, технических и плодовых растений, на

Рисунок 18. Влияние минеральных удобрений, внесенных в почву под



Исследование, проведенные на среде Эшби, по влиянию удобрения на рост и развитие штаммов *Azotobacter chroococcum* проведенные через 60 дней после внесения комплексного удобрения NPK(S) – 15:15:15(10) показали, что активность данного вида бактерий находилась в пределах от 47, 5% до 75, 0 % на 4-е сутки, 57, 5–97, 5 % на 7-е сутки и 100 % на 10 сутки.

Наибольшая активность штаммов *Azotobacter chroococcum* наблюдалась на почвенных образцах, взятых на участке чистого пара. На 7-е сутки она достигала 97, 5 % и 90, 0 % колоний, имевших окраску для данного вида бактерий. Наименьшая активность *Azotobacter chroococcum* наблюдалась на почвенных образцах, отобранных на участках яровой пшеницы и ярового ячменя при 50, 0 % на 4-е сутки, 57, 5–60, 0 % на 7-е сутки. Только на 10-е сутки была зафиксирована 100 % обрастаемость комочков глизью, и 100 процентная окраска колоний черного цвета (табл. 15, рис. 19).

Через 60 дней после внесения комплексного универсального удобрения NPK(S) – 15:15:15(10) в почву выявлено, что активность штаммов *Azotobacter chroococcum* увеличивается на участке с чистом паром. Это говорит о том, что в почве создаются оптимальных условий для роста и развития бактерий, т.к. проводится обработка почвы.

Таблица 15 – Влияние минеральных удобрений, внесенных в почву под
запашиваемый урожай зерновых, технических и плодовых растений на
штаммы *Azotobacter chroococcum*, через 60 дней после внесения

Номер почвенного образца	Культура выращиваемая на участке	Всего почвенных комочков, шт.	Количество обросшихся комочков		Количество колоний имевших окраску	
			шт.	%	шт.	%
1	2	3	4	5	6	7
4-е сутки						
1	Яровая пшеница	40	20	50,0	2	5,0
2	Яровой ячмень	40	20	50,0	2	5,0
3	Чистый пар	40	28	70,0	7	17,5
1	2	3	4	5	6	7
4	Озимая пшеница	40	27	67,5	6	15,0
5	Лен масличный	40	30	75,0	17	42,5
6	Яблоневый сад	40	19	47,5	15	37,5
7-е сутки						
1	Яровая пшеница	40	23	57,5	18	45,0
2	Яровой ячмень	40	24	60,0	17	42,5
3	Чистый пар	40	39	97,5	36	90,0
4	Озимая пшеница	40	31	77,5	25	62,5
5	Лен масличный	40	32	80,0	27	67,5
6	Яблоневый сад	40	24	60,0	19	47,5
10-сутки						
1	Яровая пшеница	40	40	100,0	40	100,0
2	Яровой ячмень	40	40	100,0	40	100,0
3	Чистый пар	40	40	100,0	40	100,0
4	Озимая пшеница	40	40	100,0	40	100,0
5	Лен масличный	40	40	100,0	40	100,0
6	Яблоневый сад	40	40	100,0	40	100,0

Проведенный в динамике анализ по влиянию комплексного универсального удобрения NPK(S) внесенного в почву на рост штаммов *Azotobacter chroococcum* на среде Эшби показал, что активность бактерий через 90 дней после внесения удобрения колебалась от 30, 0 % до 62, 5 % на 4-е сутки, – 42, 5–75, 0 % на 7-е сутки и 72, 5–100 % на 10 сутки (табл. 16). Наименьшая активность штаммов *Azotobacter chroococcum* наблюдалась на почвенных образцах, отобранных на участках яблоневого сада – на 4-е сутки она была 30, 0 %, на 7-е – 42, 5 % и на 10-е составила 72, 5 %, 62, 5 % колоний, имели окраску для данного вида бактерий. Наибольшая активность штаммов *Azotobacter chroococcum* была зафиксирована на почвенных образцах, отобранных на участке чистого пара. Уже на 7-е сутки она достигала 100 %, 90, 0 % колоний имели окраску колоний черного цвета, характерную для данного вида бактерий (табл. 16, рис. 19).

Рисунок 19. Влияние минеральных удобрений, внесенных в почву под запланированный урожай зерновых, технических и плодовых растений на штаммы *Azotobacter chroococcum*, через 60 дней после внесения

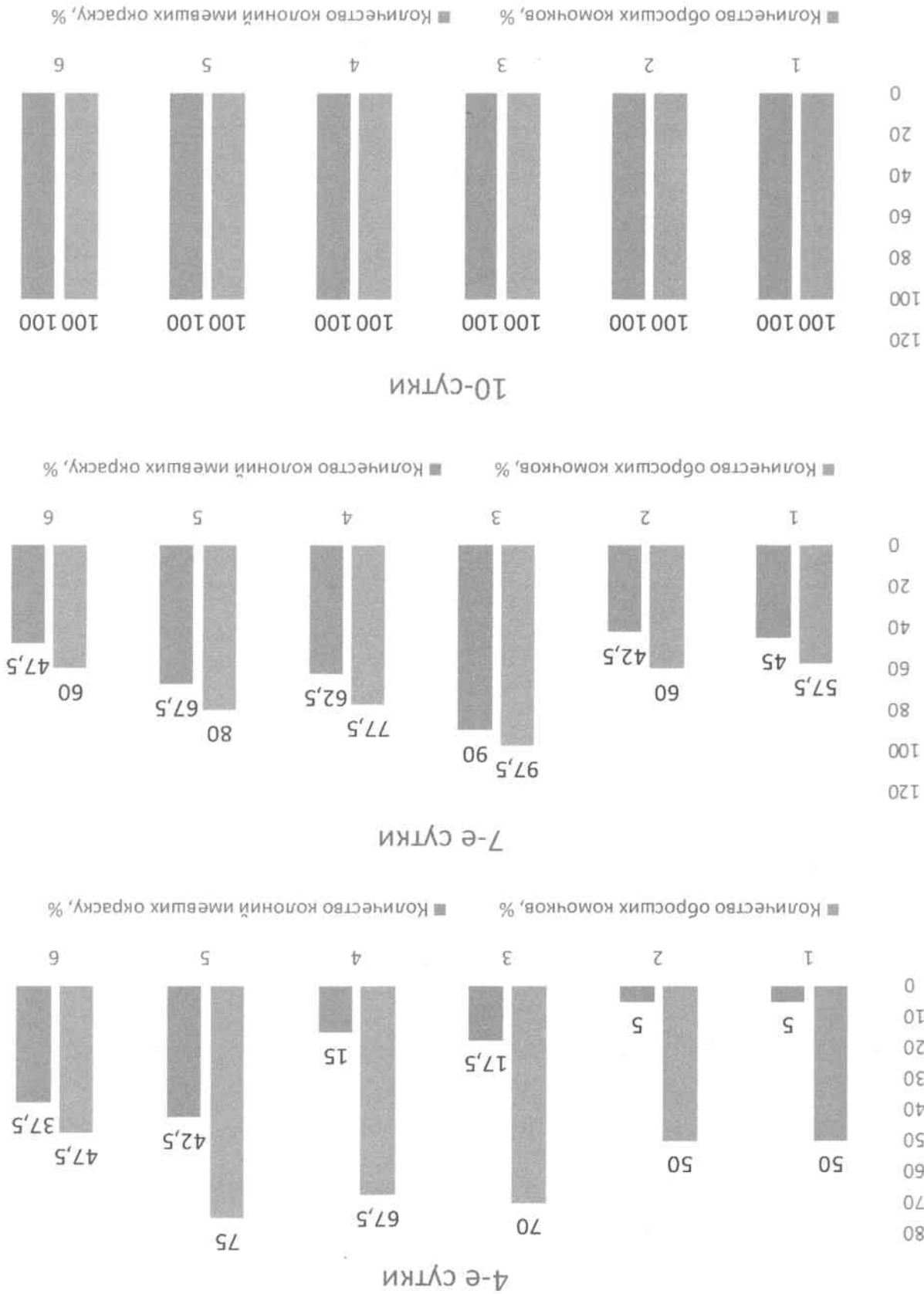
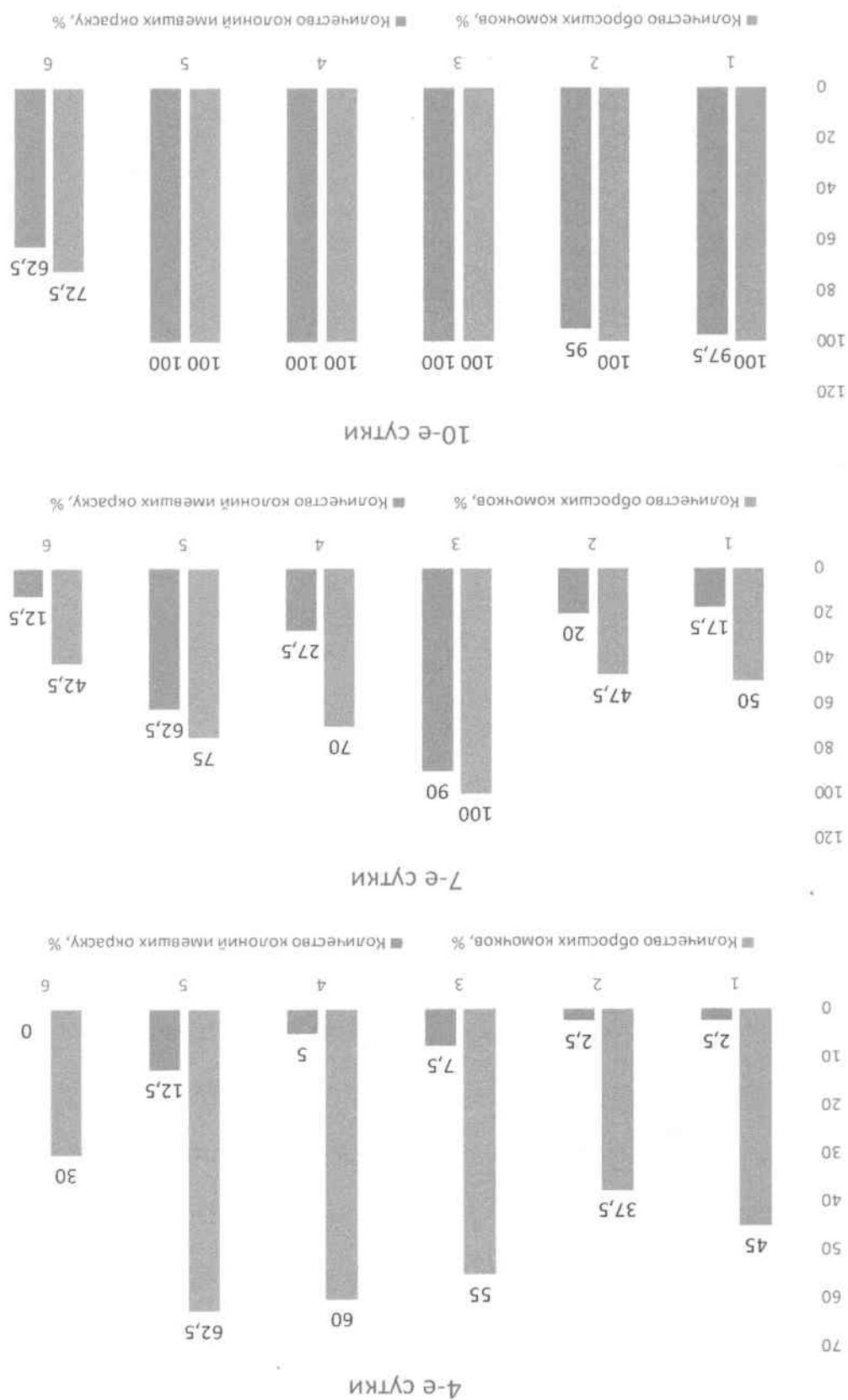


Таблица 16 – Влияние минеральных удобрений, внесенных в почву под запланированную урожай зерновых, технических и плодовых растений, на штаммы *Azotobacter chroococcum*, через 90 дней после внесения

Номер почве образц ного	Культура выращиваемая на участке	Всего почвен ных комочк ов, шт.	Количество обросшихся комочков		Количество колоний имевших окраску	
			шт.	%	шт.	%
4-е сутки						
1	Яровая пшеница	40	18	45,0	1	2,5
2	Яровой ячмень	40	15	37,5	1	2,5
3	Чистый пар	40	22	55,0	3	7,5
4	Озимая пшеница	40	24	60,0	2	5,0
5	Лен масличный	40	25	62,5	5	12,5
6	Яблоневый сад	40	12	30,0	0	0
7-е сутки						
1	Яровая пшеница	40	20	50,0	7	17,5
2	Яровой ячмень	40	19	47,5	8	20,0
3	Чистый пар	40	40	100,0	36	90,0
4	Озимая пшеница	40	28	70,0	11	27,5
5	Лен масличный	40	30	75,0	15	62,5
6	Яблоневый сад	40	17	42,5	5	12,5
10-сутки						
1	Яровая пшеница	40	40	100,0	39	97,5
2	Яровой ячмень	40	40	100,0	38	95,0
3	Чистый пар	40	40	100,0	40	100,0
4	Озимая пшеница	40	40	100,0	40	100,0
5	Лен масличный	40	40	100,0	40	100,0
6	Яблоневый сад	40	29	72,5	25	62,5

Рисунок 20. Влияние минеральных удобрений, внесенных в почву под запатентованный урожай зерновых, технических и плодовых растений, на штаммы *Azotobacter chroococcum*, через 90 дней после внесения



Таким образом, полученные данные при проведении эксперимента по влиянию минерального удобрения, внесенного в почву на штаммы *Azotobacter chroococcum*, свидетельствуют о том, что через 90 дней после внесения удобрения активность бактерий повышается на участке с чистым паром. Это говорит о том, что в почве создаются оптимальные условия для роста и развития бактерий, а на участке с аблоневым садом, активность бактерий наоборот снижается, т.к. в почве нет оптимальных условий роста и развития штаммов *Azotobacter chroococcum*.

Таблица 17- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 50 ц/га
зерна озимой пшеницы на участке №1 Береза (69:05:710103:19) площадью
159 га в 2020-2021 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	50	50	50
Вынос на I п основной продукции, кг	3,7	1,3	2,6
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	185	65	130
Имеется питательных веществ в почве, кг на 100 г почвы	15,76	9,18	13,65
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	472,8	275,40	409,50
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	25	10	12
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	118,20	27,54	49,14
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	66,80	37,46	80,86
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	50	15	55
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	133,60	249,73	147,02

Таблица 18- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 50 ц/га
зерна озимой пшеницы на участке №6 Дачный (58.05:710102.14) площадью
159 га в 2020-2021 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	50	50	50
Вынос на 1 ц основной продукции, кг	3,7	1,3	2,6
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	185	65	130
Имеется питательных веществ в почве, мг на 100 г почвы	15,00	8,75	16,78
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	450,00	262,50	503,40
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	25	10	12
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	112,50	26,25	60,41
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	72,50	38,75	69,59
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	50	15	55
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	145,00	258,33	126,53

Таблица 19- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 50 ц/га
зерна озимой пшеницы на участке № 3 Кирпичик (58.05:710103.12)
площадью 112 га в 2021-2022 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	50	50	50
Вынос на 1 ц основной продукции, кг	3,7	1,3	2,6
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	185	65	130
Имеется питательных веществ в почве, мг на 100 г почвы	14,80	16,22	18,10
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	444,00	486,6	543,00
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	25	10	12
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	111,00	48,66	65,16
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	74,00	16,34	64,84
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	50	15	55
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	148,00	108,93	117,89

Таблица 20- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 50 ц/га
зерна озимой пшеницы на участке № 8 Коровник (58:05:710103:15)
площадью 41 га в 2021-2022 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	50	50	50
Вынос на 1 ц основной продукции, кг	3,7	1,3	2,6
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	185	65	130
Имеется питательных веществ в почве, мг на 100 г почвы	15,37	11,17	14,33
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	461,10	335,10	429,90
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	25	10	12
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	115,28	33,51	51,59
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	69,72	31,49	78,41
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	50	15	55
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	139,44	209,93	142,56

Таблица 21- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 50 ц/га
зерна озимой пшеницы на участке № 8 Коровник (58.05:710103.16)
площадью 84 га в 2021-2022 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	50	50	50
Вынос на 1 ц основной продукции, кг	3,7	1,3	2,6
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	185	65	130
Имеется питательных веществ в почве, мг на 100 г почвы	13,05	6,50	15,00
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	391,50	195,00	450,00
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	25	10	12
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	97,88	19,50	54,00
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	87,12	45,50	76,00
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	50	15	55
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	174,24	303,33	138,18

Таблица 22- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 40 ц/га
площадью 36 га 2021 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	40	40	40
Вынос на 1 ц основной продукции, кг	3,9	1,3	2,5
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	156	52	100
Имеется питательных веществ в почве, мг на 100 г почвы	13,97	9,87	13,72
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	419,10	296,10	411,60
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	25	10	12
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	104,78	29,61	49,39
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	51,22	22,39	50,61
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	50	15	55
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	102,44	149,27	92,02

Таблица 23- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 40 ц/га
зерна ярового ячменя на участке № 5 За третьим садом (58:05:710103:11)
площадью 15 га 2021 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	40	40	40
Вынос на 1 ц основной продукции, кг	3,9	1,3	2,5
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	156	52	100
Имеется питательных веществ в почве, мг на 100 г почвы	13,08	14,00	16,28
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	392,40	420,00	488,40
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	25	10	12
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	98,10	42,00	58,61
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	57,9	10,00	41,39
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	50	15	55
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	115,80	66,67	75,25

Таблица 24- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 40 ц/га
зерна яровой пшеницы на участке № 7 Ангар (58:05:710102:17) площадью
164 га 2021 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	40	40	40
Вынос на 1 ц основной продукции, кг	3,8	1,2	2,5
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	152,00	48,00	100,00
Имеется питательных веществ в почве, мг на 100 г почвы	14,59	11,95	14,91
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	437,7	358,50	447,30
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	25	10	12
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	109,43	35,85	53,68
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	42,57	12,15	46,32
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	50	15	55
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	85,14	81,00	84,22

Таблица 25- Расчет норм удобрений на запланированный урожай 30 ц/га
зерна льна масличного на участке № 9 За старым садом (58:05:710103:9)
площадью 100 га 2021 год вегетации

Показатели для расчета	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Планируемая урожайность, ц/га	30	30	30
Вынос на 1 ц основной продукции, кг	10,6	5,3	9,3
Требуется питательных веществ для выращивания планируемого урожая, кг/га	318,00	159,00	279,00
Имеется питательных веществ в почве, мг на 100 г почвы	13,22	13,24	15,65
Имеется питательных веществ в почве, кг/га	396,60	397,20	469,50
Коэффициент использования питательных веществ из почвы, %	35	15	13
Будет использовано питательных веществ из почвы, кг/га	138,81	59,58	61,04
Требуется внести питательных веществ за счет удобрений, кг/га	179,19	99,42	217,96
Коэффициент усвоения питательных веществ из минеральных удобрений в год внесения, %	60	30	75
Требуется внести питательных веществ с учетом коэффициента использования, кг/га	298,65	331,40	290,61

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате исследования образцов почвы с разных почвенных участков расположенных на территории ООО «Сады Сурь» Бессоновского района Пензенской, в шести почвенных пробах черномезема выщелоченного, при посеве на среду Эшби был обнаружен рост типичных колоний азотобактера. Установлено, что выделенные штаммы по ключевым морфологическим и физиолого-биохимическим признакам относились к роду *Azotobacter* и виду *Azotobacter chroococcum*.

2. Исследования по изучению влияния минеральных элементов питания в почве на рост и развитие штаммов *Azotobacter chroococcum* показали, что на 4-е сутки колонии *Azotobacter chroococcum* присутствуют на всех почвенных образцах. Самыми активно растущими оказались штаммы азотобактеров на почвенных образцах, отобранных участке № 3, где предполагался чистый пар. Количество обросших комочков слизию составило 30 % от исходных. Из этого количества 12,5 % колоний имели окраску с черным пигментом, характерным для штаммов *Azotobacter chroococcum*. Наименее активными были штаммы *Azotobacter chroococcum* в почвенных образцах, взятых на почвенных участках, где предполагается яблоневый сад. Количество обросших комочков почвы слизью составило 17, 5 % от исходных. Колоний, имевших окраску с черным пигментом, характерным для штаммов *Azotobacter chroococcum* не обнаружено.

3. Исследования по влиянию удобрений на штаммы *Azotobacter chroococcum* показали, что активность бактерий через 30 дней после внесения удобрения колебалась от 52, 5% до 95, 5 % на 4-е сутки, 75-100 % на 7-е сутки и 97, 5-100 % на 10 сутки. Самая наибольшая активность штаммов *Azotobacter chroococcum* была зафиксирована на почвенном образце, отобранном на участке яблоньевого сада, т.к. уже

на 7-сутки она достигала 100 % и 87, 5 % колоний, имевших окраску для данного вида бактерий. Наименьшая активность *Azotobacter chroococcum* наблюдалась на почвенных образцах, отобранных на участках яровой пшеницы и ярового ячменя при 52, 5-55, 0 % на 4-сутки. На 10-е сутки была зафиксировано 100 % обратанное комочков глизью и 97, 5-100 % колоний, имевших окраску черного цвета.

4. Через 30 дней после внесения удобрения активность бактерий повышалась на участке с яблоневым садом. Минеральные удобрения стимулировали рост и развитие штаммов *Azotobacter chroococcum*.

5. Через 90 дней после внесения удобрения активность бактерий повышалась на участке с чистым паром, это говорит о том, что в почве создаются оптимальные условия для роста и развития бактерий, а на участке с яблоневым садом, активность бактерий наоборот снижается, т.к. в почве нет оптимальных условий роста и развития штаммов *Azotobacter chroococcum*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Берцова, Ю. В. Дыхательная защита нитрогеназного комплекса у *Azotobacter vinelandii* // Успехи биологической химии: Санкт-Петербург: 2005. Т. 45. С. 205—234.
2. Блинков, Г.К. Азотобактер и его значение для высших растений. Томск: 1959. 123с.
3. Волова Т. Г. Биологические удобрения // Биотехнология / Под ред. академика И. И. Гительзона. Новосибирск: Издательство СО РАН, 1999. С. 190—193.
4. ГОСТ 17.4.3.01. Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб: межгосударственный стандарт: дата введения 2019-01-01 / Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. Изд. официальное. Москва: 2019. — 3 с.
5. ГОСТ Р 54653-2011. Удобрения органические. Методы микробиологического анализа: национальный стандарт: дата введения 2013-01-01 / Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. Изд. официальное. Москва: 2011. 24 с.
6. Громов, В.В. Экология бактерий. Учебное пособие / В.В. Громов, Г.В. Павленко. Л.: Издательство ЛПУ. Москва: 1989. 246 с.
7. Колешко, О.И. Азотфиксирующие бактерии (физиология развития). Минск: Издательство БГУ. 1981. 111 с.
8. Мишустин, Е.Н., Шильникова.М. Биологическая фиксация атмосферного азота. Москва: 1968. 306 с.
9. Мишке, И. В. Микробные фитогормоны в растениеводстве. Рига: 1988. 152 с.
10. Мишустин Е.Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия. М. Новосибирск: 1972. 44 с.
11. Придачина, Н.Н. *Azotobacter chroococcum*—продуцент нового противогрибкового антибиотика. Антибиотики. 1982. № 1. с.3—5.

12. Самсонов, С.К. Невидимые земледельцы. Москва: 1987. №2. 172 с.
13. Теплер, Е. 3. Практикум по микробиологии 2-е изд., перераб. и доп. — М. Колос, 1979. №3. 216 с.
14. Федоров, М.В. Микробиология. М.: Сельхозиздательство. 1963. №6. 448 с.
15. Шильникова, В.К. Микроорганизмы азотофиксаторов на сукцессии растений. 1983. №2. 150 с.
16. Ahmad F. Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of Azotobacter and Fluorescent Pseudomonas in the Presence and Absence of Tryptophan / F. Ahmad, I. Ahmad, M.S. Khan // Turkish Journal of Biology. 2005: № 29. P.29—34.
17. Ahmed M., Genetics of Bacterial Alginate: Alginate Genes Distribution, Organization and Biosynthesis in Bacteria / M. Ahmed, N. Ahmed // Current Genomics. 2007: V. 8. № 3. P.191—202.
18. Azotobacter in Sustainable Agriculture / edited by Neeru Narula. New Delhi, 2000: P.239—345.
19. Baillie A. Flagellation of Azotobacter spp. As Demonstrated by Electron Microscopy / A. Baillie, W. Hodgkiss, J.R. Norris // Journal of Applied Microbiology. 1962: T.25. № 1. P. 116—119.
20. Bellenger J.P. Vanadium Requirements and Uptake Kinetics in the Dinitrogen-Fixing Bacterium Azotobacter vinelandii / J.P. Bellenger, T. Wichard, A.M. Kraepiel // Applied and Environmental Microbiology. 2008: V. 74. № 5. P. 1478—1484.
21. Bürgmann H., mRNA Extraction and Reverse Transcription-PCR Protocol for Detection of nifH Gene Expression by Azotobacter vinelandii in Soil / H. Bürgmann, F. Widmer, W.V. Sigler, J. Zeyer // Applied and Environmental Microbiology. 2003: V. 69. № 4. P. 1928—1935.
22. Chen J. H. Trace metal mobilization in soil by bacterial polymers. / J.H. Chen., D.R. Czajka, L.W. Lion, M.L. Shuler, W.C. Ghiorse // Environmental Health Perspectives. 1995: V. 103. № 1. P. 53—58.

23. Curatti L. Genes required for rapid expression of nitrogenase activity in *Azotobacter vinelandii* / L. Curatti, C.S. Brown, P.W. Ludden, L.M. Rubio // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005: V. 102. № 18. P. 6291—6296.
24. Durrant M. C. Evidence for a dynamic role for homocitrate during nitrogen fixation: the effect of substitution at the α -Lys426 position in MoFe-protein of *Azotobacter vinelandii* / M.C. Durrant, A. Francis, D. J. Lowe, W. E. Newton, K. Fisher // Biochemistry Journal. 2006: V. 397. № 2. P. 261–270.
25. Emtiazia G. Production of extra-cellular polymer in *Azotobacter* and biosorption of metal by exopolymer / G. Emtiazia, Z. Ethemadifara, M. H. Habib // African Journal of Biotechnology. 2004: V. 3. № 6 P. 330—333.
26. Fallik E. Detection of Alternative Nitrogenases in Aerobic Gram-Negative Nitrogen-Fixing Bacteria / E. Fallik, Y.-K. Chan, R. L. Robson // Journal of Bacteriology. 1991: V. 173. № 1. P. 365—371.
27. Galindo, E. Molecular and bioengineering strategies to improve alginate and polydihydroxyalkanoate production by *Azotobacter vinelandii* / E. Galindo, C. Peña, C. Núñez, D. Segura, G. Espín // Microbial Cell Factories. 2007: V. 6. № 7. P. 36-56
28. Gandora V., Gupta R. D., Bhardwaj K. K. Abundance of *Azotobacter* in great soil groups of North-West Himalayas / V. Gandora, R.D. Gupta, K.K. Bhardwaj // Journal of the Indian Society of Soil Science. 1998: V. 46. № 3. P. 379—383.
29. Howard J. B. How many metals does it take to fix N₂? A mechanistic overview of biological nitrogen fixation / J. B. Howard, D. C. Rees // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2006: V. 103. № 46. P. 17088–17093.
30. Hill S. *Azotobacter vinelandii* NIFL is a flavoprotein that modulates transcriptional activation of nitrogen-fixation genes via a redox-sensitive switch. / S. Hill, S. Austin, T. Eydmann, T. Jones, R. Dixon // Proceedings

- of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1996: V. 93. № 5. P. 2143—2148.
31. Hu Y. P-cluster maturation on nitrogenase MoFe protein / Y. Hu, A.W. Fay, C.C. Lee, M.W. Ribbe // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2007: V. 104. № 25. P. 10424—10429.
32. Hu Y. Identification of a nitrogenase FeMo cofactor precursor on NifEN complex / Y. Hu, A.W. Fay, C.C. Lee, M.W. Ribbe // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005: V. 102. № 9. P. 3236—3241.
33. Jones D. H. Further Studies on the Growth Cycle of Azotobacter // Journal of Bacteriology. 1920: V. 5. № 4. P. 325—341.
34. Johnstone D. B. Azotobacter Fluorescence // Journal of Bacteriology. 1955: № 4. P. 481—482.
35. Jensen H. L. The Azotobacteriaceae // Bacteriological Reviews. 1954: V. № 4. P. 195—214.
36. Kass D. L. Nitrogen Fixation by Azotobacter paspali in Association with Bahiagrass (*Paspalum notatum*) / D.L. Kass, M. Drosdoff, M. Alexander // Soil Science Society of America Journal. 1971: № 35. P. 286—289.
37. Kumar R. Establishment of Azotobacter on plant roots: chemotactic response, development and analysis of root exudates of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) / R. Kumar, R. Bhatia, K. Kukreja, R. K. Behl, S.S. Dudeja, N. Narula // Journal of Basic Microbiology. 2007: V. 47. № 5. P. 436—439.
38. Lewis I. M. The cytology of bacteria // Bacteriological Reviews. 1941: V. 5. № 3. P. 181—230.
39. Lewis I.M. Cell Inclusions and the Life Cycle of Azotobacter // Journal of Bacteriology. 1937: V. 34. № 2. P. 191—205.
40. Li, D.Y. Degradation of 2, 4, 6-trichlorophenol by Azotobacter sp. strain GP1 / D.Y. Li, J. Eberspächer, B. Wagner, J. Kuntzer, F. Lingens //

Applied and Environmental Microbiology. 1991: V. 57. № 7. P. 1920—1928.

41. Lin L.P. Ultrastructural and physiological changes occurring upon germination and outgrowth of *Azotobacter vinelandii* cysts / L.P. Lin, S. Pankratz, H.L. Sadoff // Journal of Bacteriology. 1978: V. 135. № 2. P. 641—646.

42. Loperfido B. Germination of *Azotobacter vinelandii* Cysts: Sequence of Macromolecular Synthesis and Nitrogen Fixation / B. Loperfido, H.L. Sadoff // Journal of Bacteriology. 1973: V. 112. № 2. P. 841—846.

43. Maier R.J. Role of the *Azotobacter vinelandii* Nitrogenase-Protective Shethna Protein in Preventing Oxygen-Mediated Cell Death / R.J. Maier, F. Moshiri // Journal of Bacteriology. 2000: V. 182. № 13. P. 3854—3857.

44. Martinez-Argudo I. A crucial arginine residue is required for a conformational switch in NifH to regulate nitrogen fixation in *Azotobacter vinelandii* / I. Martinez-Argudo, R. Little, R. Dixon // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2004: V. 101. № 46. P. 163.

45. Martyniuk S. Occurrence of *Azotobacter* Spp. in Some Polish Soils / S. Martyniuk, M. Martyniuk // Polish Journal of Environmental Studies. 2003: V. 12. № 3. P. 371—374.

46. Mitra R. Identification of a Positive Transcription Regulatory Element within the Coding Region of the *nifLA* Operon in *Azotobacter vinelandii* / R. Mitra, H.K. Das, A. Dixit // Applied and Environmental Microbiology. 2005: V. 71. № 7. P. 3716—3724.

47. Money T. Protein-Protein Interactions in the Complex between the Enhancer Binding Protein NIFA and the Sensor NIFL from *Azotobacter vinelandii* / T. Money, J. Barrett, R. Dixon, S. Austin // Journal of Bacteriology. 2001: V. 183. № 4. P. 1359-1367.

48. Miller R. W. Molybdenum and vanadium nitrogenases of *Azotobacter chroococcum*. Low temperature favours N₂ reduction by vanadium

- nitrogenase. / R.W. Miller, R.R. Eady // *Biochemistry Journal*. 1988: V. 256. № 2. P. 429–432.
49. Oblisami G. Effect of Azotobacter Inoculant And Growth Regulators on the Growth of Cashew / G. Oblisami, P. Santhananakrishnan, C.M. Pappiah, K.G. Shabnugavelu // *Acta Horticulturae (ISHS)*. № 108. 2005: P. 44–49.
50. Part B. The Gammaproteobacteria // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* / Editor-in-Chief: George M. Garrity. 2nd Edition. New York: Springer, 2005: P. 28-16.
51. Pau R. N. Genetic evidence for an Azotobacter vinelandii nitrogenase lacking molybdenum and vanadium / R.N. Pau, L.A. Mitchenall, R. L. Robson // *Journal of Bacteriology*. 1989: V. 171. № 1. P. 124–129.
52. Page W. J. Alginate formation in Azotobacter vinelandii UWD during stationary phase and the turnover of poly- β -hydroxybutyrate / W. J. Page, A. Tindale, M. Chandra, E. Kwon // *Microbiology*. 2001: № 147. P. 483–490.
53. Pettinari M. J. Poly(3-Hydroxybutyrate) Synthesis Genes in Azotobacter sp. Strain FA8 / M.J. Pettinari, G.J. Vázquez, D. Silberschmidt, B. Rehm, A. Steinbüchel, B. S. Méndez // *Applied and Environmental Microbiology*. 2001: V. 67. № 11. P. 5331-5334.
54. Rajae S. Effect of Plant Growth Promoting Potentials of Azotobacter chroococcum Native Strains on Growth, Yield and Uptake of Nutrients in Wheat S. Rajae, H.A. Alikhani, F. Raiesi // *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*. 2007: V. 11. № 41. 297 P.
55. Robson R.L. The alternative nitrogenase of Azotobacter chroococcum is a vanadium enzyme / R.L. Robson, R.R. Eady, T.H. Richardson, R.W. Miller, M. Hawkins, J. R. Postgate // *Nature*. 1986: № 322. P. 388–390.
56. Ribbe M.W. The chaperone GroEL is required for the final assembly of the molybdenum-iron protein of nitrogenase / M.W. Ribbe, B. K. Burgess //

- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2001: V. 98. № 10. P. 5521—5525.
57. Rüttimann-Johnson C. VnFY Is Required for Full Activity of the Vanadium-Containing Dinitrogenase in *Azotobacter vinelandii* / C. Rüttimann-Johnson, L. M. Rubio, D. R. Dean, P. W. Ludden // *Journal of Bacteriology*. 2003: V. 185. № 7. P. 2383—2386.
58. Socolofsky M. D. Resistance of the *Azotobacter* Cyst / M. D. Socolofsky, O. Wyss // *Journal of Bacteriology*. 1962: V. 84. P. 119—124.
59. Shivprasad S. Catechol Formation and Melanization by Na⁺-Dependent *Azotobacter chroococcum*: a Protective Mechanism for Aeroadaptation? / S. Shivprasad, W. J. Page // *Applied and Environmental Microbiology*. 1989: V. 55. № 7. P. 1811—1817.
60. Tejera N. Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere / N. Tejera, C. Lluh, M. V. Martínez-Toledo, J. González-López // *Plant and Soil*. 2005: V. 270. № 12. P. 223—232.
61. Vela G. R. Effect of Peptone on *Azotobacter* Morphology / G. R. Vela, R. S. Rosenthal // *Journal of Bacteriology*. 1972: V. 111. № 1. P. 260—266.
62. Vitkute J. Abe I, a restriction endonuclease from *Azotobacter beijerinckii*, which recognizes the asymmetric heptanucleotide sequence 5 [prime]-CCTCAGC-3 [prime](-/-2) / J. Vitkute, Z. Maneliene, A. Janulaitis // *Nucleic Acids Research*. 1998: V. 26. № 21. P. 4917—4918.
63. Wong T.-Y. H₂-Dependent Mixotrophic Growth of N₂-Fixing *Azotobacter vinelandii* / T.-Y. Wong, R. J. Maier // *Journal of Bacteriology*. 1985: V. 163. № 2. P. 528—533.