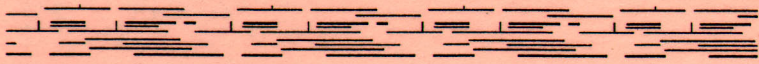
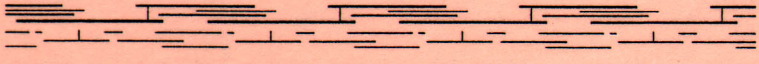


**Н. Ф. Клещев**



**АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯ:  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ  
МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА**



**Учебное пособие**

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
«Харьковский политехнический институт»

**Н. Ф. Клещев**

**АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯ:  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА**

Учебное пособие  
для студентов (в т.ч. иностранных)  
биотехнологического направления

Утверждено  
редакционно-издательским  
советом университета,  
протокол № 1 от 04.06. 2014 г.

Харьков  
НТУ «ХПИ»  
2014

УДК 57.086.12(075)  
ББК 40.4-4я7  
К 48

Рецензенты: *Л. Н. Кобызева*, д-р с.-х. наук, ст. научный сотрудник,  
Институт растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН  
Украины  
*Е. В. Скрыльник*, д-р с.-х. наук, ННЦ «Институт почво-  
ведения и агрохимии им. А.Н. Соколовского»

Посібник включає відомості про біологічні особливості фіксації молекулярного азоту, мікробіологічні основи бактерійних добрив, підвищення продуктивності рослин. Призначено для студентів біотехнологічного напрямку підготовки за спеціалізацією «Агробіотехнологія».

**Клещев Н. Ф.**

К 48: Агробиотехнология: Биологическая фиксация молекулярного азота : учеб. пособие / Н. Ф. Клещев. – Х.: НТУ «ХПИ», 2014.– 168 с.– На рус. яз.

ISBN

Пособие включает сведения о биологических особенностях фиксации молекулярного азота, микробиологических основах бактериальных удобрений, повышении продуктивности растений.

Предназначено для студентов биотехнологического направления подготовки по специализации «Агробиотехнология»

Ил. 13. Табл. 6. Библиогр.: 32 назв.

УДК 57.086.12(075)  
ББК 40.4-4я7

ISBN

© Н. Ф. Клещев,  
© НТУ «ХПИ», 2014 г.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение</b> .....	5
<b>Глава 1. Биологические особенности фиксации молекулярного азота</b> .....	7
1.1. Особенности усвоения молекулярного азота .....	7
1.2. Исторические аспекты биологической фиксации молекулярного азота .....	14
1.3. Биохимические основы фиксации молекулярного азота .....	19
1.4. Леггемоглобин и регуляция фиксации азота .....	28
1.5. Цианобактерии и их роль в биологической фиксации азота .....	34
1.6. Побочные продукты биологической фиксации азота .....	39
<b>Глава 2. Процессы биофиксации азота в микробиологии бактериальных удобрений</b> .....	45
2.1. Влияние растений на развитие микроорганизмов в почве .....	49
2.1.1. Ризосфера и ее микрофлора .....	49
2.1.2. Изменение состава микрофлоры в почве .....	54
2.1.3. Приживаемость бактерий и местные штаммы .....	56
2.2. Влияние бактерий на растения .....	59
2.2.1. Микроорганизмы-азотфиксаторы .....	60
2.2.2. Бактерии-активаторы, бактерии-антагонисты и бактерии-ингибиторы .....	66
2.3. Виды и биотехнология бактериальных удобрений .....	72
<b>Глава 3. Применение биоудобрений для фиксации азота с целью повышения урожайности сельхозкультур</b> .....	79
3.1. Характеристика почв .....	79
3.1.1. Территориальная классификация почв .....	80

3.1.2. Факторы плодородия почвы .....	101
3.2. Роль микроорганизмов в формировании почвы и ее плодородия .....	104
3.2.1. Процесс образования почвы и деятельность микроорганизмов .....	105
3.2.2. Микроорганизмы в создании плодородия почв .....	108
3.3. Проблемы загрязнения почв и технологии ремедиации .....	114
3.3.1. Основные загрязнители почвы .....	115
3.3.2. Основные принципы микробной биоремедиации почв .....	125
<b>Глава 4. Современные перспективы ведения земледелия .....</b>	<b>130</b>
4.1. ЭМ-технологии .....	132
4.2. Органическое земледелие – «зеленое удобрение» .....	138
4.3. Генная инженерия сельскохозяйственных растений .....	148
4.3.1. Биотехнология в повышении продуктивности растений .....	150
4.3.2. Получение трансгенных растений .....	157
4.3.3. Биотехнология азотфиксирующих генов .....	159
<b>Заключение .....</b>	<b>164</b>
<b>Список литературы .....</b>	<b>166</b>

## ВВЕДЕНИЕ

XX столетие – это был век применения минеральных удобрений. На рубеже веков стало ясно, что широкое применение химических соединений в сельском хозяйстве приведет к непредсказуемым последствиям. Присутствие в продуктах питания нитратов, нитритов, пестицидов, гербицидов отрицательно сказывается на здоровье населения планеты и приводит к развитию многих заболеваний, прежде всего аллергического характера.

Накопление в почве химических соединений, применяемых в сельском хозяйстве, обуславливает резкое ухудшение ее плодородия вне зависимости от климатических зон и типов почвы. Образуется замкнутый круг: ухудшение плодородия ведет к снижению урожаев и требует внесения все больших доз минеральных удобрений для обеспечения продуктивности сельскохозяйственных культур – это приводит к еще большему снижению уровня плодородия, что вынуждает снова увеличивать дозы минеральных удобрений.

В результате перед человечеством по-прежнему стоит проблема обеспечения высокой продуктивности сельскохозяйственных культур и защиты растений от болезней.

*Современная агробиотехнология* – это локомотив развития сельского хозяйства будущего. Аграрные биотехнологии вызывают колоссальный международный интерес, поскольку их развитие направлено на решение проблемы голода на планете, снабжение фермеров здоровым посадочным материалом, поддержание биоразнообразия агрофитоценозов, получение природного лекарственного сырья, оценку безопасности продуктов питания. Обострение экологических проблем остро ставит вопрос о разработке

технологий биоконверсии отходов сельского хозяйства и очистке загрязненных территорий методами фиторемедиации, что невозможно сделать без участия квалифицированных агробиотехнологов.

Биологические препараты являются альтернативой минеральным удобрениям, а также химическим протравителям семян и фунгицидам. Действующим началом биопрепаратов являются бактерии и микроскопические грибы, обитающие в почве. Путем длительной селекции из их числа отбирают микроорганизмы, которые хорошо приживаются в ризосфере или на корнях растений и оказывают положительное действие на рост и развитие сельскохозяйственных культур.

Для людей и животных такие микроорганизмы совершенно безопасны, а при внесении в почву могут существенно улучшить ее плодородие. Гектарная норма внесения биологических препаратов существенно меньше, чем минеральных удобрений и поэтому использование агробиотехнологии обходится значительно дешевле, в сельскохозяйственной продукции не накапливаются нитраты, нитриты, что способствует длительной сохранности собранного урожая. Биологические препараты обеспечивают повышение качества продукции за счет увеличения содержания в плодах витаминов и сахаров.

В Украине ведется подготовка биотехнологов по пяти специальностям: промышленная биотехнология, фармацевтическая биотехнология, экологическая биотехнология, молекулярная биотехнология и аграрная биотехнология в соответствии с Постановлением Кабинета министров Украины № 787 от 27 августа 2010 г.

По специальности «Агробиотехнология» имеется ряд учебных пособий, изданных в Украине и Российской Федерации, однако в настоящее время специальной литературы по данному направлению недостаточно.

Предлагаемое учебное пособие, подготовленное в НТУ «ХПИ» на кафедре биотехнологии и аналитической химии, включает дополнительные сведения по агробиотехнологии для бакалавров, специалистов и магистров биотехнологического направления.

## ГЛАВА 1. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФИКСАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА

Результаты многих ранних работ указывали на возможность биологической фиксации азота, но достоверность этих данных подвергалась сомнению. В конце XIX века появились первые сообщения об опытах, достаточно четких и убедительных, чтобы заставить скептиков признать, что биологические объекты могут фиксировать азот. Усилия ученых были направлены на поиск других азотфиксирующих систем, на исследование физиологии клубеньковых бактерий, на применение биологической фиксации азота в сельском хозяйстве. Делались попытки заставить клубеньковые бактерии фиксировать азот в лабораторных культурах (случайно удалось осуществить).

Биохимией фиксации азота, как правило, пренебрегали, потому что исследование других аспектов фиксации виделось более неотложным. Развитие химических процессов восстановления азота пробудило интерес к биологической фиксации азота. Высказывались различные предположения о механизме этого процесса, которые, однако, не приводили к серьезным биохимическим исследованиям.

### 1.1. Особенности усвоения молекулярного азота

*Круговорот азота в природе* – важнейшее звено в биогеохимических циклах нашей планеты (см. рис. 1). Земная атмосфера, на 78 об. % состоящая из азота, служит, по сути дела, основным резервуаром этого важнейшего элемента всего живого. Азот входит в состав белков, нуклеиновых кислот, многих простых и сложных молекул, составляющих структуры организмов любого уровня от человека до микроорганизма.

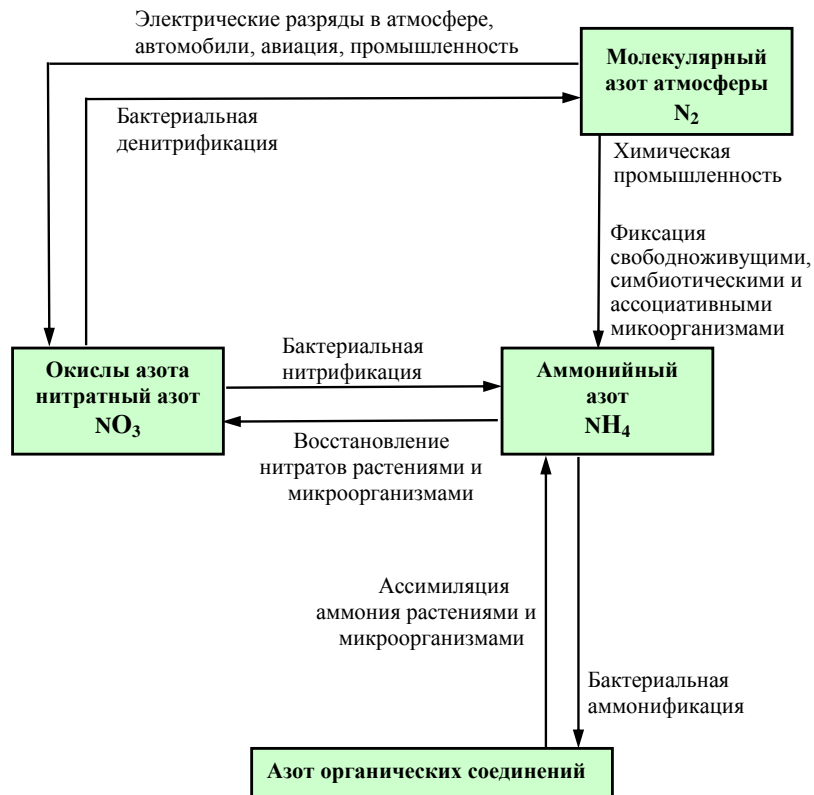


Рисунок 1 – Круговорот азота в природе

Человеку и животным азот нужен в виде белков животного и растительного происхождения, растениям – в виде солей азотной кислоты или ионов аммония. Представители животного и растительного мира не могут черпать азот непосредственно из атмосферы воздуха. Такой способностью обладает ограниченное количество видов микроорганизмов и синезеленых водорослей, которые называют *азотфиксаторами*, а процесс связывания азота атмосферы этими организмами – *биологической азотфиксацией*.

Азотфиксаторы, как правило, сожительствуют с теми или иными растениями, обеспечивая их азотом, и пользуются для своей жизни многими веществами, образующимися в растениях.

Азотфиксаторы можно разделить на группы:

- *симбиотические азотфиксаторы* – микроорганизмы, которые усваивают азот атмосферы, только находясь в симбиозе с высшим растением;
- *не симбиотические азотфиксаторы* – микроорганизмы, свободно живущие в почве и усваивающие азот воздуха;
- *ассоциативные азотфиксаторы* – микроорганизмы, обитающие на поверхности корневой системы злаков, т. е. живущие в ассоциации с высшими растениями.

*Симбиотические азотфиксаторы*, живущие в клубеньках корней бобовых растений (клубеньковые бактерии), относятся к роду *Rhizobium*. Связывание азота атмосферы возможно только при симбиотической ассоциации микроорганизмов этого вида и высшего растения в основном из семейства «Бобовые». Существует большое количество разновидностей (штаммов) клубеньковых бактерий, каждая из которых приспособлена к заражению одного или нескольких видов бобовых растений. Это отражается в их названиях: *Rhizobium lupini* – клубеньковые бактерии люпина, *Rhizobium trifolii* – клубеньковые бактерии клевера и т.д.

*Не симбиотические азотфиксаторы (свободноживущие бактерии)* имеют большое значение. Свободноживущие азотфиксаторы могут быть факультативными аэробными или факультативными анаэробными. Для того чтобы эти микроорганизмы осуществляли процесс фиксации азота, необходимо присутствие молибдена, железа и кальция. Особенно важно присутствие молибдена. Свободно живущие азотфиксаторы (*Azotobacter*) усваивают в среднем около 1 г азота на 1 м<sup>2</sup> в год. Усваивать атмосферный азот способны и многие другие бактерии: клебсиеллы, бациллы и т.д. Особый интерес представляют цианобактерии, вызывающие цветение пресных и океанических водоемов. В ряде стран их разведение практикуется на рисовых полях.

Число видов *ассоциативных азотфиксаторов* так же велико, как велико разнообразие ассоциативных взаимоотношений растений с микроорганизмами. Такие отношения характерны для ризосферных микроорганизмов, т.е. живущих на поверхности корневой системы растений. Часто мик-

робиологи не делают различия между ассоциативными и свободноживущими азотфиксаторами. Последовательность взаимоотношений с растением-хозяином ассоциативных азотфиксаторов имеет определенное сходство с симбиотическими организмами: хемотаксическое узнавание, лектин-углеводное узнавание и этап установления прочных связей. Отсутствует только этап образования клубеньков. Эффективность азотфиксации ассоциативной микрофлорой меньше по сравнению с симбиотической, но ассоциативные азотфиксаторы продуцируют гормоны роста растений и обладают другими свойствами, положительно влияющими на рост и развитие растений (защита от фитопатогенов, разрушение токсических веществ). Наиболее изучены из этой группы микроорганизмы из рода азоспириллы (*Azospirillum*). Они колонизируют корни злаков и в связи с этим представляет интерес технология их выращивания. Азоспириллы легко инфицируют корневую систему злаков и других растений.

Термином «биологическая фиксация азота» подчеркивается, что мы имеем дело с уникальным биологическим явлением. Свой вклад в фиксацию азота воздуха вносят и иные (небиологические) процессы, такие, как грозы, извержения вулканов, пожары, сжигание топлива на тепловых электростанциях и в двигателях, наконец, производство аммиака по технологии Фрица Габера (1918 г.) и Карла Боша (1931 г.). Именно им и фирме BASF («Badische Anilin und Soda Fabrik») в начале века в Германии удалось сделать переворот в мировой азотной промышленности, создав технологию получения аммиака из азота и водорода под давлением с участием катализатора, которая и поныне используется для получения минеральных азотных удобрений. Какова же доля всех видов связывания азота атмосферы? По очень приблизительным оценкам, масштаб биологической азотфиксации, происходящей ежегодно на Земле, весьма внушителен.

В табл. 1 приведена приблизительная оценка объемов азотфиксации в мировом масштабе.

Таблица 1 – Приблизительная оценка объемов азотфиксации в мировом масштабе

Источник	Примерный диапазон, млн т N / год
Биологическая фиксация азота атмосферы	≈ 200
Суша	44–200
Мировой океан	1–120
Сжигание топлива	15–40
Пожары	10–200
Грозы	8–30
Промышленное производство аммиака	100 (удобрения – 84; прочие –16)

Для биосинтеза азотсодержащих органических веществ (белков, нуклеиновых кислот и др.) требуется аминный азот. Его важным источником являются азотсодержащие вещества – азотистые основания нуклеиновых кислот, аминокислоты, аминоспирты и др. Внутриклеточные запасы этих предшественников ограничены. Однако существуют огромные запасы молекулярного азота, который содержится в атмосфере Земли и вполне пригоден для биосинтетических процессов. Однако использовать молекулярный азот для метаболических нужд могут далеко не все живые организмы. Существуют отдельные представители микроорганизмов, способные осуществлять процесс фиксации атмосферного азота.

Смысл процесса фиксации атмосферного азота сводится к следующему. Азотфиксирующие организмы используют атмосферный азот для синтеза аммиака. Этот метаболит может усваиваться практически всеми живыми организмами на нашей планете. В почве существует особая разновидность почвенных бактерий, способных получать энергию за счет окисления аммиака до нитритов и нитратов. Под их влиянием аммиак, попавший в почву из тел погибших организмов, окисляется до нитратов. Этот процесс определяется как нитрификация. Растения, обладающие ферментом нитратредуктазой, способны восстанавливать нитраты до аммиака. Образовавшийся аммиак используется растениями для синтеза аминокислот и нуклеиновых кислот. Эти азотсодержащие вещества из растений по-

ступают в гетеротрофные животные организмы, где и подвергаются катаболизму. Таким образом, круговорот азота в природе замыкается.

*Потребность* в дальнейшем расширении и углублении наших знаний о фиксации азота связана с двумя причинами.

**Первая причина** – это назревшая необходимость более глубокого понимания окружающей нас живой природы, взаимосвязи между отдельными ее составляющими и предвидение тех изменений в окружающей среде, к которым может привести нарушение любых компонентов экосистем. Продолжается интенсивное освоение почв, озер, рек, тундры, океанов; все больше внимания уделяется их исследованию, а с появлением новых методов идентифицируются все новые формы азотфиксирующих микроорганизмов – диазотрофы.

*Дiazотрофы* – это микроорганизмы, способные усваивать молекулярный азот атмосферы и переводящие его в доступную для растений форму. Многие из них являются свободноживущими прокариотами (в основном это бактерии и сине-зеленые водоросли).

Нарастает число описанных факультативных, особенно ассоциативных симбиотических систем, обнаруженных в разных сферах обитания, например в морях, тундре, ризосфере хлебных злаков и двудольных растений.

Нет пока четких представлений о том, какие диазотрофы участвуют в ассоциативных симбиотических системах, каковы особенности этих ассоциаций, сколько связанного азота они поставляют растению-хозяину и другим растениям соответствующей среды обитания.

**Вторая причина** – это потребность в увеличении сельскохозяйственной продукции в связи с ростом населения Земли. Эта причина вызвала широкую волну исследований по фиксации азота. По имеющимся оценкам общее количество связанного азота на Земле составляет в настоящее время  $2,4 \cdot 10^9$  т. Из них 65 % является результатом деятельности азотфиксирующих микроорганизмов почвы, 25 % приходится на промышленный синтез аммиака (по методу Габера – Боша). Оставшаяся часть (10 %) – результат сгорания азота в его оксид в атмосфере за счет высокотемпературных (пожары, грозовые разряды) и фотохимических процессов в

верхних слоях атмосферы. Эти процессы составляют источник более или менее постоянных концентраций оксидов азота в атмосфере, и их уровень является оптимальным для поддержания на постоянном уровне химических явлений в атмосфере Земли, прежде всего постоянства концентрации озона.

В настоящее время уже до  $0,7 \cdot 10^8$  т азота в год связывается при взаимодействии азота с кислородом воздуха в результате высокотемпературных процессов, вызванных хозяйственной деятельностью. Половина производимой человеком окиси азота образуется в результате сжигания топлива в промышленных установках и другая половина – за счет работы транспорта. Таким образом, действующий двигатель внутреннего сгорания служит основным антропогенным источником оксидов азота в атмосфере.

В противоположность Габеровскому методу, осуществляемому при высоких температурах (400–500 °С) и давлениях (200–1000 атм), природный биологический процесс эффективно протекает в исключительно мягких условиях.

Выделение в 1960 году фермента нитрогеназы, катализирующего биологическое восстановление азота до аммиака, определило интерес к проблеме биологической и химической фиксации азота. Исследования в этой области концентрировались в двух основных направлениях. *Задача первого направления* состояла в том, чтобы в результате изучения ферментативной реакции создать более эффективные химические процессы фиксации азота, способные удовлетворить потребности сельского хозяйства в удобрениях. *Задача второго направления* связана с быстрым развитием генетики микроорганизмов, открывающей возможности пересадки генов, ответственных за фиксацию азота, от азотфиксирующих бактерий (например, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Azotomonas*) другим микроорганизмам или даже растениям.

*Интересы исследователей-биологов сфокусированы на таких научных направлениях:*

❖ поиск новых микробно-растительных азотфиксирующих сообществ и определение их роли в глобальной азотфиксирующей системе планеты;

- ❖ исследование молекулярных механизмов взаимоотношения растений и азотфиксирующих микроорганизмов;
- ❖ исследование физических и физико-химических основ явления азотфиксации;
- ❖ изучение генетики азотфиксации и создание азотфиксирующих растений путем генной инженерии;
- ❖ разработка комплекса агrobiологических технологий с целью повышения продуктивности азотфиксации в растениеводстве.

## 1.2. Исторические аспекты биологической фиксации молекулярного азота

Проблема биологического азота возникла с развитием земледельческой культуры. Издавна из практической агрономической деятельности человека было известно, что бобовые растения повышают плодородие почвы. Еще в III–I вв. до н. э. об этом писали греческий философ Теофраст и римляне Катон, Варрон, Плиний и Вергилий.

Первое научное объяснение способности бобовых растений накапливать азот принадлежит французскому агрохимику Дж. Буссенго (1838 г.). Он установил, что люцерна и клевер обогащают почву азотом, зерновые же и корнеплоды истощают. Эти факты он связал со способностью бобовых растений фиксировать азот из воздуха. Однако Буссенго ошибочно представлял, что агентом фиксации являются листья бобового растения. Именно это неправильное заключение через 15 лет привело Буссенго к отрицанию своего открытия.

Стремясь более веско доказать правоту своей мысли, Буссенго провел серию опытов. В отличие от проводимых им ранее экспериментов он на прокаленном песке выращивал теперь уже не проростки бобовых растений, пересаженных с поля, а тщательно промытые семена (люпин и бобы); сосуды с растениями помещались при этом под стеклянный колпак. В таких условиях обогащения растений «воздушным азотом» не произошло. Сейчас это понятно и легко объяснимо.

Именно тщательность постановки опыта, которая исключала возможность заражения корневой системы проростков клубеньковыми бактериями, привела Буссенго к результатам, опровергшим прежние его данные. Тем не менее, считая последние опыты более достоверными и не предполагая даже о существовании клубеньковых бактерий, он признал результаты прежних опытов ошибочными и отрекся от них.

В 1866 г. известный ботаник и почвовед М.С. Воронин увидел в клубеньках на корнях бобовых растений мельчайшие «тельца». Воронин выдвинул смелые для того времени предположения: он связал образование клубеньков с деятельностью бактерий, а усиленное деление клеток ткани корня с реакцией растения на проникшие в корень бактерии.

Понадобилось несколько десятилетий, прежде чем удалось установить, что молекулярный азот бобовые растения фиксируют только в симбиозе с микроорганизмами, вызывающими образование клубеньков на их корнях.

Впервые *прямые доказательства наличия азотфиксирующих микроорганизмов*, живущих в симбиозе с бобовыми растениями, были получены благодаря работам немецкого исследователя Германа Гельригеля. Сравнивая источники азота для злаков и бобовых (1886 г.), он показал, что если злаки черпают азот из минеральных веществ почвы, то бобовые (такие как горох, фасоль и чечевица), кроме того, обладают способностью фиксировать азот из атмосферы с помощью азотфиксирующих бактерий. Растения же, в свою очередь, поставляют бактериям продукты углеводного обмена и минеральные соли, необходимые им для роста и развития. Такую способность бобовых Г. Гельригель объяснял наличием на корневой системе клубеньков, развитие которых вызывают микроорганизмы (см. рис. 2). После работ Г. Гельригеля стало ясно, что фиксация растениями азота связана с микроорганизмами, инфицирующими корневую систему растения. Потребовалось около десятка лет для подтверждения выводов Гельригеля о значимости симбиотических микроорганизмов рода Ризобий для бобовых растений как азотфиксаторов (*Rhizobium* – от греч. *rhizo* – корень, *bio* –

жизнь; жизнь на корнях). Это название пришло и используется в литературе до сих пор.

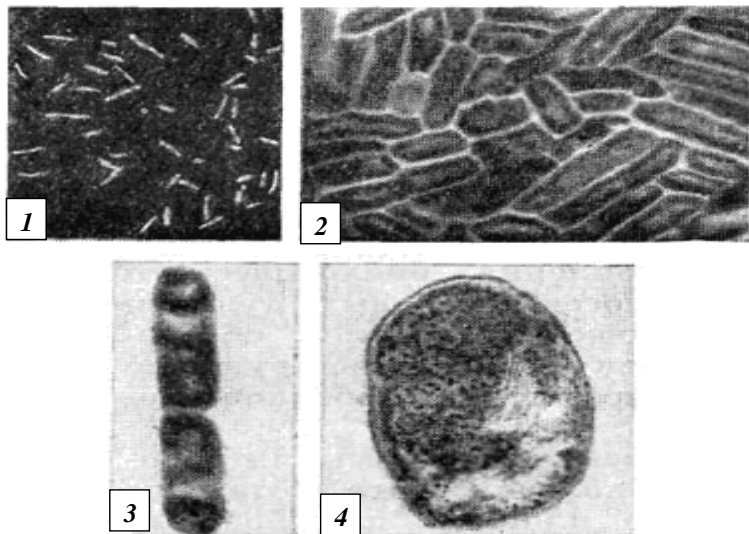


Рисунок 2 – Клетки клубеньковых бактерий:

1 – из клубеньков кормовых бобов; 2 – из клубеньков люцерны;  
3 – из клубеньков клевера; 4 – ультратонкий срез клубеньковых бактерий люцерны

Голландский бактериолог М. Бейеринк выделил в 1888 году клетки *Rhizobium* в чистой культуре. В дальнейшем была показана их способность инфицировать корневую систему бобовых с определенной степенью избирательности по отношению к конкретным видам растений и вызывать образование на корнях клубеньков – специализированных образований (см. рис. 3), в которых протекает азотфиксация.

Сейчас известно около 13 тыс. видов бобовых, многие из которых обладают способностью к симбиотической фиксации азота. Выяснено также, что маленький водный папоротник Азолла (*Azolla*) находится в сим-

биотических отношениях с азотфиксирующими цианобактериями (сине-зеленые водоросли). Некоторые деревья и кустарники (например, ольха, облепиха, восковик) имеют в качестве симбионтов актиномицеты. Поиск новых азотфиксирующих пар (растение – микроорганизм) далеко не закончен.

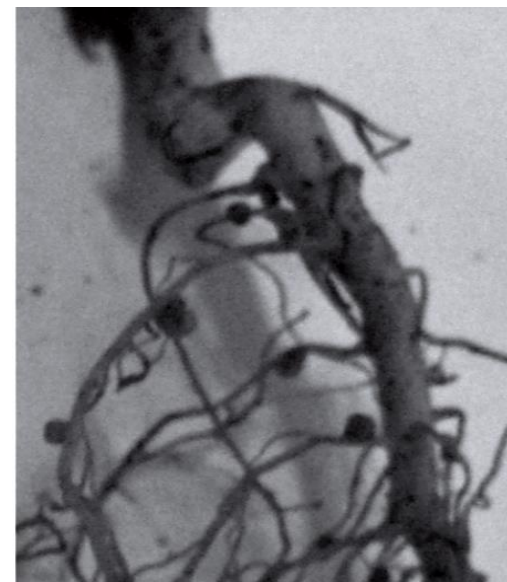


Рисунок 3 – Образование клубеньков на корнях гороха

Кроме того, известны азотфиксирующие микроорганизмы, свободноживущие в почве, на растениях, в воде. Впервые выделить культуру свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов удалось в 1893 году С. Н. Виноградскому. Он выделил почвенный спороносный анаэробный микроорганизм, относящийся к роду Клостридий (*Clostridium*), названный автором в честь выдающегося французского микробиолога Л. Пастера *Clostridium pasteurianum*. Микроб растет в анаэробной (то есть без доступа кислорода) среде и в неблагоприятных условиях выживает, превращаясь в

спору – клетку, покрытую прочной капсулой, защищающей ее от многих внешних факторов. В 1901 году М. Бейеринк выделил аэробно живущий почвенный микроорганизм азотобактер (*Azotobacter*), способный к азотфиксации, неприхотливый при выращивании. Этот микроорганизм интенсивно исследуют не только как удобную модельную культуру, но и применяют в технологии обогащения сельскохозяйственных посевов биологическим азотом. С тех пор коллекции свободноживущих азотфиксаторов постоянно увеличивались, особенно с 1949 года, когда в арсенал методов регистрации фиксации азота вошли метод изотопных индикаторов ( $^{15}\text{N}_2$ ) и реакция восстановления ацетилен в этилен, катализируемая основным ферментом системы азотфиксации – нитрогеназой. Сейчас в коллекциях свободноживущих микроорганизмов находятся не только азотобактер и клостридии, но и многие другие микроорганизмы: клебсиеллы, бациллы и т.д. Особый интерес представляют цианобактерии (сине-зеленые водоросли), вызывающие цветение пресных и океанических водоемов. Учитывая огромные площади водной поверхности, вклад их в круговорот азота на Земле может быть очень велик.

В 70–80-х годах XX века в лаборатории доктора Дж. Доберейнер в Бразилии активизировались поиски азотфиксирующих микроорганизмов, обитающих на поверхности корневой системы диких и культурных злаков (ассоциативные азотфиксаторы). Число их видов велико, но благодаря работам доктора Дж. Доберейнер и ее последователей в центре событий оказались микроорганизмы рода Азоспирилл (*Azospirillum*). Азоспириллы легко инфицируют корневую систему злаков и других растений. Подобно ризобиям, они делятся на виды, колонизирующие преимущественно те или иные сорта злаков, фиксируют азот воздуха, могут продуцировать гормоны роста растений и обладают еще другими свойствами, положительно влияющими на рост и развитие растений.

Полноценное использование в сельском хозяйстве как симбиотических, так и свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов возможно только при всестороннем познании факторов, определяющих фиксацию молекулярного азота, и установлении путей интенсификации

этого процесса. Возможны два пути интенсификации накопления биологического азота – расширение посевов бобовых культур и создание агротехнических условий, обеспечивающих максимальную азотфиксирующую активность симбиотических, ассоциативных и свободноживущих азотфиксаторов.

### 1.3. Биохимические основы фиксации молекулярного азота

Связывание азота – это восстановительный процесс, и первым его продуктом, который можно обнаружить, является аммиак. В основе биохимического механизма фиксации молекулярного азота воздуха лежит процесс восстановления азота по уравнению:



В этой реакции (процесс восстановления азота до аммиака) участвует нитрогеназа – мультиферментный комплекс, расположенный на внутренних клеточных мембранах.

**Нитрогеназа** (как и любой фермент) – это белок, вернее, комплекс из двух белков, содержащихся в соотношении 2 : 1 – **азоферредоксин** (Fe-белок) и **молибдоферредоксин** (MoFe-белок). В состав этих белков входят ионы железа, а во второй белок и ионы молибдена. Нитрогеназы из разных азотфиксаторов несколько различаются своими молекулярными массами и содержанием металлов. Каждый из белков, в свою очередь, состоит из нескольких субъединиц. Молекулярная масса MoFe-белка различных нитрогеназ находится в пределах 200–250 кДа (кДа – килодальтон, дальтон – молекулярная масса, равная массе одного атома водорода ( $1,67 \cdot 10^{-24}$  г)). Фермент содержит по два атома молибдена, 28–34 атома железа и 18–24 атома серы на одну молекулу. По современным представлениям этот белок осуществляет связывание и восстановление азота.

Молекулярная масса Fe-белка колеблется от 50 до 70 кДа и также содержит атомы железа и серы. Эта субъединица участвует в транспорте электронов от их доноров (ферредоксин) на MoFe-белок.

В 1971 году В.Е. Шилов и Г.И. Лихтенштейн предложили интересный механизм активации азота ферментом нитрогеназой (см. рис. 4). Молекулярный азот через щель, размер которой соответствует длине молеку-

лы азота, поступает внутрь фермента и там активируется. В его активации большая роль принадлежит молибдене- и железосодержащим центрам, по цепям атомов которых происходит эстафетная передача активирующих азот электронов от восстановителя. Реакции активации способствует близость группировок серы. В результате активации и хемосорбции азота нитрогеназой высвобождается энергия и происходит разрыв двух связей в молекуле азота.

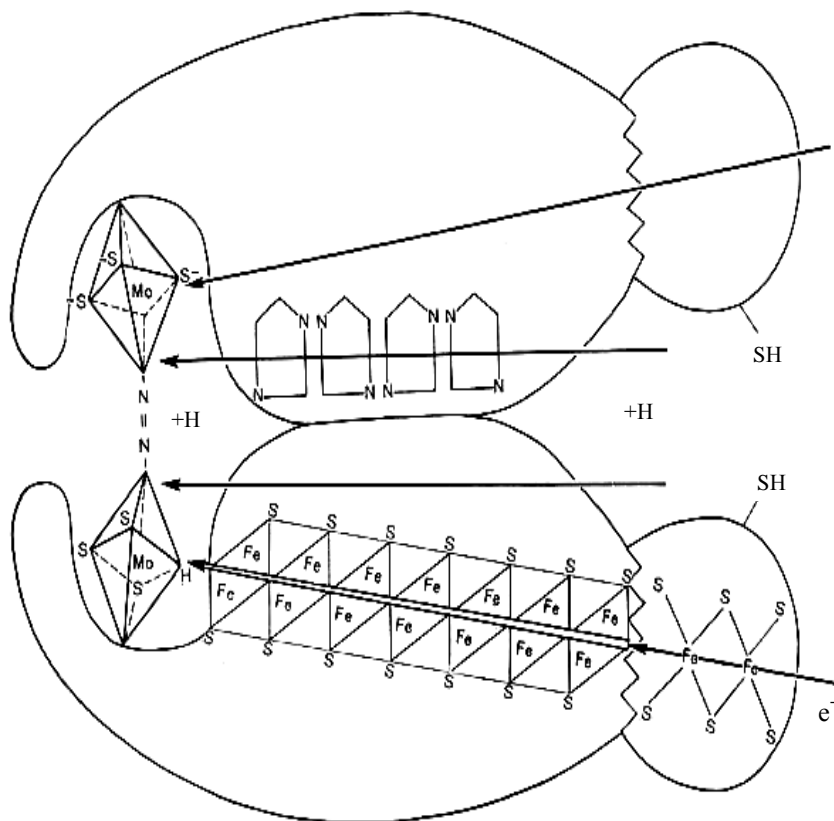


Рисунок 4 – Схема действия нитрогеназы

Нитрогеназа – это сложный ферментный ансамбль, выполняющий функцию восстановления молекулярного азота воздуха. Этот процесс тре-

бует затраты энергии. Как это обычно осуществляется в живых организмах, энергия для подобных реакций поставляется в виде молекул аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). По расчетам для восстановления одной молекулы  $N_2$  требуется не менее 12 молекул АТФ. Реальные затраты энергии значительно выше и составляют 25–35 молекул АТФ.

**Особенность функционирования нитрогеназы** заключается в том, что процесс этот **требует анаэробных условий**. Молекулярный кислород – это яд для нитрогеназы, в связи с чем многие микроорганизмы, фиксирующие азот, либо растут в анаэробных условиях и являются облигатными (обязательными) или факультативными (необязательными) анаэробами, либо представляют собой клетки, растущие в нормальных атмосферных условиях, но имеющие специальную систему защиты нитрогеназы от кислорода. Если азотфиксаторы являются анаэробными клетками, то сами условия их жизни обеспечивают нормальное функционирование нитрогеназы. Иное дело – факультативные анаэробы. При избыточном количестве кислорода клетка начинает резко интенсифицировать процессы дыхания, как бы стараясь выбрать весь кислород и обеспечить выполнение ею функций азотфиксации. Процесс этот малопродуктивен и кончается снижением азотфиксации.

Однако образование нитрогеназы – это наиболее важный, но не единственный процесс, определяющий функционирование клубеньков как органов симбиотической азотфиксации. Другими значимыми процессами являются: формирование систем защиты нитрогеназы от молекулярного кислорода, обеспечение энергетических потребностей нитрогеназного комплекса и ассимиляция продуктов азотфиксации (см. табл. 2). Все эти функции выполняются бактериями и растениями совместно, что обеспечивается тесной структурной и функциональной интеграцией партнеров симбиоза.

Таблица 2 – Ключевые биохимические процессы, обеспечивающие симбиотическую азотфиксацию

Процессы	Вклады партнеров	
	микросимбионт	хозяин
Биогенез нитрогеназного комплекса	Синтез белков и кофакторов нитрогеназы, формирование регуляторного каскада	Возможно, регуляция генов нитрогеназы
Защита нитрогеназы от кислорода	Двухкомпонентная регуляторная система и транскрипционный активатор	Леггемоглобин и кислородный барьер
Обеспечение энергетических потребностей клубенька	Транспорт в бактериоиды дикарбоновых кислот, синтез клубенек-специфичной цитохром-океидазы	Транспорт в клубеньки больших количеств фотосинтатов (сахароза), синтез клубенек-специфичных изоферментов С-метаболизма
Ассимиляция продуктов азотфиксации	Экспорт аммония в растительную клетку (частично в форме аланина)	Синтез клубенек-специфичных изоферментов N-метаболизма

У многих азотфиксаторов имеются *специальные механизмы защиты нитрогеназы*. В них принимают участие различные сложные молекулы, из которых наиболее изучен *леггемоглобин* бобовых растений. Роль леггемоглобина заключается в связывании  $O_2$  в организме бактерий и создании условий для работы нитрогеназы.

Нитрогеназный комплекс, образующий аммиак из воздуха, действует по физико-химическим законам очень экономно. Если в среде обитания достаточно ионов аммония или нитратов, он прекращает работу. Так, например, такие аэробы как *Azotobacter vinelandii* и *Mycobacterium flavum* лучше фиксируют азот при низком парциальном давлении кислорода, чем на воздухе. Для защиты нитрогеназы от повреждений кислородом у таких аэробов, как представители рода *Azotobacter*, существуют два механизма защиты: дыхательная и конформационная.

*Дыхательная защита*. Бактерии, относящиеся к роду *Azotobacter*, обладают очень активной разветвленной дыхательной системой. В одной из ветвей цепи переноса электронов имеются три пункта сопряженного фосфорилирования; в двух других ветвях – только один такой пункт. Поэтому при увеличении концентрации кислорода скорость дыхания микроорганизмов может повышаться в результате частичного разобщения фосфорилирования. Это приводит к потере редуцированных нуклеотидов ( $NADH_2$ ), но зато нитрогеназа защищается при этом от повреждения кислородом.

*Конформационная защита*. На рис. 5 показано как при внезапном увеличении концентрации кислорода нитрогеназа *Azotobacter chroococcum* «выключается». Нитрогеназная активность снова обнаруживается при снижении концентрации кислорода. По-видимому, защита достигается за счет конформационных изменений в молекуле фермента и ассоциации с защитными белками.

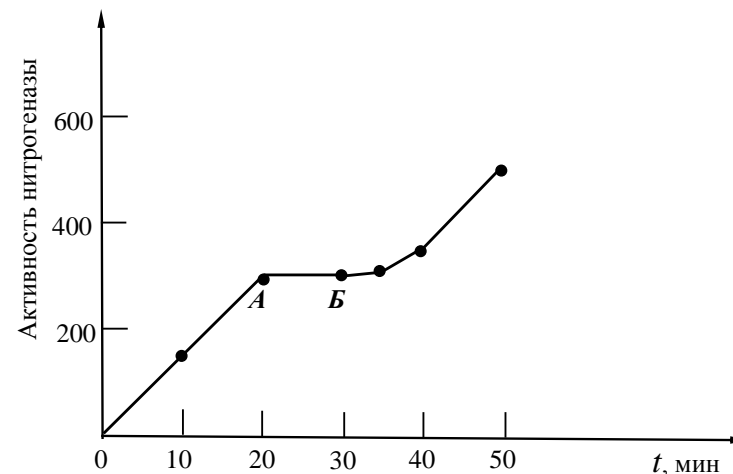


Рисунок 5 – «Выключение» и «включение» нитрогеназы. Культуру *Azotobacter chroococcum* встряхивали в атмосфере аргона и кислорода (в соотношении 9 : 1). Момент А – скорость встряхивания увеличивается; момент Б – возвращение к исходному уровню

Для связывания молекулярного азота необходимы восстановительная сила и энергия, которые могут быть получены в процессе фотосинтеза, брожения или дыхания (см. рис. 6). В модельных экспериментах с очищенными компонентами нитрогеназной системы (*in vitro*) можно доставлять энергию в виде АТФ и восстановительную силу в форме восстановленных пиридиннуклеотидов и ферредоксинов, используя переносчики, содержащие флаводоксин. Затраты АТФ при этом очень высоки.

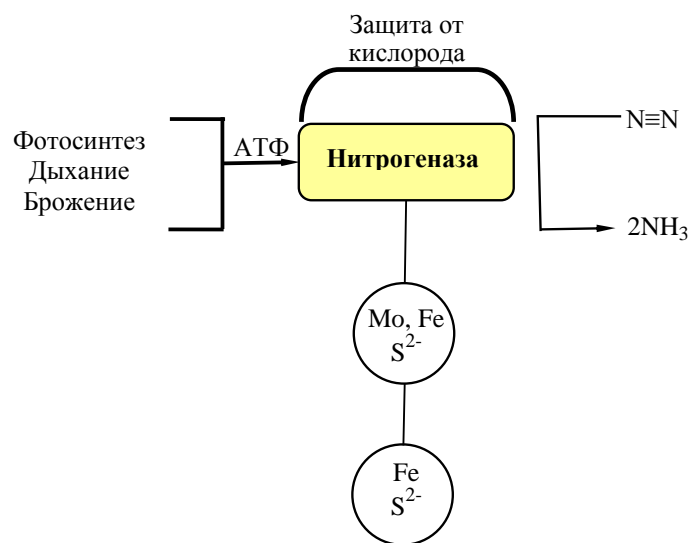


Рисунок 6 – Нитрогеназный комплекс

Молекулярные биологи не теряют надежды, что исследование физико-химических основ процесса азотфиксации, происходящего в клетках, откроет перспективы создания новых экологически чистых, экономных технологий фиксации азота воздуха. Ведь все процессы в клетке, как правило, идут при физиологических значениях температуры, низких давлениях и без загрязнения среды обитания. Их нельзя сравнить с технологией синтеза аммиака на огромных заводах, где даже при использовании ката-

лизаторов требуется температура около 500 °С и давление 300–350 атм. Потребление растениями аммиака, образовавшегося при азотфиксации или восстановлении нитратов почвы, осуществляется ферментами, связанными с биосинтезом так называемых первичных аминокислот, прежде всего глутаминовой, аспарагиновой кислот и их амидов. Одним из активно изучаемых ферментов является, например, глутаминсинтетаза. Этот фермент катализирует реакцию:



Фермент этот чрезвычайно сложен, встречается во всех организмах и принимает участие в присоединении аммиака к глутаминовой кислоте с образованием ее амида и последующим использованием его в различных реакциях синтеза азотсодержащих органических соединений. Близким по механизму действия является и аспарагинсинтетаза:



Синтез аминокислот и амидов происходит с участием и других ферментов: глутаматдегидрогеназы, аспарагаты и т.д. В конечном итоге азот в виде аминогрупп вовлекается в серию биосинтетических реакций организма, поддерживая его жизненные функции.

Микроорганизмы, усваивающие молекулярный азот атмосферы и переводящие его в доступную для растений форму, называются *дiazотрофами*. Если молекулярные механизмы фиксации азота разными diaзотрофами очень схожи, то сами diaзотрофы, их биология имеют весьма значительные различия. Во-первых, они могут являться бактериями, низшими грибами и водорослями, во-вторых, их рост, развитие, взаимоотношение с растениями и почвой имеют свои отличительные характерные черты. Так, относящиеся к симбиотическим азотфиксаторам клубеньковые бактерии рода *Rhizobium* представляют собой микроорганизмы со средними размерами 0,7–1,8 мкм. Они подвижны в молодом возрасте, делятся перешнуровыванием и в дальнейшем теряют подвижность. Живут они в почве, на поверхности растений и способны при инфицировании бобовых вызывать образование клубеньков на корнях. Для каждого вида бобовых рас-

тений имеются свои разновидности (штаммы) ризобий, которые и получили свои названия от названий хозяина (*Rhizobium trifolii* – клубеньковые бактерии клевера, *Rhizobium lupini* – клубеньковые бактерии люпина и т.д.).

В основе способности инфицировать корневую систему хозяина лежит сложный и не вполне ясный *молекулярный механизм, имеющий решающее значение в симбиотической фиксации азота*. Обычно рассматривается несколько его стадий.

*Первая стадия* – приближение микробной клетки к растению за счет ее способности передвигаться в ответ на узнавание химических продуктов, выделяемых из корней растения. Этот процесс называется *хемотаксисом*.

*Вторая стадия* – контактное взаимодействие микроорганизма с растением. В этом процессе важное место отводится так называемому *лектин-углеводному узнаванию* растения микроорганизмом. Лектин корневых волосков растений – углеводзубающий белок. Он узнает углевод поверхности бактерий и прочно связывается с ним. Сама механика этого процесса напоминает узнавание ключом английского замка.

*Третья стадия* – механохимическая и весьма загадочная по технике исполнения. Бактерии, внедрившиеся в молодой корневой волосок, в виде так называемых *инфекционных нитей* прорастают вдоль волоска, как бы перетекают в тетраплоидные клетки коры и вызывают их быстрое деление. Они заполняют своим содержимым внутренность растительных клеток. Так как заражение бывает множественным, ткани корня в зоне проникновения микроорганизмов растут интенсивнее с образованием клубеньков, клетки которых буквально нафаршированы бактериями. На рис. 7 схематически показана симбиотическая фиксация азота в корневых клубеньках бобовых. Микробы при этом меняются и сами, они теряют клеточную стенку, изменяют свои размеры, геометрию. Кроме того, все они обволакиваются растительным белком – леггемоглибином. Размеры и число клубеньков на корнях бобовых в какой-то мере указывает на эффективность азотфиксации. Азотфиксация и образование клубеньков подавляются при

обильном и экологически вредном использовании химических азотных удобрений.

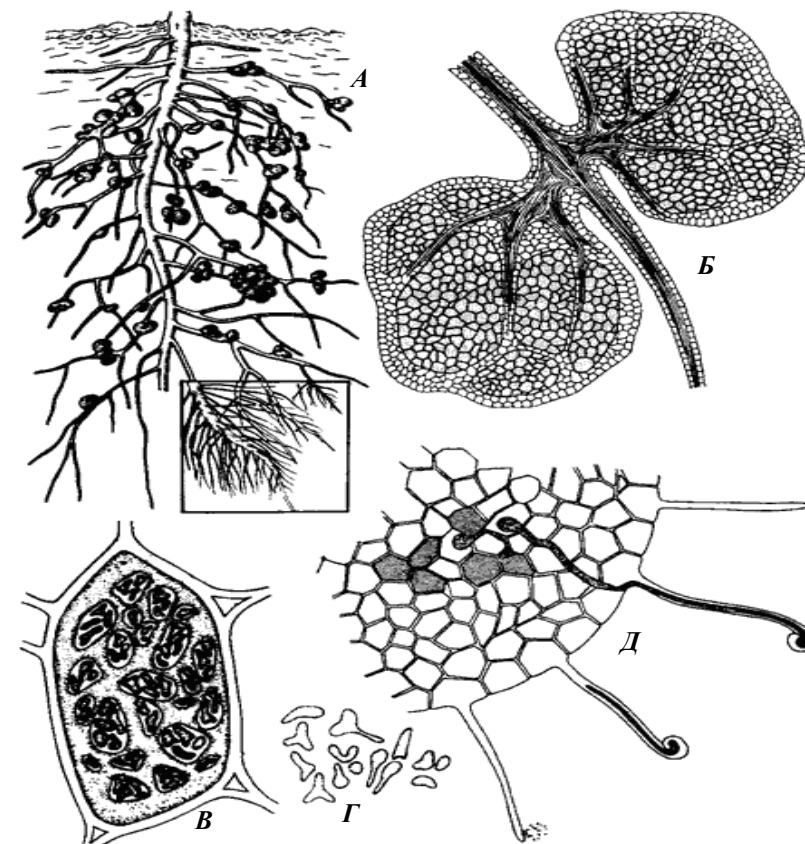


Рисунок 7 – Симбиотическая фиксация азота в корневых клубеньках бобовых: А – корень гороха с клубеньками; Б – клубеньки в разрезе; В – растительная клетка, заполненная бактериями (*Rhizobium*), в разрезе; Г – бактерии, находящиеся в клетках растения, приобретают необычную форму (бактероиды, инволюционные формы); Д – внедрение бактерий через кончики корневых волосков и рост инфекционных нитей

*Ассоциативные азотфиксаторы*, принадлежащие к различным родам и видам, имеют индивидуальные особенности в анатомическом строении, физиологии, биохимии и, естественно, в процессах взаимоотношения с растением. Разнообразие ассоциативных взаимоотношений растений с микроорганизмами очень велико. Часто микробиологи не делают различия между ассоциативными и свободноживущими азотфиксаторами. Однако ассоциативные взаимоотношения касаются, прежде всего, так называемых *ризосферных микроорганизмов*, то есть тех микроорганизмов, которые живут на поверхности корневой системы растений. Микробы как бы колонизируют поверхность корневой системы. При этом просматриваются черты взаимоотношений, напоминающие взаимоотношения с растением симбиотических азотфиксаторов. Имеются те же этапы: хемотаксическое узнавание, лектин-углеводное узнавание и этапы установления прочных связей, обусловленные обменом веществ, полезным и растению и микроорганизмам; нет при этом только этапа образования клубеньков. Эффективность азотфиксации ассоциативной микрофлорой по сравнению с симбиотической не столь велика, однако у ассоциативных азотфиксаторов имеются важные свойства, позволяющие помочь растению в его росте и развитии (синтез фитогормонов, защита от фитопатогенов, разрушение токсических веществ).

#### 1.4. Леггемоглобин и регуляция фиксации азота

Как было сказано выше, нитрогеназа очень чувствительна к кислороду и инактивируется им, т.е. для работы этого фермента требуются анаэробные условия. В то же время для образования энергии АТФ, необходимой для осуществления процесса азотфиксации, для поддержания дыхания в клетках высшего растения требуется кислород.

**Основная функция леггемоглобина** заключается в связывании кислорода в организме бактерий и создании условий для работы нитрогеназы. Леггемоглобин, являясь переносчиком кислорода, не принимает непосредственного участия в восстановлении азота. Благодаря наличию этого пигмента, с одной стороны, бактериоиды обеспечены кислородом, с другой стороны, сохранены анаэробные условия для работы нитрогеназы.

**Леггемоглобины** (легоглобины, Lb) – красные железосодержащие белки с молекулярным весом около 16 кДа, обладающие высоким сродством к кислороду, облегчающие диффузию кислорода через клетку растения. Леггемоглобин образуется в корневых клубеньках бобовых растений рода *Leguminosae*, имеющие бактериоиды и активно фиксирующие атмосферный азот. В среднем содержание Lb в клубеньках бобовых велико и составляет до 30–40 % всех растворимых белков цитозоля растительной клетки. Леггемоглобин локализован в пространстве между бактериоидами и окружающей их мембраной. Количество его колеблется от 1 до 3 мг на 1 г клубенька, в зависимости от вида бобового растения.

Впервые леггемоглобин был выделен в 1939 г. из клубеньков конских бобов, а в кристаллическом виде получен в 1959 г. из клубеньков сои.

Леггемоглобин удивительно напоминает по своей структуре и функции гемоглобин крови человека и позвоночных животных (миоглобин), специализирующийся, как известно, на транспорте O<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub>. Не только активные центры леггемоглобина, миоглобина и гемоглобина устроены сходным образом, но и укладка полипептидных цепей у них практически одна и та же (см. рис. 8).

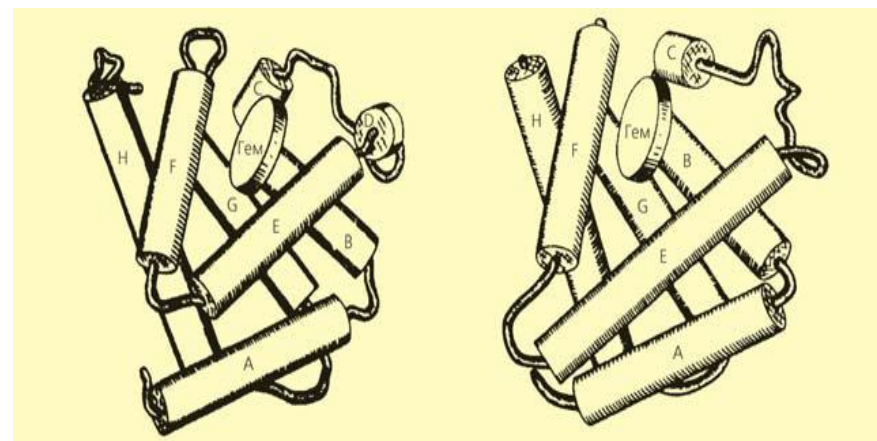


Рисунок 8 – Общность строения миоглобина (слева) и леггемоглобина (справа): в виде цилиндров показаны спиральные участки полипептидной цепи

В отличие от фермента нитрогеназы, находящейся внутри клубенька в бактериоидах, леггемоглобин локализуется в растительных клетках, обеспечивает перенос кислорода к бактериоидам в количестве, необходимом для обеспечения их энергией, и в то же время защищает бактериоиды от избытка кислорода путем его связывания. В клубеньках леггемоглобин образуется как продукт симбиоза бактерий с высшими растениями.

**Активность (скорость) азотфиксации** связана с **концентрацией леггемоглобина** в клубеньках. К фиксации азота способны только клубеньки, содержащие леггемоглобин. При потере клубеньками способности к симбиотической азотфиксации леггемоглобин разрушается. Так в зараженных неэффективным штаммом *Rhizobium* клубеньках леггемоглобин отсутствует. Информация об образовании леггемоглобина содержится в ДНК ядра клетки высшего растения. Синтезируется леггемоглобин клетками растения-хозяина, но образуется после их заражения. Гены растений, кодирующие образование клубеньков, носят название nod-GENE (нодулин-гены). Показано, что скопление бактерий вокруг корня вызывает выделение веществ (возможно олигосахаров), которые активируют так называемый нодулин-белок, индуцирующий транскрипцию нодулин-генов. Взаимоотношения между высшими растениями и клубеньковыми бактериями обычно характеризуют как симбиоз. Однако на первых этапах заражения бактерии питаются целиком за счет высшего растения, т.е. практически паразитируют на нем. В этот период рост зараженных растений даже несколько тормозится. В дальнейшем азотфиксирующая способность бактерий увеличивается, и они начинают снабжать азотистыми веществами растение-хозяина, вместе с тем бактерии получают от высшего растения углеводы (симбиоз). По мере дальнейшего развития наступает этап, когда высшее растение паразитирует на клетках бактерий, потребляя все образующиеся там азотистые соединения. В этот период часто наблюдается растворение (лизис) бактериальных клеток.

Долгое время **синтез леггемоглобина** рассматривали как наиболее яркое проявление симбиоза на молекулярном уровне. Считалось, что его полипептидная часть (глобин) кодируется растительными генами, а гемовая часть – генами микросимбионта. Это мнение базировалось на данных о неспособности к азотфиксации мутантов ризобий, дефектных по синтезу

гема или его предшественника, аминокислоты. Однако последующие работы показали, что обе части молекулы леггемоглобина синтезируются растительными клетками. Бактериоиды, находящиеся в клубеньках, также синтезируют гем, но его участие в азотфиксации состоит в биогенезе цитохромов, обеспечивающих транспорт электронов к нитрогеназе.

У бобовых растений синтез леггемоглобинов кодируется семейством из нескольких сцепленных Lb-генов. В настоящее время подробно изучена структурно-функциональная организация этих генов: выявлена их *интрон-экзонная структура*, изучена организация промоторов, расположение кодирующих и некодирующих участков. Интрон (от лат. inter – между) – участок гена, не несущий информацию о первичной структуре белка и расположенный между кодирующими участками – экзонами. Экспрессия Lb-генов в клубеньках, по всей видимости, основана на обмене партнеров регуляторными сигналами. Об этом говорит присутствие в промоторах этих генов последовательностей, которые гомологичны некоторым бактериальным промоторам и могут быть мишенями для сигнальных молекул, поступающих в растительные клетки от бактерий. Удалось выявить и бактериальные ДНК-связывающие белки, которые взаимодействуют с промоторами леггемоглобиновых генов.

В связи с микроаэрофильными условиями в клубеньках эндосимбиотические бактерии стоят перед проблемой совмещения интенсивного дыхания (без которого невозможно поддерживать высокую активность симбиотической азотфиксации) и активной работы нитрогеназы. Это обеспечивается наличием у ризобий разветвленных электронно-транспортных цепей, в которых одни компоненты работают в аэробных условиях, а другие – в анаэробных (микроаэрофильных) условиях, в том числе в клубеньках.

**Для образования леггемоглобина** необходимы железо (Fe), медь (Cu), молибден (Mo), кобальт (Co) и сера (S). Образовавшийся аммиак здесь же в клетках корня реагирует с  $\alpha$ -кетоглутаровой кислотой с образованием глутаминовой кислоты, которая и вовлекается в дальнейший обмен. В надземные органы растения-хозяина азотистые вещества передвигаются главным образом в виде амидов (аспарагина, глутамина). Как уже

отмечалось, фиксирование атмосферного азота может осуществляться и рядом свободноживущих фотосинтезирующих организмов (цианобактериями, серными бактериями). В этом случае донором протонов и электронов может быть или вода, или сероводород.

**Железо.** Среднее содержание железа в растениях составляет 20–80 мг на 1 кг сухой массы. Ионы  $Fe^{3+}$  почвенного раствора восстанавливаются редокс-системами (обратимые окислительно-восстановительные системы) плазмалеммы клеток ризодермы до  $Fe^{2+}$  и в такой форме поступают в корень.

*Железо* необходимо для функционирования основных редокс-систем фотосинтеза и дыхания, синтеза хлорофилла, восстановления нитратов и фиксации молекулярного азота клубеньковыми бактериями, входя в состав нитратредуктазы и нитрогеназы, *влияет на синтез леггемоглобина*. Поэтому недостаточное поступление железа в растения в условиях переувлажнения и на карбонатных почвах приводит к снижению интенсивности дыхания и фотосинтеза и выражается в пожелтении (хлорозе) листьев и быстром их опадении.

**Медь.** Медь поступает в клетки в форме иона  $Cu^{2+}$ . Среднее содержание меди в растениях 0,2 мг на 1 кг сухой массы. Около 70 % всей меди, находящейся в листьях, сосредоточены в хлоропластах и почти половина ее в составе пластоцианина – переносчика электронов между фотосистемами II и I. Медь входит в состав ферментов, катализирующих окисление аскорбиновой кислоты, дифенолов и гидрокселирование монофенолов – аскорбатоксидазы, полифенолоксидазы, ортодифенолоксидазы и тирозиназы. Два атома меди функционируют в цитохромоксидазном комплексе дыхательной цепи митохондрий.

*Медь* входит в состав нитратредуктазного комплекса и *влияет на синтез леггемоглобина*. Для биосинтеза этилена также необходим медьсодержащий фермент. Влияя на содержание в растениях ингибиторов роста фенольной природы, медь повышает устойчивость растений к полеганию. Она также повышает засухо-, морозо- и жароустойчивость. Недостаток меди вызывает задержку роста и цветения, хлороз, потерю тургора и завядание растений. У злаков при недостатке меди не развивается колос, у плодовых появляется суховершинность. При дефиците меди белеют и от-

мирают кончики листьев, листья и плоды плодовых деревьев покрываются бурыми пятнами.

**Молибден.** Наибольшее содержание молибдена характерно для бобовых (0,5–20 мг на 1 кг сухой массы), злаки содержат от 0,2 мг до 2 мг на 1 кг сухой массы. Он поступает в растения в форме аниона  $MoO_4^{2-}$ , концентрируется в молодых, растущих органах. Его больше в листьях, чем в корнях и стеблях, а в листе сосредоточен, в основном, в хлоропластах.

*Молибден* входит в состав нитратредуктазы и нитрогеназы, а также *необходим для биосинтеза леггемоглобина*. Как металл-активатор молибден участвует в реакциях аминирования и переаминирования, для включения аминокислот в пептидную цепь, в работе таких ферментов как ксантиноксидаза и различных фосфатаз.

При недостатке молибдена в тканях накапливается большое количество нитратов, не развиваются клубеньки на корнях бобовых, тормозится рост растений, наблюдаются деформации листовых пластинок и подавляется синтез леггемоглобина. При недостатке молибдена молодые листья по краям приобретают серую, а затем коричневую окраску, теряют тургор, а затем ткани листа отмирают и остаются только жилки в виде хлыстиков. При высоких дозах молибден токсичен.

**Кобальт.** Среднее содержание кобальта в растениях 0,02 мг на 1 кг сухой массы. *Кобальт* необходим бобовым растениям для обеспечения размножения клубеньковых бактерий и в связи с тем, что он *входит в состав витамина  $B_{12}$ , который вовлекается в процесс биосинтеза леггемоглобина*. Растения не вырабатывают этот витамин. Он синтезируется бактероидами клубеньков бобовых растений и участвует в синтезе метионина в бактероидах. Внешние признаки недостатка кобальта сходны с признаками азотного голодания.

**Сера.** Содержание серы в растениях составляет около 0,2 %. Однако в растениях семейства крестоцветных ее содержание значительно выше. Сера содержится в растениях в двух основных формах – окисленной в виде неорганического сульфата и восстановленной (аминокислоты, глутатион, белки). Процесс восстановления сульфата происходит в хлоропластах.

Одна из основных функций серы в белках – это участие SH-группы в образовании ковалентных, водородных и меркаптидных связей, поддержи-

вающих трехмерную структуру белка. Сера входит в состав важнейших аминокислот – цистеина и метионина, которые могут находиться в растениях в свободной форме или в составе белков. Метионин относится к числу 10 незаменимых аминокислот и благодаря наличию серы и метильной группы обладает уникальными свойствами и входит в состав активных центров многих ферментов. Метиониновые остатки могут придавать молекуле белка гидрофобные свойства, что играет важную роль в стабилизации активной конформации ферментов в солевом окружении. Сера входит в состав многих витаминов и коферментов, таких как биотин, коэнзим А, глутатион, липоевая кислота. *Сера необходима для многих процессов обмена веществ (например, аэробная фаза дыхания, синтез жиров и т.д.), играет несомненную роль в синтезе леггемоглобина.*

Сера участвует в образовании полиаминов, которые влияют на структуру нуклеиновых кислот и рибосом, регулируют процессы деления клеток. Недостаточное снабжение растений серой тормозит синтез серосодержащих аминокислот и белков, снижает фотосинтез и скорость роста растений, приводит к разрушению хлоропластов. Симптомы дефицита серы – побледнение и пожелтение молодых, а затем и старых листьев.

В заключении хотелось бы отметить, что механизм защиты нитрогеназы от кислорода весьма сложен, и леггемоглобин, по-видимому, является лишь одним из многочисленных звеньев в данном процессе.

### 1.5. Цианобактерии и их роль в биологической фиксации азота

**Цианобактерии** (*Cyanobacteria*) – это значительная группа крупных грамотрицательных бактерий, способных к фотосинтезу, сопровождающемуся выделением кислорода. Их роль в эволюции и существовании биосферы нашей планеты особенно значительна. По характеру своей клеточной организации они соответствуют грамотрицательным бактериям и представляют их самостоятельную эволюционную ветвь. В ботанической литературе *цианобактерии* до сих пор иногда называют **сине-зелеными водорослями**, где они рассматриваются как таксон высокого ранга – отдел или тип в системе низших растений. Сине-зеленые водоросли – древнейшие организмы Земли, но они и поныне играют большую роль в кругово-

ротах веществ и энергии. Цианобактерии, по общепринятой версии, явились «творцами» современной кислородсодержащей атмосферы на Земле, что привело к «кислородной катастрофе» – глобальному изменению состава атмосферы Земли, произошедшему в самом начале протерозоя (около 2,4 млрд. лет назад), которое привело к последующей перестройке биосферы и глобальному гуронскому оледенению.

**Строение клетки цианобактерий.** Клетка цианобактерий – типичная прокариотическая клетка. Как показано на рис. 9 ядро и клеточные органеллы отсутствуют. Фотосинтетический аппарат представлен тилакоидами – двояными мембранами. Их количество и характер расположения различен у разных видов цианобактерий. На поверхности тилакоидов находятся фикобилисомы – структуры, улавливающие фотоны света и передающие их реакционным центрам фотосинтетического аппарата. В центральной плотной части клеток сине-зеленых водорослей сосредоточены нуклеопротеиды – соединения нуклеиновых кислот с белком. Сине-зеленый цвет цианобактерий обусловлен наличием зеленого пигмента (хлорофилла *a*) и синего пигмента (фикоцианина). У некоторых видов цианобактерий имеется еще красный пигмент – фикоэритрин.

Клетка цианобактерий содержит также карбоксисомы – полиэдральные тела, образованные молекулами ключевого фермента фотосинтеза (рибулозодифосфаткарбоксилазы). Цианобактерии обладают углерод-концентрирующим механизмом, который и позволяет им создавать большие концентрации углерода в клетке. В состав клеточной оболочки бактерий входят сложные молекулярные комплексы, состоящие из белков, полисахаридов и жироподобных веществ. Будучи жесткой, она служит как бы скелетом клетки, придавая ей определенную форму.

Клетки цианобактерий покрыты эластичной пектиновой оболочкой. Клеточная оболочка прокариот образует своеобразный барьер на пути прохождения растворенных веществ из окружающей среды внутрь клетки. Клеточные оболочки часто ослизняются. У многих цианобактерий кроме вегетативных клеток имеются также гетероцисты и споры. Гетероцисты отличаются от вегетативных клеток водянистым, часто блестящим содержимым и толстой, своеобразно устроенной оболочкой. Продукт запаса в клетке – главным образом гликоген.

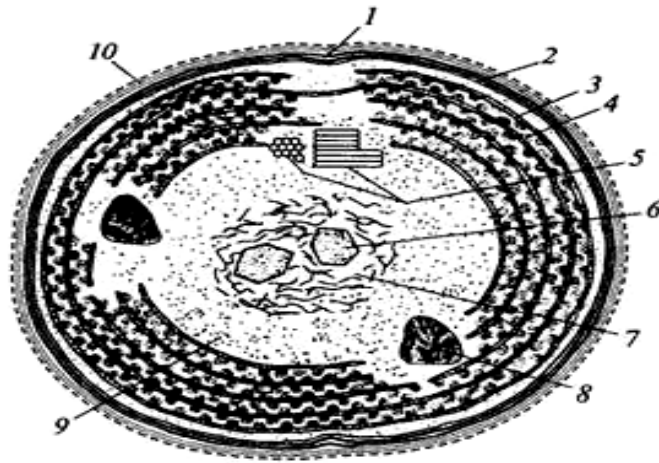


Рисунок 9 – Строение клетки цианобактерии *Sinehotsistis*:

- 1 – клеточная стенка; 2 – плазмалемма; 3 – тилакоид; 4 – фикобилисома;  
 5 – газовые везикулы; 6 – карбоксисома; 7 – фибриллы ДНК;  
 8 – цианофициновая гранула; 9 – рибосомы

Цианобактерии могут использовать как солнечную энергию (автотрофность), так и энергию, выделяющуюся при расщеплении готовых органических веществ (гетеротрофность). *Размножаются* они только *бесполом* путем.

Морфологическое разнообразие описанных видов (более 1500 видов) охватывает широкий спектр форм от одиночных клеток и простых трихомов до многорядных трихомов с истинным ветвлением, содержащих дифференцированные клетки. Колонии цианобактерий, образованные нитчатыми формами, могут иметь макроскопические размеры. Отдельные клетки цианобактерий способны ползать по плотному субстрату.

Можно сделать вывод, что наиболее *характерными чертами строения* клетки цианобактерий являются:

1. Отсутствие типичных ядер, окруженных ядерными мембранами; ДНК лежит в центре клетки свободно.

2. Локализация фотосинтетических пигментов в тилакоидах при отсутствии хлоропластов; тилакоиды содержат хлорофилл *a*.

3. Маскировка зеленых хлорофиллов красным – фикоэритрином и синими пигментами – фикоцианином и аллофикоцианином.

4. ДНК расположена в фибриллярно-зернистой нуклеоплазматической области, не окружена мембраной.

**Способностью к азотфиксации** обладают лишь некоторые прокариотические организмы, обеспечивая все живое на Земле биологическими формами азота. Молекулярный азот, присутствующий в огромном количестве в атмосфере, может быть использован живыми организмами благодаря активности ферментного комплекса нитрогеназы. В результате работы этого комплекса происходит восстановление азота до аммиака, который потом включается в состав азотсодержащих органических молекул. Фермент нитрогеназа не активен в присутствии кислорода, поэтому гетероцисты служат оптимальным местом для анаэробной фиксации азота. Их толстая полисахаридная капсула, гликолипидный слой, подстилающий ее изнутри клетки, препятствуют проникновению молекул кислорода извне. Отсутствие активности фотосистемы II и повышенная активность дыхательных ферментов в гетероцистах усиливают защиту нитрогеназы от кислорода. Образующиеся соединения связанного азота поступают в соседние вегетативные клетки через микроплазмодесмы, а от них в гетероцисты поступает органический субстрат, необходимый для фиксации азота.

Другим приспособлением для защиты нитрогеназы от инактивации ее кислородом служит способность некоторых видов осуществлять фиксацию азота при отсутствии фотосинтеза, в ночное время или посредством чередования фотосинтеза и азотфиксации, подчиняясь определенному эндогенному ритму. Так происходит азотфиксация у морской планктонной цианобактерии *Trichodesmium*. Массы этой цианобактерии населяют теплые моря и океаны, поэтому фиксация азота этим организмом имеет огромное значение для жизни океана. Специфическим запасным веществом цианобактерий являются цианофициновые гранулы.

**К активным азотфиксаторам** относятся **аэробные цианобактерии**. Сине-зеленые водоросли замечательны тем, что способны использовать *атмосферный азот и превращать его в органические формы азота*. Можно считать, что все микроорганизмы этой группы, обладающие гетероцистами, способны фиксировать  $N_2$ . В почвах Украины обнаружено около 130 видов и разновидностей гетероцистных форм цианобактерий. Из них к азотусвоителям принадлежат роды *Anabaena*, *Nostoc*, *Cylindrospermum*, *Calothris*, *Tolypothrix* и *Scytonema*, причем наиболее распространены в почвах представители рода *Nostoc*.

*Цианобактерии* представляют собой *единственный пример прокариотического многоклеточного организма*, у которого происходит *функциональная специализация клеток*. Если усвоение молекулярного азота происходит в гетероцистах, то есть в клетках, куда ограничен доступ кислорода, то ферментный аппарат, связывающий  $N_2$ , обнаружен и в вегетативных клетках гетероцистных форм цианобактерий. Это послужило основанием для поиска негетероцистных азотфиксирующих форм. В последнее время они найдены – это представители родов *Plectonema* и *Phormidium*, которые, не обладая гетероцистами, могут связывать азот.

**Цианобактерии распространены во всех почвенно-климатических зонах**. Однако они предпочитают нейтральную среду, и поэтому их численность и видовой состав существенно возрастают в нейтральных почвах южной зоны. Отдельные их виды приурочены к определенным местам обитания. Многие цианобактерии живут в симбиозе с другими растительными организмами, например, с грибами, образуя при этом лишайники. В результате адаптации к местным условиям они приобрели способность фиксировать азот при температуре, близкой к  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , иногда азотфиксация происходит даже при минус  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , но оптимальная температура для этого процесса все же  $15\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . В тропиках цианобактерий находятся в симбиозе с саговниками и печеночниками, а также с водным папоротником *Azolla*.

В природной обстановке цианобактерий всегда сожительствуют с другими микроорганизмами – бактериями и грибами. В местах разрастания

водорослей особенно много олиготрофных бактерий. Массовое развитие цианобактерий отмечается в сильно увлажненных почвах, где они нередко образуют «цветение» почв. Аналогичное явление имеет место в водоемах при обильном размножении водорослей. В неорошаемых окультуренных почвах наиболее благоприятные условия для роста цианобактерий бывают весной и осенью, то есть в периоды увлажнения почвы, а в поливных, кроме того, и после орошения пашни.

Понимание потенциальных возможностей цианобактерий расширяется при наличии разработанных генетических методов и данных о геномных нуклеотидных последовательностях. Цианобактерии интенсивно используются как модельные организмы для изучения фундаментальных биологических процессов, в их числе: фотосинтез и его генетический контроль; фоторегуляция генной экспрессии.

#### **1.6. Побочные продукты биологической фиксации азота**

К наиболее важным соединениям, в которых содержится азот, относятся: аминокислоты, амиды, нуклеиновые кислоты, нуклеотиды и нуклеозиды, белки и алкалоиды. Большая часть наших знаний о метаболизме азота вытекает из исследований, проведенных на микроорганизмах. С белками растений часто трудно работать, так как при размельчении растительной ткани освобождаются оксидазы и протеолитические ферменты, и, кроме того, белки нередко осаждаются таннинами, которыми богаты некоторые растения.

*Аминокислоты*. Эти соединения являются основными «кирпичиками», из которых строятся белки протоплазмы. Обычными компонентами растительных белков считаются около 20 аминокислот, и все они, по видимому, встречаются в древесных растениях.

*Восстановление нитратов*. Нитраты – самый обычный источник азота для растений, а восстановление нитратов является важным этапом метаболизма азота. Нитраты легко поглощаются деревьями и обычно быстро восстанавливаются, хотя при плохом снабжении углеводами и низ-

ком уровне метаболической активности они могут накапливаться. Принято считать, что у хорошо удобренных растений полевых культур восстановление нитратов происходит главным образом в листьях, куда нитраты передвигаются из корней с ксилемным соком. *Ксилемный сок* (пасока) деревьев представляет собой разбавленный раствор минеральных солей и органических веществ, в том числе азотистых соединений, углеводов, ферментов и регуляторов роста, особенно цитокининов и гиббереллинов. Концентрация и состав ксилемного сока подвержены суточным и сезонным колебаниям. Дневное увеличение скорости тока воды, вызванное сильной транспирацией в полдень, снижает концентрацию растворенных в соке веществ.

*Алкалоиды.* Они составляют большую и сложную группу циклических соединений, содержащих азот. Уже выделено около 2000 различных соединений этой группы, некоторые из которых представляют интерес для фармакологии, например морфин, стрихнин, атропин, колхицин, эфедрин, хинин и никотин. Наиболее часто они встречаются в травянистых растениях, некоторые обнаруживаются и в деревьях, в основном тропических видов.

Алкалоиды накапливаются в отдельных органах: листьях, коре или корнях. Например, никотин синтезируется в корнях табака, но 85 % его находится в листьях. Алкалоиды хинного дерева добывают из коры. Иногда алкалоиды встречаются в древесине. Древесина некоторых видов из семейств *Anacardiaceae*, *Apocynaceae*, *Euphorbiaceae*, *Leguminosae*, *Rutaceae*, *Rubiaceae* содержит так много алкалоидов, что вызывает дерматиты. Среди алкалоидов, добываемых из деревьев, наиболее известны алкалоиды хинного дерева, используемые для борьбы с малярией. Они встречаются у растущих в Андах представителей родов *Chinchona* и *Retijia* семейства *Rubiaceae*.

Несмотря на широкое распространение алкалоидов в растениях, не обнаружена их существенная физиологическая роль. Возможно, что в некоторых случаях они препятствуют повреждению растений грибами, бактериями или насекомыми. *Алкалоиды представляются побочными продуктами метаболизма азота*, которые обычно не приносят ни вреда, ни

пользы вырабатывающему их растению. Количество попадающего в них азота слишком мало для того, чтобы играть роль в естественном отборе.

*Нежелательная побочная реакция фиксации азота* – восстановление нитрогеназой  $\text{H}^+$  до  $\text{H}_2$  (газообразный водород), в ходе которой энергия (в форме АТФ) расходуется на образование водорода, который в конечном счете просто улетучивается. В результате только от 40 до 60 % всего потока электронов, проходящих через нитрогеназный комплекс, передается на  $\text{N}_2$ , что значительно уменьшает эффективность процесса фиксации азота. В принципе, если бы  $\text{H}_2$  мог превратиться обратно в  $\text{H}^+$ , потери энергии были бы ниже, и процесс фиксации азота стал бы эффективным. Устранить же эту побочную реакцию прямым путем невозможно, поскольку она обусловлена особенностями химического строения активного центра нитрогеназы, и если попытаться заблокировать ее, изменив структуру фермента, то неизбежно произойдет и уменьшение активности нитрогеназы.

В середине 1970-х годов было показано, что некоторые штаммы *Bradyrhizobium japonicum* могут расти при низкой концентрации кислорода (микроаэрофильные условия), используя в качестве источника энергии водород. Для этого они синтезируют *гидрогеназу* – фермент, который катализирует присоединение водорода к различным соединениям в ходе реакций восстановления. Т.е. гидрогеназа способна превращать атмосферный  $\text{H}_2$  в  $\text{H}^+$ . По результатам многократных экспериментов был сделан вывод, что наличие системы ассимиляции водорода у симбиотических diaзотрофов типа *Bradyrhizobium japonicum* повышает их способность стимулировать рост растений, по-видимому, в результате связывания и рециркуляции (повтор циркуляции, повтор круговорота) газообразного водорода, образующегося в клубеньках при участии нитрогеназы (см. рис. 10). Таким образом, нитрогеназа катализирует образование водорода, используя энергию гидролиза АТФ, а гидрогеназа катализирует его утилизацию и, следовательно, *газообразный водород является побочным продуктом фиксации азота*.

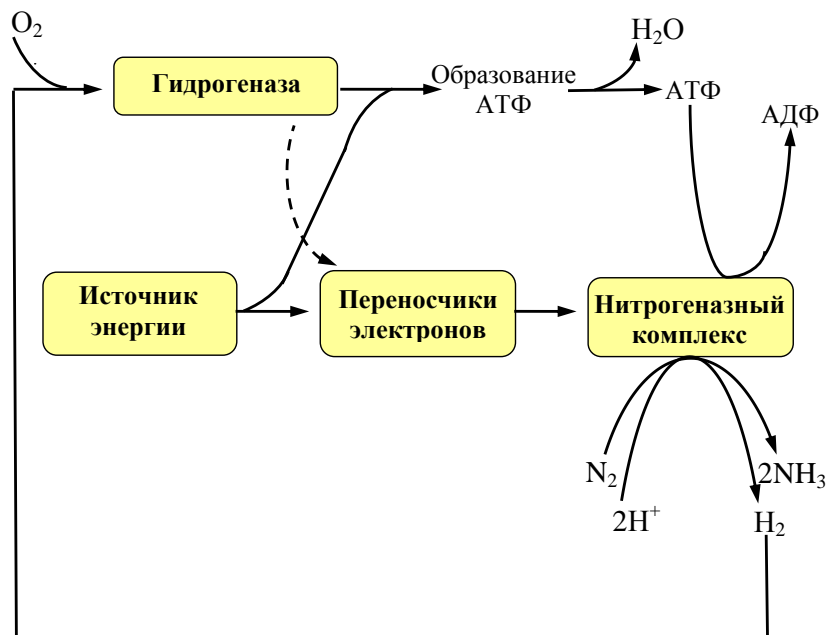


Рисунок 10 – Рециркуляция газообразного водорода:

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота;

АДФ – аденозиндифосфат – нуклеотид, состоящий из аденина, рибозы и двух остатков фосфорной кислоты. АДФ участвует в энергетическом обмене во всех живых организмах

Известно достаточно много бактерий, которые выделяют водород, но большинство из них – факультативные анаэробы, то есть могут существовать только в средах без доступа воздуха, что, очевидно, не очень-то подходит для промышленности. Идея создать генно-инженерную бактерию, которая бы вырабатывала водород, используя энергию фотосинтеза, уже довольно давно гуляет среди биологов, и известный молекулярный биолог Крейг Вентер даже заявил это одним из приоритетов своей «искусственной жизни», однако на сегодняшний день это пока чистой воды спекуляция.

Исследователи из Вашингтонского университета в Сент-Луисе (Миссури, США) в 1993 году обнаружили в океанских водах одноклеточную

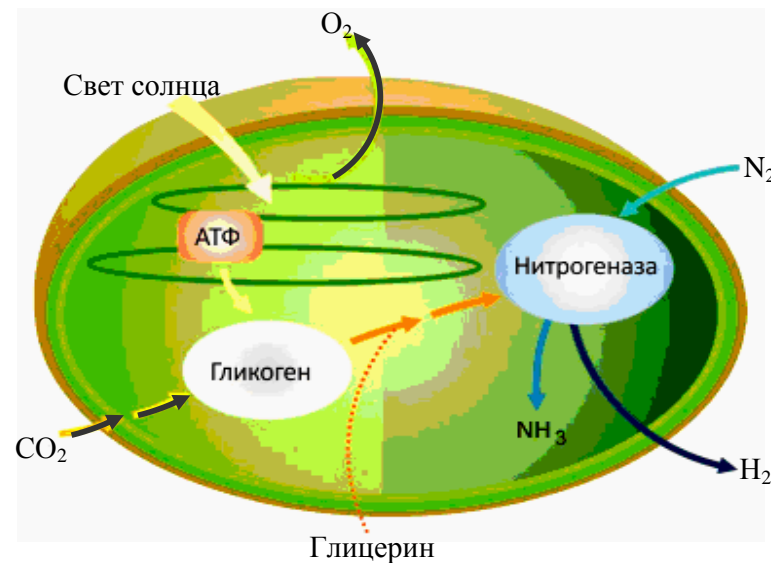


Рисунок 11 – Фотобиологический синтез водорода бактерией *Cyanothece 51142*

цианобактерию, названную *Cyanobacterium cyanothece 51142*, которая совмещает в себе сразу два фундаментальных биохимических пути, т.е. имеет «двухфазный цикл» (см. рис. 11). Бактерия использует лучи солнца в качестве источника энергии, а углекислый газ и глицерин из окружающей среды (если есть) как субстрат для синтеза запасующего полимера – гликогена. В темное время суток он, распадаясь, служит источником энергии для другого процесса – фиксации атмосферного азота, в котором **водород служит акцептором электронов и выделяется в качестве побочного продукта**.

Самое интересное здесь в том, как бактерии удается держать в одной упряжке «коня и трепетную лань» – аэробный процесс фотосинтеза и анаэробный цикл фиксации азота, довольно «хрупкий» фермент которого – нитрогеназа – легко разрушается под действием кислорода. Достигается это, видимо, пространственной и временной разобщенностью этих процессов: ночью, когда кислород не синтезируется, его излишки потребляются самой бактерией, и нитрогеназа в результате оказывается в более или менее бескислородном окружении.

### **Контрольные вопросы**

1. Назовите основные этапы круговорота азота в природе.
2. Приведите классификацию азотфиксаторов и дайте их определения.
3. В чем состоит смысл процесса фиксации атмосферного азота?
4. Назовите основные научные направления в области явления азотфиксации.
5. Перечислите основные исторические вехи биологической фиксации молекулярного азота.
6. Что лежит в основе биохимического механизма фиксации молекулярного азота воздуха?
7. Дайте определение нитрогеназы.
8. Какая основная особенность функционирования нитрогеназы?
9. Какие существуют специальные механизмы защиты нитрогеназы?
10. Дайте определение леггемоглобина.
11. В чем заключается основная функция леггемоглобина?
12. Как концентрация леггемоглобина связана с активностью азотфиксации?
13. Какие химические элементы необходимы для образования леггемоглобина?
14. Дайте определение и основную характеристику цианобактериям.
15. Дайте характеристику строения клетки цианобактерий.
16. Охарактеризуйте механизм биологической фиксации молекулярного азота цианобактериями.
17. Какая побочная реакция фиксации азота является нежелательной?
18. Назовите побочные продукты биологической фиксации азота.

## **ГЛАВА 2. ПРОЦЕССЫ БИОФИКСАЦИИ АЗОТА В МИКРОБИОЛОГИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ**

Как мы уже говорили, азот – обязательная составная часть белков; он необходим для питания всякого живого существа. Однако, несмотря на огромные, практически неисчерпаемые запасы свободного азота в атмосфере, ни животные, ни растения (за небольшими исключениями) не могут непосредственно пользоваться этим азотом для питания.

Растения берут азот из почвы, где он содержится главным образом в виде различных органических соединений, которые постепенно превращаются в соли азотной кислоты и соли аммония. Растворяясь во влаге почвы, эти соли поглощаются корнями растений, а затем перерабатываются в их клетках в белки.

Животные не могут усваивать азот даже в виде солей. Для питания им необходимы белки, вырабатываемые растениями или другими животными. Поэтому существование животных находится в полной зависимости от растений; только при посредстве растений они могут получать необходимый им азот.

Почва обычно содержит очень незначительные количества азота, который все время извлекается из нее растениями. При уборке с полей урожай уносится и извлеченный растениями из почвы азот. Таким образом, почва истощается и становится все менее и менее плодородной. Поэтому для получения хороших урожаев, позволяющих кормить постоянно растущее население планеты, необходимо постоянно пополнять убыль азота в почве путем введения в нее различных удобрений.

До XX века, основным видом удобрений были органические, но с развитием науки в прошлом веке получили большое распространение минеральные. Оба вида до сих пор их широко используют.

**Органические удобрения** оказывают многостороннее агрономическое действие на свойства почвы. Такие удобрения обогащают почву легкорастворимыми питательными веществами, а также активизируют жизне-

деятельность нужных микроорганизмов. При разложении их в результате жизнедеятельности почвенных микроорганизмов образуются доступные растениям минеральные соединения. N, P, K, Ca, S и др. Самым распространенным органическим удобрением, по праву, считается навоз. Это дешевый, доступный и полезный материал для удобрения. Навоз в большом количестве содержит микроорганизмы, которые помогают обеспечить разложение органического вещества на отдельные, легко усвояемые растениями элементы. Также он содержит кобальт, медь, молибден, бор и марганец.

**Минеральные удобрения** содержат еще большее количество питательных веществ, необходимых растениям, и делятся на две группы: простые и сложные. К простым минеральным удобрениям относятся те, в состав которых входит один какой-либо элемент. Сложные содержат два, три и более питательных веществ.

Установление благоприятного сочетания биологического азота и азота минеральных удобрений в питании сельскохозяйственных культур позволяет сбалансировать круговорот питательных веществ в земледелии, не вызывая нарушения равновесия в окружающей среде, в частности в биогеоценозах. Вследствие этого изучение биологической фиксации атмосферного азота имеет не только теоретический, но и громадный практический интерес.

Минеральные удобрения делятся также на группы по содержанию элементов: азотные, калийные и фосфорные.

*В азотных удобрениях* в легкодоступной для растений форме находится один из самых главных элементов питания – азот. К самым распространенным азотным удобрениям относятся сульфат аммония, нитрат аммония (аммиачная селитра) и карбамид (мочевина). Аммиачная селитра представляет собой универсальное быстродействующее удобрение. Она подкисляет почву. Карбамид усваивается растениями постепенно, поэтому применять его лучше весной. Сульфат аммония сильно подкисляет почву, хорошо закрепляется в ней.

*Калийные удобрения* помогают растениям усваивать углекислоту, а также способствуют передвижению углеводов и повышают устойчи-

вость к морозам, засухе. Удобрения такого рода можно вносить в любые почвы, они хорошо растворяются в воде. Самыми распространенными являются хлористый калий, калийная соль и сернокислый калий. Сернокислый калий не содержит магния и хлора, которые вредны для растений.

*Фосфорные удобрения* повышают устойчивость культур к морозам и засухам. Их надо вносить в почву как можно глубже, потому что фосфор малоподвижен. Лучшим считается суперфосфат. Это удобрение быстро действует и хорошо всасывается корнями. Для большей эффективности его можно смешивать с органическими удобрениями. Зола объединяет в себе калий и фосфор. Помимо этого, в ней нет хлора. Она подщелачивает почву.

*К сложным минеральным удобрениям*, которые называются также *комплексными*, относятся калийная селитра, аммофос, диаммофос, нитроаммофос, нитрофос, азофос, карбофос и др.

Таким образом, применение удобрений в значительной мере удовлетворяет потребность в азоте – одном из главных элементов питания, в котором растения остро нуждаются. Однако азотный баланс почв часто бывает отрицательным. Способность бобовых растений в симбиозе с клубеньковыми бактериями усваивать атмосферный азот обеспечивает им экологические преимущества в условиях дефицита азота. Использование этого свойства в сельскохозяйственной практике позволяет *значительно уменьшить или полностью исключить применение минеральных удобрений* без существенного снижения урожайности бобовых культур, сохраняя плодородие почвы. Имеющийся дефицит во многом покрывается биологическим путем, то есть за счет деятельности азотфиксирующих микроорганизмов. Дополнением к применению минеральных удобрений могут служить *бактериальные удобрения*, созданные на основе высокоэффективных штаммов ассоциативных микроорганизмов, применяемых для инокуляции злаковых культур.

Безусловно, при использовании большинства видов удобрений рассматриваются различные аспекты биологической фиксации молекулярного азота, но автор данного учебного пособия делает главный акцент на бактериальные удобрения.

Что же это такое – бактериальные удобрения, и для чего они нужны?

**Бактериальные удобрения (биоудобрения)** – это препараты, относящиеся к микробиологическим инокулянтам, способствующие улучшению питания сельскохозяйственных растений за счет содержащихся в них почвенных микроорганизмов, т.е. это своеобразные лактобактерии для растений. Питательных веществ они не содержат. При внесении этих удобрений (вносят вместе с семенами) в почву усиливаются биохимические процессы и улучшается корневое питание растений. *Бактериальные удобрения повышают плодородные свойства почвы и переводят азот в доступную для растений форму.*

Биоудобрениями являются всем известные симбиотические азотфиксаторы – клубеньковые бактерии (*Rhizobium sp.*, *Bradyrhizobium sp.*), а также ассоциативные азотфиксаторы (например, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Azomonas*). Фосфатмобилизирующие бактерии (*Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aureofaciens*) повышают биодоступность минеральных и органических соединений фосфора (фосфатов и фитатов) и связанных с ними металлов – Mg, Ca, Fe, Zn и т.д.

*Главным достоинством бактериальных удобрений является то, что они – экологически чистые удобрения: в почву попадает то, что там и так есть и что должно там быть, только в несколько большем количестве. Даже очень хорошее минеральное удобрение не гарантирует отсутствия в нем вредных примесей, да и в органических удобрениях может накопиться немало нежелательных добавок, так как большинство из них содержит растительные остатки, которые могут быть, например, загрязнены тяжелыми металлами. Применение бактериальных удобрений менее энергоёмко и не требует больших денежных вложений.*

Биоудобрения на сегодняшний день в большинстве стран получают все большее признание. Лишь только при тщательном изучении и знании взаимодействия микроорганизмов между собой и с растениями в условиях корневой зоны можно ожидать положительных результатов от бактериальных препаратов.

## 2.1. Влияние растений на развитие микроорганизмов в почве

Биологическая фиксация азота атмосферы напрямую связана с жизнедеятельностью находящихся в почве микроорганизмов – бактерий. В природных условиях высшие растения и микроорганизмы тесно взаимосвязаны, между ними существуют различные формы взаимоотношений и взаимного влияния. Здесь, конечно, в первую очередь необходимо отметить тесный симбиоз бобовых растений и клубеньковых бактерий, описанный в разделе о круговороте азота.

Корни растений в процессе жизнедеятельности выделяют в почву большое количество органических соединений. Установлено, что их суммарная масса составляет 5–10 % от массы всего растения. Выделение веществ в почву начинается с момента прорастания семян, достигает максимума у многих видов растений в период цветения и снижается к моменту плодоношения. Химическая природа этих соединений в основном уже расшифрована. Они состоят из витаминов, сахаров, органических кислот, ферментов, гормонов, фенольных соединений. На поверхности корней и в почве, непосредственно примыкающей к корням растений, содержится много питательных веществ, и микроорганизмы здесь усиленно развиваются и накапливаются. Почвенная микрофлора – это обязательный компонент любого агрофитоценоза, где между растениями и микроорганизмами осуществляются молекулярные взаимодействия, суть которых заключается в обмене метаболитами и их трансформации.

### 2.1.1. Ризосфера и ее микрофлора

**Ризосферой** называется слой почвы, примыкающий к корням и находящийся под влиянием деятельности корневой системы растений.

*В ризосфере различают три зоны:*

- поверхность корней, наиболее богатую микробами;
- непосредственно прилегающий к поверхности корней тончайший слой почвы;
- зону собственно ризосферы, расположенную на расстоянии 0,5–1 мм от поверхности корня.

В ризосфере имеется гораздо больше питательных для микробов веществ, чем вне ризосферы.

В районе ризосферы микробов содержится в десятки, сотни раз больше, чем вне зоны деятельности корней. Даже такие автотрофные бактерии, как нитрифицирующие, в ризосфере встречаются в гораздо большем количестве, чем в остальной почве. Количество микроорганизмов в ризосфере изменяется в зависимости от фазы развития растения. Общее количество их возрастает от начала прорастания семени до цветения. Во время цветения число их падает. Но разные группы и виды микроорганизмов имеют свой максимум развития на корнях. Так, грибы, актиномицеты и клетчаткоразлагающие бактерии в большом числе встречаются во втором периоде развития растения. В ризосфере обычно больше беспоровых бактерий, а из них преобладают различные виды псевдомонас, радиобактеров, микобактерий и др.

В ризосфере различных растений может наблюдаться *специфическая микрофлора*, т. е. преобладание одних видов микробов над другими.

На ризосферную микрофлору влияют: вид, возраст растений и их состояние, положение и характер распределения корней, тип почвы и окружение. Корни растений стимулируют или угнетают микробов в разной степени. Бобовые растения чаще всего стимулируют развитие микробов. В ризосфере клеверов, например, обнаруживается значительно больше микроорганизмов, чем в зоне корней злаков и деревьев. Корневые выделения растений в случае длительного выращивания одних и тех же культур растений (монокультур) на одних и тех же площадях приводят к так называемому «почвенному утомлению». Микробы ризосферы, питаясь корневыми выделениями, сами готовят питательные вещества для растений путем разложения растительных остатков, гумуса, выделения различных физиологически активных веществ. Такая обстановка вызывает селекцию отдельных групп и даже видов микроорганизмов и их чрезмерное развитие в почвах. Следствием этого являются стойкие заболевания растений (при развитии патогенных для растений микробов), уносящие урожай. В пределах поверхности одного корешка микрофлора оказывается разной и

обилие микроорганизмов нарастает к кончикам корней, где, например, отмечен наибольший экзосмос аминокислот.

Ризосферный эффект увеличивается после прорастания семени и достигает максимума в период цветения и плодоношения растений. Таким образом, *возраст и старение растений играет большую роль в формировании и деятельности ризосферной микрофлоры*. Представление об этом дано в табл. 3.

Таблица 3 – Групповой состав и численность микрофлоры ризосферы пшеницы

Фаза развития растений	Микроорганизмы (тыс. на 1 г почвы)			
	Бактерии	Актиномицеты	Грибы	Целлюлозные микроорганизмы
Кущение	300000*	20	40	100
Колошение	420000**	55	55	100
Цветение	560000***	70	70	1000
Созревание	280000****	45	45	10000

Примечание: \* – неспоронные – 295000, бациллы – 5000;  
 \*\* – неспоронные – 417000, бациллы – 3000;  
 \*\*\* – неспоронные – 546000, бациллы – 14000;  
 \*\*\*\* – неспоронные – 205000, бациллы – 75000.

*Свою микрофлору имеют и наземные части растений* – листья, стебли. На них также приспособились существовать особые виды микробов, например: *Bact. herbicola*, имеющая желтый пигмент, молочнокислые и флюоресцирующие бактерии, дрожжи, плесени. Пищей им служат некоторые вещества, выделяемые растениями на поверхность эпидермиса. Эти микроорганизмы, называемые эпифитными, размножаются на семенах.

Правильно сохраняющиеся семена с нормальной всхожестью имеют определенный состав *эпифитной микрофлоры*, по которой можно определить качество посевных семян.

Ризосферная и эпифитная микрофлора живет на поверхности растительных покровов за счет выделений клеток растений. В отличие от них паразитарные микроорганизмы нарушают целостность покровов, внедряются в организм и вызывают его заболевание.

Между грибами и корнями растений также имеются особые симбиотические взаимоотношения. У подавляющего большинства растений (древесных, злаковых и др.) на корнях имеются микоризы.

**Микориза** (грибокорень) представляет собой грибной мицелий, развившийся на корнях растения. Микоризообразующие грибы имеются среди фикомицетов, аскомицетов и базидиальных грибов. Микориза – очень распространенное явление, и такой симбиоз имеет важное значение в жизни растения и гриба, представляя собой микотрофный тип питания. У некоторых однолетних сельскохозяйственных растений (например, твердой пшеницы, проса) тоже имеется микотрофный способ питания. Но бесспорных доказательств, что грибы при этом играют важную роль в питании растений, еще нет.

Различают *наружную* (эктотрофную) и *внутреннюю* (эндотрофную) микоризы (см. рис. 12).

*Эктотрофные микоризы* – это ассоциации, при которых гриб не проникает внутрь корней, а поселяется на их поверхности, образуя своего рода плотный чехол из мицелия, который проникает в корень на небольшую глубину, главным образом в межклетники коровой паренхимы. От грибного чехла во все стороны почвы отходит густая сеть гиф мицелия. Корневые волоски отмирают. Эктотрофную микоризу имеет большинство древесных пород.

При *эндотрофных микоризах* мицелий гриба располагается в клетках коры корней растений, где образует скопления в виде клубков, т.е. сплошного оплетения мицелием корней не происходит. Мицелий проникает

внутри клеток, образуя в них клубки гиф. Но клетки корня остаются живыми, они постепенно переваривают проникший в них мицелий.

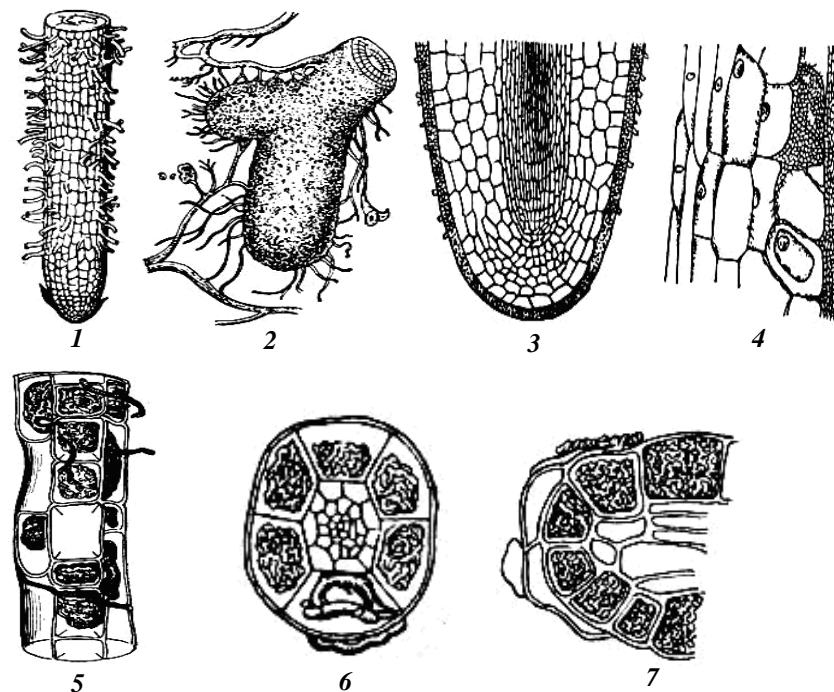


Рисунок 12 – Эктотрофная (1–4) и эндотрофная (5–7) микоризы:  
 1 – корень без микоризы с корневыми волосками и корневым чехликом;  
 2 – корень бука с микоризой; 3 и 4 – продольные разрезы покрытого микоризой корня граба; 5 – эндотрофная микориза болотного кустарника из семейства вересковых (часть корня); 6 – поперечный разрез того же корня; 7 – продольный разрез того же корня (видны клетки, наполненные грибными гифами)

Наблюдается еще экто-эндотрофная микориза, совмещающая в себе признаки, свойственные обеим формам микоризы.

### 2.1.2. Изменение состава микрофлоры в почве

Условия развития микрофлоры имеют немаловажное значение. Основными факторами, определяющими численность и состав микрофлоры в почвах, являются: содержание органического вещества, реакция почвы, влажность, температура и др. В почве может быть очень много микроорганизмов или очень мало. Качественный состав их также весьма резко меняется. В одних случаях накапливается полезная для почвенных процессов микрофлора, в других, наоборот, нежелательная или даже вредная для растений.

Можно ли искусственно изменять состав микрофлоры в почве? Этот вопрос весьма важен не только в деле бактериальных удобрений, но вообще в земледелии и почвоведении.

Искусственное изменение микрофлоры в почве в сельскохозяйственной практике осуществляется давно. Микрофлора почвы изменяется человеком бессознательно с тех пор, как только начали культивировать почву и когда начали вводить в севооборот разные культуры.

Существует три основных способа изменения состава микрофлоры в почве.

**Первый способ.** Агротехнические приемы (рыхление, орошение, химизация, частичная стерилизация и т.д.) оказывают значительное воздействие на микрофлору и почвенно-биологические свойства, в связи с чем необходимо проводить изучение микрофлоры как в целинных, так и окультуренных почвах. В современной отечественной и мировой практике к наиболее перспективным экономичным энергосберегающим и одновременно почвозащитным приемам относятся минимальная и нулевая обработки почвы, существенно сокращающие агротехнические операции.

**Второй способ.** Микробиологическая характеристика почв необходима, поскольку она позволяет выявить влияние агротехнических приемов и возделывания культур на биологические свойства почв, длительно обрабатываемых. Результаты микробиологических исследований, кроме того, дают представление об особенностях микробиологических процессов, происходящих в конкретных почвах (биологической иммобилизации, денитрификации, азотфиксации и др.), т.е. факторах, необходимых для про-

гнозирования плодородия почв и эффективности вносимых бактериальных удобрений.

Растительный покров является мощным фактором отбора и накопления определенных видов микробов. Подбирая активные растения и вводя их в севооборот, можно в значительной степени устранить многие нежелательные формы микроорганизмов.

В этом деле микробиология может быть использована как метод для выявления растений, наиболее активно отбирающих нужные виды микроорганизмов. Например, для устранения из почвы грибов рода *Verticillium* (возбудителя вилта хлопчатника) применяется люцерна. Она накапливает микробов-антагонистов, угнетающих этот грибок. Возможно, что имеются растения, отбирающие и накапливающие в почве более активных антагонистов, и процесс накопления протекает быстрее. Это можно установить путем высева разных растений в поле, но для этого потребуется много времени, а микробиологические исследования могут ускорить отбор активных растений.

**Третий способ.** Бактеризация, но не почвы в целом, а только небольшой зоны вокруг корней. Широко распространенное, даже среди некоторой части специалистов, мнение о почве как о подобии питательной среды, которую можно заселить любыми микроорганизмами, глубоко неверно. Колонизация микробами отдельных участков (часто очень мелких) может иметь место в течение непродолжительного времени. Затем вступают в действие те или иные регуляторные механизмы, и популяции «пришельцев» оказываются сведенными к минимуму. Настойчивые попытки на протяжении многих лет применить бактеризацию почвы (внесение определенных микробов в ту или другую почву) микроорганизмами с полезными для растений свойствами (фиксаторов азота, активных минерализаторов фосфорсодержащих веществ) оказались неуспешными.

**Колонизация почвы микроорганизмами, но только вместе с семенами все же ограничено возможна, если не лимитируется следующими условиями:**

а) наличием пригодного места в данный момент (в реальных микроразонах обитания микроорганизмов, а не вообще в почве);

б) присутствием в достаточном количестве субстрата, обеспечивающего длительное развитие данного организма;

в) способностью использовать многие источники энергии и пищи в экосистеме, и, причем более эффективно, чем аборигенная микрофлора;

г) высокой толерантностью (выносливостью) попадающего организма к микроэкологическим факторам – колебаниям рН и температуры, осмотическому давлению, содержанию кислорода, окислительно-восстановительному потенциалу, влажности и другим, обеспечивающим вегетативный рост;

д) наличием механизмов активного воздействия на другие организмы – образованием физиологически активных метаболитов, способностью к антагонизму и устойчивостью к продуктам жизнедеятельности других организмов.

Несоблюдение указанных условий и даже некоторых из них делает невозможным активное поселение микроорганизмов в почве. Более того, как уже отмечалось, входящие в состав ценоза микробы при отсутствии возможностей приспособиться к изменившимся условиям среды выпадают из активного участия в деятельности ценоза, переходя в переживающее состояние.

Соблюдение указанных условий делает бактеризацию почвы возможной, но только, как уже указывалось выше, вместе с семенами, т.к. прорастая, они образуют корни и на этих корнях начинают развиваться применяемые бактерии, т.е. бактерии смогут прижиться в прикорневой почве растений. Путем бактеризации мы можем только помочь растению ускорить процесс отбора и накопления растениями определенных видов микробов.

### **2.1.3. Приживаемость бактерий и местные штаммы**

Микроорганизмы, колонизирующие корни растений, оказывают во многих случаях благоприятное влияние на их рост, развитие и продуктивность. Синтез такими ассоциативными микроорганизмами фитогормонов (ауксинов, гибберелинов и цитонкининов) рассматривается как одна из основных форм взаимодействия между микрофлорой ризосферы и растением-хозяином. Необходимым этапом скрининга ризосферных прокариот яв-

ляется оценка их способности колонизировать корневую систему растений, успешно конкурируя с другими представителями комплекса ризосферных микроорганизмов. Во всех случаях приживаемость и стабильность развития интродуцируемых микроорганизмов в зоне корня играет значительную роль в эффективности их действия и часто является лимитирующим фактором при биоконтроле.

Некоторые бактерии легко приживаются в зоне корней определенных растений. Если такими бактериями обработать семена растений перед высевом их в почву, то они привьются на корнях проростка, быстро там размножатся – часто в таком количестве, что вытеснят оттуда местные виды бактерий и грибов. Этим приемом можно пользоваться всегда, когда нужно изменить микрофлору прикорневой зоны, а, следовательно, и во всех почвах данного участка, чтобы вытеснить оттуда вредные микробы и заменить их полезными.

Не всякий вид бактерий приживается к корневой системе растений. Иногда приходится перебрать и испытать много бактериальных культур, пока не найдется подходящая, способная приживаться и развиваться в ризосфере данного растения.

Приживаемость бактерий к ризосфере в значительной степени зависит от индивидуальной особенности штаммов. Разные штаммы одного и того же вида бактерий будут по-разному приживаться к данным почвенным и климатическим условиям.

**Штамм** – это генетически однородное потомство микроорганизмов (бактерий, грибов, простейших) или клеток культуры тканей эукариот, обладающее определенными признаками. Поскольку многие микроорганизмы размножаются митозом (делением), без участия полового процесса, по существу, виды у таких микроорганизмов состоят из клональных линий, генетически и морфологически идентичных исходной клетке. Штамм не является таксономической категорией, наименьшим таксоном у всех организмов является вид, один и тот же штамм не может быть выделен второй раз из того же источника в другое время.

*Положительный эффект бактеризации семян* зависит от ряда факторов:

- активности штамма микроорганизма;
- концентрации суспензии клеток;
- количества биологически активных веществ в суспензии;

- продолжительности обработки семян;
- вида растений;
- состояния аборигенной микрофлоры в момент посева;
- особенностей почвы;
- условий агротехнического комплекса.

Установлено, что намного успешнее происходит интродукция штаммами, первоначально изолированными из ризосферы того же вида растений.

**Местные штаммы азотобактера в почвах Украины.** Сотрудниками отдела симбиотической азотфиксации Института физиологии растений и генетики (ИФРГ) НАН Украины установлено, что в чистой культуре штаммы азотобактера характеризуются достаточно высокой азотфиксирующей способностью, что позволяет применять их для инокуляции семян сельскохозяйственных культур с целью улучшения азотного питания растений, повышения их продуктивности и плодородия почвы.

Исследования показали, что бинарная инокуляция семян сои и пшеницы бактериальной композицией **нового штамма *Azotobacter chroococcum* T79** с клубеньковыми бактериями *Bradyrhizobium japonicum* 6346 повышала симбиотический потенциал соево-ризобияльного симбиоза, увеличивала продуктивность бобовых и злаковых культур в условиях вегетационных и полевых экспериментов.

Хотелось бы отметить **выявление нового штамма клубеньковых бактерий *Bradyrhizobium japonicum* 859** с высокой азотфиксирующей активностью для получения микробиологического удобрения, повышающего урожайность сои в Украине.

Экспериментально установлено, что бактерии штамма *Bradyrhizobium japonicum* 859 образуют на корнях растений клубеньки, обладают хорошими азотфиксирующими свойствами и положительно влияют на полевую всхожесть сои, ее рост и урожайность. При этом концентрация бактерий штамма для его эффективного использования в составе различных биоудобрений должна составлять не менее  $10^8$  КОЕ/мл. Экспериментально установлено также, что оптимальной является концентрация бактерий в диапазоне значений ( $10^8$ – $10^9$ ) КОЕ/мл, т.к. использование штамма в концентрации менее  $10^8$  КОЕ /мл ведет к снижению указанного

эффекта, а увеличение концентрации свыше  $10^9$  КОЕ /мл не приводит к его увеличению.

Скрининг почвенных ризосферных микроорганизмов по признаку высокой азотфиксирующей активности позволяет выделять новые виды и штаммы бактерий, которые могут быть использованы в качестве эффективных инокулянтов зерновых культур.

В ризосфере будут приживаться и выживать те бактерии, которые быстрее приспособляются к данному растению, к данным почвенным и климатическим условиям. Это приходится учитывать при применении бактериальных земледобрильных препаратов.

## 2.2. Влияние бактерий на растения

Как уже говорилось выше, почва представляет собой благоприятную среду для развития микроорганизмов. Приблизительные подсчеты показывают, что в 1 г почвы содержится  $10^9$  бактерий,  $10^5$  грибов,  $10^3$  водорослей. Суммарная масса всех микроорганизмов в пахотном слое составляет примерно 6–7 т на 1 га. Естественно, такое колоссальное количество живых организмов оказывает многообразное и разностороннее влияние на процессы, происходящие в почве, и на жизнь высших растений. Особенно много микроорганизмов развивается около корневых систем – ризосферные микроорганизмы. Число микроорганизмов в прикорневой зоне в 50–100 раз превышает их число вне сферы влияния корневых систем. Это и понятно, так как благодаря выделениям около корневых систем создаются благоприятные условия для их питания. Поскольку корневые выделения различны у разных растений, ризосферные микроорганизмы тоже специфичны. Под влиянием микроорганизмов происходят как нежелательные процессы, так и полезные. Микроорганизмы могут вызывать заболевания растений и накопление некоторых токсичных веществ, выступать как конкуренты высших растений, поглощая усвояемые питательные вещества. Вместе с тем микроорганизмы участвуют в минерализации органических веществ, переводя их в усвояемую форму. В этой связи органическое вещество почвы является важнейшим резервом питательных веществ для растений.

Микроорганизмы осуществляют превращение (окисление, восстановление) ряда неорганических соединений, переводя их в более или, наоборот, менее усвояемую форму. *Чрезвычайно полезное значение* имеет усвоение азота атмосферы микроорганизмами, что является почти единственным источником азотистых соединений в почве.

*Важной особенностью микроорганизмов* является выделение ряда биотических веществ (витамины, гормоны), которые способствуют росту высшего растения. Многие высшие растения живут в симбиозе с грибами, образуя микоризу, или грибокорень. На надземных органах растений развивается эпифитная микрофлора. Ее микроорганизмы способствуют росту высшего растения, в данном случае путем снабжения их гормональными веществами. В целом рост высших растений возможен на минеральной питательной среде в стерильных условиях. Однако в присутствии микроорганизмов он идет более интенсивно.

Среди микроорганизмов, влияющих на рост растений, особый интерес представляют азотфиксаторы, бактерии-активаторы и бактерии-антагонисты.

### 2.2.1. Микроорганизмы-азотфиксаторы

Азотный баланс почв – одна из важнейших проблем земледелия. Ежегодно с пахотных полей вместе с урожаем уносится большое количество азота. Как показывают многие исследования, почвы сами пополняют уносимый азот, а некоторые (например, почвы Крыма) полностью восполняют потерю азота. Наибольшее внимание исследователей привлекает биологический фактор – один из основных способов накопления азота в почве.

Наиболее хорошо изучены и *наиболее известны* два микроба-азотфиксатора: *азотбактер* и *клубеньковые бактерии*. Но кроме них в почве имеются и другие азотфиксирующие организмы: спороносная бактерия (клубеньки), почвенные водоросли, некоторые грибы, ризобактерии (*PGPR*-бактерий).

Сотрудниками ИФРГ НАН Украины было показано, что *PGPR*-штаммы бактерий стимулируют рост и развитие растений не только за счет образования биологически активных веществ, но и за счет способности к

азотфиксации, улучшению водного и минерального питания растений, предотвращению или уменьшению роста фитопатогенов благодаря возможности синтезировать вещества бактерицидного действия.

*Азотобактер* (*Azotobacter*). Это типичный представитель свободноживущих микроорганизмов. *Свободноживущие* – это все те микроорганизмы, которые живут в почве независимо от того, развивается вблизи растение или нет.

*Культуры азотобактера* в лабораторных условиях *отличаются полиморфизмом*. Молодые клетки азотобактера подвижны и представляют собой палочки размером 2–3 x 4–6 мкм. Позже они превращаются в крупные кокки диаметром до 4 мкм. Кокковидные клетки обычно покрываются капсулой и содержат разные включения (жир, крахмал и т.д.). Клетки азотобактера имеют многочисленные или единичные жгутики. Как показано на рис. 13 у азотобактера обнаружены выросты, подобные фимбриям. В старых культурах клетки азотобактера покрываются плотной оболочкой, образуя цисты. Они могут прорасти, давая начало молодым клеткам.

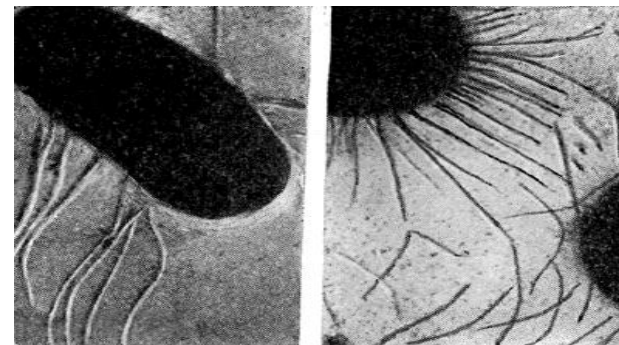


Рисунок 13 – Фимброподобные образования у клеток азотобактера

*Полиморфизм азотобактера* зависит в значительной степени от *состава среды*, на которой он выращивается. На среде с этиловым спиртом (в качестве единственного источника углерода) азотобактер длительное время сохраняет подвижность и форму палочек. В то же время на многих других средах полиморфизм проявляется очень резко. На плотных пита-

тельных средах, не содержащих азота, азотобактер образует крупные слизистые, иногда морщинистые колонии, окрашивающиеся при старении в желтовато-зеленоватый, розовый или коричнево-черный цвет.

К настоящему времени известен ряд видов азотобактера: *Azotobacter chroococcum*, *Az. beijerinckii*, *Az. vinelandii*, *Az. agilis*, *Az. nigricans*, *Az. galophilum*. Эти виды различаются между собой размерами и формой клетки, а также некоторыми другими признаками, в частности пигментацией колоний. Так, колонии *Az. chroococcum* имеют бурый, почти черный цвет. Для *Az. agilis* характерны бесцветные колонии, *Az. vinelandii* дает флюоресцирующую желтовато-зеленоватую окраску среды.

Все виды азотобактера аэробы. *Источником азота для азотобактера* могут служить разнообразные минеральные (соли аммония, азотной и азотистой кислот) и органические (мочевина, различные аминокислоты) соединения. Однако если азотобактер развивается только за счет связанного в среде азота, он не выполняет своей основной функции – фиксации молекулярного азота. Азотобактер обычно фиксирует до 15–20 мг молекулярного азота на 1 г использованного источника углерода (например, глюкозы, сахарозы). Эта величина сильно колеблется в зависимости от условий выращивания культуры, состава питательной среды, ее кислотности, температуры, аэрации.

*Для роста азотобактер нуждается в элементах минерального питания*, особенно в фосфоре и кальции. Потребность азотобактера в этих элементах столь значительна, что его используют в качестве биологического индикатора на наличие фосфора и кальция в почве.

*Для энергичной фиксации молекулярного азота азотобактеру и другим фиксаторам азота нужны микроэлементы* (молибден, бор, ванадий, железо, марганец). Важное значение имеет молибден, который входит в состав ферментов, катализирующих процесс усвоения азота. Потребность в микроэлементах определяется в значительной степени геохимическими условиями существования азотобактера в почвах. Штаммы микроорганизма, выделенные из почв с высоким естественным содержанием того или иного микроэлемента, нуждаются, как правило, в более высоких концентрациях этих элементов.

Отмеченные физиологические особенности азотобактера определяют экологию данного организма. Он обитает в высокоплодородных, достаточно влажных почвах с нейтральной или близкой к ней реакцией среды. При дефиците увлажнения большинство клеток этого микроорганизма отмирают. Во многих черноземах, каштановых и сероземных почвах, благоприятных для азотобактера, его обнаруживают в значительных количествах лишь весной. При летнем иссушении почвы в ней остаются немногочисленные его зародыши. В зоне подзолистых и дерново-подзолистых почв азотобактер можно найти в огородных и пойменных почвах, богатых органическими соединениями, с благоприятным значением рН. В основном в почвах нашей страны доминирует *Azotobacter chroococcum*.

**Клубеньковые бактерии.** Многочисленными исследованиями доказано, что у клубеньковых бактерий биохимические реакции фиксации азота аналогичны азотобактеру. Клубеньковые бактерии могут накопить за период вегетации 100–200 кг азота на 1 га; фиксировать атмосферный азот могут также бактерии, живущие в клубеньках на корнях лоха, облепихи, сосны, лучистой ольхи и ряда других растений. Способны к фиксации азота и бактерии, живущие в узлах листьев некоторых тропических кустарников.

В практике заслуживают внимания *шесть разновидностей клубеньковых бактерий, специфичных для определенных растений*:

- 1) *Rhizobium trifoli* – образуют клубеньки на корнях белого, красного и других видов клевера;
- 2) *R. japonicum* – формирует клубеньки на корнях сои;
- 3) *R. phaseoli* – образует клубеньки на корнях фасоли;
- 4) *R. meliloti* – живет на корнях люцерны и донника;
- 5) *R. leguminosarum* – характерная культура клубеньков корней гороха, вики, чины и нута;
- 6) *R. lupine* – образует клубеньки на корнях люпина.

Клубеньковые бактерии проникают в ткань корня бобовых растений через корневые волоски. По мере продвижения по корневому волоску бактерии окутываются выделяемой ими слизью, образуют длинные слизистые нити или тяжи, напоминающие мицелий гриба. В I-ой главе данного учебного пособия уже говорилось, что эти образования получили название ин-

фекционных нитей. Они глубоко проникают в корни растений, где бактерии интенсивно размножаются и стимулируют быстрое деление клеток вокруг бактериального очага, что и приводит к образованию клубенька. Клубеньковые бактерии, вышедшие из инфекционной нити, продолжают размножаться в ткани растения-хозяина. Основная масса бактерий размножается в цитоплазме клетки, а не в инфекционной нити.

*Специфичность клубеньковых бактерий* – это понятие собирательное. Оно характеризует способность бактерий образовывать клубеньки у растений. Если говорить о клубеньковых бактериях вообще, то для них образование клубеньков только у группы бобовых растений уже само по себе специфично – они обладают избирательностью к бобовым растениям.

Однако если рассматривать отдельные культуры клубеньковых бактерий, то оказывается, что среди них есть такие, которые способны заражать лишь определенную, иногда большую, иногда меньшую, группу бобовых растений, и в этом смысле специфичность клубеньковых бактерий – *это избирательная способность в отношении растения-хозяина.*

Специфичность клубеньковых бактерий может быть:

- узкой – видовой и сортовой специфичность;
- широкой – «перекрестное заражение».

Специфичность клубеньковых бактерий возникла в результате длительного приспособления к одному растению или к группе их и генетической передачи этого свойства. В связи с этим различная приспособленность клубеньковых бактерий к растениям имеется и в пределах группы «перекрестного заражения». Так, клубеньковые бактерии люцерны могут образовать клубеньки у донника. Но, тем не менее, они более приспособлены к люцерне, а бактерии донника – к доннику.

В процессе инфекции корневой системы бобовых растений клубеньковыми бактериями большое значение имеет вирулентность микроорганизмов. Если специфичностью определяется спектр действия бактерий, то вирулентность клубеньковых бактерий характеризует активность их действия в пределах данного спектра. *Под вирулентностью* подразумевается способность клубеньковых бактерий проникать в ткань корня, размножаться там и вызывать образование клубеньков. Большую роль играет не

только сама способность проникать в корни растения, но и скорость этого проникновения.

Необходимо, чтобы вирулентные штаммы обладали и конкурентоспособностью, т. е. могли успешно конкурировать не только с представителями местной сапрофитной микрофлоры, но и с другими штаммами клубеньковых бактерий. *Показателем конкурентоспособности штамма* служит количество образованных им клубеньков в процентах от общего числа клубеньков на корнях растений.

*Важным свойством клубеньковых бактерий является их активность (эффективность)*, т. е. способность в симбиозе с бобовыми растениями ассимилировать молекулярный азот и удовлетворять в нем потребности растения-хозяина. В зависимости от того, в какой степени клубеньковые бактерии способствуют повышению урожайности бобовых культур, их принято делить на: активные (эффективные), малоактивные (малоэффективные) и неактивные (неэффективные).

Неактивный для одного растения-хозяина штамм бактерий в симбиозе с другим видом бобового растения может быть вполне эффективным. Поэтому при характеристике штамма с точки зрения его эффективности следует всегда указывать, в отношении какого вида растения-хозяина проявляется его действие.

Активность клубеньковых бактерий не является их постоянным свойством. Нередко в лабораторной практике наблюдается потеря активности у культур клубеньковых бактерий. При этом или теряется активность у всей культуры, или появляются отдельные клетки с малой активностью. Снижение степени активности клубеньковых бактерий происходит в присутствии некоторых антибиотиков, аминокислот. Одной из причин утраты активности клубеньковых бактерий может быть влияние фага. Пассированием, т.е. неоднократным проведением бактерий через растение-хозяина (адаптацией к определенному виду растения), можно получить эффективные штаммы из неэффективных.

*Клубеньковые бактерии могут жить* не только в клубеньках бобовых растений, но и *самостоятельно в почве*. Иногда удавалось выделить различные расы этих бактерий из почвы, на которой много лет не выращи-

вали бобовые растения. В свою очередь, реакция почвы оказывает влияние на развитие клубеньковых бактерий. Для разных видов и даже штаммов клубеньковых бактерий значение pH среды обитания несколько различно. Так, например, клубеньковые бактерии клевера более устойчивы к низким значениям pH, чем клубеньковые бактерии люцерны. Очевидно, здесь также сказывается адаптация микроорганизмов к среде обитания. Клевер растет на более кислых почвах, чем люцерна. Реакция почвы как экологический фактор оказывает влияние на активность и вирулентность клубеньковых бактерий. Наиболее активные штаммы, как правило, легче выделить из почв с нейтральными значениями pH. В кислых почвах чаще встречаются неактивные и слабовирулентные штаммы. Кислая среда (pH = 4,0 – 4,5) оказывает непосредственное влияние и на растения, в частности нарушая синтетические процессы обмена веществ растений и нормальное развитие корневых волосков. В кислой среде у инокулированных растений резко сокращается срок функционирования бактериальной ткани, что ведет к снижению степени азотфиксации.

### **2.2.2. Бактерии-активаторы, бактерии-антагонисты и бактерии-ингибиторы**

Микроорганизмы почвы оказывают положительное или отрицательное влияние на растения в зависимости от конкретных внешних условий, вида и свойств самих микробов, а также особенностей иммунной защиты растений.

Микроорганизмы являются биологическими факторами, способствующими нормальному питанию и развитию растений. Растения могут находиться в тесном симбиозе с разными микроорганизмами.

Среди бактерий ризосферы есть и бактерии-активаторы, бактерии-антагонисты и бактерии-ингибиторы. Видовая принадлежность таких микроорганизмов различна в ризосфере различных растений.

**Бактерии-активаторы.** В почве имеются микроорганизмы, которые азот не фиксируют, но влияют на растения продуктами своей жизнедеятельности, ускоряя их рост и развитие. Эти организмы и называются *активаторами*. Эти бактерии различны по своему систематическому положению: одни принадлежат к неспороносным бактериям, другие похожи

на клубеньковые бактерии, а третьи – на микобактерии. Все они рассматриваются как симбионты, хотя могут жить свободно, без растений. Азотфиксирующая способность у большинства этих бактерий не доказана, а у некоторых совершенно отрицается.

Среди прикорневой флоры обитают виды, которые продуцируют различные биологические вещества – ауксины, витамины, аминокислоты и другие вещества необходимые для роста, развития и защиты растений.

К *активным продуцентам ауксинов* относятся *Bac. mycoides*, *Ps. radiobacter*, *Bac. subtilis*, *Proteus sp.*, *Mycobacterium album* и др.

*Активными продуцентами витаминов* являются представители родов *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*.

Часто встречаются активаторы среди свободно живущих грибов, например, *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*, *Mucor mucado*, *Candida albicans* и др. Они обнаруживаются в разных почвах в большем или меньшем количестве.

Бактерии-активаторы выделены из разных почв и из ризосферы клевера, люцерны, пшеницы и других растений. Так, например, к бактериям-активаторам ризосфер сахарной свеклы относятся *Mycobacterium salivarum*.

Микробы-активаторы, свободно живущие, и симбионты (организмы двух разных видов, состоящие в длительном тесном сожительстве) действуют на растения особыми веществами (гормонами), которые они образуют и выделяют наружу. Гормоны растений получили название фитогормонов. *Фитогормоны* – это вещества, вырабатываемые в процессе естественного обмена веществ и оказывающие в ничтожных количествах регуляторное влияние, координирующее физиологические процессы. В этой связи к ним часто применяется термин – природные регуляторы роста. В большинстве случаев, но не всегда фитогормоны образуются в одних клетках и органах, а оказывают влияние на другие. Иначе говоря, гормоны способны к передвижению по растению и их влияние носит дистанционный характер. Большинство физиологических процессов, в первую очередь рост, формообразование и развитие растений, регулируется гормонами. Гормоны играют ведущую роль в адаптации растений к условиям среды. Известны следующие *пять групп фитогормонов*: ауксины, гиббереллины,

цитокинины, абсцизовая кислота, газ этилен. В последнее время к ним относят брассины (брассиностероиды).

*Бактерии-активаторы оказывают положительное действие на растения только на нормально удобренном почвенном фоне.* Они не создают для растения питательных веществ, действуют гормонально, активизируя рост растения. Этим они резко отличаются от азотоуловителей. Впрочем, *некоторые азотфиксаторы* (азотобактер, клубеньковые бактерии) могут *действовать на растения и как активаторы.* Клубеньковые бактерии, например, при определенных условиях могут положительно действовать на небобовые растения (пшеницу, овес, кукурузу и др.) не как фиксаторы азота, а как активаторы, веществами роста, выделяемыми в процессе жизнедеятельности в ризосфере. При выращивании клубеньковых бактерий с бактериями активаторами наблюдается усиление их активности и вирулентности. В табл. 4 даны результаты опытов со смешанными культурами клубеньковых бактерий клевера, которые показывают, что время образования клубеньков сокращается, а число клубеньков на одном растении увеличивается.

Таблица 4 – Влияние смешанных культур на активность клубеньковых бактерий

Вариант опыта	Время образования (сутки)	Число клубеньков на одно растение	Вес сухой массы 10 растений (грамм)	Урожай (%)
Контроль (без бактеризации)	16	3	5,3	100
Клубеньковые бактерии	12	6	6,1	115
Клубеньковые бактерии + бактерии-активаторы	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>6,7</b>	<b>126</b>

Приведенные цифры дают основание рекомендовать бактерии-активаторы для применения их в практике бактериальных удобрений.

***Бактерии-антагонисты.*** В почве обитают бактерии, которые подавляют и уничтожают некоторые грибы и другие виды бактерий. Такие бактерии называются *антагонистами.* Они имеют большое значение в природе, в почвенных процессах и, особенно в борьбе с болезнетворными микробами. *Использование бактериальных антагонистов* основано главным образом *на механизме антибиоза,* регулирующем взаимоотношения полезных и вредных (с точки зрения производителя сельскохозяйственной продукции) микроорганизмов. Антибиоз играет наиболее важную роль в зоне ризосферы. Использование регуляторных механизмов направлено не на полное уничтожение популяции фитопатогена, а на существенное ограничение ее развития и снижение вредоносности. Источником получения штаммов бактерий-антагонистов служат супрессивные почвы, в которых фитопатогены либо угнетены, либо элиминированы. Исследования причин супрессивности почвы показали, что в ней создается благоприятная среда для развития антагонистической микрофлоры, которая, в свою очередь, подавляет развитие фитопатогенных организмов.

Высокая антагонистическая активность по отношению к патогенам выявлена у более десятка различных родов бактерий. Среди бактерий наиболее часто явление антагонизма встречается у спороносных палочек, принадлежащих к роду *Bacillus*, и неспоровых из рода *Pseudomonas*.

Бактерии рода *Bacillus* являются перспективными агентами защиты растений от болезней, вызываемых фитопатогенными грибами, благодаря своей высокой приспособляемости и выживаемости в неблагоприятных условиях. Род *Bacillus* объединяет большое количество видов бактериальных организмов палочковидной формы, которые в аэробных условиях образуют одну рефрактивную эндоспору. Образование эндоспор после фазы интенсивного вегетативного роста и размножения как бы завершает жизненный цикл клетки, переходящий в покоящуюся форму, способную прорасти в благоприятных для развития бактерий условиях. Биологическое значение образование спор, по-видимому, заключается в способности переживать неблагоприятные экстремальные условия, что создает определенные преимущества данным микроорганизмам.

Результаты опытов подтверждают, что *Bacillus subtilis* и ее метаболиты могут быть использованы для создания экологически безвредного биопрепарата для семян пшеницы.

Среди ризосферных бактерий особое место занимают бактерии рода *Pseudomonas*, проявляющих высокую антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным микроорганизмам, а также способность к стимуляции роста сельскохозяйственных культур. Так, исследования, проведенные в 2007 году, показали, что обработка семян бактериями *Pseudomonas sp.* В-6798 и смесью с другими ризобактериями снижает общую пораженность возбудителями семенных инфекций на 12–36 % за счет значимого уменьшения количества семян пораженных гельминтоспориозно-фузариозными возбудителями корневых гнилей.

Из окрашенных веществ, синтезируемых бактериями рода *Pseudomonas*, были выделены химические вещества, обладающие антибиотическими свойствами – пиоцианин, хлорорафин, оксихлорорафин, феназин-1-карбоновая кислота и эругинозин. Все перечисленные пигменты обладают антибиотической активностью против фитопатогенных грибов. Кроме антибиотиков, бактерии рода *Pseudomonas* синтезируют витамины.

В настоящее время имеются сведения об антагонистической активности бактерий рода *Mycobacterium*. Было обнаружено, что бактерии рода *Mycobacterium* обладают антагонистической активностью в отношении фитопатогенного гриба *Fusarium solani*, выделенного из стебля огурца. Учитывая высокую антагонистическую активность различных видов микобактерий, при более тщательном изучении возможно обнаружение среди них высокоактивных в отношении фитопатогенов штаммов, синтезирующих антибиотики. Кроме того, микобактерии прекрасно развиваются в почве с минимальной влажностью, при температуре, которая задерживает рост фитопатогенных грибов.

**Бактерии-ингибиторы.** Биологическая роль микроорганизмов весьма многогранна и разнообразна. Один и тот же вид в зависимости от ситуации может обусловить развитие инфекции у растительных организмов, участвовать в процессах круговорота веществ, улучшать плодородие

почвы или ингибировать развитие и рост растительных организмов, вызывать инфекционные заболевания и т.д. Бактерии, поражающие и подавляющие растения, называют *ингибиторами*. Наиболее активными микробами-ингибиторами являются бактерии, грибы, актиномицеты. По видовому составу микробы-ингибиторы очень многообразны. Среди бактерий-ингибиторов есть виды, образующие и не образующие споры. При этом среди аспорогенных бактерий ингибиторов меньше, чем среди спорообразующих. Из спорообразующих бактерий-ингибиторов прежде всего выделяют *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. cereus*, *Bac. brevis*. Среди аспорогенных бактерий-ингибиторов наиболее часто обнаруживаются *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Proteus sp.* Из грибов и актиномицетов как ингибиторы нередко встречаются *Act. globisporus*, *Penicillium notatum*, *Aspergillus niger*, *Asp. fumigatus*. Активными ингибиторами растений являются представители родов *Alternaria*, *Microsporium*. Например, к бактериям-ингибиторам ризосфер сахарной свеклы относится *Mycobacterium globiforme*.

Выше уже говорилось об известных пяти группах фитогормонов. Если первые три группы условно можно отнести к веществам стимулирующего характера, то две остальные (абсцизовую кислоту и этилен) относят к ингибиторам.

Деятельность микробов очень обширна и разнообразна, и порой не всегда доступна к пониманию. *Каждый вид микробов* в зависимости от конкретной ситуации и от взаимосвязей *может биологически проявить себя по-разному, и нередко в диаметрально противоположных ролях*. Чтобы понять обширную и разнообразную роль микроорганизмов, в первую очередь необходимо освоить основы микробиологии, разобраться в их физиологии, понять их эволюционные и экологические требования.

### 2.3. Виды и биотехнология бактериальных удобрений

Изучение положительной роли микробов-симбионтов, таких как микоризные грибы, свободноживущие азотфиксаторы (азотобактер, клубеньковые бактерии), клостридии и др., позволило разработать и создать препараты для удобрения почвы, в состав которых входят бактерии и грибы, т.е. бактериальные удобрения. Бактериальные удобрения повышают плодородные свойства почвы и переводят азот в доступную для растений форму.

*Задачей производства бактериальных удобрений* является максимальное накопление жизнеспособных клеток, сохранение их жизнеспособности на всех стадиях технологического процесса, приготовление на их основе готовых форм препарата с сохранением активности в течение гарантийного срока хранения.

*К наиболее известным бактериальным удобрениям относятся:* ризоторфин, нитрагин, азотобактерин, фосфобактерин.

**Ризоторфин** – наиболее эффективное бактериальное удобрение. Это чистая культура клубеньковых бактерий, поддерживаемых в активном состоянии на специально подготовленном торфяном материале-носителе. Это удобрение усиливает образование клубеньков, улучшает азотное питание бобовых растений, повышает устойчивость их к заболеваниям, оказывает положительное влияние на плодородие и структуру почвы. Применение ризоторфина, как инокулята для предпосевной обработки семян, высокоэффективно для всех бобовых культур, особенно для сои, люпина, люцерны, нута, гороха, козлятника, клевера, донника, вики, фасоли и др.

Ризоторфин – первый биопрепарат в Украине на основе стерильного пылевидного порошка торфа, благодаря чему высокоэффективные штаммы клубеньковых бактерий в нём могут сохраняться длительное время. В настоящее время инокулянт производится как на основе стерильного торфа, так и в жидком виде. Основу ризоторфина составляют клубеньковые бактерии, которые способны вступать в симбиоз с бобовым растением. В результате на корнях образуются клубеньки, обладающие способностью к фиксации молекулярного азота из воздуха и перевод его в доступную для

растений форму. Благодаря этому уникальному процессу растения получают из воздуха необходимое количество азота для своего роста и развития, процесс «пролонгирован» на протяжении всего периода вегетации.

**Получение ризоторфина.** Препарат клубеньковых бактерий производится на основе активных жизнеспособных клубеньковых бактерий из рода *Rhizobium*. Эти бактерии в симбиозе с бобовыми культурами способны фиксировать свободный азот атмосферы, превращая его в соединения, легкоусвояемые растением. Впервые торфяной препарат клубеньковых бактерий был приготовлен в 30-х годах, но технология была создана в 1973–1977 гг. Для приготовления ризоторфина торф сушат при температуре не выше 100 °С и размалывают в порошок. Наиболее эффективным способом стерилизации является облучение его гамма-лучами. Перед стерилизацией размолотый, нейтрализованный мелом и увлажненный до 30–40 % торф расфасовывают в полиэтиленовые пакеты. Затем его облучают и заражают клубеньковыми бактериями, используя шприц, с помощью которого впрыскивается питательная среда, содержащая клубеньковые бактерии. Прокол после внесения бактерий заклеивается липкой лентой. Каждый грамм ризоторфина должен содержать не менее 2,5 млрд. жизнеспособных клеток с высокой конкурентоспособностью и интенсивной азотфиксацией. Препарат хранят при температуре 5–6 °С и влажности воздуха 40–55 %. Пакеты могут быть весом от 0,2 до 1,0 кг. Доза препарата составляет 200 г на 1 га. Заражение семян производят следующим образом: ризоторфин разбавляют водой и процеживают через двойной слой марли. Полученной суспензией обрабатывают семена. Семена высевают в день обработки или на следующий.

**Нитрагин** – это удобрение для бобовых растений. Его готовят из активных, специфических для каждого вида растений этого семейства, жизнеспособных клубеньковых бактерий из рода *Rhizobium*, размножаемых на стерилизованном и богатом органическим веществом субстрате. Бактерии, проникая в корневые волоски, образуют на корнях бобовых культур клубеньки. Усиленно размножаясь в ткани клубенька, они связывают атмосферный азот, значительная часть которого усваивается растением.

Нитрагин наиболее эффективен при сочетании препарата с органическими и минеральными удобрениями.

**Получение нитрагина.** Впервые препарат был получен в 1896 году в Германии. Существует *два вида нитрагина*: почвенный и сухой. На почвенном субстрате культура клубеньковых бактерий впервые была приготовлена еще в 1911 году в Москве на бактериально-агрономической станции. В настоящее время производство почвенного нитрагина имеет ограниченное значение, так как технология довольно сложна и трудоёмка при выполнении отдельных операций. Более перспективна технология производства сухого нитрагина.

*Сухой нитрагин* – порошок светло-серого цвета, содержащий в 1 г не менее 9 млрд. жизнеспособных бактерий в смеси с наполнителем. Влажность не превышает 5–7 %. Промышленное производство имеет типичную схему. Необходимо отметить, что важно подбирать штаммы, устойчивые к высушиванию. Для производства посевного материала исходную культуру клубеньковых бактерий выращивают на агаризованной среде содержащей: отвар бобовых семян, 2 % агара и 1 % сахарозы. Затем культуру размножают в колбах на жидкой питательной среде в течение 1–2 суток при 28–30 °С и рН = 6,5–7,5. На всех этапах промышленного культивирования применяют питательную среду, включающую такие компоненты, как меласса, кукурузный экстракт, минеральные соли в виде сульфатов аммония и магния, мел, хлорид натрия и двузамещенный фосфат калия. Основная ферментация идет при тех же условиях в течение 2–3 суток. Готовую культуральную жидкость сепарируют, получается биомасса в виде пасты с влажностью 70–80 %. Пасту смешивают с защитной средой, содержащей тиомочевину и мелассу (1 : 20) и направляют на высушивание. Сушат путем сублимации (в вакуум-сушильных шкафах). Высушенную биомассу размалывают. Высушивание в распылительных сушках более производительнее, но при этом 75 % клеток теряют жизнеспособность. Препараты сухого нитрагина фасуют и герметизируют в полиэтиленовые пакеты по 0,2–1 кг, хранят при температуре 15 °С не более 6 месяцев. Семена опудривают перед посевом. Внесение нитрагина повышает урожайность в

среднем на 15–25 %. Этот препарат перед внесением в почву следует растворить в воде. В полученном растворе смачивают семена.

**Азотобактерин** (азотоген) – бактериальное удобрение, содержащее свободноживущий почвенный микроорганизм *Azotobacter chroococcum*, способный фиксировать до 20 мг атмосферного азота на 1 г использованного сахара. Внесенные в качестве удобрения в почву бактерии также выделяют биологически активные вещества (никотиновую и пантотеновую кислоты, пиридоксин, биотин, гетероауксин, гиббереллин и др.). Эти вещества стимулируют рост растений. Кроме того, продуцируемые *Azotobacter* фунгицидные вещества из группы анисомицина угнетают развитие некоторых нежелательных микроскопических грибов в ризосфере растения. Вносить этот препарат следует *только во влажную почву*. В большинстве случаев на дерново-подзолистых почвах и черноземах азотобактерин повышает урожай растений на 6–10 %.

**Производство азотобактерина.** Микробиологическая промышленность выпускает несколько видов азотобактерина: сухой и почвенный (торфяной).

*Сухой азотобактерин* – активная культура высушенных клеток азотобактера с наполнителем. Технология получения сухого азотобактерина имеет много общего с технологией производства сухого нитрагина. В 1 г препарата содержится не менее 0,5 млрд. жизнеспособных клеток. Культуру микроорганизма выращивают методом глубинного культивирования на среде, содержащей те же компоненты, что и при культивировании клеток *Rhizobium*. Дополнительно вводят только сульфаты железа и марганца, а также сложную соль молибденовой кислоты, рН = 5,7–6,5.

Процесс ферментации проводят до стационарной фазы развития культуры, так как в этой фазе биологически активные вещества выделяются из клетки и остаются в культуральной жидкости. Биологически активные вещества могут также полностью или частично теряться при высушивании, однако жизнеспособные клетки быстро восстанавливают способность их продуцировать. Высушенную культуру стандартизируют, фасуют в полиэтиленовые пакеты по 0,4–2 кг и хранят при температуре 15 °С не более 3-х месяцев.

*Почвенный (торфяной) азотобактерин* представляют собой активную культуру азотобактера, размноженную на твердой питательной среде, и содержат в 1 г не менее 50 млн. жизнеспособных клеток азотобактера. Для их приготовления берут плодородную почву или разлагающийся торф с нейтральной реакцией среды. К просеянному субстрату добавляют 2 % извести и 0,1 % суперфосфата. По 500 г полученной смеси переносят в бутылки емкостью по 0,5 л, увлажняют на 40–60 % по объему водой, закрывают ватными пробками и стерилизуют. Посевной материал готовят на агаровых средах, содержащих 2 % сахарозы и минеральные соли. Когда агар полностью покрывается слизистой массой коричневого цвета, полученный материал стерильно смывается дистиллированной водой и переносится на приготовленный субстрат. Содержимое бутылок тщательно перемешивают и термостатируют при 25–27 °С. Культивирование продолжают до тех пор, пока бактерии не размножатся до необходимого количества. Полученный препарат сохраняет свою активность в течение 2–3 месяцев.

Использовать азотобактерин рекомендуется только на почвах, содержащих фосфор и микроэлементы. Азотобактерин применяют для бактериализации семян, рассады, компостов. При этом урожайность увеличивается на 10–15 %. Семена зерновых опудривают сухим азотобактерином из расчета 100 млрд. клеток на 1 гектарную порцию семян. Картофель и корневую систему рассады равномерно смачивают водной суспензией бактерий. Для получения суспензии 1 гектарную норму (300 млрд. клеток) разводят в 15 литрах воды. При обработке почвенным азотобактерином семена перемешивают с увлажненным препаратом и для равномерного высева подсушивают. Корневую систему рассады смачивают приготовленной суспензией.

**Фосфобактерин** – бактериальное удобрение, содержащее споры микроорганизма *Bacillus megaterium var. phosphaticum*. Представляет собой порошок белого, светло-серого или желтоватого цвета, в котором содержатся в большом количестве (8,5–16 млрд. в 1 г) споры микроорганизмов, обладающих повышенной способностью переводить фосфорорганические соединения (нуклеиновые кислоты, нуклеопротеиды и т.д.) и трудноусвояемые минеральные фосфаты в доступную для растений форму. Кроме этого бактерии вырабатывают биологически активные вещества (тиамин, пи-

ридоксин, биотин, пантотеновую и никотиновую кислоты и др.), стимулирующие рост растения. Фосфобактерин эффективен на фоне органических и минеральных удобрений, относится к числу препаратов со стимулирующим эффектом.

**Получение фосфобактерина.** В целом производство фосфобактерина похоже на производство азотобактерина и препаратов клубеньковых бактерий. *Состав питательной среды* следующий: кукурузный экстракт – 1,8 %; меласса – 1,5 %; сульфат аммония – 0,1 %; мел – 1 ; остальное – вода. Культивирование ведется глубинным методом в строго асептических условиях при постоянном перемешивании и принудительной аэрации до стадии образования спор. *Основные параметры проведения процесса:* температура 28–30 °С, рН = 6,5–7,5; длительность культивирования 1,5–2 суток.

Полученную в ходе культивирования биомассу клеток отделяют центрифугированием и высушивают в распылительной сушилке при температуре 65–75 °С до остаточной влажности 2–3 %. Высушенные споры смешивают с наполнителем. Готовый препарат должен содержать не менее 8 млрд. клеток в 1 г. Расфасовывают препарат в полиэтиленовые пакеты по 50–500 г. В отличие от нитрагина и азотобактерина фосфобактерин обладает большей устойчивостью при хранении.

Фосфобактерин рекомендуют применять на черноземных почвах, которые содержат наиболее значительное количество фосфорорганических соединений. Это удобрение необходимо для повышения урожайности зерновых, картофеля, сахарной свеклы и др. сельскохозяйственных растений. Семена обрабатывают смесью сухого фосфобактерина с наполнителем (золой, почвой и др.) в соотношении 1 : 40. На 1 гектарную порцию требуется 5 г препарата и 200 г наполнителя. Клубни картофеля равномерно увлажняют суспензией спор, приготовленной из расчета 15 г препарата на 15 л воды. Урожай при этом повышается на 10 %.

Обычно все бактериальные удобрения вносят в почву вместе с семенами или посадочным материалом, руководствуясь при этом специальной инструкцией. Они не выдерживают длительного хранения, поэтому готовят их в количестве, необходимом лишь для одного сезона. Нельзя хранить бактериальные удобрения рядом с летучими ядохимикатами.

### **Контрольные вопросы**

1. Перечислите и кратко охарактеризуйте основные виды удобрений.
2. Что такое ризосфера?
3. Какие зоны различают в ризосфере?
4. Что влияет на ризосферную микрофлору?
5. Что собой представляет микориза, и какие ее типы различают?
6. Какие существуют основные способы изменения микрофлоры в почве?
7. Дайте определения штамма микроорганизмов и приживаемости бактерий.
8. Перечислите основные микроорганизмы, влияющие на рост растений.
9. Дайте основную характеристику азотобактеру.
10. Какие существуют разновидности клубеньковых бактерий?
11. Дайте основную характеристику клубеньковым бактериям.
12. Дайте определения и кратко охарактеризуйте бактерии-активаторы, бактерии-антагонисты и бактерии-ингибиторы.
13. Перечислите наиболее известные бактериальные удобрения.
14. Дайте краткую характеристику ризотрофина.
15. Перечислите основные этапы получения ризотрофина.
16. Дайте краткую характеристику нитрагина.
17. Охарактеризуйте основные этапы получения нитрагина.
18. Дайте краткую характеристику азотобактерина.
19. Охарактеризуйте основные этапы получения азотобактерина.
20. Дайте краткую характеристику фосфобактерина.
21. Перечислите основные этапы получения фосфобактерина.

## **ГЛАВА 3. ПРИМЕНЕНИЕ БИОУДОБРЕНИЙ ДЛЯ ФИКСАЦИИ АЗОТА С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ СЕЛЬХОЗКУЛЬТУР**

Установление благоприятного сочетания биологического азота и азота биоудобрений в питании сельскохозяйственных культур позволяет сбалансировать круговорот питательных веществ в земледелии, не вызывая нарушения равновесия в окружающей среде, в частности в биогеоценозах. Микробиологическая фиксация атмосферного азота – это экологически чистый путь снабжения растений связанным азотом, требующий относительно небольших энергетических затрат на активизацию азотфиксаторов в почве. Вследствие этого изучение биологической фиксации атмосферного азота имеет не только теоретический, но и громадный практический интерес.

Хотя процессы биологической фиксации азота в природе протекают и без постороннего вмешательства человека, но наука дала в его руки методы рационального управления этими процессами. Разработаны и научно обоснованы способы обработки почвы и создана мощная сельскохозяйственная техника, позволяющая осуществлять эту обработку на практике.

Проблема максимального использования биологического азота связана с химизацией сельского хозяйства. *Научно обоснованное использование возрастающих количеств удобрений – главная задача агрохимической науки.* В решении этого вопроса важное место занимает изучение баланса питательных веществ. Многие стороны этой проблемы, и, прежде всего масштабы накопления биологического азота и степень его использования, требуют детального исследования.

### **3.1. Характеристика почв**

**Почва** – самостоятельное естественноисторическое органоминеральное природное тело, возникшее на поверхности Земли в результате длительного воздействия биотических, абиотических и антропогенных факторов, состоящее из твёрдых минеральных и органических частиц, воды и

воздуха и имеющее специфические генетико-морфологические признаки, свойства, создающие для роста и развития растений соответствующие условия. Почву рассматривают как особую природную мембрану (биогеомембрану), регулирующую взаимодействие между биосферой, гидросферой и атмосферой Земли. Почвы являются функцией от климата, рельефа, исходной почвообразующей породы, микроорганизмов, растений и животных (то есть биоты в целом), человеческой деятельности и изменяются со временем.

### **3.1.1. Территориальная классификация почв**

Территориальная классификация почв позволяет выделить почвенно-географические регионы, каждый из которых характеризуется однородностью грунта и процесса почвообразования, методикой окультуривания и хозяйственного применения. Основой подобного районирования является понятие о структуре почвенного покрова. Принятая таксономическая система призвана определять разные ее уровни: как самые крупные (почвенно-биоклиматические пояса), так и более мелкие (почвенные районы). Таким образом, система почвенно-географического районирования складывается из следующих ступеней:

#### *1. Для равнин:*

- почвенно-биоклиматический пояс;
- почвенно-биоклиматическая область;
- почвенная зона;
- почвенная провинция;
- почвенный округ;
- почвенный район.

#### *2. Для горных областей:*

- почвенно-биоклиматический пояс;
- почвенно-биоклиматическая область;
- горная почвенная провинция;
- вертикальная почвенная зона;
- горный почвенный округ;
- горный почвенный район.

*Почвенно-биоклиматический пояс* – это почвенные зоны и горные почвенные провинции, которые сходны по температурному и радиационному режиму и особенностям его влияния на процесс почвообразования, развитие растительного мира и выветривание.

*Почвенно-биоклиматическая область* – это совокупность вертикальных почвенных структур и почвенных зон, сгруппированных на основании единообразия температурных, радиационных и влажностных условий, а также характера континентальности, почвообразовательного процесса, развития растительного мира и выветривания.

Таким образом, доминирующим признаком разделения почвенно-биоклиматических поясов и почвенно-биоклиматических областей являются режимы влажности и континентальности, наиболее значимые для последней структуры.

*Почвенной зоной* считается территория, на которой распространены почвы определенного зонального вида и дополняющие их интразональные типы грунтов.

*Почвенной провинцией* называется сегмент почвенной зоны, для которого характерны специфические особенности грунта и процесса почвообразования. Последние, в свою очередь, обусловлены термальным режимом или разницей в условиях континентальности и влажности.

*Горной почвенной провинцией* считается ареал, на котором распространено несколько вертикальных почвенных зон.

Почвенную провинцию составляют *почвенные округа*, выделяемые на основании сходных особенностей рельефа и пород, из которых формируется грунт.

*Почвенный район* – это составляющая почвенного округа, для которой свойственна однородная структура грунта.

Важным критерием оценки плодородности почвы является гумус.

*Гумус* – это основное органическое вещество почвы, содержащее питательные вещества, необходимые высшим растениям. Гумус составляет 85–90 % органического вещества почвы.

Согласно приведенной выше классификации выделяют *почвы следующих типов*: болотистые, бурые лесные, бурые полупустынные, горные, солонцовые, каштановые, луговые, подзолистые, сероземы, слитые, тундровые и черноземы.

**Болотистые почвы.** Болотистыми называются почвы, образование которых проходит при длительном или непрерывно избыточном уровне влажности и заболачивании горизонта, располагающегося под влаголюбивыми растениями (ситник, осока, тростник, рогоз). Их ареал обычно соответствует лесной зоне умеренных поясов. При условии проведения необходимых мероприятий по осушению на таких грунтах можно культивировать садовые и огородные растительные виды, а также вести добычу торфа. Такие почвы встречаются на территории Украины, России, Беларуси, Канады, Индонезии, Аргентины, США и Бразилии. Их распространение ограничено зоной сероземов.

Для болотистых почв наиболее характерен процесс торфообразования, то есть сохранения и накопления остатков растений. При формировании каждого последующего слоя уровень биологической активности нижележащих становится более низким, что выражается в уменьшении числа населяющих их микроорганизмов. В результате грунт утрачивает плодородие и становится торфогенной породой.

Профиль болотистых почв складывается из двух горизонтов – органического и глеевого. Глубина первого обычно достигает 50 см. Он может иметь коричневую, темно-коричневую или сизовато-серую окраску. В нем хорошо видны переплетенные корни растений и продукты их полураспада. Глеевый горизонт характеризуется повышенным уровнем влажности. Он имеет белесовато-сизый или сизый цвет.

Уровень плодородия болотистых почв обусловлен особенностями структуры верхнего (органического) горизонта. Содержание гумусовых веществ в нем может варьироваться от 2 до 20 %. В большинстве случаев территории с грунтами подобного типа применяются как сенокосные угодья.

Условно болотистые почвы можно разделить следующим образом:

❖ *торфяно-болотистые* (торфяно-верховые) почвы. Процесс образования этих почв протекает в условиях чрезмерного увлажнения. Тради-

ционными для них являются такие виды растений, как мох сфагнум, голубика, сосна, багульник, ель, шейхцерия, морошка, пушица, кассандра, клюква. Эти почвы отличаются повышенной кислотностью. Уровень pH нередко составляет от 2,5 до 3,6. Кроме того, для них характерны высокая влагоемкость (от 700 до 2000 %) и низкая зольность (от 2,4 до 6,5 %);

❖ *иловато-болотистые* почвы. Эти почвы обладают ограниченным ареалом распространения. Их можно встретить, например, на низинных участках. Они формируются под воздействием периодически чередующихся процессов чрезмерного увлажнения и высыхания. Уровень грунтовых вод в них обычно достигает 70 см. Типичными для иловато-болотистых грунтов являются береза, сосна, рогоз, ситник и тростник.

**Бурые лесные почвы.** Бурые лесные почвы располагаются в горных районах Крыма и Карпат, а также на равнинных территориях Закарпатской низменности и Предкарпатья. Они сформированы под широколиственными, смешанными и лиственными лесами на щебенистых и плотных породах. Отличаются небольшой толщиной (до 30 см) и содержанием гумуса до 3–4 %. Так же ареалом распространения этих почв являются территории Китая, Кореи и США.

Бурые лесные грунты Закарпатья образуются на пестроцветных и красноцветных щебнисто-суглинистых, пролювиальных, аллювиальных и аллювиально-делювиальных породах равнин, располагающихся в предгорьях под лиственными, буково-грабовыми, дубово-ясеневыми, буково-дубовыми и дубовыми лесами. На них часто произрастают смешанные, еловые, кедровые, пихтовые, кленовые и дубовые леса.

Специфические процессы почвообразования, характерные для бурых лесных грунтов, обусловлены особыми условиями температуры и влажности. Наиболее активным из них является оглинение почвенного профиля, что выражается в формировании и накоплении вторичных глиноминералов. Образование вторичных глиноминералов происходит на основе первичных в результате химических и биохимических реакций и синтеза продуктов минерализации структур, появляющихся после распада растений.

Основные характеристики и состав бурых лесных почв значительно изменяются от одного горизонта к другому. В целом это грунты, насыщенные гумусом, содержание которого достигает 16 %. Значительную часть

его составляющих занимают фульвокислоты. Грунты представленного типа являются кислыми или слабокислыми.

В сельском хозяйстве бурые лесные почвы традиционно используют для выращивания овощных, зерновых, плодовых и технических культур.

Существует несколько подтипов бурых лесных почв:

❖ *кислые грубогумусные почвы*. Такие почвы распространены преимущественно на территории Карпат и Кавказа. Они формируются под хвойными лесами на элювиально-делювиальных и элювиальных породах с щебнисто-суглинистой структурой. Почвы представленного подтипа характеризуются достаточно высоким (15–30 %) содержанием гумуса в верхних слоях. Они сильнокислые в верхних горизонтах и кислые по оставшемуся профилю. Такие грунты обычно заняты лесными массивами;

❖ *кислые грубогумусные оподзоленные почвы*. Ареалом распространения этих почв являются лесные области Кавказа и Карпат. Они лежат на склонах гор, поверх делювиально-пролювиальных шлейфов под хвойными лесами. Это кислые в общем профиле и сильно кислые в верхних горизонтах почвы с достаточно высоким содержанием гумуса в поверхностных слоях;

❖ *кислые почвы*. Такие почвы характерны для западных районов Закавказья и низкогорных областей Карпат. Они формируются на делювиальных и элювиальных основаниях под лиственными, буково-грабовыми, букowymi, буково-дубовыми и дубовыми лесами. Для таких почв характерна повышенная кислотность в верхних слоях и умеренная в общем профиле. Содержание гумуса в поверхностных слоях может достигать 8 %. В составе этих почв присутствует значительное количество калия и наблюдается некоторый недостаток фосфора и азота. Данный подтип почв используется главным образом для культивирования винограда, чая, цитрусовых, эфиромасличных и технических растительных видов. Однако для получения хорошего урожая грунт требуется регулярно улучшать, используя фосфорные, азотные и бактериальные удобрения;

❖ *кислые оподзоленные почвы*. Почвы этого подтипа распространены в Карпатах и западных областях Закавказья. Они развиваются на слабощебнистом основании под лиственными лесами. В гумусовых слоях данного подтипа почв содержится от 2 до 7 % гумуса, значительную часть

которого составляют фульвокислоты. Это кислые или сильнокислые грунты, характеризующиеся низким уровнем поглотительной способности. Они богаты соединениями калия, но уровень концентрации фосфора и азота довольно низкий. Почвы данного подтипа, как правило, используются под цитрусовые, садовые, эфиромасличные и садовые культуры, а также для возделывания винограда и чая;

❖ *слабоненасыщенные почвы*. Эти почвы встречаются в горных областях Крыма, в восточных районах Закавказья и на межгорных участках северного склона Кавказского хребта. Основанием для них служат слабовыветренные тяжелосуглинистые элювиальные сланцы, магматические породы и третичные сланцевые глины. Такие грунты образуются под травянистыми лиственными, дубово-грабовыми и дубовыми лесами. Почвы этого подтипа распространены не только на западе, но и на востоке Евразийского континента: в Приамурье, Амурской области и Биробиджане. В гумусовых слоях этого подтипа почв содержится до 12 % гумусовых компонентов. Количество составляющих его фульвокислот превышает объем гуминовых в верхних горизонтах, а в нижних слоях профиля наблюдается обратная ситуация. По показателям уровня кислотности такие грунты определяются как слабокислые. Эти почвы относятся к группе потенциально плодородных. Однако они редко используются в сельском хозяйстве вследствие их неудобного расположения на довольно крутых склонах. Грунты данного подтипа заняты главным образом лесными массивами;

❖ *слабоненасыщенные оподзоленные почвы*. Почвы данного подтипа распространены на Дальнем Востоке, Кавказе и в Крыму. Слабоненасыщенные оподзоленные грунты Дальнего Востока выстилают крутые склоны сопки Приморской и Приамурской областей. Они формируются на сравнительно тонком элювиоделювиальном песчаном основании или же на элювиально-делювиальных магматических и осадочных породах под травянистыми смешанными (дубово-сосновыми) либо дубовыми лесами. Содержание гумусовых компонентов в соответствующих слоях таких грунтов достигает 15 %. В оподзоленных горизонтах этот показатель снижается до 1,5 %. Подобные почвы относятся к категории кислых и слабокислых. На Кавказе и в Крыму этот подтип почв образуется на делювиальных и элювиально-делювиальных суглинистых основаниях под лиственными лесами. В гумусовых горизонтах содержание гумуса составляет 2–8 %. Такие грун-

ты считаются кислыми (оподзоленные слои – сильнокислыми). Они используются для возделывания кукурузы, озимых злаков, чая, citrusовых и плодовых культур. Слабонасыщенные оподзоленные грунты содержат достаточное количество азота и калия, но бедны фосфором. Для повышения их качества рекомендуется регулярно вносить минеральные и органические удобрения.

**Бурые полупустынные почвы.** Бурые полупустынные почвы являются основными в пустынно-степной зоне. Они встречаются в Центральной и Средней Азии, США, Канаде, Аргентине и Казахстане.

Среди характерных особенностей этих почв следует назвать гумусовый горизонт, имеющий сравнительно небольшую толщину и невысокий уровень гумусированности. Подобные качества почвы данного типа определяются специфическими условиями, в которых протекает почвообразовательный процесс: засушливый климат, ограниченность растительных видов и их низкая биологическая продуктивность, вызванным неблагоприятным влажностным и температурным режимами. Стремительное разложение растительного опада и быстрота его минерализации становятся причиной скопления такого компонента органического происхождения, как зольные составляющие (в основном это щелочные металлы). В результате таких процессов почвы становятся солонцеватыми.

Уровень плодородия бурых полупустынных почв можно повысить при условии обязательного проведения оросительных мероприятий. Кроме того, потребуются меры, которые способствуют предотвращению осолонцовывания, вторичного засоления и ветровой эрозии грунта. В случае освоения почв данного типа необходимо регулярно вносить фосфорные и азотные удобрения. При условии окультуривания на бурых полупустынных почвах можно выращивать плодовые, овощные и бахчевые культур. Помимо этого, участки с таким грунтом можно использовать в качестве пастбищ.

В настоящее время выделяются следующие подтипы бурых полупустынных почв:

- ❖ *прикаспийские почвы;*
- ❖ *казахстанские почвы;*
- ❖ *центральноазиатские (тувинские) безгипсовые почвы.*

**Горные почвы.** Такие почвы, как следует из их названия, распространены в горных районах. Они формируются в различных климатических и рельефных условиях на разных материнских породах. Характерными свойствами такого грунта являются постоянное разрушение и перенос образующих его компонентов. Результатом данных процессов являются повышенная щебнистость, малая мощность горных почв и высокие показатели содержания в них первичных минералов. Отличительная особенность такого грунта – интенсивное движение почвенной влаги. Оно способствует выносу значительного количества продуктов, образующихся вследствие протекания почвообразовательных процессов, и препятствует формированию иллювиальных слоев. Однако, с другой стороны, это обуславливает образование мощных иллювиальных горизонтов на нижних уровнях склонов, где происходит накопление гипса, оксидов железа, легкорастворимых солей и карбонатов.

Большинство горных грунтов формируются под горными лесами. В сельском хозяйстве горно-лугово-степные почвы целесообразно использовать под летние пастбища. Для повышения их плодородия требуется проведение мелиоративных и противоэрозийных мероприятий.

Основными подтипами горных почв являются:

❖ *горно-луговые почвы.* Этот подтип горных почв располагается в умеренных широтах на территориях с влажным высокогорным и холодным климатом. Особенностью таких почв является то, что у них отмечается развитие достаточно мощного (толщиной до 20 см) гумусового горизонта, содержание гумусовых компонентов в котором может достигать 30 %. Это сильнокислые суглинисто-глинистые грунты, в составе которых присутствует значительное количество щебня;

❖ *горно-лугово-степные почвы.* Такие почвы формируются в высокогорных областях в условиях влажного климата. Однако они, в отличие от горно-луговых грунтов, содержат меньшее количество гумуса в верхних горизонтах.

**Солонцовые почвы.** Солонцы и солончаки – это малоплодородные и неплодородные почвы соответственно. Первые встречаются фрагментарно в лесостепи и степи и имеют значительное содержание солей. Вторые содержат повышенное количество солей во всем слое и характерны для юж-

ных степей (на террасах рек Днепр, Южный Буг, Днестр, Дунай и на морских побережьях). Это – проблемные почвы, и нуждаются в промывке и гипсовании для выращивания культур.

Солонцовые почвы формируются на основании, представляющем собой материнскую породу, имеющую сложный гранулометрический состав. Типичными для них растениями считаются полынь и типчаково-ковыльные виды.

Среди подтипов солонцовых грунтов выделяются:

❖ *автоморфные черноземные почвы.* Этот подтип солонцовых грунтов лежит между участками черноземов на основании из засоленных пород, поверх редкой и угнетенной растительностью степной зоны. Грунтовые воды в глинистых и суглинистых солонцах располагаются на глубине 6–7 метров, что лишает их возможности принимать участие в процессе почвообразования. Содержание гумусовых веществ в верхних слоях достигает 7 %. Доминирующими в составе такого грунта являются гуминовые кислоты. В нижних горизонтах преобладают фульвокислоты. Эти грунты слабощелочные в верхних уровнях и щелочные в нижних уровнях. Для них характерен недостаток азота и фосфора. Распашка приводит к усилению выноса гумусовых компонентов, азота и фосфора. В сельском хозяйстве используются солонцы, содержание натрия в которых не превышает 15 %. Однако они требуют предварительного гипсования. Солонцовые почвы с более высокими показателями натриевых составляющих пригодны лишь в качестве пастбищ;

❖ *автоморфные каштановые почвы.* Эти почвы обычно лежат между участков с каштановыми грунтами. Они формируются на засоленных породных основаниях. Грунтовые воды можно обнаружить лишь на глубине не менее 7 метров, что вместе с невысоким уровнем естественного увлажнения обуславливает образование непромывного водного режима, характерного для такой земли. Солонцовые автоморфные каштановые почвы распространены главным образом в низинных частях склонов, речных долинах, на склонах и сопках Казахстана. Типичными для них являются такие растения, как кермек, полынь, типчак, камфоросма и прутняк. На поверхности также можно увидеть лишайники и водоросли. Этот подтип солонцовых грунтов не подходит для возделывания культур. Это воз-

можно лишь при условии проведения мелиоративных мероприятий, например гипсования в сочетании с орошением. Кроме того, такие грунты нуждаются во внесении органических (навоз) и минеральных (фосфорных и азотных) и бактериальных удобрений. В большинстве случаев солонцы подобного подтипа используются в качестве сенокосных угодий и пастбищ. Улучшение их качеств достигается путем специальной обработки: поверхностная вспашка, боронование, посев семян трав, своевременное внесение удобрений. Наиболее пригодными для выращивания на солонцовых каштановых почвах считаются такие культуры, как просо, пшеница, сахарная свекла, ячмень, кукуруза и бобовые;

❖ *полугидроморфные лугово-черноземные почвы.* Эти почвы встречаются в степной и полустепной зонах между участков с черноземами, а также на площадках с неглубоким залеганием грунтовых вод. Они способны образовывать отдельные массивные структуры, но в большинстве случаев составляют комплекс в сочетании с грунтами других типов. Их формирование происходит под угнетенной или редкой растительностью типчаково-полынного либо полынного вида. Иллювиальные уровни богаты илом и полуторными окислами. В целом почвы бедны соединениями фосфора. Использование данного подтипов солонцовых грунтов в сельском хозяйстве возможно только при условии проведения мелиоративных мероприятий. Гипсование рекомендуется выполнять одновременно со снегозадержанием и внесением бактериальных, органических и минеральных (фосфорнокислых и азотных) удобрений;

❖ *полугидроморфные лугово-каштановые почвы.* Эти почвы лежат среди участков с каштановыми почвами на приозерных и речных террасах и неосушенных равнинах под травянистой и полынно-типчаковой растительностью. Их образование происходит при дополнительном увлажнении поверхностными и грунтовыми водами. Последние залегают на глубине от 3 до 6 метров. Содержание гумусовых веществ в почвах данного подтипа составляет от 1 до 3,2 %. При этом иногда в нижних горизонтах это параметр больше, чем в поверхностном. Это нейтральные в верхних слоях и щелочные на нижних уровнях грунты, бедные азотом и фосфором. Солонцовые полугидроморфные лугово-каштановые почвы в первозданном виде невозможно использовать для возделывания растений. При увлажнении

грунт в солонцовом горизонте становится чрезмерно вязким, что приводит к повышению его водонепроницаемости. В результате почва плохо высыхает. Для того чтобы окультурить такую землю, необходимо проведение мелиоративных мероприятий, например гипсования с одновременным орошением и внесением минеральных и биоудобрений. Кроме того, потребуется специальная обработка: боронование, поверхностная вспашка и дополнительный посев семян травянистых растений.

**Каштановые почвы.** Каштановые почвы широко распространены на территории Украины, южных областей Молдавии, восточных районов Предкавказья, Казахстана, Нижнего и Среднего Поволжья, в Забайкалье, Минусинской и Тувинской котловинах, Северной Монголии, Китае, США, Аргентине и Турции.

Каштановые почвы сформировались под сухими степными участками с бедной растительностью при недостаточном увлажнении. Отличаются низким (до 3 %) содержанием гумуса, низкой влажностью, щелочной реакцией и сравнительно большой толщиной слоя (до 0,5 метра). Для успешного выращивания сельхозкультур нуждаются в дополнительном увлажнении и подкислении. Формирование каштановых грунтов протекает под настилом из низкорослой растительности.

Развитие каштановых почв происходит в засушливых условиях. Это приводит к возникновению разреженной растительности, которая способна дать незначительное количество опада, необходимого для осуществления процесса почвообразования. Низкий уровень влажности становится причиной вымывания легкорастворимых солей из верхних горизонтов и способствует сохранению и перемещению сульфатов кальция, карбонатов магния и кальция в глубинные слои. Процесс осолонцовывания таких грунтов обусловлен распадом растений, в составе которых содержится большое количество полоторных окислов, кремния, щелочных металлов и магния.

Характерной особенностью каштановых грунтов является невысокое (не более 5 %) содержание гумусовых веществ. Земля в верхних слоях слабощелочная или нейтральная, а в нижних – слабощелочная.

Каштановые почвы пригодны для возделывания таких культур, как кукуруза, подсолнечник, пшеница, просо и бахчевые. Типичными для каш-

тановых почв являются также тюльпаны, мятлики, ирисы, спирея и карагана. Кроме того, участки с грунтом такого типа можно использовать в качестве пастбищ. Для повышения уровня их плодородия рекомендуется регулярно вносить бактериальные, калийные, азотные и фосфорные удобрения, а также обеспечивать достаточное орошение и гипсование солонцовых зон с одновременным введением минеральных удобрений и посевом семян трав.

Тип каштановых почв представлен тремя подтипами:

❖ *темно-каштановые почвы.* Такие грунты лежат на равнинах северной подзоны степей. Они формируются под типчаковой и ковыльно-типчаковой растительностью, сочетающейся с разнотравьем. Содержание гумуса в темно-каштановых почвах зависит от разновидности. В суглинистых и глинистых видах оно составляет 3,5–5 %, в супесчаных и легких суглинках – не более 3 %. По уровню кислотности такие грунты нейтральные в верхних слоях, а в нижних – щелочные либо слабощелочные. Темно-каштановые почвы характеризуются достаточно высоким уровнем плодородия. Они широко используются для возделывания пшеницы, проса, кукурузы, подсолнечника, бахчевых и садовых культур. Повысить их урожайность можно путем обогащения почвы фосфорными, калийными и азотными удобрениями. Помимо этого, необходимы мероприятия по удержанию влаги;

❖ *собственно каштановые почвы.* Участки с такими почвами встречаются в южных областях засушливых степей. Они формируются под полынно-типчаково-ковыльной и типчаковой растительностью поверх основания из желто-бурых карбонатных или лессовидных суглинков. Содержание гумусовых веществ в верхних слоях суглинистых и глинистых каштановых почв составляет 2,4–4 %, а на супесчаных и легких суглинистых грунтах – не более 2,5 %. Фульвокислоты, входящие в их состав, преобладают над гуминовыми компонентами. Собственно каштановые грунты в нижних горизонтах щелочные, а в верхних они слабощелочные или нейтральные. Такую почву рекомендуется использовать в сельском хозяйстве в качестве сенокосных угодий, пастбищ и пашен. На ней можно с успехом выращивать кукурузу, подсолнечник, просо и пшеницу. Для

окультуривания в нее нужно регулярно вносить минеральные и биоудобрения, а также проводить мероприятия по влагозадержанию;

❖ *светло-каштановые почвы*. Ареалом распространения светло-каштановых почв считаются полупустынные и пустынно-степные области. В верхних слоях светло-каштановых грунтов содержится до 2,5 % гумуса. Эти почвы слабощелочные в верхних горизонтах и щелочные в нижних. Возделывать культуры на такой земле можно при условии регулярного проведения специальных оросительных мероприятий.

*Луговые почвы*. Луговые почвы широко распространены в речных дельтах и долинах, а также в низинах у предгорных зон. Они образуются под тугайными лесами и лугами с корневищными злаковыми растениями. Основанием для них служат дельтовые, галечниковые аллювиальные, слоистые мелкоземистые и пролювиальные структуры. Главным условием для формирования почвы подобного типа является непрекращающееся капиллярное увлажнение. Глубина залегания грунтовых вод обычно составляет 1–2,5 метра.

Для сельского хозяйства имеют значение те луговые почвы, качество которых поддерживается проведением оросительных мероприятий.

Тип луговых грунтов включает в себя следующие подтипы:

❖ *луговые типичные почвы*. Такие участки располагаются в основном в зоне сероземов в речных дельтах, долинах и низинах предгорий. Глубина залегания грунтовых вод составляет от 1,5 до 2,5 метра. Почвы представленного подтипа формируются под лугами на основании из слоистых аллювиальных, пролювиальных и дельтовых структур. В верхних слоях грунтов данного подтипа содержится до 4 % гумусовых веществ. Это щелочные грунты, которые рекомендуется использовать в сельском хозяйстве только при условии проведения необходимых оросительных мероприятий;

❖ *влажно-луговые почвы (болотисто-луговые)*. Такие почвы распространены на участках речных террас, в низинах дельт рек и подгорных равнин. Для их формирования требуется режим постоянной повышенной грунтовой капиллярной влажности. При этом грунтовые воды должны располагаться на уровне не ниже 1,5 метров. Содержание гумуса в верхних

горизонтах влажно-луговых почв может достигать 5 %. Этот подтип относится к щелочным грунтам.

*Подзолистые почвы*. Подзолистые почвы занимают значительную часть территории России. Кроме того, они довольно широко распространены в Канаде, субтропических и тропических районах Южной Америки, в северо-восточных областях США, а также в Африке и Азии.

Для формирования подзолистого грунта необходим высокий уровень влажности, при котором показатели содержания влаги будут преобладать над объемами ее испарения. Для подзолистых почв типичной является древесная, лесная, травянистая, болотная и луговая растительность.

Для микрофлоры подзолистых почв характерно присутствие адаптировавшихся к условиям повышенной кислотности организмов (актиномицеты, грибы). Способствуя процессу распада органических остатков, они обуславливают количество гумусовых веществ, скапливающихся в почвенных слоях. Содержащиеся в них кислоты при взаимодействии с минеральными компонентами способствуют формированию соединений калия, железа, кальция, алюминия и магния. При этом они снижают поглощательные свойства грунта, вследствие чего происходит вынос указанных соединений из верхних в нижележащие слои.

При почвообразовании в подзолистых грунтах наблюдается деструкция как первичных, так и вторичных минералов. Возникновение такого явления определяют в том числе и микроорганизмы, обладающие способностью разрушать алюмосиликаты.

Верхние слои подзолистых почв сравнительно бедны полуторными окислами и илистыми компонентами. В большинстве случаев они сосредоточены в иллювиальном горизонте. Это грунты с кислой реакцией. Содержание гумусовых веществ в них достаточно велико (до 9 %). Фульвокислоты, входящие в их состав, преобладают над гуминовыми.

Подзолистые почвы подходят для возделывания большинства сельскохозяйственных культур. Однако большая часть таких грунтов нуждается в регулярном добавлении удобрений (минеральных, органических и бактериальных), а также в проведении известкования.

Среди подтипов подзолистых почв выделяются:

❖ *глееподзолистые почвы*. Образование глееподзолистых грунтов обычно происходит на суглинках и более легких основаниях под северотаежными смешанными и хвойными лесами, включающими деревья, кустарники, лишайники и мхи. Глееподзолистый грунт имеет сильноокислую реакцию в верхних слоях. Содержание гумуса в них составляет 2–4 %. Кроме того, эти почвы бедны полуторными окислами и насыщены железом;

❖ *собственно подзолистые почвы*. Эти почвы образуются на основании из пород различных видов. Они лежат под среднетаежными лесами, состоящими из хвойных пород с кустарником, мхами и лишайниками. Верхние горизонты собственно подзолистых почв кислые или сильноокислые. В них содержится от 1 до 7 % гумусовых веществ;

❖ *дерново-подзолистые почвы*. Эти почвы характерны в основном для севера Украины (Полесье). Они сформировались под хвойными и смешанными лесами с травянистой растительностью при условии большого количества осадков, которое способствует заболачиванию низинных мест. Содержание гумуса в них низкое (0,7–2,0 %), воздухопроницаемость высокая, а почвенная реакция кислая (рН 4,2–5,2). Такие почвы хорошо подходят для выращивания хвойных и вересковых культур, но для других традиционных, которые предпочитают нейтральную реакцию, нужно проводить известкование и внесение органических, минеральных и бактериальных удобрений.

**Сероземные почвы**. Ареалом распространения сероземных почв являются западные и северные районы Притяньшаньской, Пригиссарской, Кура-Араксинской и Прикопетдагской почвенных провинций, располагающихся в предгорно-пустынно-степной зоне. Они также типичны для территории Передней и Средней Азии, Австралии и Северной Америки.

Сероземы лежат главным образом на предгорных равнинах. Для их формирования необходимы лессовидные суглинки и лессы с подстилкой из галечника. В составе их почвообразующей породы обнаружены также каменистые структуры и мелкоземы. Равнинные сероземы образуются на глинистых и тяжелосуглинистых делювиальных и аллювиальных породах.

Особенностью условий, в которых образуются сероземы, является гидротермический режим, при котором весенний этап достаточно высокой

влажности и умеренной температуры сменяется летним – засушливым и жарким. Вот почему именно весной происходит интенсивное образование гумусовых веществ, что сопровождается активной минерализацией органических компонентов. Результатом такой стремительной биогенности почвообразовательного процесса становится обеднение грунта гумусом. Кроме того, весной в сероземных грунтах происходит энергичное выветривание первичных алюмосиликатов и оглинивание вследствие этого почвенных горизонтов.

Для сероземов характерно сравнительно низкое содержание гумусовых веществ – от 1 до 4 %. Кроме того, они отличаются повышенным уровнем карбонатов. Это щелочные почвы с незначительными показателями поглощательной способности. В их составе присутствует некоторое количество гипса и легкорастворимых солей. Одним из свойств сероземов является биологическое скапливание калия и фосфора. Почвы такого типа содержат достаточно много легкогидролизуемых азотных соединений.

В сельском хозяйстве сероземные грунты можно использовать при условии проведения специальных оросительных мероприятий. Чаще всего на них выращивают хлопчатник. Помимо этого, на участках с сероземами можно успешно возделывать свеклу, рис, пшеницу, кукурузу и бахчевые культуры.

Для улучшения качества сероземных грунтов, кроме орошения, рекомендуются меры, направленные на предотвращение вторичного засоления. Потребуется также регулярное внесение органических, минеральных и биоудобрений, формирование глубокого пахотного слоя, применение метода люцерно-хлопкового севооборота и высевание сидератов.

Тип сероземных грунтов включает в себя почвы следующих подтипов:

❖ *светлые сероземы*. Светлые сероземные почвы развиваются на предгорных равнинах, низкогорьях и террасах рек. Они образуются на лессовидных суглинистых, лессовых, каменистых и мелкоземистых структурах под эфемеровой растительностью, состоящей преимущественно из мятлика и осоки. В верхних слоях светлых сероземов обычно содержится от 1 до 2,3 % гумусовых веществ, среди компонентов которого доминируют фульвокислоты. Это щелочные грунты, имеющие низкую поглощатель-

ную способность. Светлые сероземы нашли достаточно широкое применение в сельском хозяйстве. Они используются при выращивании хлопчатника, винограда и садовых культур;

❖ *типичные сероземы*. Типичные сероземные почвы распространены на холмистых предгорьях, предгорных равнинах и низкогорьях. Основанием для их формирования служат лессовидные суглинки и лессы. Их формирование проходит под растительным покровом, состоящим из видов, имеющих продолжительный период вегетации. Содержание гумуса в верхних слоях сероземов составляет от 1,5 до 3,5 %. В гумусовых веществах преобладают фульвокислоты. Для повышения качества типичного сероземного грунта требуется проведение оросительных мероприятий. В сельском хозяйстве почвы данного подтипа используются для выращивания хлопка, винограда и садовых культур;

❖ *темные сероземы*. Темные сероземы можно встретить в низкогорных районах Памира и Тянь-Шаня, а также на высоких предгорных равнинах. Они образуются на лессовидных тяжелосуглинистых структурах под растительностью из эфемеров, пырея и разнотравья. Содержание гумусовых компонентов в верхних слоях темных сероземных почв составляет 2,5–5 %. Такие грунты относятся к группе щелочных. Они пригодны для возделывания кукурузы, винограда, пшеницы, кормовых и садовых культур.

**Слитые почвы.** Слитые грунты широко распространены в тропической, субтропической и экваториальной зонах, на территории южных районов Северной Америки, в Средиземноморье, Африке, Австралии, Азии и Европе. Для их формирования необходимо основание из глинистых пород и требуются особые климатические условия, заключающиеся в чередовании периодов засухи и избыточного увлажнения. Формируются слитые почвы под лугами, саваннами, степями и лесами. Участки такого типа в тропиках считаются плодородными и довольно широко используются в сельском хозяйстве, а в других зонах они считаются бедными и малопродуктивными для обработки. В целях окультуривания их часто обогащают, внося азотные и фосфорные удобрения.

В науке принято различать следующие подтипы слитых почв:

❖ *черные слитые почвы* Черные слитые грунты (слитые черноземы) можно встретить на территории Закубанской предгорной равнины и в Адыгее. Это почвы, отличающиеся достаточно плотной структурой. В профиле хорошо выделены железисто-марганцевые включения, имеющие форму черно-коричневых зерен. Черные слитые грунты формируются на бурых либо оливково-бурых глинистых плотных породах. В верхних слоях содержится 4,6–5 % гумуса. Это почвы, имеющие слабокислую реакцию в верхних горизонтах и слабощелочную в нижних;

❖ *серые слитые почвы*. Серые слитые почвы являются типичными для северно-кавказской зоны. В их структуре совмещены два вида почвообразовательного процесса: слитоземный с переходным горизонтом (в нижних слоях) и серый лесной с гумусово-иллювиальными горизонтами (в верхних слоях). Их объединяет воедино генетический псевдоглеевый слой.

**Тундровые почвы.** Тундровые почвы являются типичными для зоны тундры, расположенной в Северном полушарии. Они характеризуются незначительной толщиной и проявлениями мерзлоты. Это грубогумусные грунты, содержание гумусовых веществ в которых может достигать 5 %.

В сельском хозяйстве тундровые почвы рекомендуется использовать в качестве пастбищ и для выращивания таких культур как картофель, капуста и ячмень.

Почвы указанного типа условно делят на несколько подтипов:

❖ *арктотундровые почвы*. Они встречаются в северных районах субарктической зоны. Их образование происходит под растительностью из полярной ивы, осоки и разнотравья. На низинных участках они формируются под мхами и осокой. В большинстве случаев это суглинки. Этим почвам свойственна морозная трещиноватость. Содержание гумусовых веществ в них колеблется от 3 до 7 %. Такие грунты относятся к категории слабокислых почв;

❖ *глеевые типичные почвы*. Тундровые глеевые типичные почвы простираются в зоне кустарниковых и мохово-лишайниковых тундр. Основанием для их формирования служат глинистые и суглинистые породные структуры, располагающиеся на возвышенностях. Эти грунты включают в состав значительное количество полуторных окислов и кремнекислоты. Они обладают способностью образовывать стабильные органоминеральные системы;

❖ *собственно тундровые глеевые почвы.* Грунты указанного типа можно обнаружить в континентальных почвенных провинциях. Однако они могут встречаться также и на возвышенных водораздельных участках;

❖ *глеевые оподзоленные почвы.* Ареалом, на котором распространены тундровые глеевые оподзоленные почвы, считается зона с лесотундрой и кустарниковой тундрой. Для почвообразовательного процесса таких грунтов характерны подзолистые явления. Механический состав этих почв различен в зависимости от географического расположения той или иной зоны. Это связано главным образом с количеством гумусовых веществ в соответствующих профилях и условиями, при которых возможен распад органических структур. Тундровые глеевые оподзоленные почвы входят в группу кислых. Содержание гумусовых веществ в них не превышает 5 %;

❖ *иллювиально-малогумусовые почвы.* Тундровые иллювиально-малогумусовые почвы можно встретить в северных областях субарктической зоны. Они также могут быть обнаружены и в других районах, под мохово-лишайниковым растительным покровом. От иных подтипов тундровых грунтов их отличает светлый минеральный слой в профиле. В тундровых грунтах представленного подтипа содержание гумусовых компонентов составляет не более 5 %. Особенно незначительное их количество (не более 2 %) имеется в иллювиальном слое. Такие почвы являются кислыми в верхних горизонтах, а в нижних они в основном нейтральные либо слабокислые;

❖ *иллювиально-гумусовые почвы.* Тундровые иллювиально-гумусовые почвы образуются на возвышенностях южных районов тундры, снабженных хорошей дренажной системой. Их формирование возможно и в других зонах при условии развития мохово-лишайниково-кустарничковой растительности. Представленный подтип почв характеризуется кислой реакцией и присутствием в механическом составе верхних слоев сравнительно большого количества гумусовых веществ;

❖ *Иллювиально-гумусовые оподзоленные почвы.* Территорией распространения тундровых иллювиально-гумусовых оподзоленных грунтов являются тундра и лесотундра с рыхлыми и массивно-кристаллическими породными структурами. Содержание гумусовых веществ в верхних слоях

почвы достигает 6–7 %. Это сильнокислые либо кислые грунты с высоким уровнем гидролитической кислотности.

**Черноземы.** Черноземные почвы шире всего распространены в Украине (почти 60 % территории) и находятся в лесостепной и степной зонах умеренного пояса. Черноземы образованы в основном под многолетними травяными равнинами и, как известно, отличаются высоким содержанием гумуса (5–15 %), нейтральной реакцией, которая идеально подходит для большинства сельскохозяйственных культур, и комковатой структурой, что помогает удерживать влагу. **Это самая продуктивная почва для земледелия в мире.** Толщина слоя украинских черноземов в некоторых районах достигает более 1 метра (около 10 % территории страны).

Черноземные почвы распространены также и на территории Юго-Восточной и Западной Европы, Аргентины, Китая, Канады, США, Казахстана и Чили.

*Морфологическая структура черноземов* складывается из следующих горизонтов: гумусово-аккумулятивный; гумусовый переходный; гумусовый затечный; карбонатный иллювиальный; материнский почвообразующий.

Зоны, которые занимают черноземные почвы, считаются важнейшими в сельском хозяйстве. На них располагается до 50 % всех пахотных угодий. Такие почвы рекомендуется использовать для возделывания свеклы, подсолнечника, яровой и озимой пшеницы, фасоли, конопли, гречихи, льна, винограда, овощных и садовых культур.

Для того чтобы повысить уровень плодородия черноземов, нужно обеспечить работу оросительных систем. Кроме того, улучшить влажностный режим помогут защитные лесные полосы. Требуется также проведение специальных мероприятий, направленных на предотвращение засоления, эрозии грунта и скапливания в нем чрезмерного количества пестицидов.

В зависимости от местоположения и степени увлажненности черноземы подразделяют на несколько подтипов: обыкновенные, типичные, выщелоченные, оподзоленные и южные. Они различаются содержанием гумусовых веществ, глубиной и толщиной их залегания.

Толщина гумусового слоя может быть различной. Существуют черноземные грунты сверхмощные (толщина слоя гумуса составляет от 120 см и более), мощные (от 80 до 120 см), среднемощные (от 40 до 80 см) и маломощные (толщина не превышает 40 см). По содержанию гумусовых веществ они условно делятся на тучные или высокогумусные (более 9 % гумуса), среднегумусные (6–9 % гумуса) и малогумусные (менее 6 % гумуса). Основные характеристики подтипов черноземов приведены в табл. 5.

Таблица 5 – Характерные свойства подтипов черноземных почв

Наименование подтипа	Толщина гумусовых горизонтов, см	Содержание гумусовых веществ, %	Глубина залегания карбонатных компонентов, см
Обыкновенный	65–80	6–10	50–60
Типичный	85–120	8–15	85–120
Выщелоченный	50–80	6–10	100–140
Оподзоленный	50–80	5–8	140–150
Южный	40–50	5–6	Менее 30

Помимо указанных подтипов, целесообразно выделять также *мицелярно-карбонатные черноземы*, формирование которых происходит в условиях теплого зимнего периода. Кроме того, существуют черноземные грунты, которые образуются даже в случае существенного промерзания в зимний период.

Черноземы, которые располагаются в различных зонах, могут иметь неодинаковый уровень засоленности. В зависимости от этого параметра говорят о существовании нескольких их подтипов. Например, существуют обычные, солонцеватые, карбонатные, солонцевато-солончаковые черноземы.

### 3.1.2. Факторы плодородия почвы

**Плодородие почвы** – это способность грунта снабжать растения необходимыми для их нормального роста и развития питательными веществами, а также водой, теплом и воздухом. Такое его качество напрямую связано с характером процесса почвообразования. *Плодородие почвы является важнейшим ее свойством*, которое обеспечивает объективную возможность интенсификации земледелия. В хозяйственной деятельности различают *три вида плодородия почвы*: природное, искусственное и эффективное.

**Природное** (естественное, потенциальное) **плодородие** возникает и развивается под влиянием естественных процессов, без воздействия человека на почву. Оно неодинаково у разных типов почв и проявляется в процессе первичного использования почвы в земледелии при освоении целинных земель. Растительность и микроорганизмы также действуют на смену и направление почвенных процессов, а, следовательно, и на плодородие почвы. Уровень природного плодородия зависит главным образом от механического и химического состава почвы (содержание гумуса).

**Искусственное плодородие** создается трудом человека (различные виды обработки, внесения удобрений, мелиорация и др.) в процессе использования земли как главного средства сельскохозяйственного производства. Поэтому оно и называется искусственным. Зависит оно от уровня развития производительных сил и производственных отношений.

**Эффективное** (экономическое) **плодородие** представляет собой *потенциальное* (суммарное выражение естественного и искусственного) плодородие почвы и тесно связано с развитием социально-экономических отношений общества. При совершенной социальной структуре общества, где развитие науки и техники достигает высокого уровня, создаются все условия для прогрессивного увеличения эффективного плодородия почвы. Рациональное использование почвы способствует повышению ее плодородия.

Все факторы роста и развития растений равнозначны, ни один из них не может быть заменен другим. Поэтому для получения высоких и устойчивых урожаев и повышения плодородия почвы необходимо одновременно воздействовать на все факторы роста растений. Этого можно достиг-

нуть при разработке дифференцированных приемов повышения плодородия почв в различных зонах.

В условиях планового хозяйства созданы все необходимые условия для повышения плодородия почв, интенсификации сельскохозяйственного производства и роста его продуктивности.

**Основные факторы повышения плодородия почв** связаны с рациональной системой обработки почв, применением органических, минеральных, бактериальных удобрений и различных видов мелиораций, введением правильных севооборотов, проведением мероприятий по предупреждению и борьбе с эрозией почв и др.

В разработке приемов повышения плодородия почв важное значение имеют материалы почвенно-агрохимических исследований: почвенные карты, картограммы содержания подвижных форм фосфора и калия, картограммы кислотности, степени эродированности (степень разрушения верхних наиболее плодородных горизонтов почв, результат действия процессов водной и ветровой эрозии), заболоченности, засоленности почв.

В каждой почвенно-климатической зоне с учетом конкретных условий и особенностей хозяйств разрабатывается определенный комплекс приемов, направленный на повышение урожайности возделываемых культур и улучшение плодородия почв.

*Длительное использование почвы* как средства сельскохозяйственного производства приводит к изменениям природных процессов почвообразования и ее свойств, к формированию новых культурных почв.

**Окультуривание почвы.** Процесс изменения природных свойств почвы с целью создания и постоянного поддержания высокого уровня плодородия под воздействием производственной деятельности человека называется *окультуриванием почвы*. Окультуривание почвы достигается применением комплекса мероприятий, конечной целью которых является создание в почвах свойств, обеспечивающих высокие и устойчивые урожаи сельскохозяйственных культур.

Для окультуривания почвы используют биологические, химические и физические методы.

*Биологический метод окультуривания* включает приемы, направленные на обогащение почвы гумусом и биологическим азотом. Это – посев

многолетних трав (бобовых и травосмесей со злаковыми и бобовыми), сидератов (зелёные удобрения – растения, выращиваемые с целью их последующей заделки в почву для улучшения ее структуры, обогащения азотом и угнетения роста сорняков), правильный подбор и соотношение сельскохозяйственных культур в севообороте.

*Химический метод окультуривания* направлен на увеличение содержания в почве элементов питания, доступных для растений, путем внесения минеральных удобрений, а также на улучшение химических свойств почвы, связанных с неблагоприятной реакцией (известкование, гипсование почв).

*Физические методы окультуривания* включают физико-механические приемы – обработку почвы, создание агрономически ценной структуры в пахотном слое, регулирование водного, воздушного и теплового режимов, в том числе и мелиорацию (осушение, орошение).

На разных почвах в зависимости от их свойств и природных условий почвенно-климатической зоны применяют отдельные методы окультуривания или их системы. Наилучшие результаты по окультуриванию (например, дерново-подзолистых почв) можно получить, применяя одновременно все три метода со следующими приемами:

- 1 – посев многолетних трав;
- 2 – применение органических, минеральных и бактериальных удобрений;
- 3 – известкование;
- 4 – система правильной обработки почв и создание мощного пахотного слоя;
- 5 – мелиорация избыточно увлажненных почв.

Обычно выделяют *три степени окультуренности почвы*: слабая, средняя и сильная. Степень окультуренности почвы устанавливается по определенным показателям и зависит от плодородия почвы. Наибольшие изменения под влиянием окультуривания произошли с сероземами, используемыми под хлопчатник, а также с дерново-подзолистыми почвами.

В разработанных классификациях при определении степени окультуренности почвы учитывают показатели морфологических и агрохимических свойств почвы. Например, для дерново-подзолистых почв основными

показателями являются следующие: мощность, окраска и структура пахотного слоя, содержание гумуса и его качественный состав, состав обменных катионов, степень насыщенности основаниями, рН солевой вытяжки, содержание подвижных форм фосфора и калия, мощность и степень выраженности подзолистого горизонта. Кроме установленных показателей, для каждого типа почвы учитываются засоренность посевов, выраженность эрозийных процессов и другие.

### **3.2. Роль микроорганизмов в формировании почвы и ее плодородия**

Создатель теории микробиологической природы процессов почвообразования академик П.А. Костычев уделял главное внимание роли организмов, обитающих в верхнем слое почвы: «Мы, прежде всего, выделяем верхний слой земли до той глубины, до которой доходит главная масса корней, и называем этот слой почвой». Особое значение такому качеству почвы, как плодородие, придавал крупный учёный-почвовед академик В.Р. Вильяме. Он писал: «Когда мы говорим о почве, мы подразумеваем, рыхлый поверхностный горизонт суши земного шара, способный производить урожай растений».

Плодородие почвы зависит от нескольких причин. Исключительно важной для почвенных процессов является жизнедеятельность населяющих ее микроорганизмов. Параметры этих процессов и определяемые ими свойства почвы относятся уже к микробиологическим характеристикам почв.

В большинстве случаев почвы классифицируются по их химическим и физическим свойствам – кислотности, содержанию солей, плотности, структуре, теплоемкости и т. д. Хорошие почвы обычно характеризуются повышенной водопроницаемостью, аэрацией, высоким содержанием органических веществ, оптимальной плотностью в корнеобитаемом слое, эрозийной устойчивостью. Эти характеристики являются основными индикаторами потенциального плодородия почвы, но далеко не исчерпывающими.

*При классификации почв по их микробиологическим особенностям* возникают специфические проблемы: эти свойства гораздо труднее определить и измерить, чем химические и физические. Здесь необходимо пользоваться достоверными и предсказуемыми показателями качества почвы, включающими индикаторы, которые фиксируют изменения биологических процессов. Логично, что эти индикаторы должны учитывать все *разнообразие видов полезных почвенных микроорганизмов* аналогично тому, как в характеристиках окружающей среды учитывается разнообразие животного мира.

Сегодня, благодаря успехам микробиологии, воздействие на биологические процессы в почвах дают возможность сельхозпроизводителям непосредственно влиять на плодородие почв, количество и качество урожая. Для этого в почву вносят определенные культуры микроорганизмов, которые выполняют роль регулятора микробиологических процессов. Применение полезных для почв микроорганизмов способствует формированию структуры этих почв и естественного биологического равновесия. Такие микроорганизмы используются в сельском хозяйстве для уничтожения вредных насекомых и предотвращения болезней растений, повышения качества и количества урожая, повышения плодородия почв. В основе всех этих технологий лежат природные принципы кругооборота веществ, что в максимальной степени соответствует требованиям экологической безопасности.

#### **3.2.1. Процесс образования почвы и деятельность микроорганизмов**

Все почвы на Земле образовались из выходящих на «дневную» поверхность весьма разнообразных горных пород, которые обычно называют материнскими. *В качестве почвообразующих* выступают главным образом *рыхлые осадочные породы*, так как изверженные и метаморфические породы выходят на дневную поверхность сравнительно редко.

Основоположник научного почвоведения В.В. Докучаев рассматривал почву как особое тело природы, столь же самобытное, как растение, животное или минерал. Он указал, что в различных условиях образуются разные почвы, и что они изменяются во времени. Тип почвы складывается

зависимости от материнской породы, климата, растительности, рельефа страны и возраста почвообразовательного процесса. Разрабатывая научные основы почвоведения, В.В. Докучаев отмечал огромную роль живых организмов, и в частности микроорганизмов, в формировании почвы.

Одновременно с В.В. Докучаевым работал другой выдающийся ученый-почвовед П.А. Костычев. В монографии «Почвы черноземной области России, их происхождение, состав и свойства» он писал, что геология имеет второстепенное значение в вопросе о черноземе, потому что накопление органического вещества происходит в верхних слоях земли, геологически разнообразных, и чернозем является вопросом географии высших растений и вопросом физиологии низших растений, разлагающих органическое вещество.

Большой вклад в представления о роли биологического фактора в преобразовании Земли и в процессе почвообразования сделал В.И. Вернадский. Он считал, что главным фактором в миграции химических элементов в верхней части земной коры являются организмы. Их деятельность затрагивает не только органические, но и минеральные вещества почвенного и подпочвенного слоев.

Уже с начальных этапов превращения горных пород в почву роль микроорганизмов в процессах выветривания минералов вырисовывается весьма наглядно. Выдающийся ученый в области почвоведения, геохимии и географии, профессор Б.Б. Полынов рассматривал *выветривание горных пород как результат деятельности растительных, преимущественно низших организмов*. К настоящему времени эта, точка зрения подтверждена большим экспериментальным материалом.

Обычно первыми поселенцами горных пород являются накипные лишайники, образующие листообразные пластины, под которыми накапливается небольшое количество мелкозема. Лишайники, как правило, находятся в симбиозе с неспорообразующими сапрофитными бактериями. В отношении ряда элементов лишайники выступают как их аккумуляторы. В мелкоземе под литофильной растительностью резко увеличивается количество органического вещества, фосфора, окиси железа, кальция и магния.

Из других растительных организмов, поселяющихся на материнских породах, следует отметить микроскопические водоросли, в частности сине-зеленые и диатомовые. Они ускоряют выветривание алюмосиликатов

и также обычно живут в ассоциации с неспорообразующими бактериями.

Водоросли, очевидно, играют существенную роль как автотрофные накопители органических веществ, без которых не может протекать энергичная деятельность сапрофитных микроорганизмов. Последние продуцируют разные соединения, вызывающие выветривание минералов. Многие *сине-зеленые водоросли являются фиксаторами азота и обогащают разрушаемую горную породу этим элементом*.

Основную роль в процессе выветривания, вероятно, играют углекислота, минеральные и органические кислоты, вырабатываемые разными микроорганизмами. Имеются сведения, что сильным растворяющим действием обладают некоторые кетокислоты. Не исключается возможность участия в выветривании перегнойных соединений.

Следует отметить, что многие бактерии образуют слизи, облегчающие тесный контакт микроорганизмов с горной породой. Разрушение последней происходит как под влиянием продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, так и в результате образования комплексных соединений между веществом слизей и химическими элементами, входящими в состав кристаллических решеток минералов. Выветривание горных пород в природе должно рассматриваться как единство двух противоположных процессов – распада первичных минералов и возникновения вторичных минералов. *Новые минералы могут возникать при взаимодействии микробных метаболитов друг с другом*.

В зависимости от сочетания ряда природных факторов дальнейшее развитие почвообразовательного процесса протекает различно, обуславливая образование того или иного типа почвы. С первых этапов развития почвообразовательного процесса начинает накапливаться в почвенном слое перегной.

*В создании перегнойной почвы большое значение имеют микроорганизмы*. Их роль весьма многогранна. Они разлагают различного рода остатки и среди прочих веществ образуют соединения, которые служат структурными единицами молекул гумусовых веществ. Частично подобного рода вещества создаются самими микроорганизмами. Наконец, многие микроорганизмы вырабатывают фенолоксидазы, которые окисляют полифенолы до хинонов, легко конденсирующихся при определенных условиях в перегнойные соединения.

Под термином «перегной», или «гумус», объединяется целая группа родственных высокомолекулярных соединений, химическая природа которых до сих пор точно не установлена. Гумус составляет 85–90 % всего органического вещества почвы. В нем аккумулировано значительное количество азота, фосфора и ряда других элементов. Перегнойные соединения могут разлагаться очень многими микроорганизмами (бактериями, актиномицетами, грибами и т. д.).

В природных условиях накопление перегноя в почве является результатом двух диаметрально противоположных процессов – его синтеза и распада. Существенное значение при этом имеет поступление в почву растительных остатков.

Следует отметить также, что перегнойные соединения в небольших концентрациях стимулируют рост растений, что объясняется содержанием в них биологически активных веществ. Чем больше в почве перегноя, тем более энергично протекают в ней микробиологические и биохимические процессы, играющие огромную роль в накоплении питательных для растений соединений.

### 3.2.2. Микроорганизмы в создании плодородия почв

Почва является основным средством производства в сельском хозяйстве. Все продукты сельского хозяйства состоят из органических веществ, синтез которых происходит в растениях под воздействием, главным образом, солнечной энергии. Разложение органических остатков и синтез новых соединений, входящих в состав перегноя, протекает при воздействии ферментов, выделяемых разными ассоциациями микроорганизмов. При этом наблюдается непрерывная смена одних ассоциаций микробов другими.

Микроорганизмов в почве очень большое количество. По данным академика М.С. Гилярова, в каждом грамме, например, чернозема, насчитывается 2–2,5 миллиарда бактерий. Микроорганизмы не только разлагают органические остатки на более простые минеральные и органические соединения, но и активно участвуют в синтезе высокомолекулярных соединений – перегнойных кислот, которые образуют запас питательных веществ в почве. Поэтому, заботясь о повышении почвенного плодородия, и,

следовательно, о повышении урожайности, необходимо заботиться о питании микроорганизмов, создании условий для активного развития микробиологических процессов, увеличении популяции микроорганизмов в почве.

**Функции микроорганизмов.** Почвенные микроорганизмы могут быть классифицированы следующим образом:

❖ *разлагающие* микроорганизмы:

- окислительное разложение;
- ферментирующее разложение:
  - полезная ферментация;
  - вредная ферментация – гниение;

❖ *синтезирующие* микроорганизмы – могут подразделяться на группы, способные регулировать содержание атмосферного азота в аминокислотах и (или) углекислого газа в простых органических молекулах в реакции фотосинтеза.

Основными поставщиками питательных веществ для растений являются **аэробные микроорганизмы**, которым для осуществления процессов жизнедеятельности необходим кислород. Поэтому увеличение рыхлости, водопроницаемости, аэрации при оптимальной влажности и температуре почвы обеспечивает наибольшее поступление питательных веществ к растениям, что и обуславливает их бурный рост и увеличение урожайности.

Однако растениям для нормального роста и полноценного развития необходимы не только макроэлементы, такие как калий, азот, фосфор, но и микроэлементы, например, селен, который выступает как катализатор в различных биохимических реакциях и без которого растения не в состоянии сформировать действенную иммунную систему. Поставщиками микроэлементов могут быть **анаэробные микроорганизмы** – это микроорганизмы, которые живут в более глубоких почвенных пластах и для которых кислород – яд. Анаэробные микроорганизмы способны по пищевым цепям «поднимать» необходимые растениям микроэлементы из глубинных слоев почвы.

**Ферментация** - анаэробный процесс, в котором соответствующие группы микроорганизмов (например, дрожжи) преобразовывают комплексные органические молекулы в простые органические соединения, ко-

торые могут быть легко усвоены растениями. При ферментации производится относительно малое количество энергии по сравнению с аэробным разложением того же самого субстрата той же самой группой микроорганизмов.

**Аэробное разложение** приводит к полному окислению субстрата и образованию больших количеств энергии, углекислого газа и воды как конечных продуктов.

**Гниение** – процесс, в котором соответствующие группы микроорганизмов анаэробным путем разлагают белки, производя не полностью окислившиеся продукты (например, аммиак) с резким неприятным запахом, которые негативно влияют на растения и животных.

Термин **«синтез»** относится к способности некоторых микроорганизмов высвобождать энергию, «регулируя» количество атмосферного азота и (или) углекислого газа. Если бы «синтезирующие» микроорганизмы стали преобладающей частью почвенной микрофлоры, тогда почва была бы названа «синтезирующей» почвой.

**Связь между гниением, ферментацией и синтезом.** Процессы гниения, ферментации и синтеза происходят одновременно, согласно типам и численностям микроорганизмов, которые присутствуют в почве. Но наиболее значительное влияние на характеристики почвы и производное от них – плодородие почвы оказывает процесс, являющийся для данных условий доминирующим. Образование органических веществ микроорганизмами обусловлено возникновением положительных ионов, в то время как разложение связано с их восстановлением. Проблема появляется тогда, когда водородные ионы не до конца окисляются кислородом, чтобы образовать воду, но производят метан, сероводород, аммиак, меркаптан и другие продукты гниения, большинство из которых ядовиты. Если почва способна поглотить избыток водородных ионов в течение периодов анаэробии и если синтезирующие микроорганизмы типа фотосинтетических бактерий присутствуют там, то они используют эти гнилостные вещества и производят из них полезные субстраты, которые помогают сохранить почву здоровой и плодородной.

**Фотосинтезирующие бактерии**, осуществляющие неполный фотосинтез анаэробным путем, **являются наиболее полезными почвенными микроорганизмами** из-за их способности устранить в почве влияние ядо-

витых веществ, уменьшая количество гнилостных составляющих типа сероводорода в полезных субстратах. Это помогает эффективно использовать органические вещества и улучшать плодородие почв. Фотосинтез включает в себя фотокатализируемое разложение воды, в результате которого как побочный продукт образуется молекулярный кислород. Таким образом, *эти микроорганизмы являются источником кислорода в корнях растений.*

Недоокисленные соединения типа метана и сероводорода часто образуются, когда органические материалы разлагаются при анаэробных условиях. Эти составы ядовиты и могут в значительной степени подавлять действие азотфиксирующих микроорганизмов. Однако, если синтезирующие микроорганизмы типа фотосинтезирующих бактерий, которые используют недоокисленные вещества, присутствуют в почве, недостатка кислорода не будет. Таким образом, **азотфиксирующие микроорганизмы**, сосуществующие в почве с фотосинтезирующими бактериями, *могут эффективно регулировать количество атмосферного азота даже в анаэробных условиях.*

Почвы населены многочисленными представителями **микроскопических существ**. Мир их разделен на растительные и животные виды. Микроскопический *растительный мир почвы представлен бактериями, актиномицетами, дрожжами, грибами, водорослями.* Из бактерий в почве преобладают формы, не образующие спор. Спорозоные бактерии составляют около 10–20 %. Грибов и актиномицетов в 1 г почвы насчитывается десятки и сотни тысяч, а нередко миллионы. Общая масса водорослей, по мнению исследователей, немногим уступает общей массе бактерий.

*Животный мир почвы составляют простейшие* (протозоа – одноклеточные животные организмы), *насекомые, черви* и прочие. Простейшие и насекомые на гектар пахотного слоя составляют массу, равную 2–3 тонны. Вся эта масса живых существ находится в непрерывном развитии. Вся бактериальная масса, по самым скромным подсчетам, регенерируется за лето в южной полосе 14–18 раз. Таким образом, общая бактериальная продукция пахотного горизонта почвы за вегетационный период определяется десятками тонн живой массы. Из числа микроскопической фауны *черви являются наиболее активными почвообразователями.* Они живут в поверх-

ностных горизонтах почвы и питаются растительными остатками, пропускаемая через свой кишечный тракт большое количество органического вещества и минеральной составляющей почвы.

Микроорганизмы в почве образуют сложный биоценоз, в котором различные их группы находятся между собой в сложных отношениях. Одни из них успешно сосуществуют, а другие являются антагонистами (противниками). Антагонизм их обычно проявляется в том, что одни группы микроорганизмов выделяют специфические вещества, которые тормозят или делают невозможным развитие других.

В почве также обитают различные *ультрамикроскопические существа* – фаги (бактериофаги, актинофаги) и многие другие еще мало изученные виды.

Количество микробной флоры зависит от плодородия почв. *Чем плодороднее почвы, чем больше в них перегноя, тем плотнее заселены они микроорганизмами.* Накопление микроорганизмов в значительной степени зависит от количественного и качественного содержания органических веществ в свежесмерших растительных и животных остатках и продуктах их первичного распада; вначале микробов больше, а после минерализации уменьшается.

Существенное значение в жизни микроорганизмов имеют витамины, ауксины и другие биотические вещества. Небольшие дозы их заметно ускоряют развитие и размножение клеток микробного населения.

**Распределение микробов в почве.** Повседневные микробиологические исследования почв показывают, что клетки бактерий размещаются отдельными очагами, в каждом из которых разрастаются и концентрируются клетки одного или нескольких неантагонистических видов.

*Почва при высушивании* обедняется микроорганизмами. Иногда численность их при высушивании образцов почвы уменьшается в 2–3 раза, а нередко в 5–10 раз. Наиболее стойко сохраняют жизнеспособность актиномицеты, затем микобактерии. Самый высокий процент гибели отмечается среди бактерий. Однако полного вымирания бактерий, даже в условиях длительной засухи почвы, как правило, не происходит. Даже у весьма чувствительных к высушиванию культур имеются единичные клетки, которые длительное время сохраняются в сухом состоянии.

На распределение отдельных микробов сильное влияние оказывает *кислотность почвенного раствора*. В почвах с нейтральной или слегка щелочной реакцией бактерий бывает значительно больше, чем в кислых, заболоченных или торфяных почвах. Плесневые грибы лучше переносят кислую среду, чем бактерии, поэтому они обычно доминируют в кислых почвах.

**Влияние обработки почвы на интенсивность микробиологических процессов.** Вспашка, культивация, боронование значительно стимулируют развитие микрофлоры. Это связано с улучшением водно-воздушного режима почв. Наиболее благоприятные условия при обработке создаются для аэробных микробов, в результате чего весной уже через 8–20 дней после обработки численность микрофлоры возрастает в 5–10 раз.

Разные приемы обработки почвы действуют неодинаково на микробы и мобилизацию питательных веществ в пахотном слое. Поверхностное рыхление подзолистых почв усиливает развитие микроскопических существ, только в самом верхнем слое почвы сапрофитных бактерий в этом слое в 3–4 раза больше, чем в других. Послойное рыхление без оборота пласта активировало микрофлору незначительно. При рыхлении с оборотом пласта почти в 3 раза возросла численность микроорганизмов в нижнем слое, попадающем наверх. Даже в среднем слое, остающемся при такой обработке на месте, содержание микробов явно увеличивается. Аналогичные изменения наблюдались и в развитии нитрифицирующих бактерий. Эти данные показывают, что положительный эффект от оборота пласта в основном объясняется интенсивной минерализацией в нижней его части органических веществ.

В условиях орошаемого земледелия глубина и способ обработки заметно увеличивают количество полезных микроорганизмов как в поверхностных, так и в нижних слоях почвы. При глубокой вспашке наверх выворачивается малоплодородный, бедный микроорганизмами слой почвы. Это можно объяснить положительным влиянием удобрений, орошения и другими факторами.

В связи с тем, что превращения органических веществ в почве тесно связаны с деятельностью микроорганизмов, в слоях, где возросло их коли-

чество, увеличилось и содержание растворимых питательных веществ, включая нитраты. Однако непрерывная обработка почвы без периодического внесения биоудобрений, которые повышают общую численность в почве не только бактерий, но и актиномицетов и плесневых грибов, снижает содержание гумуса. Этим создаются благоприятные условия для развития всех групп почвенных микроорганизмов. Повышение общей активности микрофлоры обуславливается как количеством в почве энергетических или питательных веществ, так и внесением перегноя, торфа, навоза, которые усиливают аэрацию и повышают влагоудерживающую способность почвы, делая ее более структурной.

*Механизм действия биоудобрений на микрофлору в почве многогранен. Из повышающих факторов главными являются такие:*

1. Изменение физических свойств почвы, оказывающих благоприятное влияние на размножение микробов.
2. Изменение реакции (рН) почвы в сторону нейтральной или слабощелочной.
3. Биоудобрения в значительной степени усиливают развитие растений, что, в свою очередь, оказывает стимулирующее действие на микрофлору: более интенсивно растут корни, а, следовательно, и количество ризосферных организмов быстро увеличивается.

### **3.3. Проблемы загрязнения почв и технологии ремедиации**

Любая деятельность человека оказывает влияние на окружающую среду, а ухудшение состояния биосферы опасно для всех живых существ, в том числе и для человека. В природную среду во всё больших количествах попадают газообразные, жидкие и твёрдые отходы производства. Различные химические вещества, находящиеся в отходах, попадая в почву, воздух, воду, а затем и в продукцию сельского хозяйства, переходят по экологическим звеньям из одной цепи в другую, в конце концов попадают в организм человека.

В конце XX столетия в соответствии с рекомендациями ООН и её комитетов одной из основных программ, которые направлены на удовлетворение глобальных нужд человечества наряду с энергетической про-

граммой и программой охраны окружающей среды поставлена программа снабжения человека пищей. Обусловлено это тем что в настоящее время более 60% человечества питается неудовлетворительно, не получая достаточного количества белков и не удовлетворяя потребности в калориях. Всё это вынудило человечество применять различные стимуляторы для сельскохозяйственной продукции.

Применение огромного количества химических и органических удобрений для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, биостимуляторов в питании животных для повышения их продуктивности вызвали необходимость жёсткого контроля за качеством агропромышленной продукции.

#### **3.3.1. Основные загрязнители почвы**

Почва – основной компонент наземных экосистем, который образовался в течение геологических эпох в результате постоянного взаимодействия биотических и абиотических факторов. Как сложный биоорганический комплекс почвы являются естественной основой функционирования экологических систем биосферы.

Важным свойством почв является их плодородие. Благодаря нему почвы являются основным средством производства в сельском и лесном хозяйствах, главным источником сельскохозяйственных продуктов и других растительных ресурсов, основой обеспечения благосостояния населения. Поэтому *охрана почв, рациональное использование, сохранность и повышение их плодородия, – непереносимое условие дальнейшего экономического прогресса общества.*

*Загрязнение почвы* – это попадание в почву разных химических веществ, токсикантов, отходов сельского хозяйства и промышленного производства, коммунально-бытовых предприятий в размерах, которые превышают их обычное количество, которое необходимо для участия в биологическом круговороте грунтовых экологических систем.

*Основными видами загрязнения почв являются:*

- загрязнения почв неорганическими отходами и выбросами;
- загрязнения почв тяжелыми металлами;

- загрязнения почв радиоактивными веществами;
- загрязнения почв экскрементами животных;
- загрязнения почв засолениями;
- загрязнения почв пестицидами;
- загрязнения почв минеральными удобрениями.

***Загрязнения почв неорганическими отходами и выбросами.***

Нагромождение твердых отходов и выбросов на заселенных площадях – неминуемый результат современной цивилизации. Это могут быть минеральные отходы или отложения пустой породы вблизи действующих шахт, промышленные, городские (хозяйственные, торговые) и сельские отходы, выбросы и мусор.

Доказано, что в настоящее время каждый обитатель Земли ежедневно производит в среднем 2–4 кг отходов и мусора, а все население земного шара – 8–16 млн. т/сутки, или приблизительно 3–6 млрд. т/год. Предусматривается, что в ближайшее время твердые отходы и выбросы от производства и потребления достигнут 15 млрд. т/год.

Отвалы промышленных отходов занимают значительные площади, которые становятся непригодными для использования, причем они размещены так нерационально, что иногда составляют серьезную угрозу для населения.

В результате деятельности человека образуются отходы и выбросы, которые представлены продуктами разных технологических процессов: металлы, металлоиды, химические вещества (кислоты, соли, луги), ил станций по очистке отходов, минеральная пыль, зола, химический шлам, шлаки, стекло, керамика и т.д. К ним также принадлежат отходы и выбросы в результате строительства, благоустройства населенных пунктов и тому подобное. Обнаружено, что в случае загрязнения почв промышленными выбросами происходит выделение углекислоты в течение всего вегетационного периода, а, следовательно, и ослабление интенсивности биологических процессов. Об этом, прежде всего, свидетельствуют изменения численности микроорганизмов в случае загрязнения почв и ослабления их ферментативной активности.

В результате загрязнения почв фенольными соединениями изменяется их структура, разрушаются некоторые минералы, образуя с метал-

лами, которые содержатся в них, соединения. Все это негативно влияет на жизнедеятельность грунтовой микрофлоры и растений, на ферментативную активность почв и их плодородие.

Почва поддается значительному загрязнению из атмосферы как за счет естественных, так и антропогенных источников. Например, теплоэнергетические станции являются источником загрязнения почв угольной пылью, золой, дымом и некоторыми токсичными твердыми частицами, газами ( $\text{SO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{NO}_2$ ), некоторыми циклическими углеводами, фтористыми и мышьяковыми соединениями; черная металлургия является источником загрязнения почв рудной и железистой пылью, окислами железа, марганца, мышьяка, золы, сажи,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , соединениями свинца; транспорт является источником загрязнения почв углеводами, натрием, свинцом, угольной пылью, золой,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  и т.д.

По официальным данным ежегодно в земную атмосферу выделяется только в результате деятельности человека приблизительно 1012 тонн разных веществ. В них количество  $\text{SO}_2$  и  $\text{H}_2\text{S}$  составляет 220 и 106 тонн на год соответственно, аэрозоли – 102 тонны на год.

Ядовитые вещества из атмосферы попадают на почву и проникают в нее непосредственно или с осадками. Они загрязняют почву и растительную продукцию, снижают урожай и вызывают даже разрушения самой экосистемы.

В последние годы во многих странах большую проблему создают кислотные дожди, которые связаны с выбросами в атмосферу серной и азотной кислот. Кислотные дожди, с одной стороны, приводят к вымыванию из почвы питательных элементов, а с другой стороны ведут к подкислению почвы. Подкисление в свою очередь влияет на растворимость питательных элементов, а также на рост и на жизнедеятельность микроорганизмов в почве.

***Загрязнения почв тяжелыми металлами.*** В природе насчитывается 78 тяжелых металлов, а их общая масса не превышает 1,2 % общей массы литосферы.

*Источниками загрязнения почв тяжелыми металлами* являются сточные воды промышленных предприятий, промышленные выбросы, автомобильные выхлопные газы, многочисленные полигоны промышленных

и бытовых отходов, минеральные удобрения и химические средства защиты растений. Распределение тяжелых металлов по поверхности почв определяется многими факторами: мощностью выброса, качеством и количеством источников, метеорологическими условиями (влажность воздуха, скорость ветра, рассеивающая способность атмосферы над территорией).

В основном почву загрязняют такие тяжёлые металлы, как *ртуть*, *свинец*, *кадмий*, *цинк*, *медь*, *железо*, *марганец*, *молибден*, *кобальт*. Часто тяжёлые металлы содержатся в почве в незначительном количестве и не представляют угрозы для нее. Излишки этих элементов вызывают болезни и гибель растений.

Одним из наиболее токсичных веществ, попадающих в почву из промышленных отходов (сточная вода с предприятий по производству разных лекарств, пестицидов, красителей; тепловые электростанции) с посевным материалом, обработанным против грибка, является *ртуть*. Через почву ртуть с растениями переносится в организм человека. Ртуть плохо вымывается из почв, накапливается в них.

*Свинец* также обладает способностью мигрировать по цепям питания, попадая в почву в виде тетраэтилсвинца с выхлопными газами автомобильного транспорта. На расстоянии до 100 м от автобанов отмечено максимальное накопление свинца: в картофеле, выращенном вдоль трассы в 100-метровой полосе по обе стороны дороги, содержание свинца равно 20 мг на 1 кг массы, что в 100 раз превышает норму. В почве у дорог обнаружено до 7000 мг свинца в 1 кг почвы при норме 2,5 мг/кг. Последние уточненные нормы отведения придорожных земель в Европе составляют до 500 м. Токсические концентрации свинца в почве для большинства растений находятся в пределах 1000–2000 мг/кг. Однако некоторые виды растений погибают уже при содержимом его около 500 мг/кг. Свинец негативно влияет на биологические свойства почвы, ингибируя активность ферментов уменьшением интенсивности выделения углекислого газа и численности микроорганизмов. Свинец вызывает нарушение метаболизма микроорганизмов, особенно процессов дыхания и клеточного разделения.

*Кадмий* в почву попадает с суперфосфатом как примесь, входя в состав фунгицидов, со сточными водами гальванического производства. В почвах кадмий не накапливается, на урожайность не влияет, но токсич-

ность его сказывается в изменении качества продуктов питания, так как кадмий накапливается в растениях, в кормах животных: в зеленой массе, снятой с одного гектара, содержится до 10 мг металла.

*Цинк и медь* менее токсичны, но избыточное их количество угнетающе действует на микроорганизмы почв, понижая их ферментативную активность.

*Железо* – химический элемент не редкий, оно содержится во многих минералах и породах и таким образом в природных водоёмах уровень этого элемента выше других металлов. Образуя разные комплексы с органическими веществами, железо может быть в коллоидальном, растворённом и во взвешенном состояниях. Нельзя не упомянуть про антропогенные источники загрязнения железом. Сточные воды с металлургических, металлообрабатывающих, лакокрасочных и текстильных заводов зашкаливают иногда из-за избытка железа.

Уровень железа в реках и озерах имеет сезонный характер. Самые высокие концентрации в водоёмах наблюдаются зимой и летом из-за стагнации вод, а вот весной и осенью заметно снижается уровень этого элемента по причине перемешивания водных масс. В болотах железо концентрируется в форме солей гуматов (соли гуминовых кислот). Подземные водохранилища с низким рН содержат рекордные количества железа – до нескольких сотен миллиграммов на литр.

*Марганец* поступает в реки и озера по таким же механизмам, как и железо. Главным образом, освобождение этого элемента в растворе происходит при выщелачивании минералов и руд, которые содержат марганец (черная охра, браунит, пиролюзит, псиломелан). Мигрирует марганец в основном в форме взвеси, которые, как правило, говорят о составе окружающих пород. В них он содержится как смесь с другими металлами в виде гидроксидов. Для марганца характерны сезонные колебания концентрации, как и у железа. Немаловажная биохимическая роль этого элемента ведь он входит в группу микроэлементов. Многие процессы при дефиците марганца угнетаются. Он повышает интенсивность фотосинтеза, участвует в метаболизме азота.

Высокий уровень *молибдена* может замечаться в реках и озерах, которые находятся рядом с фабриками по обогащению и предприятиями за-

нимающиеся цветной металлургией. Из-за разных процессов осаждения труднорастворимых соединений, адсорбции на поверхности разных пород, а также употребления водными водорослями и растениями, его количество может заметно уменьшиться. При малых концентрациях, молибден помогает нормальному развитию организма (так растительного, как и животного), ведь он входит в категорию микроэлементов. При недостатке молибдена возникает дефицит этого фермента и таким образом могут проявляться отрицательные эффекты. Избыток этого элемента тоже не приветствуется, потому что нарушается нормальный обмен веществ. Предельно-допустимая концентрация молибдена в поверхностных водоёмах должна не превышать 0,25 мг/л.

Стойкость почв к загрязнению тяжелыми металлами разная, в зависимости от их буферности. Почвы с высокой адсорбционной способностью и соответственно высоким содержанием глины, а также органического вещества могут удерживать эти элементы, особенно в верхних горизонтах. Это свойственно карбонатным почвам и почвам с нейтральной реакцией.

*Основной метод борьбы с загрязнением почв тяжелыми металлами* – это удаление поверхностного загрязненного слоя почвы. Затем это место покрывается новым слоем незагрязненной почвы толщиной не менее 30 см, который исключает перемещение металлов из почвы в растения. Часто для очищения почвы высаживаются полосы кустарников и деревьев вдоль автострад. К агротехническим методам борьбы принадлежит известкование и внесение органических удобрений. Известкование уменьшает уровень свинца в культурах, выращиваемых на загрязненных площадях. Кроме того, для снижения концентрации тяжелых металлов рекомендуется плантажная пахота на 40–50 см с вынесением на поверхность нижних горизонтов почв, которые содержат меньше тяжелых металлов.

**Загрязнения почв радиоактивными веществами.** К радиоактивным элементам, которые могут загрязнять почву, и являются наиболее опасными, принадлежат: барий (Ba), уран (U) и особенно элементы с длительным периодом распада, как, например, цезий (Cs – период распада 50 лет) и стронций (Sr – период распада 27 лет).

Потенциальными источниками радиоактивного загрязнения могут быть аварии или несчастные случаи на атомных установках. Однако иони-

зирующее излучение в природе существует, и существовало раньше. Это связано с космической радиацией, которая заполняет все межзвездные и даже межгалактические пространства. Кроме ионизирующего излучения космических элементов, человек поддается влиянию теллуровых компонентов, вызванных наличием в земной коре многих радиоактивных элементов, которые постоянно излучают радиацию.

К территориям, пострадавшим от радиоактивного загрязнения относят местности, на которых возникло стойкое загрязнение почвы радиоактивными веществами, превышающее доаварийный уровень. Вследствие загрязнения радионуклидами из пользования изъято 119 тыс. га сельскохозяйственных угодий, в том числе 65 тыс. га пахотных земель.

В 50–80 годах важным источником радиоактивного загрязнения почв было испытание атомных бомб, а в 1986 году – авария на ЧАЭС в Украине, вследствие которой пострадало почти 8 % населения: 3,2 млн. лиц проживают на загрязненной территории, 130 тыс. эвакуированы и отселены с загрязненной территории. Специальные подразделения МЧС Украины ведут борьбу с загрязнениями радиоактивными элементами.

Радиоактивные элементы в почве мигрируют преимущественно двумя способами. Первый предопределяется перемещением их в результате хозяйственной деятельности человека, а второй – физико-химическими свойствами, как почвы, так и отдельных изотопов. Существенное значение в этом процессе имеют: форма соединений, в которых находятся радионуклиды, наличие в почве ионов, близких за химическими свойствами к радиоизотопам, pH среды, количество осадков, и некоторые грунтово-климатические условия. С крутых склонов радионуклиды вместе с частицами почвы могут сноситься поверхностными стоками и накапливаться в низинах и водных источниках.

**Загрязнения почв экскрементами животных.** Экскременты животных и птицы благодаря высокому содержанию органического вещества, а также питательных элементов (фосфор, калий, микроэлементы) издавна считаются ценным удобрением. Однако внесение их в избыточных количествах, то есть в дозах, которые превышают потребности растений, ведет к нарушению механизма преобразования и может ухудшить свойства грунта

(водопроницаемость, влагоемкость, содержание кислорода и др.), а, следовательно, и плодородие почвы.

Одновременно с основными питательными элементами (азотом, фосфором и калием), которые содержатся в экскрементах животных, в почву попадают и могут накапливаться в токсичных концентрациях и другие соединения, которые негативно влияют на грунт и растения.

Исследования показывают, что внесение в почву экскрементов животных в дозах, которые превышают оптимальную (45 т/га на год), негативно отражается на плодородии почв и жизнедеятельности микроорганизмов и растений. Например, в грунте появляется избыток растворимых солей, которые могут задерживать рост, или вымываются в грунтовые воды. Вместе с экскрементами в почву попадают медь и мышьяк, которые добавляют в корм для птицы против некоторых заболеваний или для стимуляции роста. Нитраты, присутствующие в почве в избыточном количестве, могут мигрировать через грунтовой профиль к грунтовым водам, а также смываться поверхностными водами в процессе эрозии.

Учитывая это, основными мероприятиями охраны почв от загрязнения экскрементами животных является нормируемое кормление животных и использование органических удобрений в оптимальных количествах.

**Загрязнения почв засолениями.** Под засолением понимают избыточное содержание в верхнем слое грунта солей, которые пагубно действуют на развитие сельскохозяйственных культур. К токсичным солям, которые имеют ядовитое влияние на растительный организм, принадлежат: NaCl, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; к нетоксичным солям принадлежат – CaSO<sub>4</sub>, CaCO<sub>3</sub>.

Различают два вида засоления – первичное и вторичное. *Первичное засоление почв* проявляется в естественных условиях и обусловлено такими факторами, как глубина и минерализация грунтовых вод, гранулометрический состав, строение почвы, водообмен, климатические условия и др. *Вторичное засоление грунта* обусловлено производственной деятельностью человека через ненормируемое орошение и отсутствие естественного или искусственного дренажа. В случае этого засоления грунта наблюдается разрушение грунтовых агрегатов и уплотнение почвы, повышение уровня грунтовых вод и поднятие солевых растворов к поверхности, испа-

рение с поверхности почвы и отложение солей в верхнем слое грунта. Для избежания или уменьшения засоления почв необходимо применять комплекс агротехнических и гидромелиоративных мероприятий, которые включают дренаж, планирование, капиллярную и эксплуатационную промывку почв, капитальное промывание и тому подобное.

**Загрязнения почв пестицидами.** Пестициды – это ядохимикаты по борьбе с сорняками (гербициды), с грибковыми болезнями растений (фунгициды) и вредителями (зооциды, инсектициды и др.) – широко применяются в сельском хозяйстве и сохраняют более 30 % урожая.

При обработке посевов пестицидами основная часть их накапливается на поверхности почв и растений. Они адсорбируются органическим веществом почв и минеральными коллоидами. Избытки пестицидов могут мигрировать с нисходящим гравитационным потоком и попадать в грунтовые воды. Накапливаясь в почве, пестициды могут передаваться по цепям питания и вызывать заболевания животных и людей.

Одним из негативных результатов применения пестицидов в агроэкологическом аспекте – это нарушение существующего равновесия численности видов в конкретных популяциях. В результате химических обработок погибают не только вредные организмы, но и много полезных видов. Исчезновение их из агроэкосистемы может привести к значительным изменениям в характере функционирования экосистемы в целом. Под воздействием пестицидов может изменяться состав вредных насекомых и клещей, при этом на смену одних вредных организмов приходят другие.

В то же время, как показывает многолетняя практика, применение пестицидов является составной частью современной технологии выращивания сельскохозяйственных культур, без применения которых нельзя получить необходимые для населения продукты питания. В связи с этим многие исследователи и практики высказываются против сокращения или полного отказа от использования химических средств защиты растений.

Персистентность пестицидов в почве зависит от применяемой дозы и формы их внесения, адсорбционной способности, повторности обработок, распределения препарата в почве, типа почвы, добавок к пестицидам разных веществ, его рН, температуры, влажности, комбинации пестицидов и тому подобное.

Важную роль в снижении и предотвращении негативных последствий интенсивного применения пестицидов в земледелии играет контроль за содержанием их остатков в объектах окружающей среды, растениеводческой продукции, кормах и продуктах питания растительного происхождения. Учет результатов контроля над остатками пестицидов позволяет существенно снизить или устранить полностью негативные последствия применения пестицидов. Нужно помнить, что систематическое применение пестицидов в земледелии приводит к тому, что они становятся постоянным экологическим фактором, который изменяет и формирует макро- и микроценозы.

Одним из путей решения проблемы загрязнения почвы пестицидами является усовершенствование их ассортимента. Наиболее перспективными пестицидами в этом отношении могут быть органические соединения фосфора, производные алифатических карбоновых кислот, производные карбаминовой и тиокарбаминовой кислот. В последние годы увеличился ассортимент пестицидов в виде эмульсии и смачиваемых порошков, которые применяются путем опрыскивания, а также препаратов, в виде гранул.

**Загрязнения почв минеральными удобрениями.** Современное земледелие базируется на широком использовании минеральных удобрений как одного из основных средств повышения плодородия почвы и получения высоких урожаев сельскохозяйственных культур. Однако, избыточное, недостаточно обоснованное использование минеральных удобрений приводит к загрязнению почвы, накоплению их в кормах, поверхностных и грунтовых водах.

Учитывая это, нужен четкий контроль над правильным их использованием. Например, применение удобрений можно регламентировать агротехническими и санитарно-гигиеническими нормативами, нормой удобрений на единицу площади, соотношением питательных элементов для отдельных культур, сроками и способами внесения.

Институтом почвоведения и агрохимии УААН разработаны рекомендации относительно эколого-токсического регламентирования использования удобрений, согласно которого предусматривается вносить не больше 140 кг/гектар азота под озимую пшеницу (160 кг/гектар в случае орошения), 100 кг/гектар – под озимую рожь и ярый ячмень,

120 кг/гектар – под кукурузу (180 кг/гектар в случае орошения), 65 кг/гектар – под гречиху, 75 кг/гектар – под просо, 170 кг/гектар – под рис, 160 кг/гектар – под сахарную свеклу, 120 кг/гектар – под картофель, 90 кг/гектар – под табак, 60 кг/гектар – под огурцы, столовую свеклу и морковь.

Одновременно рекомендуется сбалансировать азотные удобрения с фосфорными и калийными, бактериальными, а в отдельных случаях и с микроэлементами.

Загрязнение почвы предопределено не только количеством внесенных минеральных удобрений, но и низкой культурой химизации земледелия, использованием несовершенных технологий выращивания сельскохозяйственных культур, а также применением примитивных машин.

### **3.3.2. Основные принципы микробной биоремедиации почв**

Почва, в отличие от других компонентов природной среды, не только геохимически аккумулирует компоненты загрязнений, но и выступает как природный буфер, контролирующий перенос химических элементов и соединений в атмосферу и гидросферу. Токсичные вещества постепенно накапливаются в почве. Это способствует изменению химического состава почв, нарушению единства геохимической среды и живых организмов. Знание особенностей воздействия химических веществ на биологические процессы в почве и механизмов устойчивости почв и растений к загрязнению должно стать основой для разработки методов предотвращения негативных последствий загрязнения.

**Ремедиация почвы** – это восстановление и очистка почв, загрязненных и истощенных техногенными загрязнителями, такими как пестициды, нефтепродукты, тяжелые металлы и др.

**Цель ремедиации** как активной формы охраны природы заключается в защите и восстановлении природных ресурсов, включая почвенные. При этом используемые технологии не должны нарушать биологического равновесия в природе, эффективно разлагать загрязнители без образования токсичных продуктов деструкции и восстанавливать плодородие почв.

До недавнего времени проблема обезвреживания земельных участков осуществлялась весьма примитивно: загрязненная почва собиралась

бульдозером и транспортировалась на контролируемые свалки. Почва в основном выступала либо в качестве приемника загрязняющих веществ (поллютантов), где они разлагались и откуда постепенно перемещались в растения и окружающую среду, либо в качестве хранилища, где некоторые из них могли сохраняться много лет.

Существует *два подхода к стандартам на очистку загрязненных почв*:

- ❖ многофункциональный – это когда ремедиация почв позволяет устранить комплекс токсичных веществ;
- ❖ по конечному результату – это когда очистку почвы осуществляют в отношении определенного токсического соединения.

**Биоремедиация** – это методы, основанные на использовании для очистки почв от поллютантов биологических агентов. Преимущественно в них используются микроорганизмы, такие как грибы и бактерии, но иногда используются и растения. В основном этот комплекс методов можно представить в виде двух групп: методы *ex situ* и методы *in situ*.

**Методы *in situ***. Когда используется биоремедиация *in situ* загрязненная почва из района загрязнения не удаляется. Эти технологии более дешевые, так как не требуют землеройных работ, а так же от них меньше запыление воздуха. При помощи специального оборудования в загрязненный участок почвы вводится кислород, которым стимулируется аэробная биодеградация поллютантов, а также рост микроорганизмов. Также для стимуляции биодеградации в почву могут вводиться питательные вещества, например, азотсодержащие удобрения, вызывающие ускоренный рост микроорганизмов и убыстряющие их метаболизм. В ФРГ разработан также способ, при котором используется передвижная установка, с помощью которой одновременно проводится вспашка и введение суспензии микроорганизмов.

**Методы *ex situ***. Когда используется биоремедиация *ex situ*, загрязненный слой почвы снимается, и его очистка от поллютантов происходит за пределом мест загрязнения, что значительно удорожает технологию. Но у этих методов есть и преимущества: требуется меньше времени, и процесс очистки находится под полным контролем. Одной из технологий *ex situ* является применение биореакторов. Сначала из почвы извлекаются камни,

затем ее перемешивают для однородности, добавляют воду, и происходит образование глинистой суспензии. В которую, в свою очередь, вводятся микроорганизмы, производящие очистку почвы от поллютанта. Для микроорганизмов в реакторе создают оптимальные условия. После очистки и высушивания производят возврат почвы в окружающую среду.

Для ремедиации загрязненных территорий биологические технологии являются наиболее предпочтительными вследствие своей экологической безопасности, низкой себестоимости работ и достаточно высокой эффективности, что было неоднократно продемонстрировано при решении различных экологических задач. Поэтому разработка и внедрение в практику эффективных технологий биоремедиации почв, загрязненных токсичными химическими соединениями, крайне актуальна.

При кажущейся простоте решения данной задачи *возникает ряд трудностей*. *Во-первых*, необходимо выделить технологичные (пригодные для промышленного использования и безопасные для людей) микроорганизмы; *во-вторых*, подобрать условия их культивирования; *в-третьих*, необходимо правильно выбрать время, метод и дозу внесения биодеструкторов в почву. Кроме всего вышперечисленного, необходим контроль за интегральной токсичностью почвы с целью гарантии безопасности продуктов деструкции поллютантов и достаточной степени очистки почвы.

*Наиболее эффективным способом поиска микроорганизмов-деструкторов является выделение микробных изолятов из природных почв, длительное время загрязняемых сельскохозяйственными ядохимикатами или промышленными отходами аналогичного состава.* В ходе длительной, многолетней эволюции микроорганизмы, находящиеся в почве, постепенно приспосабливаются к наличию этих токсикантов в их среде обитания. На первом этапе естественной селекции у некоторых микроорганизмов появляются ферменты (оксидазного типа), защищающие микробную клетку от воздействия токсикантов. На втором этапе селекции микроорганизмы начинают утилизировать (разлагать) эти вещества и использовать полученную энергию для обеспечения своей жизнедеятельности. Со временем такие микроорганизмы наследуют приобретенные признаки и передают своему потомству. Признак деградирующей способности в отношении токсичных соединений постепенно закрепляется генетически. Несмотря на высокую скорость размножения микроорганизмов, эти процессы в почве

занимают десятилетия. Поэтому методологически наиболее целесообразно исследовать образцы почв на территориях старых складов ядохимикатов, сельскохозяйственных полей (где эти вещества использовались в производстве и затем накапливались в почве), промышленных предприятий по производству пестицидов.

В ходе всесторонних лабораторных исследований проводят селекцию микроорганизмов, способных наиболее активно разлагать в почве и/или воде целевой поллютант. Оценивают неприхотливость микроорганизмов для культивирования, степень и сроки деструкции загрязнителя, интегральную токсичность почвы до и после микробной биоремедиации.

Затем отобранные штаммы микроорганизмов-деструкторов проверяют на безопасность для теплокровных животных. Токсикологические испытания проводят на лабораторных линиях белых мышей и крыс по наиболее строгим критериям, принятым в международной практике для оценки безопасности штаммов микроорганизмов-продуцентов лекарственных препаратов. Этими критериями являются вирулентность, токсичность, токсигенность и диссеминация в органах и тканях лабораторных животных.

Только после комплекса лабораторных исследований приступают к испытаниям микроорганизмов в полевых условиях. По результатам химических анализов и оценки интегральной токсичности почвы до и после биоремедиации судят об эффективности проведенных работ. Это позволяет гарантировать безопасное культивирование и применение в окружающей среде микроорганизмов для биоремедиации почв.

На основании проведенных лабораторных и полевых исследований разрабатывают технологию применения «*in situ*» микроорганизмов для биоремедиации почв, загрязненных химическими веществами. Полученные штаммы микроорганизмов-деструкторов депонируют в Международной коллекции промышленных микроорганизмов и патентуют.

Таким образом, разработка технологии биоремедиации почвы, загрязненной каким-либо химическим веществом, – длительный, многостадийный процесс, требующий совместной работы специалистов различного профиля: микробиологов, химиков-аналитиков, биохимиков, биотехнологов и токсикологов. Эта работа, несмотря на ее длительность и многопрофильность, позволяет в итоге разрабатывать эффективные, экологически безопасные и малозатратные технологии биоремедиации почв.

### **Контрольные вопросы**

1. Дайте определение почвы.
2. Дайте краткую территориальную классификацию почв.
3. Кратко охарактеризуйте каждый тип почвы.
4. Какие существуют виды плодородия почвы?
5. Кратко охарактеризуйте каждый из видов плодородия почв.
6. Какие основные факторы повышения плодородия почв?
7. Что такое окультуривание почв?
8. Какие существуют методы окультуривания почв?
9. Дайте краткую характеристику каждому методу окультуривания почв.
10. Как связан процесс образования почвы и деятельность микроорганизмов?
11. Какие функции почвенных микроорганизмов?
12. Дайте краткую характеристику функциям почвенных микроорганизмов.
13. Что такое загрязнение почвы?
14. Какие основные виды загрязнения почв?
15. Кратко охарактеризуйте основные виды загрязнения почв.
16. Дайте определение ремедиации и биоремедиации почвы.
17. Назовите и дайте определения основным методам биоремедиации почвы.

#### ГЛАВА 4. СОВРЕМЕННЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ВЕДЕНИЯ ЗЕМЛЕДЕЛИЯ

В почве необходимо поддерживать, а во многих случаях и восстанавливать плодородие. *Урожай и плодородие – не две проблемы, а две стороны одной медали*, и, чтобы народ был сыт, а почвы тучны, нужно *новое направление ведения земледелия*.

Проблема новой концепции земледелия состоит *в получении высококачественной экологически чистой продукции при условии сохранения плодородия почв*. Один из путей решения этой проблемы – разработка и внедрение новых биотехнологий в агропромышленный комплекс (ЭМ-технологии, «зеленые удобрения», генная инженерия сельскохозяйственных растений).

В Украине сложились благоприятные условия для выращивания экологически безопасной сельхозпродукции. Эта ситуация возникла вследствие того, что украинские аграрии из-за недостатка средств, даже в традиционном промышленном производстве агропродукции мало используют химические препараты. В Украине пока почти отсутствует внутренний рынок экологически безопасной продукции, что связано с высоким уровнем цен на неё и низкой платежеспособностью основной массы населения. Вместе с тем Украина уже успела заявить о себе на международном рынке экологически безопасных продуктов. На начало 2004 года в Украине сертифицировано 240 тыс. га земли, как рентабельной и экологически безопасной.

В табл. 6 (по данным организации SOIL SURVEY) приведены площади в некоторых странах, сертифицированные под выращивание экологически безопасной продукции.

Таблица 6 – Площади, сертифицированные под выращивание экологически безопасной продукции

Страна	Площадь, млн. га
Австралия	10
Аргентина	2,96
США	0,95
Бразилия	0,842
Уругвай	0,76
Великобритания	0,725
Германия	0,697
Испания	0,665
Франция	0,509
Канада	0,479
Боливия	0,364
Китай	0,301
Австрия	0,3
Чили	0,285
<b>Украина</b>	<b>0,24</b>
<b>Всего в мире</b>	<b>24,07</b>

В Украине, для решения вопроса экологически безопасной продукции, необходимо создать и внедрить такую технологию производства сельскохозяйственной продукции, которая запрещает или значительно ограничивает использование синтетических комбинированных удобрений, пестицидов, регуляторов роста и пищевых добавок. Эта технология должна базироваться на правильном использовании севооборота, применении в качестве удобрений растительных остатков, компостов, других органических отходов производства и использовании биологических средств борьбы с вредителями и сорняками. Технология должна быть основана на естественном повышении урожайности и улучшении структуры почвы. Конечной целью такой технологии является постепенный переход на «нулевую обработку» почвы. Не последнюю роль, а может одну из ведущих ролей, при переходе на такую технологию могут сыграть ЭМ-технологии.

#### 4.1. ЭМ-технологии

*ЭМ-технологии* – это способы применения эффективных микроорганизмов в сельском хозяйстве (растениеводство, животноводство), в быту и для оздоровления человека. Эта группа получила общее название – *Эффективные Микроорганизмы* (ЭМ), *Effective Microorganisms* – (ЕМ).

Современные биотехнологии позволяют выращивать в «пробирке» огромные массы микроорганизмов. Поэтому нет ничего невозможного в том, чтобы искусственно выращивать комплексы почвенных бактерий и вносить в почву именно их, а не удобрения.

Следует отметить, что для эффективного применения полезных микроорганизмов при внесении их в почву необходимо обеспечить некоторое начальное минимальное их количество (затравку). При этом будет гарантироваться, что количество биологически активных веществ, произведенных микроорганизмами, окажется достаточным для желательных воздействий на урожай.

ЭМ-технология была разработана профессором Университета Риукиус в Окинаве (Япония), доктором сельскохозяйственных наук Терио Хига в 1980 году. Он определяет полезные микроорганизмы как «эффективные микроорганизмы» (ЭМ). Это *новый взгляд на роль и применение полезных микроорганизмов*, где они могут служить микробным регулятором для сдвига естественного микробиологического равновесия в почве в сторону улучшения ее состояния и плодородия, ускорения роста растений, их устойчивости против вредителей, обеспечения экологической безопасности.

На основании своей концепции доктор Терио Хига разработал микробную затравку – эффективные микроорганизмы и технологию ее применения для разных культур растений и видов почв, которая привлекла внимание специалистов во всем мире.

Изучая почвенную жизнедеятельность, Терио Хига исследовал около 4-х тысяч видов основных почвенных микроорганизмов. Ему удалось сделать *удивительное открытие*: оказывается, что в мире микроорганизмов 95 % всех видов являются «нейтральными» и только 5 % – «лидеры». Если в почве преобладают позитивные (эффективные) «лидеры», то эти 95 % действуют в унисон с ними. При этом достигается позитивные эффекты:

почва оздоравливается и растения хорошо растут. И наоборот, если «лидеры» патогенные (негативные), то результат будет отрицательным: рост растений замедляется, они становятся больными и слабыми, не могут конкурировать с сорняками, повреждаются вредителями; теряется способность к высокой продуктивности без помощи дорогостоящих и экологически небезопасных ядохимикатов и минеральных удобрений.

В результате многолетних исследований (около 30-ти лет) Т. Хига отобрал *130 лидирующих (эффективных) микроорганизмов*, которые охватывают и выполняют все функции по питанию растений, защите и оздоровлению почвенной среды; сумел объединить их в одном препарате под названием «ЕМ-1». Уникальность этого препарата заключается в том, что в нем объединены микроорганизмы, условия жизнедеятельности которых, различны, противоположны. В препарате сосуществуют анаэробные и аэробные, теплолюбивые и хладолюбивые виды. Это обеспечило препарату универсальность и широкий спектр применения. Хига и не предполагал, к каким потрясающим результатам приведет открытие ЭМ.

ЭМ-культуры не содержат генетически изменённых микроорганизмов. ЭМ составлены из смешанных культур микроорганизмов, которые имеются в естественной среде во всём мире. В одну биокультуру удалось соединить большую группу микроорганизмов, которая сосуществует в режиме активного обмена источниками питания.

**К Эффективным Микроорганизмам** можно отнести следующие **основные группы микроскопических обитателей почвы**:

*Фотосинтезирующие бактерии* – независимая, самоподдерживающаяся группа микроорганизмов. Эти бактерии синтезируют полезные вещества из корневых выделений растений, органических остатков и даже вредных газов (например, сероводород), используя солнечный свет и тепло почвы как источник энергии. Полезные вещества, выделяемые этими бактериями, включают в себя аминокислоты, нуклеиновые кислоты, биологически активные вещества и сахара, способствующие развитию и росту растений. Эти метаболиты поглощаются растениями непосредственно (без перевода их в более простые формы), а также являются субстратами для других полезных развивающихся микроорганизмов. Поэтому, при увеличении

числа фотосинтезирующих бактерий в почве увеличивается содержание других эффективных микроорганизмов.

*Молочнокислые бактерии* также являются весьма важным компонентом ЭМ. Они производят молочную кислоту из сахаров и других углеводов, синтезируемых фотосинтезирующими бактериями и дрожжами. Молочная кислота является сильным стерилизатором. Она подавляет и угнетает рост и размножение патогенной микрофлоры при этом не нанося вреда полезным бактериям. Молочная кислота ускоряет разложение органики, способствует разложению лигнинов и целлюлозы.

Молочнокислые бактерии способны подавлять распространение гриба *Fusarium*, который вызывает болезни растений. Вообще, увеличение численности *Fusarium* ослабляет растения. Это состояние вызывает развитие других болезней и часто кончается внезапной вспышкой численности нематод. При подавлении молочнокислыми бактериями распространения гриба *Fusarium*, численность нематод будет постепенно снижаться.

*Азотфиксирующие микроорганизмы* ассимилируют атмосферный азот и закрепляют его в виде азотных соединений, создавая таким образом запасы азота в почве. Одним из таких микробов является *Azotobacter*, который фиксирует атмосферный азот в присутствии кислорода, переводя его в нитриты и нитраты, которые легко усваиваются растениями. *Azotobacter*, кроме фиксации азота, синтезирует и выделяет в почву различные витамины и биостимуляторы роста. Ещё одной свободноживущей бактерией, способной фиксировать азот, является *Clostridium pasteurianum*. Конечно, свободноживущие микроорганизмы накапливают меньше азота в почве, чем клубеньковые (род *Rhizobium*) азотфиксирующие микроорганизмы, живущие в тесном симбиозе с корневой системой различных культурных растений. Эти микроорганизмы играют очень важную роль в земледелии. Фиксируемый ими азот, непосредственно через корневую систему, сразу поступает в растение.

*Дрожжи* также являются составной частью ЭМ. Они синтезируют полезные для роста растений вещества из аминокислот и сахаров, продуцируемых другими бактериями и корнями растений. Биологически активные вещества типа гормонов и ферментов, произведенных дрожжами, стимулируют точку роста и, собственно, рост корня. Кроме того, в результате

бродильных процессов, осуществляемых дрожжами, происходит естественное разрыхление почвы и улучшение её структуры.

*Грибы* содержатся в почве в большом количестве. Видовой состав очень разнообразен и зависит от условий почвообразования. Наиболее широко представлены в почве роды плесневых грибов. Они образуют ветвящийся мицелий, который густо переплетает массу органических остатков в почве. Грибы разлагают в почве органическое вещество, продуцируя этиловый спирт, сложные эфиры и антибиотические вещества. Они подавляют запахи и предотвращают заражение почвы вредными насекомыми и их личинками.

*Актиномицеты* – плесневидные бактерии или лучистые грибы, являются переходной формой между бактериями и грибами. В почве их содержится меньше, чем бактерий и грибов, но значение их в почвообразовании очень велико. Все представители актиномицетов – аэробы, поэтому живут они преимущественно в верхних горизонтах почв. Актиномицеты образуют простейший одноклеточный мицелий, часть которого обычно погружается в разлагающееся органическое вещество, а другая часть располагается на его поверхности. Роль актиномицетов в почвообразовательном процессе заключается в том, что они хорошо разлагают органическое вещество почвы, особенно такие труднорастворимые соединения, как клетчатка, лигнины, парафины и воск. Актиномицеты синтезируют антибиотические вещества, которые подавляют рост и развитие патогенных бактерий и грибов. Актиномицеты могут сосуществовать с фотосинтезирующими бактериями. Таким образом, обе группы улучшают состояние почвы, увеличивая антимикробную активность.

Следует подчеркнуть, что необходимо позаботиться о том, чтобы Эффективные Микроорганизмы успешно адаптировались в почве. Трудно ожидать должного эффекта от них в бедных песчаных либо глинистых почвах, так как почти полное отсутствие питательной среды негативно сказывается на активности микроорганизмов, никак не влияя на структуру подобных почв. Но даже небольшое добавление органики для продуктивной активности микроорганизмов группы ЭМ неизбежно ведет к полезному изменению структуры бедных почв – непрерывное воспроизводство микроорганизмов в процессе переработки органики способствует непре-

рывному и устойчивому формированию гумуса, так нужного для роста растений.

Отсюда ясно, что *от состояния почвы зависит эффективность внесения в нее микроорганизмов*, при этом свойства почв определяют, какие виды из ЭМ будут наиболее успешно развиваться с максимальным эффектом, а какие не смогут оказать существенного положительного воздействия. Разумеется, собственная микрофлора почвы взаимодействует с ЭМ и ее роль может быть очень важной для достижения конечного эффекта.

**На основе ЭМ-технологий** были разработаны **уникальные ЭМ-препараты** такие, как:

- *японские*: EM-1, EM-A, EM-5, EM-X Gold, Bokashi, EM-Ceramics;
- *российские*: Байкал ЭМ-1, Сияние-1, Сияние-2, Сияние-3, Бокаши,

ЭМ-керамика;

- *украинские*: Байкал ЭМ-1-У, ЭМ-А (Эмочка), Бокаши, ЭМ-керамика.

Эти популярные препараты заслужили признание в разных странах мира. Их успешно применяют в сельском хозяйстве, животноводстве, быту, медицине, строительстве.

**При использовании ЭМ-технологий достигаются следующие эффекты:**

*Сельское хозяйство:*

- ✓ увеличение урожайности в 2–5раз;
- ✓ увеличение скорости роста и созревания;
- ✓ устойчивость к заболеваниям и вредителям;
- ✓ быстрая переработка органики в ЭМ-компост;
- ✓ устойчивость растений к экстремальным погодным условиям;
- ✓ улучшение вкусовых качеств;
- ✓ улучшение сохранности урожая;
- ✓ улучшение структуры почвы;
- ✓ выращивание натуральных, экологически безопасных ЭМ-продуктов;
- ✓ снижение финансовых затрат.

*Животноводство:*

- ✓ уменьшение падежа;

- ✓ увеличение прироста массы;
- ✓ увеличение надоев;
- ✓ увеличение плодовитости;
- ✓ повышение качества мясомолочной продукции;
- ✓ быстрое заживление ран;
- ✓ устранение запахов.

*Здравоохранение:*

- ✓ очищение организма от шлаков и радионуклидов;
- ✓ лечение и профилактика различных заболеваний;
- ✓ изучается возможность лечения онкологических заболеваний;

*Жилищное хозяйство:*

- ✓ очищение и получение качественной воды;
- ✓ применение в системах канализации, очистных сооружениях отстойниках для устранения патогенной микрофлоры, зловонных запахов;
- ✓ быстрая переработка кухонных органических отходов.

*Применение в быту:*

- ✓ создание благоприятного микробиологического фона в помещении;
- ✓ устранение пыли в помещениях;
- ✓ устранение неприятных запахов;
- ✓ дополнение к моющим средствам.

*Строительство:*

- ✓ дополнение ЭМ в различные стройматериалы (пластмасса, краска, клей, строительные растворы, железобетон, асфальт).

В Украине ЭМ-технологии массово стали набирать обороты лишь в течение последних 5–6 лет. Большая заслуга в продвижении этой идеи принадлежит Всеукраинской общественной организации «Клуб органического земледелия», беспорному лидеру в сфере популяризации и практического внедрения ЭМ-технологий в Украине. Украинские микробиологические препараты (Байкал ЭМ-1-У, ЭМ-А (Эмочка), Бокаши) широко применяются для осенней и весенней обработки почвы, корневого полива и внекорневых подкормок, приготовления компоста, обработки семян, в качестве естественного биостимулятора для рассады и комнатных горшечных культур и даже для борьбы с сорняками.

Учеными разных стран неоднократно делались попытки скопировать Японскую технологию (препарат «EM-1»). Полностью раскрыть секрет никому не удалось. Оригинальная продукция на основе концентрата EM-1 распространяется корпорацией EMRO через официальные представительства разных стран. Представительство EMRO, фирма «ЭМ-Украина» находится в г. Кировограде.

*В заключении*, хотелось бы сказать, что **основные цели ЭМ-технологий** заключаются в создании оптимальных условий для развития полезной микрофлоры, приводящей к оздоровлению почвы, а также в повышении плодородия почвы и урожайности возделываемых культур; в производстве достаточного количества безопасных продуктов питания для поддержки и улучшения здоровья человека; в создании производства этих продуктов экономически выгодным для производителей, фермеров, дачников; в уважении природы и в ответственности за сохранение окружающей среды; в очистке загрязненных территорий.

#### 4.2. Органическое земледелие – «зеленое удобрение»

Наступило время переосмысленного отношения к земле и природе вообще. В связи с этим активно возрождается органическое земледелие, а «зеленые удобрения» становятся особо актуальными. **Одно из важных правил органического земледелия** – почва не должна оставаться неиспользованной и открытой. Длительно (в течение недель и дольше) открытые участки почвы подвержены значительному ухудшению структуры и обеднению. При полном отсутствии контроля и конкуренции начинается массовое заселение сорняками, которые тоже используют полезные вещества из почвы, не давая ей ничего взамен. Любая зелень дает почве возможность сохранять структуру, накапливать азот в почве и поддерживать симбиоз почвенных микроорганизмов. Даже зимой микробы-азотфиксаторы восстанавливают до 40 % азотных соединений, а под слоем мульчи их деятельность более активна. *Мульча* – это любой материал, укрывающий почву сверху. Таким образом, повышение плодородия почвы без применения химических удобрений и ежегодной перепашки вполне реально и необходимо.

**«Зеленое удобрение»** – это растения-сидераты, на которых строится органическое (природное) земледелие. «Зеленое удобрение» преследует несколько целей и имеет несколько назначений. Одна какая-нибудь культура не может удовлетворить сразу все запросы. Поэтому важно определить, какое действие необходимо в первую очередь, и выбирать соответствующую культуру или определить смесь культур. *«Зелёные удобрения» дадут хороший эффект только в том случае*, если они хорошо растут и развивают достаточное количество зелёной массы. Поэтому они требуют хорошей подготовки почвы, нельзя сеять в не вскопанную или грубо вскопанную почву. Почва должна быть хорошо разрыхлена; семена заделывают неглубоко, особенно мелкие. Само собой разумеется, что чем богаче почва и лучше её водно-воздушный режим, тем лучше растёт зелёное удобрение и тем выше его эффект. Разные виды растений не одинаковы в своих требованиях к условиям произрастания. Одни устойчивы к переувлажнению, другие к засухе. Одни требуют высокого плодородия почвы, другие хорошо растут и на бедных почвах. *При выборе культуры на «зелёное удобрение» важно знать*, как быстро она растёт, какова её продуктивность с точки зрения способности накапливать органическое вещество за счёт фотосинтеза, какими питательными элементами оно обогатит почву, какому ботаническому семейству относится каждая культура.

**Сидератами** называют растения, которые обогащают почву органическим веществом и азотом и тем самым повышают ее плодородие. Сидераты выращивают, а потом закапывают обратно в почву в качестве удобрения. Нередко на гектаре пашни запахивают 35–45 тонн органической массы, содержащей 150–200 кг азота. Почти все сидераты можно использовать в качестве корма для домашнего скота.

При внесении «зеленого удобрения» в почву накапливается не только азот, но и другие питательные вещества. Важно то, что при запашке «зеленого удобрения» полностью исключаются потери накопленного в нем азота. «Зеленое удобрение» в почве разлагается значительно быстрее, чем другие органические удобрения, богатые клетчаткой.

**Посев сидератов.** Высевание семян сидератов можно проводить в весенний или осенний период. Весной их располагают погуще, а осенью – пореже. Для ранневесеннего посева подойдут такие виды сидератов, как

кормовой горох, горчица и овес. Почву на выбранном участке нужно предельно хорошо вскопать.

Посевы сидератов могут быть нескольких видов:

❖ *Уплотненные и самостоятельные.* Уплотненными называют такие посевы сидератов, которые выращиваются на так называемых смешанных площадках, по соседству с основными культурами или другим сидератом.

При самостоятельном способе посева для сидератов отводятся отдельные участки для культивирования в течение одного сезона. В таком случае их можно размещать как на всей территории поля, так и на отдельных его участках. При этом они могут быть сохранены в течение короткого срока, между периодами вегетации предшествующих и последующих культур. В таких случаях говорят о промежуточном (вставочном) типе сидерата.

❖ *Кулисные и сплошные.* При кулисном способе посева сидераты высевают, формируя грядки в виде полос, которые могут иметь различную ширину. Скошенную зеленую часть растений при этом рекомендуется использовать для удобрения соседней полосы-гряды.

Полосы сидератов размещают главным образом в междурядьях основных садово-огородных культур. Кроме того, при расположении поперек линии склона такие посадки помогут предотвратить размыв почвы. В этих целях лучше всего выращивать астрагал, клевер, люпин и люцерну.

В некоторых случаях целесообразно совместить кулисный и сплошной способы высевания семян сидератов. Например, окультуривая песчаные массивы в нечерноземной зоне, участок первые несколько лет занимают сплошной культурой многолетнего люпина. Потом распахивают так, чтобы запаханные полосы чередовались с незапаханными. Запаханые полосы используют потом под продовольственные или кормовые культуры и удобряют их укосной массой с полос, где продолжают выращивать люпин.

❖ *Пожнивные и подсевные.* Пожнивные посевы сидератов рекомендованы для районов с влажным, затяжным и теплым осенним периодом. Такие зеленые удобрения можно применять при выращивании кормовых корнеплодов, свеклы, пшеницы и кукурузы.

Подсевной подзимний метод возделывания сидератов часто используется в субтропических районах с влажным климатом и мягкой зимой. В та-

ком случае посев следует производить в период с сентября по октябрь. Запашку при этом нужно делать с наступлением весны и установлением теплой погоды.

**Виды сидератов.** Сидераты, используемые на «зелёное удобрение», делятся на следующие виды:

**1. Бобовые** (люпин, фасоль, соя, чечевица, горох посевной и полевой, люцерна, донник, вика яровая и озимая, сераделла, клевер, эспарцет, бобы кормовые, сачевичник и др.).

*Люпин* (*Lupinus polyphyllus* Lindl) Подчеркивая большое значение люпинов в земледелии, академик Д. Прянишников еще в 1924 г. писал: «Люпину несомненно принадлежит крупное будущее в деле улучшения наших песчаных почв: тут люпин будет заменять и суперфосфатный завод, разлагая кислыми выделениями фосфорит, и завод воздушной селитры или синтетического аммиака, связывая азот воздуха бактериальной тканью своих клубеньков, притом все это за счет солнечной энергии». Люпины в отличие от других бобовых растений хорошо растут на кислых почвах. Менее всего требуется ухода за многолетним люпином. Благодаря холодоустойчивости это растение вызревает даже на севере. На одном месте многолетний люпин может произрастать в течение 8–10 лет и более. В первый год жизни растение не цветет, а образует прикорневую розетку с 10–15 пластинками пальчатосложных листьев. Массовое цветение и плодоношение его начинаются со второго года жизни. Под посев многолетнего люпина отводятся склоны участков, пустоши, запольные поля и т.д., после чего его масса измельчается и запахивается (перекапывается). Норма посева люпина при сплошном рядовом способе составляет 30–40 кг/га, широко-рядном способе – 5–10 кг/га. Время запахивания массы люпина – фаза цветения – начало образования бобов. В качестве сидератов используется и однолетний кормовой люпин в занятых парах: укосная масса идет на зеленый корм или силос, а отава – на удобрение под озимые. По содержанию алкалоидов в зеленой массе различают алкалоидные (горькие) и безалкалоидные (сладкие) люпины. Первые используют только на удобрение, вторые следующим образом: надземную массу – на корм скоту, а корневые и пожнивные остатки – на удобрение. Обладая высокой способностью фикс-

сировать атмосферный азот, люпин обеспечивает этим элементом не только себя, но и следующую за ним культуру.

*Горох (Pisum sativum)* – быстро растёт и быстро развивает большую зелёную массу. Холодоустойчивое растение, рекомендуется для северных районов в смеси с овсом. Обогащает почву азотом и органическим веществом. При разбросном посеве норма высева 15 г/м<sup>2</sup>.

*Люцерна (Medicago)* – род однолетних и многолетних трав или полукустарников семейства Бобовые, объединяющий 83 вида. Представители рода в основном обитают в Средиземноморском районе. Эти травы обогащают почву азотом, так как обладает способностью усваивать атмосферный азот. При высоких урожаях (100 ц/га сена), люцерна, например, фиксирует до 300 кг/га азота, а при еще более высоких – до 500–600 кг/га ежегодно. Из этого количества непосредственно поступает в почву при культуре люцерны около 1/3, т.е. от 100 до 200 кг/га. При этом положительное влияние люцерны на режим питания прослеживается в течение 3-х лет.

*Донник (Melilotus)* – растение, требующее нейтральных почв. Имеются однолетние и двулетние формы. Если выращивать донник как двулетнюю культуру, то в 1 кг почвы накапливается 22–24 мг азота – это более 200 кг на гектар. Как известно, если азота в почве 17 мг/кг и больше, то минеральных азотных удобрений уже не требуется, его хватит на самый высокий урожай любой культуры. Из-за мощного развития корневой системы донник хорошо использует влагу подпахотного слоя почвы. Благодаря большому весу корней удобрительная ценность донников даже при сравнительно невысоком урожае надземной массы весьма значительна.

*Вика яровая (Vicia sativa)* – выращивается на «зелёное удобрение» в районах с холодными зимами, где озимая вика вымерзает. Часто используется в смеси с овсом, бобами. Высевают её рано весной, а также во второй половине лета и заделывают в почву до цветения. Вика не требовательна к почве, хорошо переносит низкие отрицательные температуры, засуху и затенение. Вику сеют рядами или вразброс на глубину 1 см, норма высева – 7–9 г/м<sup>2</sup>. Вика – хороший предшественник для требовательных к азоту культур.

*Сераделла посевная (Ornithopus sativus)* – род растений семейства Бобовые. Сераделла – влаголюбивое растение, хорошо растет на легких

слабокислых почвах. При достаточном увлажнении сераделла хорошо растет даже на бедных песчаных и супесчаных почвах. Сераделлу высевают ранней весной как самостоятельную культуру либо подсевают к озимым или яровым злаковым культурам (овес, рожь). Сераделла обогащает почву азотом, кальцием, фосфором. Зелёную массу сераделлы можно использовать и как питательный корм для скота.

*Клевер (Trifolium)*. Корни клевера несут на своих ветвях клубеньки, как это встречается и у многих других бобовых, внутри которых живут особые бактерии (*Rhizobium leguminosorum* или *Bacillus radicolica*), способные задерживать азот и передавать его растению в удобной для ассимиляции форме. Это обстоятельство объясняет накопление азота в почве, где рос клевер. Для получения нужного эффекта клевер требует не менее двух лет выращивания, поэтому для садового участка его применение ограничено. Можно использовать в междурядьях плодовых культур. Для этой цели годится клевер белый, красный (луговой) и инкарнатный. *Белый клевер* обогащает почву азотом и калием, растёт очень быстро; устойчив к холоду, но не выносит кислой реакции почвы и поэтому нуждается в известковании. Посев – весной или летом, перед цветением белый клевер заделывают в почву. Норма высева – 2,8 г/м<sup>2</sup>. *Красный клевер* пригоден для районов с хорошим увлажнением. Высев в начале лета, заделка весной перед цветением. *Инкарнатный клевер* не устойчив к вымерзанию и может использоваться только в южных районах. Характерной особенностью клевера является то, что единственными насекомыми-опылителями, способными его опылять, являются шмели и пчёлы. Эта особенность играет большую роль в приспособленности клевера.

*Эспарцет (Onobrychis viciifolia Scop.)* – род растений из семейства Бобовые. Известно до 80 видов, дико растущих в средней и южной Европе, в северной Африке и в западной Азии. Это – травы, полукустарники или мелкие кустарники, усаженные обильными шипами. Из всех видов наиболее обыкновенным является *Onobrychis viciifolia Scop.* (иначе *Onobrychis sativa Lam.*), дико растущий по полям, холмам, лугам. Эта многолетняя трава (до 60 см высоты), голая или прижатопушистая, а иногда даже мохнато-пушистая. Эспарцет выращивают в полевых, кормовых и почвозащитных севооборотах, поэтому предшественниками его могут быть раз-

личные культуры. В кормовых севооборотах эспарцет размещают после зерновых культур и кормовых корнеплодов. При залужении склонов его высевают без покрова в смеси с мятликовыми травами. Эспарцет довольно засухоустойчив. Растение обладает хорошей устойчивостью в травостое, может держаться в полевых условиях 3–5 лет. Лучшими компонентами для эспарцета в травостое являются костер безостый, овсяница луговая; в засушливых условиях – житняк и пырей бескорневищный; в условиях орошения – ежа сборная. Эспарцет чувствителен к низким температурам, при малом снежном покрове не выносит больших морозов. К почвам он не требователен, хорошо растет на щебенистых и песчаных почвах, но лучшими для него считаются черноземы и почвы, богатые известью. Эспарцет не выносит близкого стояния грунтовых вод.

*Бобы кормовые (Vicia faba)* – неотъемлемая часть органического земледелия: обогащают почву азотом, фосфором, калием и органическим веществом, высвобождают труднорастворимые фосфаты и переводят их в доступную форму. Кормовые бобы разрыхляют своими корнями нижние слои почвы, увеличивают аэрацию, подавляют нематоды. Бобы лучше других растений семейства Бобовых растут на тяжёлых почвах. Посевы можно оставлять под зиму, весной корни и остатки погибших растений заделывают в почву. Бобы можно использовать в смеси с викой и горохом. Глубина заделки семян 4–6 см. Высев рядами или вразброс, норма высева – 25–30 г/м<sup>2</sup>.

**2. Крестоцветные** (рапс, сурепка, редька масличная, горчица белая).

*Рапс (Brassica napus L)* – обогащает почву органическим веществом, фосфором и серой. Рапс не переносит сырые почвы, тяжелые глинистые участки и заболоченные почвы. При выращивании рапса требуется применение минеральных подкормок. Лучшие почвы для выращивания рапса – глубокие структурные суглинистые и глинистые с большим запасом микроэлементов и питательных веществ, с водопроницаемой подпочвой. Рапс хорошо предотвращает рост сорняков, будучи посаженным между многолетними плодово-ягодными культурами, а также повышает плодородие почвы. Выдерживает заморозки до минус 5 °С.

*Масличная редька (Raphanus sativus L)* – однолетнее растение семейства Крестоцветных, сильно разветвленное и раскидистое растение высо-

той 1,5–2,0 метра с цветками бело-фиолетовой окраски, холодостойкое, влаголюбивое, теневыносливое и урожайное. Высота побегов у масличной редьки 1,5–1,8 метра. Период от начала всходов до цветения около 40 дней. За один сезон можно получить 2–3 севооборота. Сеять редьку масличную можно в любые сроки с ранней весны до поздней осени, наилучшие сроки – июнь–июль. Если ее посеять в конце июля – начале августа, то до поздней осени она успеет нарастить много зеленой массы. Для высева пакет семян (50 гр) смешать со стаканом сухого песка, разбросать по участку и заборонить. Оптимальная глубина заделки семян составляет 2–3 см. Расход семян 30–40 г на 10 м<sup>2</sup>. Перекопку почвы с оборотом пласта производить по мере накопления зеленой массы в период цветения. Редька масличная хорошо связывает азот, в смеси с викой яровой и другими бобовыми накапливает до 200 кг биологического азота на гектаре. Посев редьки масличной в виноградниках стимулирует рост и развитие виноградной лозы. Масличная редька также обладает фитосанитарными свойствами – уничтожает возбудителей болезней некоторых растений, активно подавляет нематоды. Благодаря быстрому росту масличная редька забивает сорняки, даже пырей.

*Горчица белая (Sinapis alba)*. Одно из важных достоинств горчицы белой – ее роль в севообороте. Выделения корневой системы горчицы содержат органические кислоты, которые при взаимодействии с почвой высвобождают труднорастворимые фосфаты, переводят ряд элементов питания из ранее недоступной в легко усваиваемую растениями форму, обогащают почву калием. Используя углекислый газ из воздуха, горчица обогащает почву органическими веществами, одновременно улучшая ее рыхлость, водо- и воздухопроницаемость, особенно на тяжелых глинистых и суглинистых почвах. Кроме того, сами эти растения способны усваивать из почвы макро- и микроэлементы, недоступные другим растениям, также корневые выделения оказывают и мощное фитосанитарное воздействие против накопления в почве, например, таких распространенных болезней картофеля, как фитофтороз, ризоктониоз, парша клубней, фузариозные гнили. Поражение клубней картофеля этими болезнями снижается. Кроме того, установлено снижение в почве численности проволочника. Запашка горчицы поздней осенью также способствует гибели этого вредителя из-за

нарушения условий его перезимовки. Горчица скороспела, быстро развивается и, даже при недостатке тепла, в короткий срок может сформировать значительный урожай зелёной массы, который может использоваться как «зелёное удобрение», являющееся источником органического вещества для растений и почвенных микроорганизмов.

### **3. Злаковые** (пшеница, рожь, овес, ячмень).

*Озимая рожь* (*Secale cereale*) и *овес* (*Avena*) менее чем другие культуры требовательны к почвам, эти культуры произрастают практически на всех типах почв. Корневая система названных культур проникает на большую глубину, обладает повышенной усвояющей способностью, что позволяет растениям извлекать питательные вещества из труднорастворимых соединений. Озимая рожь и овес менее требовательны к предшественникам, обе культуры отличаются быстрым ростом. Эти культуры способны в очень короткий срок, всего за 1,5–2 месяца, сформировать значительный урожай зеленой массы. Конечно, и озимая рожь и овес по своим удобрительным свойствам уступают люпину. Но по перечисленным выше достоинствам с ними трудно сравниться. Озимую рожь высевают в конце августа, иногда в первой декаде сентября. К этому времени освобождаются площади из-под картофеля и других ранее убранных культур. Поэтому озимая рожь высевается на любом свободном участке, лишь бы уложиться в оптимальные сроки. Осенью на этом участке больше никакие работы не проводятся. Зеленую массу запахивают в почву, как правило, 5–15 мая, в это время наступают оптимальные сроки посадки (посева) многих овощных культур. Рожь является очень хорошим растением для улучшения физических свойств почвы, но её недостаток – сильное иссушающее действие на почву. Поэтому её посев в междурядьях плодовых деревьев можно использовать только в условиях достаточного увлажнения, иначе урожай плодов будет сильно снижен. Овес можно возделывать на садовом участке или огороде в течение всего вегетационного периода. Эти культуры можно выращивать отдельно, но лучше в смеси. Ранней весной овес высевается на площадях, где не предусматривается выращивание основных огородных культур, или под плодовыми деревьями. Через 1,5–2 месяца овес выбросит метелку, зеленая масса заделывается в почву. В течение вегетационного периода овес в качестве сидерата можно выращивать на всех площадях,

освободившихся от основных культур. Последний срок посева овса – первая декада августа. В этом случае зеленая масса будет заделываться в конце сентября или в начале октября, то есть до наступления морозов. Самый важный вид овса с хозяйственной точки зрения – овес посевной (овёс кормовой или овёс обыкновенный). Другие виды овса являются сорными растениями, среди них овсюг – злостный сорняк.

### **4. Гречишные** (гречиха).

*Гречиха* (*F. sagittatum Gilib*) – отличается быстрым ростом, хорошо усваивает органические фосфаты и обогащает почву органическим веществом, фосфором и калием. Длина корней достигает 80–150 см. Из-за способности хорошо рыхлить землю может быть рекомендована для посадки на тяжелых почвах, особенно между плодовыми культурами. Гречиха – прекрасный медонос, лучший сидерат под плодовыми деревьями и кустами, не иссушает почву. Гречиха особенно рекомендуется на бедных, тяжелых, кислых почвах, т.к. её глубокая разветвленная корневая система очень хорошо улучшает почвенную структуру. Гречиху сеют с середины мая до августа на глубину 2–3 см вразброс или рядовым способом с расстоянием 10–15 см (норма посева от 7 до 12 г/м<sup>2</sup>), заделывают в почву в начале цветения. Надземную часть можно скосить и использовать на компост.

### **5. Сложноцветные** (подсолнечник).

*Подсолнечник однолетний или масличный* (*Helianthus annuus*) – это однолетнее растение семейства Астровые, с глубокой корневой системой (1,5–2,0 м), производит много компостной массы. Этот вид выращивается практически во всём мире и используется для производства подсолнечного масла. В этот же род входит многолетнее растение топинамбур или земляная груша (*Helianthus tuberosus*), у которого в пищу используются корнеплоды. Если использовать подсолнух как «зеленое удобрение», то придется отказаться от его солнечного цветка – не давать культуре сильно разрастаться, подрезать, когда поднимется примерно на полметра. Может расти на любых почвах с pH от очень кислой до щелочной.

### **6. Гидрофилы** (фацелия).

*Фацелия* (*Phacelia tanacetifolia Benth*) – однолетнее растение, ценный медонос. Фацелия очень быстро растёт, образуя большую зелёную массу и плотную корневую систему. Корень фацелии охватывает глубину почвы до

20 см за период роста зеленой массы, при этом происходит улучшение структуры почвы – она становится рыхлой и воздухопроницаемой. Фацелия может произрастать на любых типах почв. Фацелия неприхотлива, обладает холодоустойчивостью, может поздней осенью переносить заморозки до минус 9 °С, поэтому можно высевать сразу после оттаивания почвы. Фацелия обогащает почву гумусом, азотом, фосфором, калием; хорошо рыхлит почву; заметно увеличивает урожайность овощных и плодовых культур.

**Приёмы использования «зелёного удобрения».** Эффективность «зеленого удобрения» сильно зависит от возраста растений. Молодые и свежие растения очень богаты азотом, быстро разлагаются в почве, поэтому после их заделки основную культуру можно сажать уже через 2–4 недели. Но здесь кроется опасность: нельзя заделывать слишком большое количество сырой растительной массы, поскольку она будет киснуть, а не разлагаться. Растения более зрелого возраста разлагаются медленнее, но их плюс в том, что они обогащают почву большим количеством органического вещества. Рекомендуется производить заделку сидератов в период бутонизации до начала цветения на глубину 6–8 см на тяжелых почвах, а на легких почвах на глубину 12–15 см. Нужно учесть тот факт, что молодые растения содержат ингибиторы роста и после их заделки надо выждать до 2-х недель. При заделке в почву растений в более зрелом возрасте, когда они сформировали жесткий стебель, запасы стабильного органического вещества увеличиваются, но может возникнуть временный дефицит азота, так как микроорганизмам, разлагающим их, не хватает азота, и они потребляют его из почвы. В данной ситуации целесообразно применение ЭМ – препаратов.

#### 4.3. Генная инженерия сельскохозяйственных растений

**Генная инженерия** – это область биотехнологии, включающая в себя действия по перестройке генотипов. По определению академика А.А. Баева **генетическая** или **генная инженерия** – это конструирование *in vitro* функционально активных генетических структур (рекомбинантных ДНК), иначе, – **создание искусственных генетических программ**.

*Целью генной инженерии* является изучение тонких механизмов функционирования генетического аппарата эукариот, включая человека, которые другими путями исследовать невозможно. Вместе с тем, генная инженерия ставит перед собой обширные практические задачи, немало из которых уже решено. Прежде всего, это получение путем бактериального синтеза ряда лекарственных средств, например, инсулина, интерферонов.

Важнейшим достижением генной инженерии является создание диагностических препаратов, в частности, для выявления такого опасного заболевания как СПИД. Получение так называемых трансгенных растений открывает принципиально новые возможности для растениеводства в создании сельскохозяйственных культур, устойчивых к экстремальным воздействиям и инфекционным поражениям. Это далеко не полный перечень практических свершений генной инженерии. *Основу генной инженерии* составляют эксперименты с рекомбинантными молекулами ДНК.

*Рекомбинантными ДНК* (согласно определению Национального института здоровья США) называют молекулы ДНК, полученные вне живой клетки, в пробирке (*in vitro*), путем соединения природных или синтетических фрагментов ДНК с молекулами, способными реплицироваться в клетке. Основу эксперимента составляет встраивание природной или чужеродной ДНК в вектор, который представляет собой плазмиду или геном вируса. Затем рекомбинантную молекулу ДНК вводят, как правило, в бактериальную клетку, где она реплицируется. Этот процесс называется *трансформацией*. Клетка, содержащая такую рекомбинантную молекулу, размножается, образуя клон трансформированных клеток.

Решение таких проблем, как нехватка продуктов питания и дефицит белка, вероятно, будет найдено с помощью биотехнологии за счет снижения стоимости производства аминокислот – необходимого компонента корма домашних животных, благодаря разработке методов получения белка одноклеточных (кормового белка), переработке парафинов и другого доступного сырья (целлюлозы, агропромышленных или сельскохозяйственных отходов, сточных вод), а так же *путем клонирования растений и отбора высокоэффективных разновидностей*. В перспективе на основе методов рекомбинантных ДНК биотехнология позволит освоить синтез

растительных белков и добиться искусственного фотосинтеза и фиксации азота.

Сегодня мы можем отметить, что *более чем за четверть века своего существования геновая инженерия* не причинила никакого вреда самим исследователям и *не принесла ущерба ни природе, ни человеку*. Сверхспособности геновой инженерии как в познании механизмов функционирования организмов, так и в прикладном плане весьма внушительны, а перспективы поистине фантастичны.

#### ***4.3.1. Биотехнология в повышении продуктивности растений***

Прогресс в сельскохозяйственном производстве и производстве продуктов питания в целом зависит от почвенных и энергетических ресурсов, которые в принципе могут быть увеличены, но обычно рассматриваются как ограниченные. Достижения в этих областях зависят также от возобновляемых биологических ресурсов, таких, как культурные растения, домашние животные и микроорганизмы. Повышение продуктивности последних, то есть, их биологической продуктивности, является предметом активных исследований естественных наук.

Удельный вес биотехнологических методов в этих исследованиях постоянно возрастает (в частности в создании и размножении новых культивируемых сортов растений). Методы биотехнологии применяются также при использовании микроорганизмов для получения полезных веществ, приготовления продовольственных продуктов, их консервирования и улучшения питательных свойств. В этой области усилия ученых направлены на увеличение выхода продукции, повышение ее питательности, увеличение устойчивости растений к неблагоприятным погодным условиям, болезням и вредителям, наряду с поддержанием достаточного разнообразия среди культурных видов и сохранением генетических ресурсов, которые заложены в близких к ним диким видам. Концепции и методы генетики растений быстро развиваются благодаря новейшим открытиям молекулярной биологии и особым присущим растениям свойствам.

Более того, совершенствование техники культивирования растительных клеток и тканей открывает новые перспективы для улучшения культурных видов и сортов. Достигнутые результаты по селекции новых сортов

сельскохозяйственных растений можно записать в актив традиционных исследований по генетике растений. Используемая для их получения техника заключалась в переносе методом скрещиваний большого количества генов.

Поскольку большинство растений, употребляемых в пищу, содержат по несколько наборов хромосом (три -, тетра -, и даже гексаплоидные виды), у потомства при таких скрещиваниях может появляться весьма широкий спектр признаков, а роль селекционера состоит в отборе среди этого потомства особей с нужными признаками. В настоящее время усилия ученых направлены на выведение новых сортов, устойчивых к болезням, вредителям и засухе, и которые можно будет выращивать без применения удобрений и пестицидов. Такого рода исследования базируются уже не на методах скрещивания, перекрестной гибридизации и перекрестного опыления.

*Новые разработки, в которых используются культуры клеток, протопластов и тканей, а так же методы геновой инженерии, нацелены на создание новых сортов направленным воздействием на молекулярные и клеточные механизмы, которые обеспечивают биологическое разнообразие.* Эти новые методы значительно сокращают затраты времени и труда, но им свойственна и некоторая неопределенность результатов. Техника рекомбинантных ДНК и ее последующая адаптация к миру растений способствуют преодолению барьеров, препятствующих межвидовому скрещиванию. Она позволяет также увеличить генетическое разнообразие, которому нанесло значительный ущерб разрушение среды обитания диких видов, что в свою очередь сделало многие культурные сорта чрезвычайно уязвимыми для патогенных микроорганизмов и паразитов.

Клонирование нуклеиновых кислот позволяет также выявлять вирусы в растительной ткани при выбраковке зараженных растений. Так, в США выделили РНК вириона веретеновидности клубней картофеля, синтезировали соответствующую ей ДНК-копию и клонировали ее. Избавиться от этого вириона крайне тяжело, а идентификация его в клубнях картофеля позволяет выбраковывать зараженный материал и получать впоследствии хорошие урожаи благодаря использованию только здоровых клубней. Клонированная ДНК – точное и надежное средство обнаружения ви-

русов и вириодов, поскольку она способна к гибридизации с вирусной РНК.

В агробиотехнологии используются и растения и их клетки. Для широкомасштабного производства клонов растений используются меристемы, а культуры растительных клеток применяют для синтеза различных веществ, например, алкалоидов и других метаболитов растений.

*Меристемы* (образовательные ткани) – это обобщающее название для тканей растений, состоящих из интенсивно делящихся и сохраняющих физиологическую активность на протяжении всей жизни клеток, обеспечивающих непрерывное нарастание массы растения и предоставляющих материал для образования различных специализированных тканей.

В настоящее время разработаны методы получения культур растительных тканей, ферментативного получения протопластов в больших количествах, слияния протопластов.

**Культура растительных тканей.** Культура растительных тканей, техника которой заметно усовершенствована, позволяет:

➤ получить многочисленные популяции в сравнительно короткое время и в ограниченном пространстве. В таких популяциях могут быть получены мутанты, которые можно применять в селекционных целях;

➤ идентифицировать линии растений с повышенной скоростью фотосинтеза, а, следовательно, и с более высокой продуктивностью.

*Методика вегетативного размножения.* Для обозначения растений полученных бесполом размножением, еще в 1903 г. Уэббер из Министерства сельского хозяйства США предложил термин «клон» (греч. klon – черенок или побег, пригодный для размножения растений). Этот термин применяется и для обозначения «размножения» ДНК (клонирование генов в бактериях). В соответствии со строго научной терминологией клонирование подразумевает организмы, полученные из единичных клеток посредством митотических делений. Такое определение не означает, однако, точного фенотипического или генотипического соответствия между клоном и особью, из которой он произошел. Действительно, в некоторых видах наблюдались значительные различия между клоном и его родителем.

В 1949 г. было установлено, что апикальная меристема (небольшой участок не более 0,1 мм, расположенный на кончике стебля и состоящий из

недифференцированных клеток; участок постоянно растет и образует органы растения) практически не содержит вирусов. Было обнаружено, что семена, полученные от зараженного растения, также не содержат вирусов. В 1952 г. Морелю и Мартену из Национально агрономического института (Франция) удалось получить безвирусные георгины из зараженных растений. Сорт картофеля бель-де-фонтен, который практически исчез в результате заражения вирусом, был возрожден из здоровой меристемы, выделенной из зараженного растения и культивированной *in vitro*.

Клетки меристемы делятся, и она образует маленькое растение с 5–6-тью листочками. Выросший за несколько дней стебель разрезают на 5–6 микрочеренков, которые при благоприятных условиях вырастают в нормальные растения. Для каждого вида растений размножаемого таким образом, подбор благоприятных условий требует много лет работы. Но *преимущества рассматриваемого метода значительны*: так, при культивировании меристемы куста малины *in vitro* удастся получить потомство численностью до 50 000 растений, тогда как обычная техника черенкования обеспечивает получение только 50 растений в год; культура меристемы персикового миндаля, который служит подвоем для прививок и с большим трудом размножается при использовании обычной методики, позволяет получить 1 млн. растений в год.

*Другое преимущество культуры меристемы in vitro*, особенно применительно к однолетним культурам, *заключается в получении молодых растений*. Эта техника, которая с 1965 г. все шире используется садоводами и сотрудниками питомников в промышленно развитых странах, требует особо тщательного выбора условий культивирования и питательной среды, состав которой меняется в процессе развития растения; культуры необходимо ежедневно проверять и проводить выбраковку аномальных растений с измененным числом хромосом. Сейчас разрабатывается техника культивирования, не требующая столь высокой точности.

Описанная *методика вегетативного размножения сопряжена со значительным риском*, который заключается в уменьшении генетического разнообразия: поскольку все особи данного растительного вида происходят из единственной меристемы, новые болезни могут оказаться для них катастрофическими, так как эти особи, генетически идентичны (или почти

идентичны) друг другу, обладают одинаковой восприимчивостью к патогенным микроорганизмам или паразитам. Поэтому, наряду с развитием техники для массового производства определенных видов необходимо организовать банки зародышевой плазмы (коллекции семян), с тем, чтобы сохранить генотипы, нужные для поддержания генетического разнообразия.

Некоторые культурные виды размножают вегетативным способом для сохранения существенных сортовых признаков либо потому что они стерильны, либо из-за сложности их геномов (в этом случае половое размножение может вызвать серьезные фенотипические отклонения). У таких вегетативно размножающихся видов иногда возникают клоны, отличающиеся от родительской линии, – это так называемые соматические варианты или спорты, образовавшиеся в результате генетических изменений в клетках меристемы (изменение числа хромосом в клеточном ядре, мутации в определенных генетических локусах, модификации неядерных генов, принадлежащих хлоропластам или митохондриям). От соматических вариантов или спортов происходят некоторые культурные сорта: розовый грейпфрут, апельсин напель, нектарин и некоторые сорта картофеля.

*Успехи*, достигнутые в середине 1970-х гг. в области *вегетативного размножения масличной ткани* методом культуры ткани *in vitro*, заслуживают *особого внимания с точки зрения экономического значения*. Масло гвинейской масличной пальмы экстрагируется из мякоти плодов и идет на приготовление пищевого масла и маргарина, а масло капустной пальмы экстрагируется из косточек плодов и используется для производства мыла, детергентов и косметики. Мировое производство масел гвинейской масличной пальмы и капустной пальмы в 1990–1991 гг. достигало 4,9 млн. тонн. Таким образом, масличная пальма вышла на второе место среди масличных культур, уступая только сое, производство которой за тот же период составило 13,4 млн. тонн. Масличная пальма, живущая более 100 лет, становится малопродуктивной, как только дерево достигнет высоты, при которой уже нельзя достать плоды с земли орудием, снабженным ручкой. Эксплуатационный период продолжается 25–30 лет после прорастания, непродуктивная фаза длится 5 лет. Таким образом, плантации должны обновляться каждые 25 лет, что требует миллионов молодых проростков. С

другой стороны, масличная пальма, имеющая на одном растении мужские и женские цветки, принадлежит к виду, для которого необходимо перекрестное опыление. Это обеспечивает высокую степень изменчивости при образовании потомства.

Методами классической селекции были выведены высокопродуктивные сорта, дающие в 3–4 раза больше масла, чем традиционные сорта. Однако масличная пальма не образует боковых отростков в природных условиях. Это делает практически невозможным ее массовое вегетативное размножение, а при семенном размножении сорт может утратить свои уникальные свойства. Именно поэтому усилия ученых были направлены на проведение клонирования высокоурожайных растений методом культуры тканей *in vitro*. В опытах с масличной пальмой размножение черенкованием *in vitro*, при котором используются небольшие отрезки стебля с несколькими почками, невозможно. В результате от культивирования меристем пришлось отказаться. Было решено получить скопление клеток недифференцированной ткани или каллусы, а затем культивировать эти каллусы вплоть до образования целых проростков.

В первой культуральной среде каллусы из фрагментов листьев развивались в течение 90 дней. При последующем переносе во вторую, а затем и в третью культуральную среду, каллусы превращались в эмбриониды, вполне сравнимыми с эмбриоидами, получаемыми при половом размножении. Затем эмбриониды развивались в молодые проростки с листочками, затем наблюдался рост корней. Все развитие проростка проходило за три месяца. Как и при проращивании семян, проросткам обеспечивалась необходимая температура, влажность и освещенность. Выращенные таким образом растения генетически были идентичны (или почти идентичны) растениям, из листьев которого был получен каллус и, следовательно, сохраняли все его свойства. Именно применение методов биотехнологии в сочетании с методами классической селекции позволило создать высокопродуктивную культуру масличной пальмы и снизить затраты на производство пальмового масла в 3–4 раза.

**Культуры растительных клеток и протопластов.** С тех пор как удалось индуцировать регенерацию целого растения из отдельной клетки, техника культуры растительных клеток стала все шире применяться для

клонирования. Если обработать растительные клетки ферментами (целлюлаза, пектиназа), разрушающими клеточную стенку, можно добиться получения протопласта.

*Протопласт* – активное содержимое растительной клетки. Основным компонент протопласта – белок. У большинства зрелых растительных клеток центральную часть занимает крупная, заполненная клеточным соком вакуоль, главное содержимое которой – вода с растворенными в ней минеральными и органическими веществами. Клеточная оболочка и вакуоль представляют собой продукты жизнедеятельности протопласта. Большую часть протопласта растительной клетки занимает цитоплазма, меньшую по массе – ядро. От вакуоли протопласт ограничен мембраной, называемой тонопластом, от клеточной стенки – другой мембраной – плазмалеммой. В протопласте осуществляются все основные процессы клеточного метаболизма. Наследственный материал клетки главным образом сосредоточен в ядре. От цитоплазмы ядро также отделено мембранами.

Если культивировать протопласты на соответствующей среде, можно добиться их деления. В результате деления протопласты формируют каллус, способный к регенерации с образованием корней и стеблей. В результате таких экспериментов можно получить целое растение всего из одной клетки материнского растения. Полученные растения-регенеранты будут сходны с родительскими линиями как по генотипу, так и по фенотипу.

*Метод слияния протопластов* позволяет увеличивать число и разнообразие растительных гибридов без применения полового размножения. Таким образом, техника получения растений из протопластов позволяет преодолеть обычную изменчивость, характерную для других способов получения клонов. Этот процесс регенерации нашел важное применение в сельскохозяйственной практике.

На этом методе основано получение безвирусных растений, а так же размножение новых культурных сортов, которые обычно не размножаются вегетативно. Биологическое многообразие культур растительных клеток и тканей открывает интересные перспективы получения новых полезных соединений. Исследователи нередко наблюдали, что клетки, растущие в культуре, синтезируют вещества, отсутствующие в целом растении.

Техника слияния протопластов позволяет получить самые разнообразные растительные гибриды, даже между растениями, принадлежащими к разным родам. Эта весьма перспективная техника не зависит от обычного полового размножения, посредством которого удалось, хотя и с большим трудом, получить гибриды пшеницы с рожью (тритикале) и репы с капустой (рафанобрассика). Так было проведено успешное слияние протопластов картофеля и томатов. В результате получен новый гибридный вид «поматы». Эти растения образуют такие же большие клубни, как и картофель, но гораздо более крупные плоды, содержащие алкалоиды (томатин и соланин), унаследованные от томатов. В настоящее время разработаны методы регенерации растений из гибридных клеток после слияния протопластов. Этим методом уже получено множество гибридов декоративных, овощных, зерновых и кормовых видов культурных растений.

#### **4.3.2. Получение трансгенных растений**

Наиболее известное применение биотехнологии в земледелии – это использование трансгенных растений.

*Трансгенные растения* – это растения, в хромосому которых встраивается чужеродный ген. Сельскохозяйственные культуры, измененные с помощью генно-инженерных методов, приобретают устойчивость к болезням и вредителям. Это позволяет резко снизить или даже исключить использование пестицидов, которые накапливаются в почве и сельскохозяйственной продукции. К концу 1980-х годов удалось успешно внедрить новые гены в десятки видов растений и животных – создать растения табака со светящимися листьями; томаты, легко переносящие заморозки; кукурузу, устойчивую к воздействию пестицидов и т.д. Методами генной инженерии созданы трансгенные растения с удлиненным сроком созревания плодов. Такие помидоры, например, можно снимать с куста красными, не опасаясь, что они перезреют при транспортировке. Это томаты Flavr Savr с замедленным созреванием, созданные фирмой «Calgen» (США).

Следует подчеркнуть, что *прибавки урожая трансгенных культур* в первую очередь *обеспечивают снижение потерь от болезней и вредителей, а не повышение продуктивности растений.*

**Одна из важных задач – получение растений, устойчивых к вирусам**, так как в настоящее время не существует методов борьбы с вирусными инфекциями сельскохозяйственных культур. Заражение же сельскохозяйственных культур вирусами, существенно снижает их продуктивность. Например, в случае заражения табака вирусом табачной мозаики вообще делает растения непригодными для использования в промышленности. Введение в растительные клетки генов белка оболочки вируса, делает растения устойчивыми к данному вирусу. Так методами генной инженерии в клетки табака были введены гены белков капсида вируса табачной мозаики. В результате растения приобрели высокую устойчивость к заражению самим вирусом. В настоящее время получены трансгенные растения, способные противостоять воздействию более десятка различных вирусных инфекций.

**Еще одна задача связана с защитой растений от насекомых-вредителей.** Применение химических препаратов для уничтожения вредных насекомых (инсектицидов) не вполне эффективно: во-первых, из-за их токсичности; во-вторых, потому, что дождевой водой они смываются с растений. В генно-инженерных лабораториях Бельгии и США были успешно проведены работы по внедрению в растительную клетку генов, ответственных за синтез инсектицидов бактериального происхождения. Эти гены ввели в клетки картофеля, томатов и хлопчатника. Трансгенные растения картофеля и томатов приобрели устойчивость к колорадскому жуку, растения хлопчатника оказались устойчивыми сразу к нескольким насекомым-вредителям, в том числе и к хлопковой совке. Подобные работы позволили при культивировании этих трансгенных растений снизить применение инсектицидов на 40–60 %.

В настоящее время получением и испытанием генетически модифицированных растений занимаются сотни коммерческих фирм во всем мире с совокупным капиталом более ста миллиардов долларов. В 1999 г. трансгенные растения были высажены на общей площади порядка 40 млн. га, что превышает размеры такой страны, как Великобритания. В США генетически модифицированные растения (GM Crops) составляют сейчас около

50 % посевов кукурузы и сои и более 30–40 % посевов хлопчатника. Это говорит о том, что генно-инженерная биотехнология растений уже стала важной отраслью производства продовольствия и других полезных продуктов, привлекающей значительные людские ресурсы и финансовые потоки. В ближайшие годы ожидается дальнейшее быстрое увеличение площадей, занятых трансгенными формами культурных растений.

Список растений, к которым успешно применены методы генной инженерии, составляет более пятидесяти видов, включая яблоню, сливу, виноград, капусту, баклажаны, огурец, пшеницу, сою, рис, рожь и много других сельскохозяйственных растений, возделывание которых в будущем будет существенно облегчено благодаря генетическим модификациям.

В настоящее время применяют **два основных метода получения трансгенных растений.**

**Первый метод.** Это перенос генов с помощью вируса, поражающего фитопатогенную бактерию *Agrobacterium tumefaciens*. Плаزمид, найденная в клетках *Agrobacterium tumefaciens*, способна переносить часть своей ДНК в растительные клетки. Именно в эту часть плазмиды методами генной инженерии встраивается чужеродный ген. Плазмид трансформируется в клетки бактерий и бактериями, несущими плазмиду, заражают клетки растений, перенося тем самым чужеродный ген в их хромосомы.

**Второй метод.** Это так называемая ДНК-пушка. Этот метод заключается в том, что растительные клетки бомбардируют микроскопическими металлическими частицами, покрытыми молекулами ДНК. Попавшая в клетку ДНК встраивается в ее хромосомы и вызывают деление клетки. Затем, как было описано выше, из этой клетки получают растения-регенеранты.

#### **4.3.3. Биотехнология азотфиксирующих генов**

Весьма важными для повышения эффективности биологической фиксации атмосферного азота, играющего важную роль в круговороте азота в биосфере, являются генетические исследования, начатые еще с конца 50-х годов.

Уже хорошо изучен фермент ответственный за восстановление молекулярного азота до аммония – нитрогеназа. Структура нитрогеназы одинакова у всех азотфиксирующих организмов. Ранее уже говорилось, что при фиксации азота непременным физиологическим условием является защита нитрогеназы от разрушения под действием кислорода.

Лучше всех среди азотфиксаторов изучены ризобии (бактерии рода *Rhizobium*), образующие симбиоз с бобовыми растениями, и свободноживущая бактерия *Klebsiella pneumoniae*. Установлено, что у этих бактерий за фиксацию азота ответственно 17 генов – так называемых *nif*-генов. Все эти гены сцеплены друг с другом и расположены в хромосоме между генами ферментов биосинтеза гистидина и генами, определяющими усвоение шикимовой кислоты. У быстрорастущей ризобии *nif*-гены существуют в форме мегаплазмиды, содержащей 200–300 тыс. пар нуклеотидов.

Среди генов азотфиксации выявлены гены, контролирующие структуру нитрогеназы, белковый фактор, принимающий участие в транспорте электронов, регуляторные гены. Регуляция генов азотфиксации довольно сложна, поэтому *генноинженерный перенос азотфиксирующей функции от бактерий непосредственно высшим растениям в настоящее время уже не обсуждается*. Как показали эксперименты, *даже в самом простом эукариотическом организме – дрожжах не удалось добиться экспрессии *nif*-генов*, хотя они и сохранялись в течение 50 генераций. Эти опыты показали, что азотфиксация свойственна исключительно прокариотическим организмам, в основном рода *Rhizobium*, и *nif*-гены не смогли преодолеть барьер, разделяющий прокариоты и эукариоты, из-за слишком сложной своей структуры и регуляции генами, расположенными вне *nif*-области.

Возможно, более удачным окажется перенос *nif*-генов с помощью Ti-плазмид в хлоропласты, поскольку механизмы экспрессии генов в хлоропластах и в клетках прокариот близки. В любом случае нитрогеназа должна быть защищена от ингибирующего действия кислорода. Кроме того, фиксация атмосферного азота – очень энергоемкий процесс. Вряд ли растение под влиянием *nif*-генов может так кардинально изменить свой метаболизм, чтобы создать все эти условия. *Хотя не исключено, что*

*в будущем методами генетической инженерии можно будет создать более экономно работающий нитрогеназный комплекс.*

*Более реально использование генноинженерных методов для решения следующих задач:* повышение способности ризобии колонизировать бобовые растения; повышение эффективности фиксации и ассимиляции азота путем воздействия на генетический механизм; создание новых азотфиксирующих микроорганизмов путем введения в них *nif*-генов; передача способности к симбиозу от бобовых к другим растениям.

***Первостепенной задачей генетической инженерии для повышения эффективности биологической фиксации азота является создание штаммов ризобии с усиленной азотфиксацией и колонизирующей способностью.*** Колонизация бобовых растений ризобиями протекает очень медленно, лишь единичные из них дают начало клубенькам. Это происходит потому, что местом инвазии ризобии является только одна небольшая область между точкой роста корня и ближайшим к ней корневым волоском, находящимся на стадии формирования. Все остальные части корня и развившиеся корневые волоски растения нечувствительны к колонизации. В ряде случаев сформировавшиеся клубеньки оказываются неспособными фиксировать азот, что зависит от многих растительных генов (уже выявлено не менее пяти), в частности от неблагоприятного сочетания двух рецессивных генов.

Традиционными методами генетики и селекции *удалось получить лабораторные штаммы ризобий с более высокой колонизирующей способностью*. Но они в полевых условиях испытывают конкуренцию со стороны местных штаммов. Повышение их конкурентоспособности, видимо, можно осуществить генно-инженерными методами. Повышение эффективности процесса азотфиксации возможно применением генно-инженерных приемов, основанных на увеличении копий гена, усилении транскрипции тех генов, продукты которых образуют «узкое» место в каскадном механизме азотфиксации, путем введения более сильных промоторов и т.п. Важно повышение коэффициента полезного действия самой нитрогеназной системы, осуществляющей непосредственное восстановление молекулярного азота в аммиак.

Так же изучается возможность *создания новых симбиотических ассоциаций помимо существующих между бобовыми растениями и бактериями рода Rhizobium*. Создание таких ассоциаций между хлебными злаками и азотфиксирующими бактериями, несомненно, будет иметь большое сельскохозяйственное значение.

Возможно так же *введение генов, отвечающих за процесс фиксации азота, непосредственно в геном культурных растений* и без участия бактерий осуществить биологическую фиксацию азота. Если такие растения будут получены, то при их возделывании можно будет отказаться от внесения азотных и бактериальных удобрений. Конечно, это мечта, но следует надеяться – не очень далекого будущего.

В настоящее время *идентифицированы гены, отвечающие за азотфиксацию* у представителей рода *Rhizobium*. Эти гены удалось перенести в другие микроорганизмы, которые не обладали ранее свойством фиксации атмосферного азота, расширив тем самым список азотфиксирующих микроорганизмов. К числу таких микроорганизмов относятся *E. coli*, *B. subtilis*, *Salmonella typhimorium* и др.

В качестве векторов для переноса генов азотфиксации в клетки растений используются и некоторые вирусы. Например, вирус мозаики цветной капусты. К ДНК этого вируса можно присоединить гены, ответственные за фиксацию атмосферного азота и при заражении капусты этим вирусом гены азотфиксации проникают в клетки растения вместе с ДНК вируса. Эти гены транскрибируются в клетках растения вместе с ДНК вируса при его репликации.

Другой возможный вектор – патогенная бактерия *Agrobacterium tumefaciens*. Успех в этой области весьма обнадеживает. Возможно, что в скором будущем с помощью генной инженерии будут сконструированы микроорганизмы, способные фиксировать атмосферный азот и одновременно вступать в симбиотические отношения с хлебными злаками, или будут получены трансгенные растения, способные сами фиксировать атмосферный азот. Это во многом позволило бы решить проблему обеспечения питанием всего населения Земли.

### **Контрольные вопросы**

1. В чем заключается новая концепция ведения земледелия?
2. Что такое ЭМ-технологии?
3. Дайте краткие исторические сведения относительно ЭМ-технологии.
4. Какие бактерии и микроорганизмы относятся к Эффективным Микроорганизмам? Кратко охарактеризуйте эти группы.
5. Какие ЭМ-препараты разработаны на основе ЭМ-технологий?
6. Какие эффекты и в каких областях достигнуты путем использования ЭМ-технологий?
7. Какое основное правило органического земледелия?
8. Кратко охарактеризуйте понятие «зеленое удобрение».
9. Что такое сидераты?
10. Дайте краткую характеристику видов посевов сидератов.
11. Назовите и кратко охарактеризуйте виды сидератов, используемых на «зеленое удобрение».
12. В чем заключаются приемы использования «зеленого удобрения»?
13. Какая основная цель генной инженерии?
14. Дайте краткие сведения про культуру растительных тканей.
15. Дайте краткие сведения про культуру растительных клеток и протопластов.
16. Дайте определение трансгенных растений.
17. Назовите основные задачи, которые ставятся перед трансгенными культурами.
18. Какие существуют основные методы получения трансгенных растений?
19. Охарактеризуйте настоящее и прогнозы на будущее в генетических исследованиях в области повышения эффективности биологической фиксации атмосферного азота.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная агротехнология представляет собой комплекс технологических операций по управлению производственными процессами сельскохозяйственных культур в агроценозах с целью достижения планируемой урожайности и качества продукции при обеспечении экологической безопасности и определенной экономической эффективности.

Сегодня основная задача *агробиотехнологии* – это преодоление отрицательных последствий зеленой революции, которая позволила резко поднять продуктивность сельского хозяйства за счет использования минеральных удобрений, пестицидов и инсектицидов, но вместе с тем принесла колоссальные отрицательные последствия – отравление нитратами и ядохимикатами. При этом упор делается на биологические методы восстановления плодородия почвы и борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур; на переход от монокультур к поликультурам (при этом возрастает выход биомассы с единицы площади сельхозугодий); на использование лесополос в целях снегозадержания; выведение новых высокопродуктивных и обладающих иными полезными свойствами сортов культурных растений, например, засухоустойчивостью или устойчивостью к засолению (следует учесть, что использование мелиорации в земледелии приводит к засолению почв). Новые сорта растений сейчас получают и с помощью генной инженерии (так называемые трансгенные растения или ГМО).

Одной из важнейших проблем в области агротехнологии является *проблема биологической фиксации молекулярного азота* – одного из процессов, определяющих биологическую продуктивность на нашей планете. В связи с этим изучение и решение этой проблемы отнесено к числу *первостепенных задач современной агротехнологии*.

Только умелое сочетание использования минерального и биологического азота позволит осуществлять интенсификацию сельскохозяйственного производства наиболее быстрыми темпами. Необходимо более точно устанавливать приходные статьи баланса биологического азота, как важнейшего критерия плодородия почв и урожайности культур, с учетом почвенно-климатических особенностей различных регионов. Большое значение имеет одновременное комплексное изучение питания растений макро-

и микроэлементами. Решение этой проблемы позволит значительно снизить потери питательных веществ, предотвратить загрязнение окружающей среды, существенно повысить коэффициент использования каждого элемента. Более широкое использование биологического азота в земледелии позволит эффективнее применять бактериальные и минеральные удобрения под зерновые культуры.

Таким образом, можно отметить следующие *наиболее важные практические аспекты проблемы биологического азота на ближайшее будущее*:

1. Эколого-биологическое и агрономическое изучение естественного процесса позволит более полноценно использовать природную фиксацию азота и найти способы ее интенсификации.

2. Знание условий связывания азота биологическим путем в мягких условиях позволит разработать новые способы получения азотных и бактериальных удобрений.

3. Изучение генетико-селекционных основ азотфиксирующего симбиоза бобовых растений с клубеньковыми бактериями, использование генной инженерии, а также ряда достижений биохимии и молекулярной биологии будут способствовать распространению процесса азотфиксации на многие сельскохозяйственные культуры.

4. Расшифровка механизма фиксации азота даст возможность более целенаправленно разработать способы воздействия на этот процесс в природе с целью его интенсификации.

Автор надеется, что предоставленный материал послужит пособием для практического применения в области агротехнологии. В краткой и доступной форме в учебном пособии рассмотрены вопросы об уникальных особенностях биологической фиксации молекулярного азота; о значении и роли ее в микробиологии биоудобрений, в повышении урожайности сельскохозяйственных культур, в новых концепциях современного ведения земледелия в целом.

Автор выражает благодарность инженеру I категории кафедры биотехнологии и аналитической химии Севериной Л.В. за детальную подборку материала, техническое редактирование, а так же компьютерную верстку данного учебного пособия.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атанасов А.И. Биотехнология в растениеводстве / А.И. Атанасов – Новосибирск: ИЦИГСО РАН, 1993. – 241 с.
2. Бабьева И.П. Биология почв / И.П. Бабьева, Г.М. Зенова – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 336 с.
3. Базилинская М.В. Биоудобрения / М.В. Базилинская – М.: Агропромиздат, 1989. – 128 с.
4. Бутенко Р.Г. Биология культивируемых клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе : монография / Р.Г. Бутенко – Москва: ФБК-Пресс, 1999. – 159 с.
5. Валиханова Г.Ж. Биотехнология растений / Г.Ж. Валиханова – Алматы: Конжык, 1996. – 272 с.
6. Воробьев С.А. Земледелие / С.А. Воробьев – М.: Агропромиздат, 1991. – 356 с.
7. Гамзиков Г.П. Агрохимические свойства почв и эффективность удобрений / Г.П. Гамзиков – Новосибирск: Наука, 1989. – 254 с.
8. Глик Б. Молекулярная биотехнология / Б. Глик, Дж. Пастернак – М.: Мир, 2002. – 585 с.
9. Гусев М.В. Микробиология : учебник / М.В. Гусев – М.: Академия, 2003. – 464 с.
10. Давыдов В.В. Основы общей биохимии / В.В. Давыдов, Н.Ф. Клещев – Харьков: НТУ «ХПИ», 2007. – 380 с.
11. Добровольский Г.В. Деграция и охрана почв / Г.В. Добровольский – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 654 с.
12. Ермохин Ю.И. Оптимизация минерального питания сорговых культур / Ю.И. Ермохин, И.А. Бобренко – Омск, 2000. – 118 с.
13. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай / А.А. Завалин – М.: Изд-во ВНИИА, 2005. – 300 с.
14. Звягинцева Д.Г. Микроорганизмы и охрана почв / Д.Г. Звягинцева – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 415 с.
15. Кирюшин В.И. Экологизация земледелия и технологическая политика / В.И. Кирюшин – М.: Изд-во МСХА, 2000. – 473 с.
16. Кретович В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями / В.Л. Кретович – М.: Наука, 1997. – 486 с.

17. Кудеяров В.Н. Цикл азота в почве и эффективность удобрений / В.Н. Кудеяров – М.: Наука, 1989. – 214 с.
18. Кулаковская Т.Н. Оптимизация агрохимической системы почвенного питания растений / Т.Н. Кулаковская – М.: Наука, 1990. – 219 с.
19. Лутова Л.А. Генетика развития растений / Л.А. Лутова, Н.А. Проворов, О.Н. Тиходеев – Санкт-Петербург: «Наука», 2000. – 539 с.
20. Минеев В.Г. Биотехнологическое земледелие и минеральные удобрения / В.Г. Минеев, Б. Дебречени, Т. Мазур – М.: Колос, 1993. – 413 с.
21. Нарциссов В.Т. Научные основы систем земледелия / В.Т. Нарциссов – М.: Колос, 1982. – 328 с.
22. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов: учебник / А.И. Нетрусов – М.: Академия, 2004. – 272 с.
23. Патыка В.Ф. Роль азотфиксирующих микроорганизмов в повышении продуктивности сельскохозяйственных растений / В.Ф. Патыка, А.В. Калиниченко, М.В. Колмаз // Микробиологический журнал, 1997. Т. 59. № 4. – С. 3–14.
24. Печуркин Н.С. Популяционные аспекты биотехнологии / Н.С. Печуркин, А.В. Брильков, Т.В. Марченкова – Новосибирск, 1990. – 173 с.
25. Пирузян Э.С. Основы генетической инженерии растений / Э.С. Пирузян – М.: Наука, 1988. – 304 с.
26. Посыпанов Г.С. Биологический азот: проблемы экологии и растительного белка / Г.С. Посыпанов – М.: Изд-во МСХА, 1993. – 268 с.
27. Рубанов А.М. Основы земледелия и растениеводства / А.М. Рубанов, В.В. Ткачев, А.А. Сучилина – М.: Колос, 1980. – 335 с.
28. Саранин Е.К. Биологизация земледелия. Теория и практика / Е.К. Саранин – М.: АОЗТ «Икар», 1996. – 130 с.
29. Чиканов В.М. Бактериальные удобрения / В.М. Чиканов – Минск: Урожай, 1988. – 94 с.
30. Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, С.В. Дегтярев – М.: Высш. школа, 1998. – 416 с.
31. Шумный В.К. Биологическая фиксация азота / В.К. Шумный – Новосибирск: Наука, 1991. – 230 с.
32. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Ч. I / С.Н. Щелкунов – Новосибирск: Изд-во Новосибирского ун-та, 1994. – 304 с.

Навчальне видання

КЛЕЩЕВ Микола Федосович

**АГРОБІОТЕХНОЛОГІЯ:  
БІОЛОГІЧНА ФІКСАЦІЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТУ**

Навчальний посібник  
для студентів (у т. ч. іноземних)  
біотехнологічного напрямку

Російською мовою

Роботу до видання рекомендувала *М. Г. Зінченко*

В авторській редакції  
Комп'ютерне верстання *Л. В. Северіна*

План 2014 р., поз. 208

Підп. до друку 18.06.14. Формат 60 × 84 1/16. Папір офсетний. Друк – ризографія. Гарнітура Таймс. Ум. друк. арк. 9,8. Обл. – вид. арк. 7,5  
Наклад 100 прим. Зам. № 167. Ціна договірна.

---

Видавничий центр НТУ „ХП”.

Свідоцтво про державну реєстрацію ДК № 3657 від 24.12.2009 р.  
61002, Харків, вул. Фрунзе, 21

---

Друкарня НТУ “ХП”, 61002, Харків, вул. Фрунзе, 21

Посібник включає відомості про біологічні особливості фіксації молекулярного азоту, мікробіологічні основи бактерійних добрив, підвищення продуктивності рослин.

Призначено для студентів біотехнологічного напрямку підготовки за спеціалізацією «Агробіотехнологія».

---

---

Пособие включает сведения о биологических особенностях фиксации молекулярного азота, микробиологических основах бактериальных удобрений, повышении продуктивности растений.

Предназначено для студентов биотехнологического направления подготовки по специализации «Агrobiотехнология».

ISBN 978-6-17-050147-9



9 786170 501479 >