МІКРОБІОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ ТРАНСФОРМАЦІЇ РОСЛИННИХ РЕШТОК КУКУРУДЗИ ЗА ІНТРОДУКЦІЇ В АГРОЦЕНОЗИ МІКРООРГАНІЗМІВ-ДЕСТРУКТОРІВ ОРГАНІЧНОЇ РЕЧОВИНИ

Л. М. Токмакова, І. В. Ларченко, П. В. Ковпак

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН,
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14035, Україна; e-mail: tokmakova_ln@ukr.net

Мета. Дослідити мікробіологічні процеси трансформації рослинних решток кукурудзи за інтродукції в агроценози мікроорганізмів — продуцентів целюлазних ферментних комплексів, які відіграють важливу роль у біодеструкції свіжої органічної речовини. **Методи.** Польові, мікробіологічні, біохімічні, статистичні. **Результати.** В умовах тривалого польового дослідження на чорноземі вилуженому (короткоротаційна сівозмінна: кукурудза на зерно — гречка — соя) досліджено мікробіологічні процеси, які протікають за мінералізації 8 т/га листостеблової маси кукурудзи. Встановлено, що протягом вегетаційного періоду гречки в ґрунті (перший рік після внесення решток кукурудзи) та сої (другий рік після внесення решток) збільшується чисельність целюлозолітичних мікроорганізмів. В агроценозах гречки їх кількість була найвищою у варіанті з використанням *Microbacterium* sp. 6633 і становила 17,7 млн/г ґрунту (значення у контролі — 11,3 млн/г ґрунту). На другий рік після застосування решток кукурудзи найвищі показники чисельності цих мікроорганізмів спостерігали у варіанті з *Bacillus* sp. 6605 — 15,6 млн/г ґрунту за контрольних показників 11,1 млн/г ґрунту. За дії бактерій-деструкторів органічної речовини зростала ферментативна активність ґрунту: целюлазна, переоксидазна та поліфенолоксидазна. Активність целюлази за використання *Pseudomonas* sp. 6650 та *Microbacterium* sp. 6633 зростала в 1,9 раза. За впливу інтродукованих в агроценози мікроорганізмів відзначено зростання показників біохімічного коефіцієнту накопичення гумусу за Муромцевим. **Висновки.** За дії представників родів *Bacillus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* активізуються процеси мінералізації листостеблової маси кукурудзи в чорноземі вилуженому: зростає чисельність целюлозолітичних мікроорганізмів, целюлазна, переоксидазна та поліфенолоксидазна активності. Показники біохімічного коефіцієнту накопичення гумусу за Муромцевим свідчать про підсилення інтенсивності розкладу свіжої органічної речовини за внесення рослинних решток. Зазначені мікроорганізми є перспективними для розробки мікробного препарату, призначеного для оптимізації процесів мінералізації-імобілізації за використання побічної продукції рослинництва.

Ключові слова: ґрунтові мікроорганізми, трансформація органічних решток, ферменти, чорнозем вилужений, кукурудза, гречка, соя.

Вступ. У світовому та вітчизняному землеробстві рослинні залишки сільськогосподарських культур розглядаються як найважливіший ресурс відтворення вмісту органічної речовини й збереження функціональних властивостей ґрунтів в агроценозах [1]. У сучасному аграрному виробництві на перший план щодо вирішення проблеми родючості ґрунтів виходять технології, що забезпечу-

ють повернення поживних речовин у ґрунт за використання рослинних решток та біодеструкторів, створених на основі мікроорганізмів, які характеризуються високою целюлозолітичною активністю, здатністю до колонізації рослинної маси й обмеження розвитку шкідливих бактерій і мікроміцетів [2–5]. У зв'язку з цим сьогодні у багатьох країнах проводяться дослідження, спрямовані на

створення умов для підсилення процесів мінералізації-гуміфікації рослинних решток.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відомо, що невід’ємним компонентом ґрунту є біотична складова, яка характеризується цілісністю взаємодій і впливів. Важливим показником активного функціонування ґрунту є діяльність мікроорганізмів, які здійснюють безперервний процес трансформації органічної речовини [6]. Визначення видового різноманіття, чисельності та активності мікроорганізмів ґрунту є важливим під час дослідження особливостей деструкції органічної речовини, оскільки розклад рослинних і тваринних решток, вивільнення та зв’язування елементів живлення є спеціалізацією мікроорганізмів [7; 8]. Зміни в чисельності мікроорганізмів окремих екологічних груп є індикатором перебігу процесів розкладу органічної речовини ґрунту [9; 10]. До основних показників мікробіологічної активності належать ґрунтове дихання і ферментативна активність, чисельність і біомаса мікроорганізмів.

У багатьох країнах, зокрема і в Україні, широко впроваджують технології пришвидшеної деструкції сидеральної маси, соломи та інших рослинних решток за впливу біодеструкторів [11–13]. У зв’язку з цим дослідження мікробіологічних процесів трансформації органічних речовин у ґрунті, створення умов для підсилення процесів мінералізації свіжої органічної речовини, які сприятимуть підвищенню родючості ґрунтів, є актуальним питанням аграрної науки.

Мета досліджень — дослідити мікробіологічні процеси трансформації рослинних решток кукурудзи за інтродукції в агроценози мікроорганізмів — продуцентів целюлазних ферментних комплексів.

Матеріали та методи. Дослідження проводили в 2016–2020 роках у короткочасній сівозміні (*соя (2015 рік) – кукурудза на зерно – гречка – соя*) на базі дослідного поля Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН відповідно до загальноприйнятих методик [14]. Ґрунт — чорнозем вилужений, який містить 3,03 % гумусу, 95,2 мг/кг азоту легкогідролізованого, 226 мг/кг фосфору, 108 мг/кг обмінного калію, $pH_{\text{сол.}} = 5,30$.

Листостеблову масу кукурудзи сорту Дніпровський 181 СВ (8 т/га) пізно восени

обробляли суспензіями мікроорганізмів і заробляли у ґрунт. Дослідження особливостей процесів мінералізації-гуміфікації в ґрунті проводили в перший рік після застосування решток кукурудзи (за вирощування гречки сорту Ювілейна) та у другий (за вирощування сої сорту Легенда).

Варіанти досліду:

1. Без рослинних решток кукурудзи (контроль).
2. Рослинні рештки кукурудзи, 8 т/га — фон.
3. Фон + *Bacillus* sp. 6488.
4. Фон + *Bacillus* sp. 6605.
5. Фон + *Microbacterium* sp. 6633.
6. Фон + *Pseudomonas* sp. 6650.

Штами бактерій нами селекціоновано раніше за ознакою високої целюлозолітичної активності. Дизайн польового досліду передбачав його розміщення не лише в часі, але й у просторі, що дозволило проводити дослідження інтенсивності деструкції органічної речовини в перший і другий роки після її внесення не одноразово, а системно, тож отримані результати є трирічними.

Площа дослідної ділянки — 50,4 м², повторність досліду — трьохразова.

Ґрунтові зразки відбирали в основні фази органогенезу гречки та сої: гілкування, цвітіння, дозрівання плодів. У динаміці проводили облік чисельності бактерій-амоніфікаторів за висіву ґрунтових розведень на м’ясо-пептонний агар (МПА) та кількості мікроорганізмів, здатних використовувати мінеральні форми азоту — на крохмально-аміачному агарі (КАА) [15], целюлозоруйнівні бактерії підраховували на середовищі Гетчинсона-Клейптона [16], целюлазну активність ґрунту визначали за методом Кислициної, пероксидазну та поліфенолоксидазну активність — за методом Карягиної та Михайловської [17], коефіцієнт мінералізації та іммобілізації Мишустина розраховували за співвідношенням кількості мікроорганізмів, що засвоюють мінеральний і органічний азот [18], біохімічний коефіцієнт накопичення гумусу за Муромцевим визначали за відношенням показників поліфенолоксидазної активності ґрунту до пероксидазної активності [19].

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп’ютерних програм Microsoft Excel та Origin 8. Різницю се-

редніх показників вважали вірогідною за рівня значимості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Як відомо, родючість ґрунту та його раціональне використання в сільськогосподарському виробництві багато в чому визначаються інтенсивністю й спрямованістю біохімічної діяльності мікроорганізмів. Останнє обумовлює швидкість трансформації різних сполук, розкладання рослинних залишків, вивільнення елементів живлення і в кінцевому підсумку — родючість ґрунту [20]. Процес розкладу рослинних решток, складовою яких є целюлоза, безперервно піддається біологічній трансформації за участю ґрунтової мікробіоти [21]. Уміст целюлози в рослинах перебуває в межах 45–80 %. В орному шарі ґрунту кількість її може сягати 5 %, і це є великим резервом ґрунтової родючості. Вивільнений вуглець клітковини у вигляді різних сполук бере участь у формуванні ґрунтової родючості, а вуглекислий газ, що утворюється, є складовою колообігу вуглецю у природі і зокрема бере участь у процесі фотосинтезу [22]. Целюлозолітичні бактерії, розкладаючи рослинні рештки, виділяють у середовище окислювальні ферменти, які впливають на синтез гумусових речовин із продуктів розкладу. Такими продуктами є сполуки типу поліфенолів і органічні азотисті речовини, зокрема амінокислоти [23]. У зв'язку з цим для обґрунтування доцільності застосування целюлозоруйнівних бактерій з метою підсилення процесів мінералізації-гуміфікації рослинних решток важливе значення має вивчення особливостей формування популяцій бактерій та спрямованості мікробіологічних процесів у ґрунті, що супроводжують розклад свіжої органічної речовини.

Результати проведених у 2017 р. мікробіологічних досліджень ґрунту під посівами гречки у фазу цвітіння показали, що чисельність мікроорганізмів, які засвоюють переважно азот органічних сполук, варіювала від 12,6 млн/г ґрунту (у контрольному варіанті без внесення органічних решток) до 24,8 млн/г ґрунту за дії *Bacillus* sp. 6605 (рис. 1 а). Чисельність мікроорганізмів, що засвоюють переважно азот мінеральних сполук, становила 18,3 млн/г ґрунту за значення у контролі 16,1 млн/г ґрунту. Найвищі показники спостерігали у варіанті з *Microbacterium* sp. 6633 — 24,0 млн/г ґрунту (рис. 1 б).

Показник коефіцієнту мінералізації-імобілізації в ґрунті контрольного варіанту без внесення листостеблової маси кукурудзи перебував у межах 1,2–1,5 протягом вегетаційного періоду гречки. Процеси мінералізації-імобілізації інтенсивніше проходили за дії активних штамів целюлозоруйнівних мікроорганізмів ($K_{m-i} = 1,8–2,4$), (рис. 1 г). Цей коефіцієнт показує ступінь розвитку аміلولітичної частини ґрунтового мікробіоценозу і, відповідно, її активність у трансформації вуглеводів ґрунту і зв'язуванні вільного азоту. Чим він вищий, тим інтенсивніше протікають іммобілізаційні процеси, що може свідчити або про дуже велику забезпеченість ґрунту аміачним азотом (це може бути наслідком інтенсивного розвитку аммоніфікаторів), або про появу в ґрунті збідненої азотом органічної речовини (солома, кора дерев і т. п.). В умовах агроценозів занадто велике значення коефіцієнта Мишустина ($> 3–5$) може побічно свідчити про підвищення швидкості розкладання специфічної органічної речовини ґрунту — гумусу. Отже, цей коефіцієнт показує темпи біохімічної трансформації органічної речовини в ґрунті.

Чисельність целюлозоруйнівних бактерій у ґрунті була найвищою за інтродукції в агроценози *Microbacterium* sp. 6633 і становила 17,7 млн/г ґрунту, за значення в контролі 11,3 млн/г ґрунту (рис. 1 в).

За результатами досліджень 2018 р. чисельність целюлозоруйнівних бактерій у ґрунті агроценозів гречки значно зростала за дії *Pseudomonas* sp. 6650 — 34,8 млн/г ґрунту (у контрольному варіанті — 21,3 млн/г ґрунту), що свідчить про активні процеси деструкції органічної речовини.

У 2018 р. чисельність мікроорганізмів та ферментативну активність визначали під час вирощування сої (умови другого року після внесення листостеблової маси кукурудзи). Спостерігали збільшення чисельності амоніфікувальних мікроорганізмів за впливу бактерій-деструкторів органічної речовини: від 10,4 млн/г ґрунту (у контролі) до 13,1 млн/г ґрунту за дії *Bacillus* sp. 6488 (рис. 2 а). Що стосується аміلولітичних мікроорганізмів, то їх кількість також зростала за впливу бактерій-деструкторів органічної речовини, особливо за дії *Bacillus* sp. 6605 — 15,3 млн/г ґрунту за контрольних значень на рівні 12,4 млн/г ґрунту (рис. 2 б).

Коефіцієнт мінералізації-імобілізації варіював від 0,8 до 1,6 за дії *Microbacterium* sp.

6633, у контрольному варіанті значення цього показника були найнижчими — 0,7–1,2 —

а

б

в

г

1. Без рослинних решток кукурудзи (контроль). 2. Рослинні рештки кукурудзи, 8 т/га — фон. 3. Фон + *Bacillus* sp. 6488. 4. Фон + *Bacillus* sp. 6605. 5. Фон + *Microbacterium* sp. 6633. 6. Фон + *Pseudomonas* sp. 6650.

Рис. 1. Вплив інтродукції целюлозоруйнівних бактерій на розвиток ґрунтових мікроорганізмів та інтенсивність процесів мінералізації-імобілізації органічної речовини: а — амоніфікаторів; б — тих, що засвоюють переважно мінеральні сполуки азоту; в — целюлозоруйнівних; г — коефіцієнти мінералізації-імобілізації (перший рік після внесення рослинних решток кукурудзи, агроценози гречки).

1. Без рослинних решток кукурудзи (контроль). 2. Рослинні рештки кукурудзи, 8 т/га — фон. 3. Фон + *Bacillus* sp. 6488. 4. Фон + *Bacillus* sp. 6605. 5. Фон + *Microbacterium* sp. 6633. 6. Фон + *Pseudomonas* sp. 6650.

Рис. 2. Вплив інтродукції целюлоруйнівних бактерій на розвиток ґрунтових мікроорганізмів та інтенсивність процесів мінералізації-іммобілізації органічної речовини: а — амніфікаторів; б — тих, що засвоюють переважно мінеральні сполуки азоту; в — целюлоруйнівних; г — коефіцієнти мінералізації-іммобілізації (другий рік після внесення рослинних решток кукурудзи, агроценози сої).

і вказували на врівноваженість процесів мінералізації та іммобілізації (рис. 2 г). Досліджувані зразки ґрунту з агроценозів сої харак-

теризуються значною чисельністю целюлоруйнівних мікроорганізмів (15,6 млн/г ґрунту за дії *Bacillus* sp. 6605) у дослідних варі-

антах із внесенням листо-стеблової маси кукурудзи (рис. 2 в). Невисоку чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів спостерігали у контрольному варіанті (11,1 млн/г ґрунту), що зумовлено недостатністю вмісту органічних рослинних решток.

За розвитку мікроорганізмів у ґрунті набуває особливого значення їхня ферментативна активність [24; 25]. Синтез і розкладання органічних речовин, мобілізація елементів живлення рослин відбувається внаслідок найскладніших реакцій, зумовлених присутністю в ґрунті великої різноманітності ферментів, дія яких є одним із показників біологічної активності та родючості ґрунтів [26; 27]. Ферменти — біологічні каталізатори білкової природи, які відіграють важливу роль в обміні речовин, регулюючи біологічні процеси. Вони синтезуються мікробіотою, рослинами й надходять у ґрунт з їх виділеннями, після відмирання й лізису мікробних клітин та рослинних решток. Кількість присутніх у ґрунті ферментів залежить від біомаси та метаболічної активності біоти.

Целюлоза, яка може складати третину рослинної тканини, є одним із поновлюваних джерел вуглецю [28]. Ферментативний гідроліз целюлози здійснюється целюлазами й має низку переваг перед хімічним гідролізом [29]. Його ефективність здебільшого зумовлюється активністю компонентів целюлазного комплексу. Щодо хімізму дії ферменту целюлази, то вона каталізує гідроліз 1,4-глікозидних зв'язків в целюлозі. Молекула целюлози складається із залишків целобіози, пов'язаних між собою глікозидними зв'язками у вигляді довгого ланцюга.

За ферментативного гідролізу целюлоза спочатку розпадається на молекули целобіози, яка за дії β -глюкозидази (целобіази) розпадається на дві молекули глюкози [30].

На чорноземі вилуженому в умовах польового досліду встановлено, що протягом вегетаційного періоду в ґрунті агроценозів гречки за впливу мікроорганізмів-деструкторів органічної речовини активізується целюлазна активність у фазу гілкування рослин від 40 мкг глюкози на 20 г ґрунту (фон — листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га) до 75 мкг глюкози на 20 г ґрунту (фон + *Microbacterium* sp. 6633), у фазу цвітіння — від 40 мкг глюкози на 20 г ґрунту (фон — 8 т/га листостеблової маси кукурудзи) до 78 мкг глюкози на 20 г ґрунту (фон + *Pseudomonas* sp. 6650), досягання плодів — від 39 мкг глюкози на 20 г ґрунту до 74 мкг глюкози на 20 г ґрунту (табл. 1).

Досліджувані нами ферменти поліфенолоксидаза та пероксидаза належать до групи оксидаз, які є каталізаторами в окисновідновних реакціях у твердій та рідкій фазах ґрунту. Особлива роль оксидаз під час синтезу та розкладу органічних речовин ґрунту: за даними окремих робіт, роль поліфенолоксидази пов'язують із синтезом гумусу, а пероксидази — із його мінералізацією, що зі свого боку тісно пов'язано із родючістю ґрунту. Пероксидаза — залізорпфіриновий фермент, простетичною групою якого є ферипротопорфірин. Цей фермент реагує з молекулярним киснем, може переносити електрони тільки до пероксиду водню або його похідних. Пероксидаза каталізує реакцію

Таблиця 1. Целюлазна активність ґрунту за впливу целюлозоруйнівних мікроорганізмів

Варіанти досліджу	Целюлазна активність ґрунту, мкг глюкози на 20 г ґрунту		
	фази розвитку рослин		
	гілкування	цвітіння	досягання плодів
Без внесення рослинних решток, контроль	42 ± 3	20 ± 1	39 ± 2
Листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га — фон	40 ± 2	40 ± 1	39 ± 3
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6488	45 ± 2	63 ± 2	73 ± 3
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6605	59 ± 2	63 ± 2	65 ± 2
Фон + <i>Microbacterium</i> sp. 6633	75 ± 2	70 ± 2	56 ± 1
Фон + <i>Pseudomonas</i> sp. 6650	58 ± 1	78 ± 2	74 ± 3

розкладу пероксиду водню й використовуються як акцептор пероксиду водню. Поліфенолоксидаза належить до купрумвмісних ферментів, атом міді в ньому присутній не у формі купрумпорфіринового комплексу, а пов'язаний з ферментом, як іон міді (II) [31–33]. Збагачення ґрунту переоксидазою в значній мірі пов'язано з життєдіяльністю коренів. Після збирання урожаю переоксидазна активність швидко знижується, не дивлячись на те, що в ґрунт потрапляє велика кількість відмерлих залишків, що свідчить про участь живих коренів у збагаченні ґрунту ферментом. Переоксидаза нижча під чистим паром, а під рослинами у залежності від їх біологічних особливостей, вона зростає.

На чорноземі вилуженому у варіантах досліду переоксидазна активність ґрунту з агроценозів гречки є інтенсивнішою за використання мікроорганізмів-деструкторів органічної речовини: у фазу гілкування — від 0,322 (фон — листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га) до 0,380 мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С (фон + *Pseudomonas* sp. 6650) та у фазу цвітіння — від 0,265 (фон — листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га) до 0,288 мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С (фон + *Microbacterium* sp. 6633) (табл. 2).

Як пероксидазі, так і поліфенолоксидазі в ґрунтах належить важлива роль у процесах гумусоутворення. Дослідження динаміки поліфенолоксидазної активності ґрунту в агроценозах гречки демонструє певні особливості залежно від впливу мікроорганізмів-деструкторів органічної речовини. Поліфенолок-

сидазна активність збільшується у фазу гілкування — від 0,27 мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С (фон — листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га) до 0,41 мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С (фон + *Bacillus* sp. 6605) та у фазу достигання плодів — від 0,28 мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С (фон — листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га) до 0,38 мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С (фон + *Pseudomonas* sp. 6650) (табл. 3).

Для оцінки процесу трансформації органічної речовини в ґрунті використовують біохімічний коефіцієнт накопичення гумусу за Муромцевим [19]. Біохімічний коефіцієнт — це співвідношення поліфенолоксидазної й пероксидазної активності ґрунту, яке свідчить про темпи біохімічного утворення та накопичення гумусу в ґрунті. Вважається, що з підвищенням зазначеного коефіцієнта підсилюється інтенсивність розкладу органічної речовини та підвищується синтез гумінових і фульвокислот ґрунту. Дослідженнями виявлено, що показники біохімічного коефіцієнту свідчать про підсилення інтенсивності розкладу органічної речовини за внесення рослинних решток, оброблених суспензіями мікроорганізмів, проти контрольних варіантів (табл. 4).

В умовах польового досліду визначено, що переоксидазна активність ґрунту агроценозів сої є інтенсивнішою у варіантах за післядії використаних целюлозоруйнівних бактерій (табл. 5) і особливо у фазу гілкування — від 0,376 мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С (фон — листостеблова маса

Таблиця 2. Пероксидазна активність у ґрунті за вирощування гречки сорту Ювілейна 100 за впливу целюлозоруйнівних мікроорганізмів

Варіанти досліду	Пероксидазна активність, мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С		
	фази розвитку рослин		
	гілкування	цвітіння	достигання плодів
Без внесення рослинних решток, контроль	0,314 ± 0,005	0,314 ± 0,004	0,319 ± 0,005
Листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га — фон	0,322 ± 0,006	0,265 ± 0,005	0,349 ± 0,007
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6488	0,350 ± 0,007	0,277 ± 0,006	0,310 ± 0,003
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6605	0,293 ± 0,004	0,281 ± 0,006	0,322 ± 0,005
Фон + <i>Microbacterium</i> sp. 6633	0,327 ± 0,006	0,288 ± 0,006	0,312 ± 0,003
Фон + <i>Pseudomonas</i> sp. 6650	0,380 ± 0,007	0,257 ± 0,005	0,327 ± 0,004

Таблиця 3. Поліфенолоксидазна активність у ґрунті за вирощування гречки сорту Ювілейна 100 за впливу целюлозоруйнівних мікроорганізмів

Варіанти дослідів	Поліфенолоксидазна активність, мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С		
	фази розвитку рослин		
	гілкування	цвітіння	достигання плодів
Без внесення рослинних решток, контроль	0,27 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,29 ± 0,02
Листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га — фон	0,27 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,28 ± 0,01
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6488	0,32 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,29 ± 0,02
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6605	0,41 ± 0,03	0,29 ± 0,01	0,26 ± 0,01
Фон + <i>Microbacterium</i> sp. 6633	0,36 ± 0,02	0,35 ± 0,02	0,35 ± 0,01
Фон + <i>Pseudomonas</i> sp. 6650	0,35 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,38 ± 0,02

Таблиця 4. Біохімічний коефіцієнт накопичення гумусу за Муромцевим у чорноземі вилуженому за вирощування гречки

Варіанти дослідів	Коефіцієнт накопичення гумусу, %		
	фази розвитку рослин		
	гілкування	цвітіння	достигання плодів
Без внесення рослинних решток, контроль	0,89	0,64	0,73
Листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га — фон	1,05	0,70	0,74
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6488	1,11	0,72	0,77
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6605	1,20	0,63	0,72
Фон + <i>Microbacterium</i> sp. 6633	1,12	0,64	0,93
Фон + <i>Pseudomonas</i> sp. 6650	0,98	0,70	1,05

Таблиця 5. Пероксидазна активність у ґрунті за вирощування сої сорту Легенда за впливу целюлозоруйнівних мікроорганізмів

Варіанти дослідів	Пероксидазна активність, мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С		
	фази розвитку рослин		
	гілкування	цвітіння	достигання плодів
Без внесення рослинних решток, контроль	0,477 ± 0,007	0,321 ± 0,006	0,331 ± 0,005
Листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га — фон	0,476 ± 0,006	0,294 ± 0,005	0,338 ± 0,006
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6488	0,486 ± 0,005	0,295 ± 0,005	0,343 ± 0,004
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6605	0,475 ± 0,005	0,308 ± 0,005	0,384 ± 0,007
Фон + <i>Microbacterium</i> sp. 6633	0,466 ± 0,004	0,288 ± 0,004	0,357 ± 0,006
Фон + <i>Pseudomonas</i> sp. 6650	0,510 ± 0,008	0,341 ± 0,006	0,364 ± 0,005

кукурудзи, 8 т/га) до 0,510 мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С (фон + *Pseudomonas* sp. 6650). Поліфенолоксидазна ак-

тивність ґрунту агроценозів сої інтенсивніша у варіантах з використанням мікроорганізмів-деструкторів органічної речовини (після-

дії) (табл. 6). Показники біохімічного коефіцієнта накопичення гумусу свідчать про підсилення інтенсивності розкладу листостеблової маси кукурудзи за впливу целюлозоруйнівних бактерій родів *Bacillus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* (табл. 7).

Висновки. За впливу представників родів *Bacillus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* — деструкторів рослинних решток, мікробіологічні процеси мінералізації листостеблової маси кукурудзи у чорноземі вилуженому за вирощування гречки (перший рік після внесення рослинних решток) та сої (другий рік після внесення рослинних решток) свідчать про збільшення чисельності целюлозолітичних мікроорганізмів щодо контролю, водночас зростає целюлазна, перексидазна та поліфенолоксидазна активності. Показники біохімічного коефіцієнта накопичення гумусу за Муромцевим свідчать про підсилення

інтенсивності розкладу органічної речовини за внесення рослинних решток, якщо порівняти з контролем. Зазначені мікроорганізми є перспективними для розробки мікробного препарату, призначеного для оптимізації процесів мінералізації-іммобілізації за використання побічної продукції рослинництва.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Минеев В. Г. Воспроизводство плодородия почвы и экологические функции удобрений в агроценозе. *Проблемы агрохимии и экологии*. 2008. № 1. С. 3–6.
2. Fließbach A., Mäder P. Microbial biomass and size-enzyme fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*. 2000. Vol. 32(6). P. 757–768. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00197-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00197-2)
3. Černý J., Balík J., Kulhánek M., Nedvěd V. The changes in microbial biomass C and N in long-

Таблиця 6. Поліфенолоксидазна активність у ґрунті за вирощування сої сорту Легенда за впливу целюлозоруйнівних мікроорганізмів

Варіанти дослідів	Поліфенолоксидазна активність, мг 1,4-бензохінону на 1 г ґрунту за 30 хв. і 30 °С		
	фази розвитку рослин		
	гілкування	цвітіння	достигання плодів
Без внесення рослинних решток, контроль	0,32 ± 0,01	0,42 ± 0,03	0,40 ± 0,01
Листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га — фон	0,33 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,45 ± 0,01
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6488	0,39 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,46 ± 0,01
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6605	0,32 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,43 ± 0,01
Фон + <i>Microbacterium</i> sp. 6633	0,34 ± 0,01	0,36 ± 0,02	0,47 ± 0,02
Фон + <i>Pseudomonas</i> sp. 6650	0,34 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,47 ± 0,02

Таблиця 7. Біохімічний коефіцієнт накопичення гумусу за Муромцевим у чорноземі вилуженому за вирощування сої

Варіанти дослідів	Коефіцієнт накопичення гумусу, %		
	фази розвитку рослин		
	гілкування	цвітіння	достигання плодів
Без внесення рослинних решток, контроль	0,67	1,32	1,20
Листостеблова маса кукурудзи, 8 т/га — фон	0,70	0,96	1,32
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6488	0,80	1,06	1,35
Фон + <i>Bacillus</i> sp. 6605	0,67	1,01	1,12
Фон + <i>Microbacterium</i> sp. 6633	0,74	1,27	1,33
Фон + <i>Pseudomonas</i> sp. 6650	0,67	0,70	1,29

term field experiments. *Plant Soil Environ.* 2008. Vol. 54 (5). P. 212–218.

4. Cheneby D., Bru D., Pascault N., Maron P. A., Ranjard L., Philippot L. Role of Plant Residues in Determining Temporal Patterns of the Activity, Size, and Structure of Nitrate reducer Communities in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010. 76(21). P. 7136–7143. <https://doi.org/10.1128/AEM.01497-10>

5. Центило Л. В., Сендецький В. М. Біологічна ефективність використання біодеструкторів. *Вісник ЖНАЕУ. Агроєкологія*. 2014, № 2 (42), Т. 1. С. 93–99.

6. Мекіч М. З., Джура Н. М., Терек О. І. Функціональне і прикладне значення біологічної активності ґрунту. *Біологічні студії*. 2013. Т. 7. № 3. С. 247–258.

7. Bardgett R. D. The biology of soil. A community and ecosystem approach. Oxford University Press, 2005. 242 p.

8. Schinner F., Ohliger R., Kandeler E., Margesin R. Methods in Soil Biology. London, 1996. 426 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-60966-4>

9. Nannipieri P., Grego S., Ceccanti B. Ecological significance of the biological activity in soil. *In: Soil Biochemistry*, 1990. № 6. P. 293–355.

10. Karlen D. L., Mausbach M. J., Doran J. W., Cline R. G., Harris R. F., Schuman G. E. Soil quality: a concept, definition, and frame work for evaluation. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1997. № 61. P. 4–10. <https://doi.org/10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x>

11. Lal R. The Role of Residues Management in Sustainable Agricultural Systems. *Journal of Sustainable Agriculture*. 1995. Vol. 5(4). P. 51–78. https://doi.org/10.1300/J064v05n04_06

12. Lal R. Is crop residue a waste? *J. Soil Water Conserv.* 2004. Т. 59. № 6. P. 136–139.

13. Тарасов С. А., Шершнева О. М. Использование микробиологических препаратов для ускорения деструкции соломы. *Вестник Курской ГСХА*. 2014. № 6. С. 41–45.

14. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. Москва : Колос, 1979. 416 с.

15. Волкогон В. В., Надкернична О. В., Токмакова Л. М., Мельничук Т. М., Чайковська Л. О. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія / за наук. ред. В. В. Волкогона. К. : Аграрна наука, 2010. 464 с.

16. Лабутова Н. М. Методы изучения почвообитающих микроорганизмов. Учебное пособие. СПбГУ, 2008. 50 с.

17. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимо-

логии. Москва : Наука, 2005. 252 с.

18. Терещенко Н. Н., Акимова Е. Е., Минаева О. М. Практикум по микробиологии для оценки плодородия почвы и качества грунтов: учебно-методическое пособие для студентов биологических специальностей. Томск : ТГУ, 2011. 96 с.

19. Титова В. И., Козлов А. В. Методы оценки функционирования микробоценоза почвы, участвующего в трансформации органического вещества: Научно-методическое пособие. Нижний Новгород : Нижегородская с.-х. академия, 2012. 64 с.

20. Русакова И. В. Теоретические основы и методы управления плодородием почв при использовании растительных остатков в земледелии. Владимир : ФГБНУ ВНИИОУ, 2016. 131 с.

21. Дем'янюк О. С., Шерстобоева О. В. Потенційна целюлозолітична активність ґрунтів різних агроєкосистем України. *Агроєкологічний журнал*. 2005. № 1. С. 56–59.

22. Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв: учебник / 2-е изд. перераб. и доп. Москва : Изд-во МГУ, 1989. 336 с.

23. Биогенность почв и пути ее повышения / Меренюк Г. В и др.; отв. ред. М. Ф. Лупашку. Кишинёв : Штиинца, 1988. 172 с.

24. Абрамян С. А. Изменение ферментативной активности почвы под влиянием естественных и антропогенных факторов. *Почвоведение*. 1992. № 7. С. 70–82.

25. Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван : Айастан, 1974. 275 с.

26. Купревич В. Ф. Почвенная энзимология. Научные труды. Т. 4. Минск : Наука и техника, 1974. 404 с.

27. Хазиев Ф. Х. Почвенные ферменты. М. : Знание, 1990. 189 с.

28. Entrl T. M., Markkaanen P. Production of cellulolytik enzymes by fungi. *Adv. Biochem.* 1977. Vol. 5, P. 1–4.

29. Wood T. M. Cellulase mechanisms. *Bio-deteriorat. Symp*, Cambridge, 6–11 Sept, 1987. London, NewYork, 1988. P. 333–346.

30. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М. : Наука, 1990. 189 с.

31. Галстян А. Ш. Некоторые вопросы изучения почвенных ферментов. Сообщение лаборатор. агрохимии АН Арм. ССР. 1959. № 2.

32. Микроорганизмы и охрана почв / под ред. Д. Г. Звягинцева. Москва : Из-во МГУ, 1989. 206 с.

33. Успехи микробиологии / под ред. А. А. Имшенецкого. Москва : Из-во «Наука», 1985. 255 с.

Отримано 15.09.2020

MICROBIOLOGICAL PROCESSES OF TRANSFORMATION OF CORN PLANT RESIDUES UNDER INTRODUCTION OF DESTRUCTING MICROORGANISMS IN THE AGROCENOSSES

L. M. Tokmakova, I. V. Larchenko, P. V. Kovpak

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv

e-mail: tokmakova_ln@ukr.net

Objective. Investigate the microbiological processes of transformation of plant residues in corn under introduction of microorganisms — producers of cellulase enzyme complexes in the agroecosystems, which play an important role in the biodegradation of fresh organic matter. **Methods.** Field, microbiological, biochemical, statistical. **Results.** In the conditions of long-term field experiment on leached chernozem (short-rotation crop rotation: corn for grain – buckwheat – soybean), the microbiological processes at mineralization of 8 t/ha of leaf-stem weight of corn have been investigated. It was found that during the growing season of buckwheat in the soil (the first year after the introduction of corn residues) and soybeans (the second year after the introduction of residues), the number of cellulolytic microorganisms increases. Their number was the highest in buckwheat agroecosystems in the variant using *Microbacterium* sp. 6633 and amounted to 17.7 million/g of soil, whilst a value in the control variant was 11.3 million/g of soil. The second year after the application of corn residues, the highest rates of the number of these microorganisms were reported in the variant with *Bacillus* sp. 6605 — 15.6 million/g of soil with control parameters of 11.1 million/g of soil. Under the action of destruction bacteria of organic matter, the enzymatic activity of the soil increased, namely: cellulase, peroxidase and polyphenol oxidase ones. Cellulase activity when using *Pseudomonas* sp. 6650 and *Microbacterium* sp. 6633 increased 1.9 times. An increase in the biochemical coefficient of humus accumulation by Muromtsev under the influence of microorganisms introduced into agroecosystems was reported. **Conclusion.** Under the action of representatives of the genera *Bacillus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, the processes of mineralization of corn leaf mass in leached chernozem are activated: the number of cellulolytic microorganisms, cellulase, peroxidase and polyphenol oxidase activity increases. Parameters of the biochemical coefficient of accumulation of humus according to Muromtsev indicate an increase in the intensity of decomposition of fresh organic matter under the introduction of plant residues. These microorganisms are promising for the development of a microbial preparation designed to optimize the processes of mineralization-immobilization using crop by-products.

Keywords: soil microorganisms, transformation of plant residues, enzymes, leached chernozem, corn, buckwheat, soybean.

REFERENCES

1. Mineev, V. G. (2008). Vosproizvodstvo plododoriya pochvy i ekologicheskie funktsii udobreniy v agrotsenoze [Reproduction of soil fertility and ecological functions of fertilizers in agroecosystem]. *Problemy agrokhimii i ekologii — Problems of agrochemistry and ecology*, 1, 3–6 [in Russian].
2. Fließbach, A. & Mäder, P. (2000). Microbial biomass and size-ensity fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(6), 757–768. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(99\)00197-2](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00197-2)
3. Černý, J., Balík, J., Kulháněk, M., & Nedvěd, V. (2008). The changes in microbial biomass C and N in long-term field experiments. *Plant Soil Environ*, 54(5), 212–218.
4. Cheneby, D., Bru, D., Pascault, N., Maron, P. A., Ranjard, L., & Philippot, L. (2010). Role of Plant Residues in Determining Temporal Patterns of the Activity, Size, and Structure of Nitrate reducer Communities in Soil. *Appl Environ Microbiol*, 76(21), 7136–7143. <https://doi.org/10.1128/AEM.01497-10>
5. Tsentylo, L. V., & Sendetskyi, V. M. (2014). Biologichna efektyvnist vykorystannia biodestruktoriv [Biological efficiency of biodestructors use]. *Visnyk ZhNAEU — Herald of ZhNAEU*, 2 (42), 1, 93–99 [in Ukrainian].

6. Mekich, M. Z., Dzhura, N. M., & Terek, O. I. (2013). Funktsionalne i prykladne znachennia biolohichnoi aktyvnosti gruntu [Functional and applied value of soil biological activity]. *Biologichni studii — Biological studies*, 7(3), 247–258 [in Ukrainian].
7. Bardgett R. D. (2005). The biology of soil. A community and ecosystem approach. Oxford University Press.
8. Schinner, F., Ohliger, R., Kandeler, E., & Margesin, R. (1996). Methods in Soil Biology. London. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-60966-4>
9. Nannipieri, P., Grego, S., & Ceccanti, B. (1990). Ecological significance of the biological activity in soil. In: *Soil Biochemistry*, 6, 293–355.
10. Karlen, D. L., Mausbach, M. J., Doran, J. W., Cline, R. G., Harris, R. F., & Schuman, G. E. (1997). Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 61, 4–10. <https://doi.org/10.2136/sssaj1997.03615995006100010001x>
11. Lal, R. (1995). The Role of Residues Management in Sustainable Agricultural Systems. *Journal of Sustainable Agriculture*. 5(4), 51–78. https://doi.org/10.1300/J064v05n04_06
12. Lal, R. (2004). Is crop residue a waste? *J. Soil Water Conserv*, 59 (6), 136–139.
13. Tarasov, S. A., Shershneva, O. M. (2014). Ispolzovanie mikrobiologicheskikh preparatov dlya uskoreniya destruktzii solomy [The use of microbiological preparations to accelerate the destruction of straw]. *Vestnik Kurskoy GSKhA — Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*, 6, 41–45 [in Russian].
14. Dospekhov, B. A. (1979). Metodika polevogo opyta [Methods of field experiment]. Moskva: Kolos [in Russian].
15. Volkohon, V. V., Nadkernychna, O. V., Tokmakova, L. M., Melnychuk, T. M., & Chaikovska, L. O. (2010). Eksperymentalna gruntova mikrobiologiya: monohrafiia [Experimental soil microbiology: monograph]. V. V. Volkohon (Ed.). Kyiv: Ahrarna nauka [in Ukrainian].
16. Labutova, N. M. (2008). Metody izucheniya pochvoobitayushchikh mikroorganizmov. Uchebnoe posobie. [Methods for studying soil microorganisms. Tutorial]. SPbGU [in Russian].
17. Khaziev, F. Kh. (2005). Metody pochvennoy enzimologii [Soil enzymology methods]. Moskva: Nauka [in Russian].
18. Tereshchenko, N. N., Akimova, Ye. Ye., & Minaeva, O. M. (2011). Praktikum po mikrobiologii dlya otsenki plodorodiya pochvy i kachestva gruntov: uchebno-metodicheskoe posobie dlya studentov biologicheskikh spetsialnostey [Workshop on microbiology for assessing soil fertility and soil quality: a teaching guide for students of biological specialties]. Tomsk: TGU [in Russian].
19. Titova, V. I., & Kozlov, A. V. (2012). Metody otsenki funktsionirovaniya mikrobotsenoza pochvy, uchastvuyushchego v transformatsii organicheskogo veshchestva: Nauchno-metodicheskoe posobie. Nizhegorodskaya selskokhozyaystvennaya akademiya. [Methods for assessing the functioning of soil microbocenosis involved in the transformation of organic matter: Scientific and methodological manual. Nizhny Novgorod agricultural academy] Nizhniy Novgorod [in Russian].
20. Rusakova, I. V. (2016). Teoreticheskie osnovy i metody upravleniya plodorodiem pochv pri ispolzovanii rastitelnykh ostatkov v zemledelii [Theoretical foundations and methods of soil fertility management when using plant residues in agriculture]. Vladimir [in Russian].
21. Demianiuk, O. S., & Sherstoboieva, O. V. (2005). Potentsiina tselulozolitychna aktyvnist gruntiv riznykh ahroekosystem Ukrainy [Potential cellulolytic activity of soils of different agroecosystems of Ukraine]. *Ahroekoloichnyi zhurnal — Agroecological journal*, 1, 56–59 [in Ukrainian].
22. Babeva, I. P., & Zenova, G. M. (1989). Biologiya pochv: uchebnik 2-e izd. pererab. i dop. [Soil biology: textbook 2nd ed. revised and add.]. Moskva: Izd-vo MGU [in Russian].
23. Lupashku, M. F. (Ed.). (1988). Biogennost pochv i puti ee povysheniya [Biogenic soil and ways of its increase] Kishinev: Shtiintsa [in Russian].
24. Abramyan, S. A. (1992). Izmenenie fermentativnoy aktivnosti pochvy pod vliyaniem estestvennykh i antropogennykh faktorov [Change in the enzymatic activity of the soil under the influence of natural and anthropogenic factors]. *Pochvovedenie — Soil science*, 7, 70–82.
25. Galstyan, A. Sh. (1974). Fermentativnaya aktivnost pochv Armenii [Enzymatic activity of soils in Armenia]. Yerevan: Ayastan [in Russian].
26. Kuprevich, V. F. (1974). Pochvennaya enzimologiya. Nauchnye trudy [Soil Enzymology. Scientific works. T. 4. Minsk: Science and Technology]. Minsk: Nauka i tekhnika [in Russian].
27. Khaziev, F. Kh. (1990). Pochvennye fermenty [Soil enzymes]. Moskva: Znanie [in Russian].
28. Entrl, T. M., Markkaanen, P. (1977). Production of cellulolytic enzymes by fungi. *Adv. Biochem. Eng.*, 5, 1–4.
29. Wood, T. M. (1987). Cellulase mechanisms. Biodeteriorat. Symp, Cambridge, 6-11 Sept., London, New York. 333–346.
30. Khaziev, F. Kh. (1990). Metody pochvennoy enzimologii [Soil enzymology methods]. Moskva: Nauka [in Russian].
31. Galstyan, A. Sh. (1959). Nekotorye voprosy

izucheniya pochvennykh fermentov [Some questions of the study of soil enzymes]. *Soobshchenie laborat. agrokhimii AN Arm. SSR — Laboratory report. agrochemistry of the Academy of Sciences of Arm. SSR*, 2, 19–25 [in Russian].

32. Zvyagintseva, D. G. (Ed.). (1989). *Mikroorganizmy i okhrana pochv* [Microorganisms and soil protection]. Moskva [in Russian].

33. Imshenetskiy, A. A. (Ed.). (1985). *Uspekhi mikrobiologii* [Advances in microbiology]. Moskva: Science [in Russian].

Received 15.09.2020