

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**  
( Н И У « Б е л Г У » )

ИНСТИТУТ ИНЖЕНЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

**Кафедра биотехнологии и микробиологии**

**ИЗУЧЕНИЕ РИЗОСФЕРНОЙ МИКРОФЛОРЫ *MEDICAGO VARIA  
MART.* В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ  
БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Магистерская диссертация**  
студента очной формы обучения  
направления подготовки 06.04.01 Биология  
магистерская программа Микробиология  
2 года обучения группы 07001643  
Соболь Татьяны Сергеевны

**Научный руководитель:**  
доктор биологических наук,  
доцент Думачева Е.В.

**БЕЛГОРОД 2018**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	6
1.1. Особенности почвенной микрофлоры Центрально-Черноземного региона.....	6
1.2. Влияние обработки почвы на интенсивность микробиологических процессов.....	13
1.3. Ризосферная микрофлора бобовых культур.....	16
ГЛАВА 2. ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ЧАСТЬ.....	28
2.1. Подготовка лабораторной посуды .....	28
2.2. Методики микробиологических исследований.....	30
2.3. Методы микроскопического исследования микроорганизмов.....	35
2.4. Агрохимический анализ почвы, методика проведения полевых опытов.....	36
2.5. Статистическая обработка результатов исследований .....	41
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	44
3.1. Количественный состав ризобияльной микрофлоры люцерны в различных условиях экотопа.....	44
3.2. Родовой состав ризобияльной микрофлоры люцерны в различных условиях экотопа.....	52
3.3. Агрохимический состав изучаемых типов почв.....	56
3.4. Изучение урожайность люцерны в различных условиях экотопа...	57
3.5. Статистическая обработка полученных данных .....	59
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	96
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	99
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	

## ВВЕДЕНИЕ

Источниками азота в питании растений могут служить минеральный азот почвы, азот минеральных удобрений и биологический (симбиотически фиксированный из атмосферы) азот. Представляет большой научный и практический интерес доля участия каждого из этих источников в питании бобовых культур. Учитывая, что затраты на производство, транспортировку и внесение азотных удобрений могут достигать 40% всех затрат на возделывание сельскохозяйственной культуры, становится целесообразным сокращение внесения азотных удобрений для снижения себестоимости продукции. Кроме того, минеральные формы азота, как известно, часто приводят к накоплению нитратов и ухудшению качества продукции. Использование ценного свойства бобовых растений питаться атмосферным азотом при помощи клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* помогает решить вышеуказанные проблемы (15, 314-327).

Помимо клубеньковых бактерий, важную роль в питании бобовых растений играет ризосферная микрофлора. Корневые выделения является пищевым субстратом для микроорганизмов, которые интенсивно размножаются в корневой зоне растений, особенно в той части, которая непосредственно прилегает к поверхности корней в радиусе от него не более 2 мм – ризосфере. Стоит заметить, что ранее функция азотфиксации была отмечена лишь у ограниченного круга свободноживущих бактерий - *Azotobacter*, *Clostridium*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Derxia*. Позже стало известно, что роль азотобактера и клостридий в фиксации азота из атмосферы не так велика по сравнению с факультативно-анаэробными бактериями, такими, как энтеробактерии. Спектр diaзотрофных (осуществляющих ассоциативную азотфиксацию) бактерий регулярно дополняется новыми таксонами. В настоящий момент считается, что к

фиксации азота из атмосферы способны 80-90% всех известных бактерий (6, 51-54).

Ризосфера растений является изменчивой средой, на которую влияет множество факторов, определяющие структуру и состав микробных ассоциаций, населяя ризосферу и ризоплану растений. Изучение структуры и состава данных групп считается основной задачей для осознания того, как влияют на биологические процессы почвы факторы окружающей среды и практика растениеводства (38, 23-34).

При лучшей обеспеченности растений биологическим азотом, а также другими макро- и микроэлементами формируется большая ассимиляционная поверхность, увеличиваются фотосинтетический потенциал, чистая продуктивность фотосинтеза, накопление сухого вещества всеми органами растений и, в конечном счете, урожай и белковая продуктивность посевов (37, 150-153).

Кормовые бобовые травы играют важнейшую роль в создании прочной кормой базы животноводства Центрально-Черноземного региона. Они возделываются не только на хорошо окультуренных площадях, но и на почвах бедных органическими и минеральными веществами. Повышение продуктивности бобовых трав в различных экологических условиях является актуальной задачей (1, 23-27).

Однако состав микробиоценоза ризосферы многолетних бобовых трав, в первую очередь люцерны, и особенности местных штаммов микроорганизмов до настоящего времени изучено слабо.

В этой связи, целью наших исследований является изучение ризосферной микрофлоры люцерны в различных экологических условиях Белгородской области.

Для достижения намеченной цели были определены следующие задачи:

- изучить количественный состав ризобиальной микрофлоры люцерны в различных условиях экотопа;
- определить родовой состав ризобиальной микрофлоры люцерны в

различных условиях экотопа;

- изучить агрохимический состав почв, на которых возделывается люцерна: чернозем типичный тяжелосуглинистый; лугово-черноземная среднесуглинистая; чернозем типичный песчаный; элювий мела;

- изучить урожайность люцерны в различных условиях экотопа.

Объектом исследования работы являются пробы почв с участков, на которых возделывается люцерна, взятые в разные периоды роста и развития растений.

Предметом исследования является ризосферная микрофлора.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые в условиях региона проведено микробиологическое исследование ризосферной микрофлоры люцерны, произрастающей на различных типах почв в разные периоды роста и развития растений. Изучена продуктивность люцерны, произрастающей на элювии мела, установлено, что при минимальном содержании в почвенном субстрате минеральных и органических веществ, в ризосферной почве были обнаружены колонии грибов, мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов и бактерий группы кишечной палочки.

## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1. Особенности почвенной микрофлоры Центрально-Черноземного региона

История исследования почвенного покрова Центральной полосы Европейской части России связана с исследованиями множества известных русских учёных. В последние десятилетия центральное внимание уделяется установлению агроэкологического состояния почвенного покрова, его компонентов, а также роли определенных агротехнических способов в регулировании плодородия почв региона (49, 26-28).

В Центрально–Чернозёмном регионе максимальные площади занимают зональные почвы – чернозёмы. На их территорию приходится примерно 70,7 % от всей площади. При этом большую часть составляют чернозёмы выщелоченные, типичные, меньше обыкновенные. Второе место по площади занято серыми лесными почвами (около 9,0 %) и почвами овражно-балочного комплекса (8,0 %). На значительной площади образовались интразональные почвы: лугово-чернозёмные (4,5 %) и пойменные луговые (4,9 %). Почвенный покров пашни на 87 % состоит из чернозёмов (63, 75-78).

Почва является основной и естественной средой нахождения микроорганизмов в природе. Она формируется на разрушающихся под действием климатических условий горных породах при участии органических соединений, образуемых в результате разложения растительных и животных организмов. Почвенные микроорганизмы принимают активное участие в процессах формирования и самоочищения почвы, а также в круговороте веществ в природе (52, 245-250).

Количественный состав микрофлоры почвы зависит от ее структуры, содержания органических и минеральных соединений, а также влажности,

кислотности, аэрации, температуры и других факторов. Число микроорганизмов в 1 г почвы может достигать нескольких миллиардов. Больше всего их находится в подвергающейся обработке почве, меньше – в песках. Количество микроорганизмов подвержено сезонным колебаниям – весной микробное население увеличивается, достигая максимума к лету, в разгар лета уменьшается (в результате наиболее активного воздействия солнечных лучей) осенью опять увеличивается, и снижается зимой (31, 7-9).

Качественный состав микрофлоры почвы очень разнообразен. В составе микрофлоры почвы можно выделить различные физиологические группы микроорганизмов, которые участвуют в различных процессах на разных этапах постепенного разложения органических веществ: микроорганизмы-аммонификаторы, которые вызывают гниение остатков растений, трупов животных, разложение мочевины; нитрифицирующие бактерии, которые обладают способностью окислять аммиак до азотистой кислоты, образуя нитриты; микроорганизмы, расщепляющие клетчатку, вызывающие различные виды брожений; бактерии, участвующие в круговороте серы, фосфора, серы и других элементов (35, 244-247).

С выделениями человека и животных, с различными хозяйственно-бытовыми и промышленными стоками в почву попадает громадное количество разнообразных микроорганизмов, в т.ч. и патогенных. Среди патогенных микроорганизмов можно выделить три группы. Патогенные микроорганизмы, постоянно обитающие в почве. К ним относится небольшое количество микроорганизмов. Особого внимания среди них заслуживают *Clostridium botulinum*, которые попадают в почву с экскрементами человека и животных, образуют споры, остаются в почве длительное время. Спорообразующие патогенные микроорганизмы, для которых почва является вторичным резервуаром. При благоприятных условиях эти микроорганизмы могут размножаться в почве и сохраняться в виде спор долгое время. Патогенные микроорганизмы, попадающие в почву с выделениями человека и животных, сохраняющиеся в ней в течение некоторого

непродолжительного времени. Эти микроорганизмы не образуют спор и в связи с этим стремительно гибнут в результате воздействия разнообразных физических и биологических факторов (9,341-358).

Естественные биохимические процессы, происходящие под воздействием микроорганизмов, обуславливают самоочищение и обезвреживание почвы. При правильном управлении такими процессами опасность передачи инфекционных болезней через почву должна быть сведена к минимуму. Из структурных частей почвы для микробиологии особый интерес представляет ее органическое вещество – гумус, состоящий из остатков животных и растительных организмов, и обитающих в почве микроорганизмов. Поверхностный слой почвы имеют более бедную микрофлору, так как на них вредно влияют факторы внешней среды: высушивание, ультрафиолетовые лучи, солнечный свет, повышенная температура и др. (21, 21-29).

Наибольшее количество микроорганизмов находится на глубине 5-15 см, меньше их на глубине 20-30 и наименьшее число на глубине 30-40 см. Почвы, богатые бактериями, биологически более активны. Между плодородием почвы и содержанием в ней микроорганизмов имеется определенная зависимость. Подсчеты показали, что на каждый гектар малоплодородной почвы приходится 2,5-3,0 т микробной массы, высокоплодородной – до 16 т. Число микроорганизмов в 1 г почвы может варьировать от  $1-3 \times 10^6$  до  $20-25 \times 10^9$  (42, 3-12).

Наиболее богаты микрофлорой возделываемые (культурные) почвы; бедны – песчаные, горные и почвы лишенные растительности; содержание микроорганизмов в почве увеличивается с севера на юг. К типичным почвенным бактериям относятся *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, *Bac. mesentericus*, *Cl. histolyticus*, *Cl. botulinum*, *Cl. chauvoei*, а также термофильные, пигментные и другие микроорганизмы, составляющие порой 80-90% всей микрофлоры почвы. Для общей оценки санитарного состояния почвы основное значение имеет наличие *Escherichia coli*, так как сроки



выживания кишечной палочки приблизительно равны срокам выживания прочей патогенной микрофлоры. С этой же целью проводят индикацию *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens* (41, 34-36).

С микроорганизмами связаны все биохимические процессы в почве. В аэробных условиях размножение доходит до полной минерализации остатков с образованием окисленных соединений простого состава, в анаэробных – создаются газообразные вещества и промежуточные продукты, представленные органическими кислотами (21, 56-61).

Микрофлору почвы делят на автохтонную (от лат. *autochthonous* – местная, коренная), которая усваивает гумусовые вещества напрямую из почвы, и сапрофитную, или зимогенную (от лат. *zimogenic* – возбуждающие брожение), которая разлагает органические соединения, поступающие в почву из внешней среды. К автохтонным относятся представители родов *Pseudomonas*, *Bacterium*, *Mycobacterium*, *Bactoderma*, *Clostridium*, а также грибы – *Penicillium*, *Aspergillus*. В составе зимогенной микрофлоры преобладают бактерии, особенно неспорообразующие формы (4, 24-27).

В роли эктосимбионта микроорганизмы обитают в почве, непосредственно охватывающей корни растений. Данные участки вместе с поверхностью корней составляют ризосферу растений. В функциональном смысле ее можно обозначить, как область, находящуюся в диапазоне нескольких миллиметров от поверхности каждого корня, в которой химическая активность растения оказывает существенное воздействие на микробную популяцию. Это влияние в основном заключается в количественном отношении: количество клеток бактерий в ризосфере обычно превышает их число в окружающей почве в 10-100 раз и более. Стоит отметить также и качественные отличия. В ризосфере доминируют короткие грамотрицательные палочки, тогда как грамположительные палочковидные и кокковидные формы встречаются здесь реже, чем на остальных участках почвы (53, 156-170; 71, 76-81).

Причина данного обилия бактерий в ризосфере, заключается в том, что корни растений выделяют органические питательные вещества, которые избирательно активизируют рост бактерий с различными типами питания. Однако не обнаружено никаких конкретных трофических закономерностей, хотя многие органические соединения, продуцируемые корнями растений, уже идентифицированы. Однако не до конца установлено, извлекает ли растения какую-либо пользу в результате взаимодействия с микроорганизмами. Установлено, что большинство свободноживущих почвенных бактерий осуществляют необходимые для растений функции, такие как фиксация азота и минерализация органических соединений. Поэтому логично предположить, что некоторые растения находятся в благоприятных для роста условиях, взаимодействуя с некоторыми видами микроорганизмов (55, 15-20).

Почва является важнейшим средством в сельскохозяйственном производстве. Большая часть продукции сельского хозяйства состоит из органических веществ, синтез которых совершается в растениях под влиянием, прежде всего, солнечной энергии. Разложение органических остатков и синтез новых соединений, входящих в состав перегноя, проходит при влиянии ферментов, образующихся в результате жизнедеятельности различных объединений микроорганизмов. При этом отмечается непрерывная смена одних ассоциаций микробов иными группами (58, 10-34).

Микроорганизмов в почве находится огромное количество. По данным М.С. Гилярова, в каждом грамме чернозема насчитывается 2-2,5 миллиарда бактерий. Микроорганизмы не только разлагают органические остатки на более простые минеральные и органические соединения, но и активно принимают участие в образовании высокомолекулярных соединений - перегнойных кислот, которые формируют запас питательных веществ в почве. Поэтому, думая о повышении почвенного плодородия (а, следовательно, и о увеличении урожайности), следует заботиться о питании

микроорганизмов, создании условий для активного развития микробиологических сообществ (23,15-21).

Основными поставщиками питательных веществ для растений являются аэробные микроорганизмы, которым для осуществления жизненно важных процессов необходим  $O_2$ . В результате увеличение рыхлости, водопроницаемости, аэрации при оптимальных значениях влажности и температуры почвы обеспечивается максимальное поступление питательных веществ к растениям, что и обуславливает их активный рост и повышает урожайность (25, 34-45).

Однако растениям для нормального роста и полноценного развития необходимы не только макроэлементы, такие как калий, азот, фосфор, но и микроэлементы, к которым относится селен, выступающий как катализатор в различных биохимических реакциях и без которого растения не в состоянии сформировать действенную иммунную систему. Поставщиками микроэлементов могут быть анаэробные микроорганизмы так как они населяют более глубокие слои почвы. Такие микроорганизмы способны доставлять все необходимые растениям микроэлементы из глубинных пластов почвы по пищевым цепям (40, 71-76).

Микроорганизмы в почве создают сложный биоценоз, в котором различные их группы располагаются между собой в определенных отношениях. Одна их часть успешно сосуществуют, а другие могут являться антагонистами. Антагонизм обычно проявляется в том, что одни группы микроорганизмов выделяют специфические вещества, которые, отрицательно влияя, замедляют или делают неосуществимым развитие других видов микробиоты (39, 133-150).

Особенно в больших количествах в почве обитают гнилостные, маслянокислые и нитрифицирующие бактерии, различные виды актиномицетов и плесневых грибов. Число микробной флоры зависит от плодородия почв. Чем плодороднее почвы, тем больше в них гумусовых веществ, в следствии чего, плотнее развиваются микроорганизмы. Накопление микроорганизмов в

значительной степени зависит от количественного и качественного содержания органических веществ в свежееотмерших растительных и животных остатках и продуктах их первичного распада; вначале микрофлора активно развивается и возрастает количественный состав, но после минерализации понижается (20, 20-22).

Значительную роль в жизни микроорганизмов имеют витамины, гормоны (ауксины и т.д.) и другие виды биотических веществ. Малое количество таких соединений заметно увеличивают скорость развития и размножения клеток микробных сообществ (46, 369-376).

При высушивании почв происходит обеднение микробиологического состава. В некотором ряде случаев численность микроорганизмов при высушивании образцов почвы уменьшается в 2-3 раза, а зачастую даже в 5-10 раз. Наиболее долго могут сохранять жизнеспособность актиномицеты, далее следуют микобактерии. Самый высокий процент гибели был отмечен среди представителей бактерий. Однако полного вымирания данных микроорганизмов, даже в условиях продолжительной засухи почвы, обычно не происходит. Даже у крайне чувствительных к высушиванию культур имеются единичные клетки, которые длительное время могут находиться в сухом состоянии (44, 9-13).

На распределение некоторых видов микроорганизмов интенсивное влияние оказывает кислотность почвенного раствора. В почвах с нейтральной или слегка щелочной реакцией, бактерий может быть значительно больше, чем в кислых, заболоченных или торфяных видах почв. Плесневые грибы переносят кислую среду значительно лучше, чем бактерии, поэтому они, как правило, преобладают в кислых почвах (12, 36-40).

Некоторые микробиологические исследования почв показывают, что клетки бактерий располагаются отдельными сообществами, в каждом из которых разрастаются и концентрируются клетки одного или нескольких неантагонистических видов. Групповая численность бактерий в разных

почвах так же является не однородным. Из бактерий в почвах доминируют формы, не способные к образованию спор. На спороносной бактерии приходится около 10-20 %. В почве в немалых количествах также обитают актиномицеты, грибы, водоросли и простейшие. Грибов и актиномицетов в одном грамме почвы насчитывается десятки и сотни тысяч, а зачастую миллионы. Общая масса водорослей, по мнению ученых, немногим отличается от общего количества бактерий (4, 45-52; 73, 961-972).

Самый верхний слой почвы имеет бедный, ограниченный состав микрофлоры, так как располагается под прямым воздействием отрицательных факторов: высушивание, ультрафиолетовые лучи солнечного света, повышенная температура и другие. Наибольшая численность микроорганизмов располагается в почве на глубине 5-15 см, меньше – в слое 20-30 см и минимальное значение в подпочвенном горизонте 30-40 см. На самых глубоких слоях могут обитать только анаэробные формы микробов (4, 67-73).

## 1.2. Влияние обработки почвы на интенсивность микробиологических процессов

Ряд манипуляций таких как вспашка, культивация, боронование существенно активизирует развитие микроорганизмов. Данные процедуры улучшают аэрацию и насыщают влагой почвы. Наиболее благоприятные условия при обработке формируются для аэробных микроорганизмов, вследствие чего уже в весенний период через 8-20 дней после обработки количество микрофлоры возрастает в 5-10 раз (53, 203-210).

Различные способы возделывания почвы влияют неодинаково на микроорганизмы и мобилизацию питательных веществ в пахотном слое. Поверхностное рыхление подзолистых почв увеличивает формирование

микробиологических сообществ, только в самом верхнем слое почвы сапрофитных бактерий в этом слое в 3-4 раза больше, чем в других. Послойное рыхление без оборота пласта активизирует рост микрофлоры на небольшой процент. При рыхлении с оборотом пласта практически в 3 раза возрастает численность микроорганизмов в нижнем слое, за счет попадания наверх. Даже несмотря на то что средний слой, остается при такой обработке своем месте, содержание микрофлоры очевидно приумножается. Схожие трансформации замечались и в формировании нитрифицирующих бактерий. Эти данные отражают то, что позитивный эффект от оборота пласта главным образом поясняется обильной минерализацией органическими соединениями в нижнем его слое (53, 234-245; 76, 74-84).

В условиях орошаемого земледелия глубина и способ возделывания значительно повышают количество полезных микроорганизмов как в верхних, так и в нижних пластах почвы. При глубокой вспашке наверх поднимается малопродуктивный, ограниченный по микробиологическому составу слой почвы, количество микроорганизмов в слое до 20 см было больше, чем при вспашке на глубину. Это можно объяснить положительным воздействием различных видов удобрений, орошения и другими факторами (64, 71-78).

В связи с тем, что превращения органических веществ в почве тесно связаны с деятельностью микроорганизмов, в слоях, где выросло их количество, усилилась и концентрация растворимых питательных веществ, в том числе и нитраты. Значение обработки почвы достаточно важно, так как и от этого зависит активность отдельных групп микроорганизмов, принимающих участие в мобилизации питательных веществ для растений. Однако постоянная обработка почвы без периодического внесения органических удобрений понижает содержание гумуса в составе (22, 131-133).

Чтобы количество гумуса в почве находилось на достаточном уровне, требуется регулярно вносить органические удобрения, которые увеличивают

общую численность в почве не только бактерий, но и остальных микроорганизмов. Этим действием можно создать благоприятные условия для развития всех видов почвенных микроорганизмов. Увеличение общей активности микрофлоры определяется как содержанием в почве энергетических или питательных веществ, так и внесением перегноя, торфа, навоза, которые повышают аэрацию и увеличивают влагоудерживающую способность почвы, делая ее более структурированной. Использование минеральных удобрений в почвах, насыщенных органическим веществом, оказывает стимулирующее действие на микрофлору. Питательные элементы, входящие в минеральные удобрения, создают возможность разложения органических веществ и, в результате, вызывают активное размножение микроорганизмов (17, 58-64; 75, 989-999).

Механизм воздействия минеральных удобрений на почвенную микрофлору разносторонен. Из повышающих факторов основными являются: 1. Модификации физических свойств почвы, оказывающих благоприятное воздействие на размножение микроорганизмов. 2. Изменение значения рН почвы в направлении нейтральной или слабощелочной. 3. Минеральные удобрения в большей степени приумножают развитие растений, что в результате, оказывает стимулирующее влияние на микрофлору: более ускоренно растут корни, в следствии этого скорость роста ризосферных микроорганизмов стремительно повышается (5, 76-81).

Разнообразные факторы внешней среды, активирующие или сокращающие формирование микроорганизмов, выражают прямое влияние и на содержание гумуса в почвах. К таким факторам относятся температура, аэрация, влажность почвы, кислотность и другие. Необходимо отметить, что оптимальными условиями для разложения органических остатков является температура 30-35° С и влажность 70-80% предельной полевой влагоемкости. Но эти условия в то же время максимально благоприятны и для минерализации гумуса. Для сохранения перегноя необходимы рациональная обработка почвы и регулярное возобновление запасов органических веществ

внесением навоза, торфа, сидератов и т. п. Способствует этому также применение минеральных удобрений (36, 347-350; 61, 89-95).

Гумус увеличивает число водопрочных агрегатов почвы, что в дальнейшем формирует водопроницаемость, экономный расход воды, улучшенную аэрацию и образует подходящий биологический режим в структурной почве, приводя в стабильное состояние аэробные и анаэробные процессы. Перегной является источником энергии для микроорганизмов и вместе с тем делает почву наиболее подходящей для роста и развития растений. Постепенно и медленно разлагаясь гумус под действием почвенных микроорганизмов, является источником усвояемых питательных веществ для растений. Имея в виду его разнообразное воздействие на почву, можно утверждать, что главные свойства ее, в том числе плодородие, определяются гумусом (14, 36-40; 49, 23-31).

### 1.3. Ризосферная микрофлора бобовых культур

В ризосфере бобовых культур микрофлора достаточно обильна. Данное явление связано с составом корневых выделений бобовых: они содержат большое количество азотистых и углеродистых соединений. По имеющимся данным, в ризосфере бобовых может быть отмечено от 84,5 до 284 млн. клеток азотфиксирующих рода *Clostridium*. Для сравнения в ризосфере злаковых эти цифры составляют от 339 до 991 тыс. на 1 г почвы (32, 66-71).

По данным ряда исследований, масса бактерий в ризосфере люцерны примерно в 2 раза больше, чем в почве и составляет соответственно около 5,0 и 2,25 т на 1 га. Особенно много микроорганизмов может быть расположено в непосредственной близости к тонким корням. Плотность данной микрофлоры настолько велика, что корни оказываются охваченными как бы плотными муфтами, которые почти полностью отделяют их от почвы.



Растение не просто оказывает содействие накоплению в ризосферной микрофлоры, но и выбирает (селекционирует) определенных представителей микроорганизмов. Поэтому микрофлора ризосферы отличается от микрофлоры почвы не только по количеству микробных клеток, но и по их составу (24, 26-30).

Первое место в ризосфере занимают, обычно, неспорообразующие бактерии. На втором месте находятся микобактерии. Актиномицеты, грибы и спорообразующие бактерии выявляются здесь в небольших количествах. К неспорообразующим бактериям из количества азотфиксаторов относятся азотобактер, клубеньковые, фотосинтезирующие бактерии. Все они стремятся находиться в ризосфере. Здесь же скапливаются и другие представители азотфиксирующей микрофлоры – маслянокислые, микобактерии, водоросли. Количество азотобактера и клубеньковых бактерий может достигать в этой зоне значительных величин: от сотен тысяч до нескольких миллионов клеток (клубеньковые бактерии) и до 200 млн. клеток в 1 г почвы (азотобактер). Клубеньковые бактерии могут встретиться не только в ризосфере бобовых растений, но и с успехом могут расти и развиваться в ризосфере злаков (42, 3-12, 74, 169-180).

Помимо азотфиксирующей микрофлоры, в ризосфере обитают и другие группы микроорганизмов, принимающие участие в круговороте азота: аммонификаторы, денитрификаторы, нитрификаторы. Общее количество этих микроорганизмов может достигать миллионов и даже миллиардов клеток на один грамм почвы. Активность азотфиксаторов и других представителей микрофлоры, принимающих участие в круговороте азота, в ризосфере всегда существенно больше. Таким образом, в почвах, занятых растениями, микроорганизмы «работают» интенсивнее, чем в почве без растений. Здесь активнее идут фиксация атмосферного азота и его дальнейшие превращения (60, 16-22).

Известно, что количественный состав микрофлоры ризосферы различных представителей растений значительно отличается друг от друга. К

тому же, данные отличия оказываются существенными, если взять в сравнение микробные сообщества объема почвы и ризосферы. Кроме того, микрофлора поверхности корня (ризоплана) в некоторой степени также имеет различие в сравнении с микробным составом ризосферы. В ризоплане являются преобладающими грамотрицательные бактерии. Непосредственно на корнях растений находится меньшее количество микроорганизмов, чем в прикорневой зоне. Это может быть объяснено тем, что корни выделяют не только питательные для микроорганизмов вещества, но и вырабатывают фитонциды, которые подавляют формирование микроорганизмов в ризоплане. В зоне, где располагаются молодые корни, размножаются прежде всего неспорообразующие бактерии и микроскопические грибы, тогда как бациллы распространяются слабо, так как эти бактерии не активно потребляют простые органические соединения, которые образуются в таких зонах корня (18, 43-47; 70, 123-130).

Продуктивность бобовых культур определяется различными факторами, среди которых одним из основных является активность симбиотических взаимоотношений между ризосферными микроорганизмами и бобовыми растениями (10, 24-25).

Ростостимулирующие ризобактерии имеют существенную роль в адаптации растения к влиянию внешней среды. Таксономически эти бактерии весьма многообразны. Больше всего изучены представители родов *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* и *Bacillus*. Они обитают в ризосферной зоне почвы, которая служит их основной экологической нишей с наиболее благоприятными условиями, и на поверхности корней. В ризосферу из корней активно поступают сложные смеси легкодоступных органических источников энергии и углерода, что обуславливает ее высокую микробиологическую активность и образование отличающихся от почвенного микробного сообщества специфических ризосферных микробных сообществ (19, 175-179).

Многообразии данных сообществ в большинстве случаев устанавливается количественным и качественным составом корневых выделений, зависящим от вида, возраста и условий произрастания растения, а также от воздействия совокупности почвенно-климатических условий. В свою очередь, микробиологическая активность в ризосфере ведет к значительному видоизменению химических и физических свойств данной зоны и скоплению продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, биологически активных по отношению к растению. Исследуя взаимодействия растений с полезными разновидностями бактерий в ризосфере актуальны факты, соответственно которым ризобактерии создадут с растением цельную растительно-микробную ассоциацию с новыми признаками, детерминированными положительным влиянием друг на друга (11, 28-37; 57, 25-26).

В стремлении к стабильности земледелия использование ризобактерий для улучшения качества роста и питания сельскохозяйственных культур является одним из перспективных методов. Однако устройства взаимодействия компонентов растительно-микробных сообществ, условия осуществления ростостимулирующего потенциала ризобактерий и критерии отбора максимально эффективных ассоциативных штаммов по многим причинам еще требуют основательного исследования (30, 26-27; 43, 133-150).

Механизмы положительного воздействия ризобактерий на жизнедеятельность растений различны, и о использовании данных бактерий для инокуляции сельскохозяйственных культур накоплен немалый материал, доказательно подтверждающий действенность этого способа получения большого и качественного урожая (51, 25-26).

В большей степени исследованы взаимодействия растений с азотфиксирующими ризобактериями (дiazотрофами). К ним относятся изоляция, экология, таксономия, хемотаксис и колонизация корней, выживаемость в почве, биохимические и молекулярные закономерности

процесса азотфиксации, другие механизмы взаимодействия с растениями (65,17-20).

Ассоциативные азотфиксаторы – бактерии родов *Azospirillum*, *Azotobacter* и *Klebsiella* достаточно изучены. Отмечено, что данная азотфиксация при некоторых условиях приносит значительный вклад в снабжение растительных организмов азотом. Среди новых подобных изучений внушают интерес полученные данные о том, что при инокуляции бактерией *Azospirillum amazonense* растения риса имели в своем составе до 27 % атмосферного азота (72, 974-977).

К особо важным приспособлениям взаимодействия растений и бактерий причисляется выделение микроорганизмами фитогормонов (ауксинов, цитокининов и гиббереллинов), витаминов и других биологически активных веществ. Максимальный интерес уделялся роли бактериальных ауксинов в активизации роста и питания растений, так как способность синтезировать индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) обширно распространена среди ризобактерий. Достаточно исследованы биохимические методы и гены, отвечающие за образование ИУК, а также фенотипические влияния экзогенных ауксинов на растительные организмы (19, 175-179).

Отмечен положительный эффект бактериальных ауксинов на инициацию и удлинение корней, развитие боковых корней и корневых волосков, что может иметь значение для ускоренного роста, потребления питательных элементов и устойчивости растения к стрессовым ситуациям. Синтез ауксинов ризосферными микроорганизмами в существенной степени устанавливается составом корневых выделений, включающий их главный метаболитический предшественник L-триптофан (33, 605-612).

Большинство ризобактерий имеют способность синтезировать цитокинины и гиббереллины. В качестве примера действенной стимуляции роста растений бактериальными цитокининами можно отметить эксперименты по инокуляции салата бактерией *Bac.subtilis*. Существует необходимость также учесть, что отдельные бактерии могут не только

продуцировать, но и разрушать фитогормоны. Можно привести в пример штаммы *Pseudomonas putida*, расщепляющие ИУК, что может быть применимо для удаления ингибирующего влияния суперпродуцентов ИУК, к которым причисляются фитопатогены, на растения. Но, как и ризобактерии, расщепляющие фитогормоны, так и реакция растений на эту деструкцию требуют более подробного исследования (34, 142-150; 77, 278-287).

Значительную роль в формировании растительно-бактериальных ассоциаций могут выступать бактериальные гликопротеины – лектины, которые принимают участие в населении корней бактериями, а также активизируют выработку растительных ферментов и ростовые процессы. Замечено интенсивное ростостимулирующее влияние летучих метаболитов ацетона и 2,3-бутандиола, продуцируемых штаммами *Bacillus subtilis* и *Bacillus amyloliquefaciens*, в отношении *Arabidopsis thaliana* (66, 9-12).

Отмечая, что спектр соединений, вырабатываемые бактериями в среду, крайне обилен, следует дожидаться сообщений о новых биологически активных веществах, положительно оказывающих действие на метаболизм растений. Способность ризосферных бактерий растворять труднодоступные почвенные фосфаты долгое время анализируется как значительный механизм положительного воздействия на фосфорное питание растения. Были сформированы результаты многолетних исследований в области экологии, селекции и таксономии фосфатмобилизующих бактерий, в том числе их объединений с растениями и эффективности инокуляции. Исследованы бактериальные гены кислых фосфатаз и фитаз, расщепляющих органофосфаты, а также гены, принимающие участие в растворении минеральных фосфатов, например, ответственные за биосинтез глюконовой кислоты (69, 76-81; 80, 117-123).

Большинство бактерий могут увеличивать доступность фосфатов для растения с помощью обычного подкисления среды в результате жизнедеятельности, например, при утилизации сахаров с формированием органических кислот. С помощью такого неспецифического эффекта в

особых условиях большинство ризобактерий могут осуществлять функции как фосфатмобилизующие (2, 146-150).

Иные процессы, облегчающие потребление питательных соединений у растений, установлены при исследовании их взаимодействия с бактериями рода *Azospirillum*. Таким образом, инокуляция включила транспорт протонов из клеток корней и приводила к подкислению ризосферы, что могло мобилизовать объединенные с минералами питательные вещества, включая фосфор. Известны азоспириллы, имеющие пектолитическую активность, что требует увеличенной ионной проницаемости у кортикальных клеток корней. Помимо этого, при инокуляции растения потребность в питательных элементах может изменяться из-за их трансформации в ризосфере, в частности, с участием бактериальной нитратредуктазы (3, 123-134).

Значительную роль в увеличении доступности питательных элементов способны выступать бактериальные сидерофоры – низкомолекулярные вещества, хелатирующие железо и другие металлы с формированием стабильных объединений. В большей степени исследованы сидерофоры, синтезируемые бактериями рода *Pseudomonas*. Вещества сидерофоров ризобактериями связаны с удовлетворением их нужд в железе и ингибированием конкурентной микрофлоры за счет формирования недоступных для нее Fe-сидерофорных объединений. Стоит отметить, что данные комплексы могут усваиваться растениями, хоть и в небольшой степени, по сравнению с Fe-содержащими соединениями некоторых синтетических хелаторов железа и фитосидерофоров (13, 118-123).

Описываются данные экспериментов, подтверждающих рост активности систем потребления и транспорта питательных элементов у инокулированных растений. Например, при инокуляции *Achromobacter* наблюдали повышение скорости ассимиляции нитрата в корнях у рапса, при инокуляции в *Azospirillum brasilense* индукцию экспрессии гена, кодирующего транспортер аммония у томата (48, 245-252).

Инокуляция озимой пшеницы ризобактериями вызывала у растений модификации в составе фосфорных соединений, в том числе усиливала содержание кислоторастворимой фракции и АТФ, что может рассматриваться как установка на изменение регуляции метаболизма питательных элементов у инокулированных растений. Внимание к механизмам прямого влияния ризобактерий на системы поглощения и транспорта элементов в растениях в настоящее время усиливается (16, 398-414).

По-видимому, можно утверждать, все перечисленные специфические эффекты микроорганизмов являются причинами возрастания содержания некоторых элементов в растительных тканях и клетках. Важное воздействие бактерий на рост биомассы растения может не выразиться, если дефицит конкретного элемента не выступает в роли ростлимитирующего фактора. Все же чаще отмечают лишь возрастание накопления определенных элементов, вызванное подъемом количества биомассы инокулированных растений. Такое влияние бактерий возможно связано со стимуляцией роста корней, приводящей к освоению ими большей почвенной площади и, стало быть, дополнительных питательных компонентов (14, 111-123; 54, 15-19).

Большинство из этих описанных свойств бактерий и приспособлений их положительного воздействия на растения могут играть важную роль в защите последних от неблагоприятных условий внешней среды и абиотических стрессов. Это обусловлено потенциальной направленностью воздействия ризобактерий против негативных эффектов и результатов влияния стрессоров. Универсальным антистрессовым эффектом располагают бактерии, содержащие фермент 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) деаминазу, благодаря которому в растениях уменьшается содержание этилена – сигнальной молекулы в совокупности неспецифических стрессовых реакций. Бактерии населяют корни растений и применяют АЦК в качестве источника питательных веществ, что приводит к понижению ее содержания и, должным образом, интенсивности биосинтеза этилена в

корнях. Вследствие ингибирующий эффект стрессового этилена на рост растения сдерживается. Участие АЦК деаминазы в активизации роста растений было доказано в экспериментах с «knock-out» мутантами и при переносе гена АЦК деаминазы в штаммы, не имеющие эти ферменты. В настоящее время располагается ряд информации о защитном эффекте АЦК-утилизирующих ризобактерий в условиях токсического влияния тяжелых металлов, недостатка или избытка почвенной влаги, а также осмотического стресса при засолении почвы (8, 7-25; 67, 123-130).

Способность ризобактерий сдерживать размножение фитопатогенных микроорганизмов исследуют в течении длительного времени. Известные приспособления биоконтроля могут быть объединены с прямым воздействием ризобактерий на фитопатоген, а также с влиянием на растение, обращенным на увеличение его устойчивости к заболеванию. В одной их группы включена конкурентная колонизация корней и конкуренция за общие пищевые соединения. В этом случае действенной может быть инокуляция растений авирулентными фитопатогенными штаммами или иначе говоря близкородственными видами. Удачная конкуренция в результате экологической несовместимости видов (правило Гаузе) повергает к вытеснению фитопатогена из зоны влияния на растения, как результат, взаимодействие с растением и его инфицирование. По-видимому, можно утверждать, все перечисленные специфические эффекты микроорганизмов являются причинами возрастания содержания некоторых элементов в растительных тканях и клетках сводятся к минимуму (45, 34-36; 78, 34-350).

Конкурентоспособность биоконтрольного штамма значительно усиливается при продуцировании антибиотиков и токсинов, в особенности антигрибных метаболитов. Это иная группа механизмов прямого влияния на фитопатоген, которая ведет к замедлению его роста или гибели. Уже идентифицирован ряд подобных антибиотиков, и их список регулярно восполняется новыми. Еще одна группа часто встречаемых механизмов – взаимодействие биоконтрольных бактерий с фитопатогенными грибами по



типу паразитизма, что в особенности свойственно при многочисленном развитии фитопатогена, который может предназначаться обогащённым источником питательных веществ для бактерий, продуцирующих литические хитиназы, целлюлазы, липазы, протеазы и другие ферменты (69, 34-41).

К механизмам прямого биоконтрольного эффекта можно отнести способность непатогенных бактерий индуцировать у растений защитные свойства, сосредоточенные на увеличение устойчивости к различным фитопатогенам. Сигнальными молекулами, запускающими каскад защитных реакций, могут быть салициловая кислота, бактериальные липополисахариды, сидерофоры и, видимо, иные вещества не известной на данный момент природы. Спектр и интенсивность защитных реакций растения на биоконтрольный организм и фитопатоген может различаться, что, возможно, связано с отсутствием у непатогенных штаммов специфических сигнальных молекул (68, 46-56).

Совместное использование нескольких штаммов ризобактерий с неодинаковыми свойствами и механизмами взаимодействия с растением неоднократно рассматривалось как возможность улучшения эффективности инокуляции. Прием основан на расширении экологической пластичности и диапазона совместимости многокомпонентных бактериальных инокулятов с растением и использовании принципов аддитивности и синергизма при взаимодействии с растением нескольких ассоциантов. Описаны успешные эксперименты по инокуляции смесями азотфиксирующих бактерий, существенно повышающими урожай и накопление азота у различных растений. Повышенная эффективность совместной интродукции азотфиксаторов и фосфатмобилизаторов по сравнению с монокультурами описана относительно давно на бактериях рода *Azotobacter* (68, 123-145).

Позднее на примере *Azospirillum lipoferum* и *Agrobacterium radiobacter* механизмы положительного действия таких ассоциаций на рост и минеральное питание растений изучили подробно и показали, что эти ризобактерии образуют ассоциацию в периодической культуре и при

интродукции в ризосферу. Их аддитивный и синергический эффекты обусловлены активизацией минерального питания растений и оптимизацией его баланса за счет интенсивного поглощения азотных и фосфорных удобрений, а также повышенной азотфиксирующей активностью и приживаемостью *Az. Lipoferum* на корнях (14, 13-21).

В условиях сосуществования в одной пространственной зоне и конкуренции за корневые экссудаты между активно взаимодействующими друг с другом ризобактериями образуются трофические и регуляторные связи. Например, способность фиксировать атмосферный азот делает diaзотрофов чрезвычайно привлекательными партнерами для многих микроорганизмов, усваивающих только минеральные формы азота. Показано, что бактерии рода *Azospirillum* образуют ассоциации с целлюлозоразлагающими (*Cellulomonas*), пектинолитическими (*Bacillus*) и другими ризосферными бактериями. Такие ассоциации основаны на свойстве азоспирилл использовать в качестве источника углерода продукты разложения полимеров бактериями-ассоциантами, снабжая последние фиксированным азотом. Как следствие, ускоряется ассимиляция полимеров и стимулируется  $N_2$ -фиксация (47, 28-31).

Описана ассоциация азотфиксатора *Phyllobacterium* и фосфатмобилизатора *Bac. licheniformis*, в которой бактерии лучше развивались, фиксировали  $N_2$  и растворяли фосфат кальция, а инокуляция побегов мангровых деревьев этой ассоциацией улучшала азотное питание растений. Вероятно, образование описанной ассоциации обусловлено способностью *Phyllobacterium* снабжать бациллу азотом, а она, в свою очередь, обеспечивает потребности азотфиксатора в фосфоре. В подобных ассоциациях интродуценты лучше адаптируются к условиям среды и успешнее конкурируют с другими бактериями за питание. Ризобактерии также играют роль «вспомогательных» агентов для активизации симбиотических отношений при инокуляции растений клубеньковыми бактериями и микоризными грибами. Стимулирующее действие может быть

обусловлено как прямым, так и опосредованным влиянием ризобактерий на микросимбионты (в последнем случае – через положительный эффект на растение) (20, 23-30; 79, 243-252).

Таким образом, изучение литературы по теме исследования показало, что открытым остается вопрос о составе микробиоценоза ризосферы многолетних бобовых трав, особенно такой важной культуры, как люцерна. Также слабо изучены особенности местных штаммов микроорганизмов с точки зрения их качественного и количественного состава в зависимости от состава почвы.

## ГЛАВА 2. ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ЧАСТЬ

Экспериментальная часть работы была выполнена на базе кафедры биотехнологии и микробиологии, кафедры биологии Института инженерных технологий и естественных наук ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ», а также селекционного участка ЗАО «Новооскольская зерновая компания».

### 2.1. Подготовка лабораторной посуды

Вся микробиологическая посуда, используемая в ходе работы, должна быть предварительно очищенной и стерильной, так как использование загрязненной или недостаточно вымытой посуды может привести к получению недостоверных результатов.

Соблюдение техники подготовки микробиологической посуды дает гарантии ее чистоты. В процессе мытья применяются механические, химические, физические факторы. Обычно имеется отдельное помещение для мытья лабораторной посуды. Это может быть моечная или специальное рабочее место, которое включает наличие большой раковины с горячей и холодной водой, нагревательных приборов и электрической плитки. В раковину кладется металлическая сетка, предупреждающая засорение канализационной системы частицами агара, бумаги и ваты. В моечной обычно имеются тазы, ведра, ерши, щетки и доски с кольшками для сушки чистой посуды. Если посуда не загрязнена веществами, которые не растворяются в воде, ее можно мыть теплой водой используя щетку и ершик. Загрязнения, не поддающиеся удалению, можно убрать с помощью перекиси водорода, моющего средства, соды, жидкого мыла (7, 15-20).

После основного мытья, необходимо ополаскивать всю посуду дистиллированной водой, чтобы удалить разводы и компоненты водопроводной воды. Удалить надписи с посуды, сделанные восковым карандашом или маркером, можно с помощью ваты или марли смоченными в 96% спирте. Стеклопосуду можно считать чистой, если на стенках не образуется отдельных капель и разводов.

Стерилизация лабораторной посуды ведет к полному уничтожению всех видов микроорганизмов. Существуют разные способы стерилизации: паром, сухим горячим потоком воздуха, фильтрацией и другие. Выбор способа стерилизации зависит от свойств микрофлоры находящихся на поверхности (7, 22-27).

Микроорганизмы различны по своей организации клеток и оболочек, это определяет их чувствительность к температуре. Например, необратимые процессы в клетках пневмококков начинаются при температуре 45–50° С, а в клетках стафилококков – при 60–70 °С. А такие термофильные бактерии, как *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Thermoactinomyces vulgaris* и других вегетируют при температуре 60–70 °С. Под влиянием высокой температуры происходит денатурация клеточных белков, что приводит к гибели микроорганизмов. Перед стерилизацией вся лабораторная посуда моется и сушится. Все колбы и пробирки плотно закрываются ватно-марлевыми пробками. Сверху пробки обворачивают в пергаменте или фольгой, для того чтобы пробки не намокали (41, 110-121).

Лабораторную посуду стерилизуют, сухим жаром при температуре 175°С 1 часа и в автоклаве при давлении 1,5 атм. в течение 1 часа, для уничтожения спор микроорганизмов – 90 минут при 2 атм. Бактериальные петли из хромовой проволоки стерилизуют в пламени газовой горелки, непосредственно перед высевом. Такой способ стерилизации называется прокаливания. Петлю в горизонтальном положении вносят в нижнюю, наиболее холодную, часть пламени горелки. Далее петлю переводят в вертикальное положение, накаливают докрасна вначале нижнюю, затем

верхнюю часть проволоки и прожигают петледержатель. Прокаливание в целом занимает 4-6 секунд. Петли для стерильных высевок обязательно должна храниться в ламинарном боксе (41, 130-136).

Стерилизация паром под давлением производят в автоклаве. Автоклавирование происходит за счет на прогревании какого-либо материала насыщенным паром при давлении выше атмосферного. С повышением давления температура насыщенного пара возрастает. С увеличением давления температура кипения жидкостей начинает возрастать, появляется возможность стерилизовать их при 100 °С и выше, не допуская кипения и, следовательно, испарения. Продолжительность стерилизации паром под давлением зависит от химического состава стерилизуемого материала, видов микроорганизмов, находящихся в нем, а также от объема сосудов, в которых проводят стерилизацию. Автоклав представляет собой толстостенный герметический закрывающийся аппарат, в котором создается условие повышенного давления насыщенного пара. Они могут быть различной конструкции, но принцип работы одинаков. Эти 2 камеры – большая (стерилизационная) и маленькая (водопаровая), сообщаются между собой трубопроводом с вентилем. Водопаровая камера соединяется с внешней средой трубкой с водомерным стеклом, краном и воронкой, через которую поступает дистиллированная вода. Рабочая камера, в которую помещают стерилизуемый материал, имеет кран для выхода воздуха, манометром для определения давления пара и предохранительным клапаном для выхода пара при сильном повышении давления (68, 234-245).

## 2.2. Методики микробиологических исследований

1. Отбор проб. К отбору почвенных образцов нужно относиться с большим вниманием, так как все последующие данные, часто получаемые в

результате очень сложных и трудоемких лабораторных исследований, будут зависеть от того, насколько правильно были собраны образцы. При взятии образцов следует учитывать чрезвычайную макро-, мезо- и микрогетерогенность почв по всем свойствам, и в первую очередь по микробиологическим (41, 18-24).

Необходимо анализировать большое число индивидуальных образцов. В этом случае исследователь получает представление не только о среднем количестве микроорганизмов, но и о размахе колебаний количественного и качественного порядка в отдельных точках, что дает возможность судить о разнообразии, степени разброса и достоверности полученных данных. Очень сильно количество микроорганизмов колеблется на отдельных участках целинных почв, например, лесных. К сожалению, эти рекомендации часто не могут быть выполнены в полном объеме из-за громоздкости микробиологических экспериментов. Можно с пробной площади брать 3 или 5 образцов и анализировать их отдельно. В этом случае получают данные о пространственном варьировании количества микроорганизмов. Для получения представления о среднем количественном и качественном составе микрофлоры иногда анализируют тщательно отобранный средний почвенный образец, который составляется смешиванием 3–7 индивидуальных проб массой по 100–00 г (41, 29-35).

Образцы почвы отбирают в стерильные пергаментные пакеты, полиэтиленовые мешки или в стеклянные банки с ватными пробками. Хранить почву более суток в полиэтиленовых мешках нельзя, так как в них создается особый газовый режим. Пробы с поверхности берут следующим образом. Из толстого слоя почвы, вынутого лопатой, при помощи почвенного ножа отбирают образец. Перед взятием пробы многократно втыкают нож в почвенный горизонт, из которого будет взят образец. При исследовании микрофлоры разных горизонтов образцы берут из почвенного разреза. Разрез должен быть вырыт непосредственно перед взятием образцов. Образцы берут по всей толще горизонта, что особенно необходимо для

последующего пересчета результатов на столбик почвы с площадью поверхности 1 см<sup>2</sup>. При большой однородности почвенного профиля часто делают пропуски и с некоторых глубин образцы не берут, а затем полученные данные интерполируют на весь профиль. Особенно важно отдельно по слоям анализировать подстилку в лесу или в степи, а также дерновый слой в луговых почвах (41,38-44).

Отдельно анализируют ризосферную почву, в которой микробов содержится больше, и они отличаются по качественному составу. Растения (10 экз. и более) подкапывают лопатой и после извлечения их из почвы стряхивают с корней непрочно удерживающуюся на них почву и оставляют почву, прочно связанную с корнями. Затем корни срезают в стерильный пергаментный пакет, который немедленно доставляют в лабораторию, где проводится микробиологический анализ. Часто отдельно анализируют микроорганизмы, располагающиеся на поверхности корней растений в ризоплане. Образцы корней растений берут так же, как это описано выше для анализа микроорганизмов ризосферы. Если стоит задача сравнения микроорганизмов, обитающих на корнях различных типов, то в случае мочковатой корневой системы можно анализировать всю массу корней; при стержневом типе корневой системы для получения сравнимых результатов берут боковые корни (41, 40-42).

Ризосферную и неризосферную почву разделяли, используя механическое встряхивание корней растений. Почву, которая свободно отряхивается с поверхности корней в течение 5 минут (с целью устранения вариаций между образцами) считали неризосферной, а почву, прилипшую к сегментам корня после встряхивания – ризосферной (41, 42-44).

Микробиологические исследования должны быть сделаны в день взятия образцов, так как при хранении влажных образцов состав микроорганизмов в них сильно изменяется. При невозможности проведения анализа за 24 ч прибегают к высушиванию образцов. Следует иметь в виду, что в сухих образцах обнаруживается гораздо меньше микроорганизмов и,



что особенно важно отметить, сильно искажаются соотношения между отдельными группами микроорганизмов. Если все-таки анализ сразу провести нельзя и высушивание необходимо, то проводить его следует непосредственно после взятия образцов за 2–4 ч при температуре не выше 30°. Хранить сухие образцы нужно в стерильных пергаментных пакетах, заложенных в полотняные мешочки. Иногда прибегают к замораживанию образцов. Почвенные пробы непосредственно после взятия помещают в морозильные камеры. Хранят их в замороженном состоянии, посев же проводят только после оттаивания взятых образцов (38, 156-170).

2. Подготовка питательных сред и стерилизация. Для микробиологического исследования почв использовались питательные среды: элективная на БГКП – Эндо, ГРМ–агар на КМАиФАНМ и Чапека для плесневых грибов

ГРМ-агар предназначен для определения общего микробного числа - КМАиФАНМ.

Приготовление: в коническую колбу налить 150 мл водопроводной воды, затем постепенно, помешивая, добавить 6 г среды, далее питательную среду необходимо довести до кипения. После необходима дополнительная стерилизация в автоклаве 20 минут при температуре 121 °С.

Среда Эндо используется для обнаружения бактерий группы кишечной палочки (БГКП).

Приготовление: в коническую колбу налить 150 мл водопроводной воды, затем постепенно, помешивая, добавить 6 г среды, далее питательную среду необходимо довести до кипения. После необходима дополнительная стерилизация в автоклаве 20 минут при температуре 121 °С.

Среда Чапека используется для обнаружения грибов.

Приготовление: в коническую колбу налить 150 мл водопроводной воды, затем постепенно, помешивая, добавить 7,5 г среды, далее питательную среду необходимо довести до кипения. После необходима дополнительная стерилизация в автоклаве 20 минут при температуре 121 °С.

После того как среды были готовы, разливали их в заранее подготовленные чашки Петри, которые также предварительно стерилизовали в сушильном шкафу в течение 2 часов при температуре 170 °С. Затем равномерно распределяли среду по дну чашек Петри и ставили на ровную поверхность до затвердевания (62, 23-30).

3. Приготовление разбавлений: Выращивание колоний микроорганизмов почвы на твердых питательных средах производился методом разбавления.

Сначала готовят суспензию почвы методом разбавления. Подготовленные стерильные пробирки с водой нумеруют по порядку и ведут постепенное разбавление почвенной суспензии и воды по следующей схеме: 1 г почвы переносят в колбу №1 (99 мл стерильной воды), получают первое разбавление до 0,01. Содержимое колбы взбалтывают, стерильной пипеткой отбирают по 1 мл в пробирку №1 (9 мл стерильной воды), получают разбавление 0,001, и в колбу №2 (99 мл воды) разбавление 0,0001. Из колбы №2 отбирают по 1 мл в пробирку №2 и колбу №3, получая последние разбавления - 0,00001 и 0,000001 соответственно. Каждый отбор проводят стерильной пипеткой. Таким образом было сделано 6 разбавлений до 0,0000001. После тщательного взбалтывания содержимого всех сосудов стерильным дозатором берут из каждого по 0,1 мл жидкости и выливают в чашки Петри на теплую стерильную среду (ГРМ-агар, Эндо, Чапека). Чашки маркируют и ставят в термостат сначала при температуре 30°С, а затем при 20 - 23°С на 7 дней (62, 22-25).

4. Подсчет выросших колоний микроорганизмов. Спустя два дня делают предварительный, а через 7 дней окончательный подсчет выросших колоний. Если колоний небольшое количество, их считают на всей поверхности чашки. При большом количестве колоний, чашки Петри делят на восемь секторов, считают колонии в трех секторах, затем находят среднее арифметическое и умножают на восемь секторов. Колонии рассматривают

через поверхность стекла, не открывая чашки Петри. Отмечают их форму, цвет, характер поверхности и край (ровный, волнистый и др.) (62, 26-27).

Распознавание микроорганизмов проводилось по определителям бактерий и актиномицетов Красильникова и Берджи.

### 2.3. Методы микроскопического исследования микроорганизмов

Для микроскопического исследования выросших колоний микроорганизмов мы использовали следующие методы:

- *Метод раздавленной капли.*

Данный метод используется для прижизненного изучения микроорганизмов, в частности для определения подвижности клеток. На середину чистого предметного стекла наносят каплю чистой воды, стерильной петлей добавляют в нее небольшое количество бактерий и хорошо перемешивают. Затем каплю окрашивают специальными красителями и накрывают сверху покровным стеклом. Далее рассматривают при помощи микроскопа (62, 15-17).

- *Фиксированный препарат.*

С помощью данного метода определяется форма клеток. Начинают работу с приготовления мазка. На чистое предметное стекло в каплю очищенной воды вносят небольшое количество культуры клеток микроорганизмов, тщательно перемешивают и растирают с помощью петли, распределяя мазок по поверхности стекла тонким слоем. Далее препарат высушивают на воздухе или при помощи пламени горелки. После высушивания препарат фиксируют, быстро проводя через пламя горелки. После фиксации окрашивают, добавляя в мазок раствором метиленового синего или карболового фуксина и ждут 1 – 2 минуты. Избыток красителя смывают струей воды до полного обесцвечивания стекающих капель. После

окраски препарат высушивают над пламенем горелки и рассматривают при помощи микроскопа (62, 18-20).

*Окраска бактерий по Граму.* Сущность метода заключается в определении способности бактериальных клеток удерживать краску трифенилметанового ряда.

На предметное стекло наносят и фиксируют мазок исследуемых микроорганизмов, сверху кладут полоску фильтровальной бумаги и наносят краситель. Спустя 1 – 2 мин. убирают бумагу и не промывая наносят каплю раствора Люголя. Далее через 1 мин. обесцвечивают мазок спиртом и наносят краситель (фуксин). После промывают водой, высушивают и рассматривают при большом увеличении микроскопа. Грамположительные бактерии должны быть окрашены в сине-фиолетовый цвет, а грамотрицательные в розово-красный (62, 20-22).

*Обнаружение капсул.* На предметное стекло наносят каплю туши, затем в нее петлей вносят исследуемые микроорганизмы, накрывают покровным стеклом и рассматривают при большом увеличении. На темном фоне хорошо видны окрашенные клетки бактерий, вокруг которых видны светлые неокрашенные капсулы (62,22-23).

#### 2.4. Агрохимический анализ почвы, методика проведения полевых опытов

Земельные угодья Белгородской области составляют 2713,4 тыс. гектаров. Неоднородность условий почвообразования на территории области привела к формированию разнообразных типов почв, среди которых господствуют черноземные - они занимают около 77% площади. Почти 15% территории занято серыми лесными почвами. На долю других - лугово-черноземных, черноземно-луговых, солонцов, солодей, пойменных, песчаных,

дерново-намытых – приходится лишь около 8% площади Белгородской области (1, 50-54).

Песчаных почв на территории области мало. Так как пески и супеси бесструктурны, бедны элементами питания, то и образовавшиеся на них почвы не являются ценными в агрономическом отношении.

Одной из самых востребованных кормовых культур люцерну делает циклический характер её роста и развития, т.е. на протяжении всего вегетационного периода у неё непрерывно отрастают и развиваются побеги, что в целом позволяет формировать высокие урожаи биомассы

Полевой опыт по изучению урожайности сорта люцерны Краснояружская 1 проводили в 2016-2017 гг. на селекционных участках ЗАО «Краснояружская зерновая компания».

1. Почва чернозем типичный тяжелосуглинистый (участок в Алексеевском районе, Белгородская обл.).

2. Почва лугово–черноземная среднесуглинистая (участок в Чернянском районе, Белгородская обл.)

3. Почва чернозем типичный песчаный (участок в Чернянском районе, Белгородская обл.)

4. Элювий мела. Изучение естественных сообществ *M. varia* (участок в Алексеевском районе, Белгородская обл.).

Химический анализ почвенных образцов проводили по стандартным методикам в сертифицированной испытательной лаборатории БелГАУ им. В.Я. Горина.

Отбор проб почвы.

Точечные пробы отбирают из одного или нескольких слоев методом конверта с таким расчетом, чтобы каждая проба представляла собой часть почвы, типичной для горизонтов данного типа почвы.

После того, как отобрали пробы грунта, формируем объединенную (среднюю) пробу. Объединенную пробу получаем путем смешивания точечных проб, отобранных на одном участке.

Общая масса объединенной пробы должна быть не более 2 кг.

Запасы гумуса и азота в почвенном слое вычисляют в т/га по формуле:

$$Q = m \cdot h \cdot d_v \quad (2.1),$$

где  $Q$  – запасы гумуса или азота (т/га) для почвенного слоя  $h$ ;  $m$  – содержание определяемого компонента, %;  $h$  – мощность почвенного слоя (см);  $d_v$  – плотность сложения почвенного слоя, г/см<sup>3</sup>.

Азот щелочно-гидролизуемый определяли по методу Корнфилда. Данный метод основано на гидролизе органических соединений почвы раствором гидроокиси натрия NaOH концентрации 1 моль/дм<sup>3</sup> (1 н.). Выделившийся аммиак (с учетом обменного аммония) определяют микродиффузным методом с использованием модифицированных литых чашек Конвея. Аммиак при этом поглощается раствором борной кислоты и оттитровывается серной кислотой (53, 67-74).

Определение подвижных соединений фосфора и калия определяли по методу Чирикова (ГОСТ 26204-91). Метод основан на извлечении подвижных соединений фосфора и калия из почвы раствором уксусной кислоты концентрации 0,5/ м<sup>3</sup> моль при отношении почвы к раствору 1:25 и последующем определении фосфора в виде синего фосфорно-молибденового комплекса на фотоэлектроколориметре и калия - на пламенном фотометре (27).

Количество общего азота определяли по ГОСТу 26107-84.

При титриметрическом методе азот рассчитывают по количеству серной кислоты, затраченной на титрование бората аммония. Общий азот в почве ( $N_T$ ) в процентах вычисляют по формуле:

$$N_T = \frac{V_c \cdot 1,4}{m} \quad (2.2)$$

где  $V$  - объем серной кислоты, затраченной на титрование, мл;  $c$  - молярная концентрация серной кислоты, моль/л; 0,014 - молярная масса азота, г/ммоль;  $m$  - масса сухой почвы, г; 100 - коэффициент пересчета на 100 г почвы.

Из полученного результата вычитают количество азота, найденное в контрольном анализе.

При фотометрическом методе строят градуировочный график. При построении графика по оси ординат откладывают величины измеренных оптических плотностей в растворах сравнения, по оси абсцисс - соответствующие количества азота 0; 0,001; 0,002; 0,003; 0,004; 0,006; 0,008; 0,012 мг. Градуировочный график строят в день анализа так, чтобы прямая проходила как можно ближе к точкам, полученным в результате единичного измерения растворов сравнения. По графику находят количество азота в миллиграммах в анализируемом объеме раствора. Общий азот в почве (Nф) в процентах вычисляют по формуле:

$$N\phi = \frac{a \cdot V1}{V2 \cdot m \cdot 10} \quad (2.3)$$

где, а - количество азота в анализируемом объеме, найденное по графику, мг; V1 - общий объем раствора после разложения почвы, мл; V2 - объем раствора, взятый для анализа, мл; m - масса сухой почвы, г; 100 - коэффициент пересчета на 100 г почвы; 1000 - коэффициент пересчета миллиграммов в граммы.

Массу сухой почвы (m) в граммах вычисляют по формуле:

$$m = \frac{m1}{1 + 0,01 \cdot Wг} \quad (2.4)$$

где m1 - масса воздушно-сухой почвы, г; Wг - гигроскопическая влага, %.

За окончательный результат принимают единичные определения. Допускаемые расхождения между результатами двух анализов при оперативном контроле воспроизводимости измерений в одной пробе, выполненных в одной лаборатории (d) и разных лабораториях (D) с доверительной вероятностью P = 0,95 не должны превышать значений:

$$d = 0,006 + 0,08X; D = 0,07 + 0,11X \quad (2.5)$$

где X - среднее арифметическое значение сравниваемых результатов измерений, % (26).

Показания рН водной вытяжки определяли с помощью методики ГОСТа 26423-85. Часть почвенной суспензии, объемом 15-20 см сливают в химический стакан вместимостью 50 см и используют для измерения рН. Настройку рН-метра проводят по трем буферным растворам с рН 4,01, 6,86 и 9,18, приготовленным из стандарт-титров. Показания прибора считывают не ранее чем через 1,5 мин после погружения электродов в измеряемую среду, после прекращения дрейфа измерительного прибора. Во время работы настройку прибора периодически проверяют по буферному раствору с рН 6,86 (28).

Сумму поглощенных оснований определяли с помощью методики ГОСТ 27821-81. Определение суммы поглощенных оснований по методу Каппена отстоявшейся жидкости или фильтрата в химический стакан и ставят его на магнитную мешалку.

В раствор погружают электродную пару и кончик дозирующей трубки бюретки. Бюретку заполняют раствором гидроокиси натрия. На блоке автоматического титрования устанавливают значение эквивалентной точки, равное 8,2 единицы рН, и время выдержки, равное 30 с. Включают блок автоматического титрования, магнитную мешалку и открывают кран бюретки. По окончании титрования записывают расход гидроокиси натрия по бюретке. Аналогично проводят титрование 25 см. Определение суммы поглощенных оснований по методу Каппена раствора соляной кислоты.

При отсутствии блока автоматического титрования анализируемые пробы отбирают в конические колбы и титруют вручную, контролируя рН с помощью рН-метра или индикатора фенолфталеина, до появления ярко-розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин. В случае выпадения осадка полуторных окислов при титровании с фенолфталеином окраску следует наблюдать в прозрачном слое над осадком (29).

Опыт по выращиванию люцерны сорта Краснояружская 1 был заложен методом организованных повторений. Способ посева – широкорядный с



шириной междурядий 45 см. Посев бобовых трав проводили электронной сеялкой «Клен-5,4». Норма высева: 40 шт./ м<sup>2</sup> – из расчета, что на момент учета плотность агроценопопуляции должна составлять 30 шт./ м<sup>2</sup>. Площадь учетных делянок первого порядка – 20 м<sup>2</sup>, второго – 10 м<sup>2</sup>. Общая площадь делянок первого порядка – 50 м<sup>2</sup>, второго порядка – 25 м<sup>2</sup>. Повторность – 4-х кратная (35, 127-130).

Естественные сообщества люцерны *M. varia* изучали в 3-х кратной повторности на выделенных метрочках. Общая площадь учетных участков первого порядка – 4 м<sup>2</sup>, второго порядка – 2 м<sup>2</sup>.

Во всех вариантах опыта определяли сырую и сухую фитомассу растений и массу семян стандартными методами. Учет урожая проводили поделочно селекционными комбайнами. Учет урожая люцерны на естественных угодьях проводили вручную. Наблюдения и учеты проводили согласно стандартным методикам, принятым в полевых и лабораторных опытах с многолетними травами (35, 73-80; 38, 25-41; 53, 105-110).

## 2.5. Статистическая обработка полученных данных

Математическую статистику, прежде всего, используют для планирования опытов. Ее основной задачей является определение достоверности полученных результатов. В любом опыте должно быть достаточное количество вариантов и повторностей. Все варианты должны находиться в одинаковых условиях. Не менее важным фактором является определение числа образцов для исследования – оптимизация объема выборки.

В проведенных опытах определяют достоверность различий между средними арифметическими исследуемых выборок (образцов). Данные задачи решают с помощью применения критериев достоверности Стьюдента

(t) и Фишера (F). Критерий (t) – это показатель, позволяющий судить о надежности выводов, подтверждающих или опровергающих рабочую гипотезу.

Математическую статистику можно применять лишь в правильно спланированных и проведенных опытах. Если опыты не отвечают необходимым условиям, их следует немедленно браковать.

Перед статистической обработкой все данные необходимо соответствующим образом подготовить: округлить, вычислить средние арифметические, а также выбраковать сомнительные данные (56, 34-40).

Для статистической обработки цифровых данных было применено два метода: метод описательной статистики и разностный метод.

В ходе исследования нами были рассчитаны статистические показатели, характерные для малых выборок.

- средние арифметические;
- стандартные ошибки;
- дисперсии;
- стандартные отклонения;
- критерий Стьюдента (t).

Данные расчеты проводились нами в программе Microsoft Office Excel 2013 с помощью описательной статистики.

Обработка полученных данных разностным методом включала несколько этапов:

- Вычисление среднего арифметического значения по всем повторностям ( $x_{cp}$ );
- Вычисление разности (d) между данными по повторностям;
- Определение среднего арифметического разности ( $d_{cp}$ );
- Расчет отклонения между каждой разностью и средним значением ( $d - d_{cp}$ );
- Возведение данного отклонения в квадрат и его суммирование

$$(\sum(d - d_{cp})^2);$$

- Вычисление ошибок разностей ( $S_d$ ) по следующим формулам:

$$S_{d(1-2)} = \sqrt{\frac{\sum(d - \bar{d})^2}{n(n-1)}}; S_{d(1-3)} = \sqrt{\frac{\sum(d - \bar{d})^2}{n(n-1)}} \quad (2.6.)$$

- Вычисление критерия Стьюдента фактического:

$$t_{(1-2)} = (x_{2cp} - x_{1cp}) / S_{d(1-2)}; t_{(1-3)} = (x_{3cp} - x_{1cp}) / S_{d(1-3)} \quad (2.7.)$$

Фактический критерий сравнивали с теоретическим и делали выводы, пользуясь следующим правилом: если фактический критерий Стьюдента равен теоретическому значению или больше него, то разность между вариантами существенна (59, 45-60).

Теоретические значения критериев брали из таблицы числа степеней свободы, которое вычисляли по формуле:

$$v = (n_1 - 1) + (n_2 - 1) \quad (2.8)$$

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1. Изучение количественного состава ризобиальной микрофлоры люцерны в различных условиях экотопа

Во всех образцах почв был проведен анализ численности КМАиФАНМ, БГКП и плесневых грибов. Для анализа микрофлоры почв были взяты три пробы в разные периоды времени: в июле 2017, октябре 2017, мае 2018. Посевы микрофлоры почв производились поверхностным методом на среды: Эндо, ГРМ-агар и Чапека в трех повторностях на каждое разбавление. Далее спустя 7 дней производился подсчет колоний. Чашки Петри с колониями микроорганизмов представлены в приложении 13-29.

Результаты изучения количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^5$  представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1.

Среднее количество колоний КМАиФАНМ в разные даты анализа, ГРМ-агар, (КОЕ/г $\times 10^6$ ) в разведении  $1: 10^5$

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	127,67 $\pm$ 4,1	76,67 $\pm$ 2,2	114,00 $\pm$ 3,7
Лугово-черноземная среднесуглинистая	59,00 $\pm$ 2,7	28,33 $\pm$ 3,1	45,33 $\pm$ 1,6
Чернозем типичный песчаный	78,00 $\pm$ 2,9	50,33 $\pm$ 2,3	65,33 $\pm$ 2,7
Элювий мела	88,67 $\pm$ 4,2	62,33 $\pm$ 2,9	80,00 $\pm$ 3,2

Установлено, что в течение всего периода проведения исследований максимальное количество микроорганизмов в ризосфере люцерны было на

черноземе типичном тяжелосуглинистом. По данному показателю в июле по числу бактерий на данной почве отмечено превышение на 53,79 % – по сравнению с лугово-черноземной среднесуглинистой, на 38,90 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 30,55 % – по сравнению с элювием мела. В октябре отмечено превышение на 63,05 % – по сравнению с лугово-черноземной среднесуглинистой, на 34,3 5% – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 18.70% – по сравнению с элювием мела. В мае отмечено превышение на 60,24 % – по сравнению с лугово-черноземной среднесуглинистой, на 42,69 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 29,82% – по сравнению с элювием мела.

Результаты изучения количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2.

Среднее количество колоний КМАиФАНМ в разные даты анализа, ГРМ-агар, (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	88,33 $\pm$ 3,23	65,33 $\pm$ 2,91	84,67 $\pm$ 3,76
Лугово-черноземная среднесуглинистая	35,00 $\pm$ 3,91	22,67 $\pm$ 2,22	31,00 $\pm$ 1,87
Чернозем типичный песчаный	45,00 $\pm$ 2,19	27,67 $\pm$ 1,38	37,67 $\pm$ 2,43
Элювий мела	67,67 $\pm$ 3,11	49,33 $\pm$ 2,27	67,00 $\pm$ 2,98

При разведении  $1:10^7$  не отмечено существенных достоверных различий между пробами по числу колоний (табл. 3.3.). Следовательно, данное разведение нельзя рекомендовать для подсчета числа колоний КМАиФАНМ.

Таким образом, оптимальным для подсчета числа колоний КМАиФАНМ является разбавление почвенного раствора в  $1:10^6$ .

Таблица 3.3.

Среднее количество колоний КМАиФАНМ в разные даты анализа, ГРМ-агар, (КОЕ/г $\times 10^8$ ) в разведении  $1:10^7$

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	29,67 $\pm$ 3,61	20,67 $\pm$ 1,67	27,33 $\pm$ 1,78
Лугово-черноземная среднесуглинистая	39,00 $\pm$ 4,11	28,00 $\pm$ 3,98	30,67 $\pm$ 3,56
Чернозем типичный песчаный	39,33 $\pm$ 2,78	21,33 $\pm$ 2,19	27,00 $\pm$ 2,45
Элювий мела	39,67 $\pm$ 1,67	26,00 $\pm$ 2,56	23,33 $\pm$ 1,90

Для оценки колоний бактерий группы кишечной палочки (БГКП), был произведен посев была на среду Эндо. Разведение  $1:10^5$  не позволило достоверно подсчитать число колоний, т.к. в поле зрения колонии трудно поддавались подсчету, особенно в варианте чернозёма типичного. Именно в этой пробе обнаружено максимальное количество колоний бактерий группы кишечной палочки (БГКП) при разведении  $1:10^5$  по всем периодам исследования (табл. 3.4).

Таблица 3.4.

Среднее количество колоний БГКП в разные даты анализа, среда Эндо, (КОЕ/г $\times 10^6$ ) в разведении  $1:10^5$

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	198,33 $\pm$ 1,66	167,67 $\pm$ 3,78	182,67 $\pm$ 3,46
Лугово-черноземная среднесуглинистая	53,00 $\pm$ 4,56	23,67 $\pm$ 1,85	31,00 $\pm$ 3,92
Чернозем типичный песчаный	121,33 $\pm$ 1,73	86,00 $\pm$ 2,91	108,00 $\pm$ 3,94
Элювий мела	80,33 $\pm$ 4,12	56,67 $\pm$ 2,47	71,33 $\pm$ 2,22

Количество колоний БГКП в июле на черноземе типичном в ризосфере превышало на 73,28 % отборы проб лугово-черноземной почвы, на 38,82% – с чернозема типичного песчаного, на 59,50 % – элювиев мела. В октябре отмечено превышение на 85,88 % – по сравнению с лугово-черноземом среднесуглинистым на 48,71 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 66,20 % – по сравнению с элювием мела. В мае отмечено превышение на 83,03 % – по сравнению с черноземом типичным тяжелосуглинистым, на 40,88 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 60,95% по сравнению с элювием мела.

Разбавление 1:10<sup>6</sup> позволило достаточно полно проанализировать результаты опытов. Максимальное количество колоний бактерий группы кишечной палочки (БГКП) при разведении 1:10<sup>6</sup> было определено в чернозёме типичном тяжелосуглинистом по всем периодам исследования. (табл. 3.5).

Таблица 3.5.

Среднее количество колоний БГКП в разные даты анализа, среда Эндо, (КОЕ/г×10<sup>7</sup>) в разведении 1: 10<sup>6</sup>

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	139,00±2,78	123,00±1,78	142,67±0,7
Лугово-черноземная среднесуглинистая	35,00±2,00	22,67±1,83	31,00±3,51
Чернозем типичный песчаный	86,33±4,23	75,67±4,41	58,00±4,34
Элювий мела	64,00±2,76	50,33±2,23	54,67±2,73

По данному показателю в июле отмечено превышение на 74,82 % – по сравнению с лугово-черноземом среднесуглинистым, на 37,89 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 53,96 % – по сравнению с элювием мела. В октябре отмечено превышение на 81,57 % – по сравнению с лугово-черноземом среднесуглинистым, на 38,48 % – по сравнению с

черноземом типичным песчаным, на 59,08 % – по сравнению с элювием мела. В мае отмечено превышение на 78,27 % – по сравнению с лугово-черноземом среднесуглинистым, на 59,35 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 61,68 % – по сравнению с элювием мела.

Разведение  $1:10^7$  для подсчета количества колоний БГКП оказалось слабым. При этом разведении также максимальное количество колоний БГКП было определено чернозёме типичном тяжелосуглинистом почве по всем периодам исследования. Минимальное количество – в лугово-черноземной среднесуглинистой почве (табл. 3.6.). По данному показателю в июле отмечено превышение на 81,06 % – по сравнению с лугово-черноземной среднесуглинистой почвой, на 54,14 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 69,06 % – по сравнению с элювием мела. В октябре отмечено превышение на 87,85 % – по сравнению с лугово-черноземной среднесуглинистой почвой, на 56,53 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 72,04 % – по сравнению с элювием мела.

Таблица 3.6.

Среднее количество колоний БГКП в разные даты анализа, среда Эндо, (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^7$

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	125,00 $\pm$ 5,34	109,67 $\pm$ 3,12	122,00 $\pm$ 2,01
Лугово-черноземная среднесуглинистая	23,67 $\pm$ 0,91	13,33 $\pm$ 2,24	24,00 $\pm$ 2,78
Чернозем типичный песчаный	57,33 $\pm$ 2,43	47,67 $\pm$ 1,84	50,33 $\pm$ 3,62
Элювий мела	38,67 $\pm$ 2,54	30,67 $\pm$ 0,78	39,67 $\pm$ 2,76

В мае отмечено превышение на 80,33 % – по сравнению с лугово-черноземной среднесуглинистой почвой, на 58,75 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 67,48 % – по сравнению с элювием мела.



Но по сравнению с разведением  $1:10^6$  количество колоний резко снижалось. Таким образом, оптимальным для подсчета числа колоний группы кишечной палочки является разбавление почвенного раствора в  $1:10^6$ .

С целью определения числа колоний грибов использовали среду Чапека. Максимальное количество колоний грибов при разведении  $1:10^5$  было определено в лугово-черноземной среднесуглинистой почве в летний и осенний период, однако в весенний период был отмечен максимум колоний на элювии мела. Минимальное количество колоний грибов в летний и осенний период было обнаружено в черноземе типичном тяжелосуглинистом, в весенний в черноземе типичном песчаном (табл. 3.7.).

Таблица 3.7.

Среднее количество грибов в почве в разные даты анализа, среда Чапека, (КОЕ/г $\times 10^6$ ) в разведении  $1: 10^5$

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	31,00 $\pm$ 3,31	21,33 $\pm$ 1,16	32,33 $\pm$ 2,93
Лугово-черноземная среднесуглинистая	94,00 $\pm$ 3,95	59,33 $\pm$ 4,24	76,33 $\pm$ 4,19
Чернозем типичный песчаный	35,67 $\pm$ 3,13	23,67 $\pm$ 1,34	27,67 $\pm$ 2,31
Элювий мела	88,33 $\pm$ 2,91	58,67 $\pm$ 3,47	83,67 $\pm$ 3,94

По данному показателю в июле отмечено превышение на 67,02 % – по сравнению с черноземом типичным тяжелосуглинистым, на 62,05 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 6,03 % – по сравнению с элювием мела.

В октябре отмечено превышение на 54,05 % – по сравнению с черноземом типичным тяжелосуглинистым, на 60,10 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 1,11 % – по сравнению с элювием мела. В мае отмечено превышение на 61,36 % – по сравнению с черноземом

типичным тяжелосуглинистым, на 8,77 % – по сравнению с лугово-черноземным среднесуглинистым, на 66,93 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным.

Максимальное количество колоний грибов при разведении  $1:10^6$  было определено на элювии мела, минимальное количество на черноземе типичном песчаном (табл. 3.8).

Таблица 3.8.

Среднее количество грибов в почве в разные даты анализа, среда Чапека, (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	25,67 $\pm$ 4,21	20,00 $\pm$ 0,71	26,00 $\pm$ 2,05
Лугово-черноземная среднесуглинистая	51,00 $\pm$ 2,43	38,67 $\pm$ 2,98	51,00 $\pm$ 2,51
Чернозем типичный песчаный	26,00 $\pm$ 1,36	13,00 $\pm$ 2,78	22,67 $\pm$ 2,45
Элювий мела	62,00 $\pm$ 3,54	46,33 $\pm$ 2,45	60,67 $\pm$ 4,22

Максимальное количество колоний было определено в элювии мела по всем периодам исследования. По данному показателю в июле отмечено превышение на 58,60 % – по сравнению с черноземом типичным тяжелосуглинистым, на 17,74 % – по сравнению с лугово-черноземным среднесуглинистым, на 58,06 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным. В октябре отмечено превышение на 58,83 % – по сравнению с черноземом типичным тяжелосуглинистым, на 16,53 % – по сравнению с лугово-черноземным среднесуглинистым, на 71,94 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным.

Максимальное количество колоний грибов при разведении  $1:10^7$  было определено на лугово-черноземной среднесуглинистой почве, минимальное значение колоний на черноземе типичном песчаном (табл. 3.9.).

Максимальное количество колоний было определено в лугово-черноземной среднесуглинистой почве по всем периодам исследования. По данному показателю в июле отмечено превышение на 53,57 % – по сравнению с черноземом типичным тяжелосуглинистым, на 80,01 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 29,29 % – по сравнению с элювием мела.

Таблица 3.9.

Среднее количество грибов в почве в разные даты анализа, среда Чапека, (КОЕ/г×10<sup>8</sup>) в разведении 1: 10<sup>7</sup>

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	46,67±4,45	36,00±0,73	41,67±2,23
Лугово-черноземная среднесуглинистая	21,67±0,45	19,00±1,35	22,33±1,89
Чернозем типичный песчаный	9,33±2,67	8,00±2,76	8,67±1,11
Элювий мела	33,00±1,65	22,00±2,43	28,67±3,09

В октябре отмечено превышение на 47,22 % – по сравнению с черноземом типичным тяжелосуглинистым, на 77,78 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 38,89 % – по сравнению с элювием мела. В мае отмечено превышение на 46,41 % – по сравнению с черноземом типичным тяжелосуглинистым, на 79,19 % – по сравнению с черноземом типичным песчаным, на 31,20 % – по сравнению с элювием мела.

Таким образом, оптимальным для подсчета числа колоний грибов, так же, как и для подсчета числа колоний мезофильных и анаэробных микроорганизмов, как и для бактерий группы кишечной палочки, является разбавление почвенного раствора в 1:10<sup>6</sup>.

Отмеченная в опытах высокая численность колоний в ризосфере вегетирующих растений на низко продуктивных почвах, по-видимому

связана с тем что растения активно привлекают микроорганизмы в ризосферу для улучшения минерального питания. На плодородных черноземных почвах им хватает доступных элементов и численность микроорганизмов в ризосфере снижается.

Исходя из полученных данных, видно постепенное снижение числа колоний в осенний месяц, по сравнению с летним сезоном. Такой характер сукцессии связан с заменой микроорганизмов, питающихся продуктами экзоосмоса растений (эккрисотрофами), на гидролитиков, разлагающих корневой отпад, старые корешки, микробную биомассу.

Наибольшее количество колоний по всем почвам приходится на июль, когда количество корневых выделений, служащих источником питания для микроорганизмов является максимальным.

В весенний период также происходит активизация роста микроорганизмов. Во всех почвах наблюдается большая или меньшая активизация деятельности ризосферной микрофлоры. Данное явление связано с обогащением почв отмершей за осенне-зимний период растительностью и высокой увлажненностью. Так же динамика численности ризосферных микроорганизмов изменяется по периодам роста растений. В их развитии наблюдаются два максимума: первый приходится на период отрастания зеленой массы, второй – на период цветения и плодоношения. В эти же периоды происходит максимум корневых выделений. В период созревания и завядания активность и численность ризосферных микроорганизмов снижается, что также указывает на сезонную динамику численности микроорганизмов в почве оказывают влияние не только влажность и температура, но и фаза развития растений, поступление в почву органического опада, накопление микробных веществ.

### 3.2. Родовой состав ризобиальной микрофлоры люцерны в различных условиях экотопа

С целью определения качественной характеристики ризосферной микрофлоры почв необходимо было обозначить морфологические признаки колоний, такие как форма: цвет, край, характер поверхности. Затем исследовали бактериальные клетки, их форму, подвижность, окраску по Граму, а также способность образовывать капсулы. Результаты, полученные при количественном анализе родов, обнаруженных в разные периоды отбора почвенных проб, представлены в таблице 3.10. Также результаты подсчета колоний представлены в приложении 1-12.

В ходе данного анализа на были обнаружены и определили следующие рода микроорганизмов, среди них бактерии: *Escherichia*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*; грибы: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium*, актиномицеты: *Streptomyces*.

Таблица 3.10.

Количество родов, обнаруженных в разные даты анализа

Тип почвы	Дата отбора образцов		
	Июль 2017	Октябрь 2017	Май 2018
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	12	8	9
Лугово-черноземная среднесуглинистая	9	8	10
Чернозем типичный песчаный	5	3	4
Элювий мела	7	4	6

Род *Escherichia*: прямые палочки, одиночные или парные. Грамотрицательные, встречаются как подвижные, так и не подвижные формы (Рис. 3.1.).

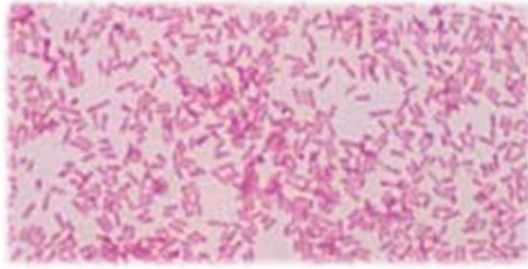


Рис. 3.1. Клетки рода *Escherichia* (x1000)

Род *Bacillus*: прямые палочки с закругленными концами, располагаются парами или цепочками. Подвижные, грамположительные, образуют овальные или сферические эндоспоры (Рис. 3.2.).

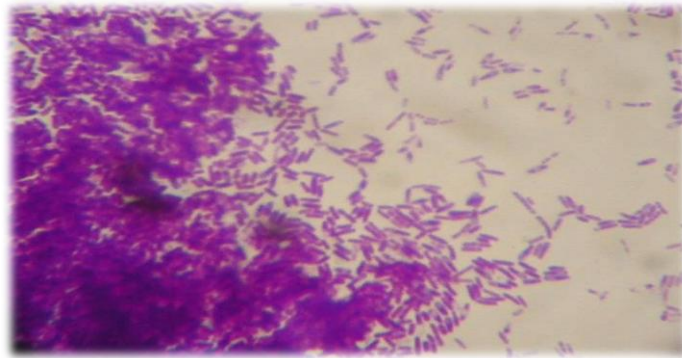


Рис. 3.2. Клетки рода *Bacillus* (x1000)

Род *Enterococcus*: грамположительные кокки, часто представлены парами (диплококки) или короткими цепочками (Рис. 3.3).

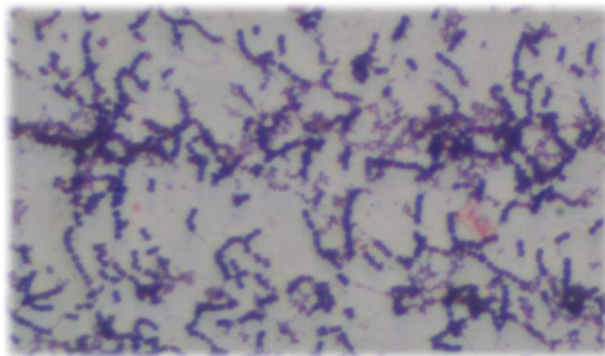


Рис 3.3. Клетки рода *Enterococcus* (x1000)

Род *Pseudomonas*: грамотрицательные аэробные неспорообразующие бактерии, подвижны и имеют форму прямых или изогнутых палочек и два полярно расположенные жгутика (Рис. 3.4.).



Рис. 3.4. Клетки рода *Pseudomonas* (x1000)

Род *Proteus*: анаэробные грамотрицательные палочки с закругленными концами, являются перитрихами (Рис. 3.5.).

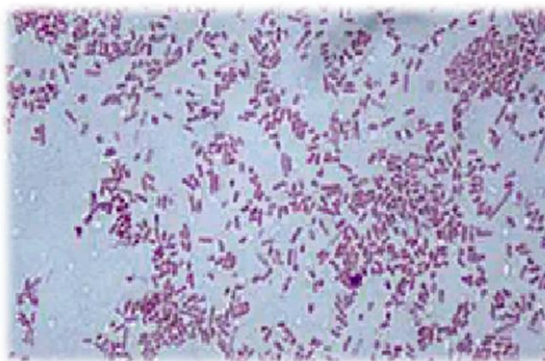


Рис. 3.5. Клетки рода *Proteus* (x1000)

Род *Streptococcus*: сферические или овоидные кокки, грамположительные, неспорообразующие, располагаются попарно или цепочками, неподвижны (Рис. 3.6.).

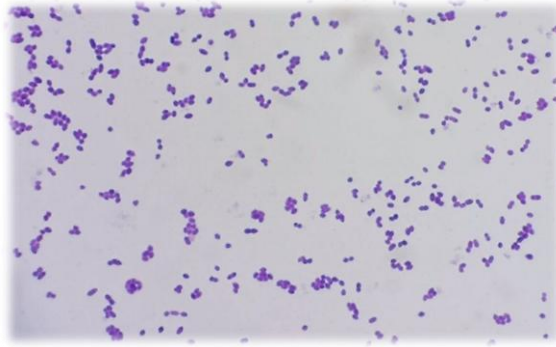


Рис. 3.6. Клетки рода *Streptococcus* (x1000)

Род *Aspergillus*: мицелий разделен перегородками с отверстиями. От мицелия отходят одноклеточные конидиеносцы, имеющие утолщение на конце (Рис. 3.7.).

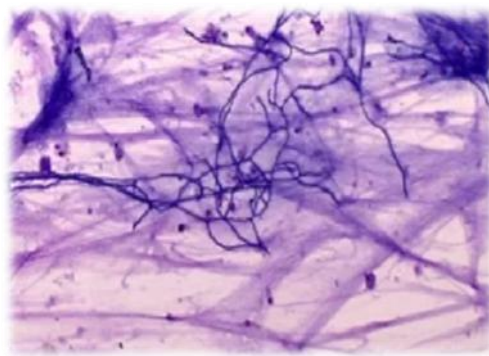


Рис. 3.7. Мицелий и спорангиеносцы рода *Aspergillus* (x600)

Род *Penicillium*: имеют многоклеточный мицелий и конидиеносцы. В верхней части мицелий имеет разветвления в виде кистей (Рис. 3.8.).



Рис. 3.8. Мицелий и спорангиеносцы рода *Penicillium* (x600)



Род *Mucor*: одиночные бесцветные спорангиеносцы, на вершине которых развивается по одному спорангию в форме сферической чёрной головки. Спорангиеносцы – простые или разветвлённые (моноподиально, неправильно симподиально или кистевидно) (Рис. 3.9.)



Рис. 3.9. Мицелий и спорангиеносцы рода *Mucor* (x600)

Род *Fusarium*: мицелий гриба может быть окрашен в разные цвета (белый, розовый и др.). На нем располагаются макро – и микроконидии. У основания конидий имеется четко или слабовыраженная ножка, или могут быть конидии лишены ее (Рис. 3.10.).

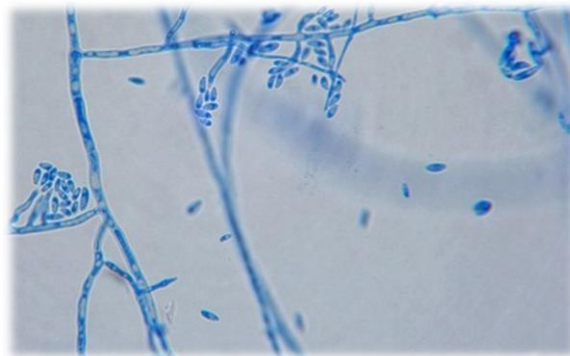


Рис.3.10. Мицелий рода *Fusarium* (x600)

Род *Candida*: состоят из дрожжевых клеток овальной формы псевдогиф и септированных гиф размером до 8 мкм, размножающихся почкованием. (Рис. 3.11.).

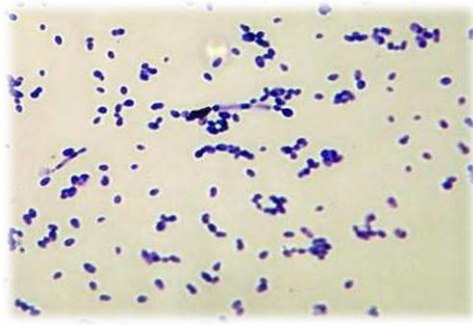


Рис. 3.11. Клетки рода *Candida* (x1000)

Род *Streptomyces*: мицелий в зрелом состоянии образует цепочки из трех и более спор. Споры неподвижные. Грамположительные аэробы (Рис.3.12).

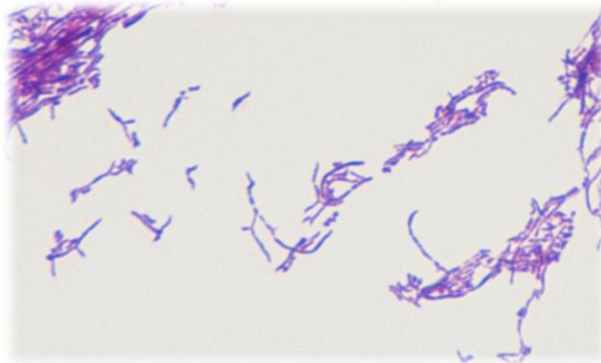


Рис. 3.12. Мицелий рода *Streptomyces* (x1000)

Анализируя пробы почв, взятые в разные периоды времени, можно отметить последовательную закономерную смену одних микроорганизмов другими.

В пробах, взятых в июле 2017 г., наблюдалось наибольшее количество представителей риосферной микрофлоры во всех типах почв. Однако, наиболее богат по микробиологическому составу чернозем типичный тяжелосуглинистый. Это явление объясняется тем, что данная почва в своем составе имеет большое содержание органического вещества. Основная масса прикорневой микрофлоры была представлена бактериями рода *Pseudomonas*. Так же присутствовали в значительном количестве представители рода *Escherichia*. Более сильным изменениям подвержено число неспорообразующих бактерий в почвах, так как степень освещенности и

температура воздуха влияют на корневые выделения и, следовательно, на микроорганизмы. Относительно умеренная динамика численности была отмечена у рода *Bacillus*. Это вполне объяснимо, так как существенная их часть устойчиво находится в почве в состоянии спор. На среде Чапека так же были выделены представители грибной микрофлоры и актиномицеты. За счет высокого осмотического давления в клетке дефицит увлажнения менее сказывается на их развитии по сравнению с бактериями. Зачастую отмечается, что при уменьшении в подсушиваемой почве числа бактерий происходит нарастание относительного числа актиномицетного и грибного населения.

Возрастание роли бацилл и актиномицетов на более глубоких стадиях распада растительных остатков показывают результаты взятия проб в октябре 2017 г. На первых этапах их минерализации доминируют неспорообразующие бактерии такие как представители рода *Proteus*, также участвующие в процессе гниения. Существенную роль так же играют бациллы и актиномицеты. Это явление может быть объяснено как большей быстротой размножения неспороносных бактерий, так и тем, что большинство бацилл и актиномицетов являются обладателями более мощного деструктивного аппарата. Они могут усваивать вещества, недоступные неспорообразующим бактериям, и начинают развиваться на субстрате, обедненном мобильными соединениями. Так же на состав ризосферы микрофлоры играет тепловой фактор, в осенний период происходит понижение температуры окружающей среды.

В третьей пробе взятой весной вновь происходит активизация ризосферы микрофлоры.

### 3.3. Агрохимический состав изучаемых типов почв

С целью определения количества основных минеральных веществ в изучаемых почвах провели химический анализ почвенных образцов проводили по стандартным методикам в сертифицированной испытательной лаборатории БелГАУ им. В.Я. Горина. Результаты исследований представлены в таблице 3.11.

Таблица 3.11.

## Агрохимический состав почв

Тип почвы	Гумус, %	Азот щелочно-гидролизуемый, мг/кг	Азот общий, %	Подвижные соединения фосфора, мг/кг	Подвижные соединения калия, мг/кг	pH водной вытяжки, ед. pH	Сумма поглощенных оснований, моль/г	Железо, мг/кг
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	2,25	188,3	0,357	195	90	7,45	48,4	43,7
Лугово-черноземная среднесуглинистая	1,53	157,5	0,245	310	37	5,40	22,0	35,1
Чернозем типичный песчаный	0,92	86,8	0,147	155	50	5,56	8,2	50,8
Элювий мела	0,32	41,2	0,054	78	26	8,30	3,3	21,6

Определение кислотности почвы, содержания доступных форм азота, фосфора и калия в ризосфере выявило существенные различия между изученными почвенными образцами. Количество гумуса является одним из важнейших показателей почвенного плодородия. Его запасы в значительной степени определяют агрохимические, агрофизические и биологические свойства почвы. Богатые гумусом почвы отличаются высокой буферностью в отношении многих факторов – пищевого, водного, температурного и воздушного режимов. В таких почвах снижаются потери элементов питания от вымывания, повышается скорость разложения пестицидов, уменьшаются

затраты растений, особенно корне – и клубнеплодных, на механическую работу их корневой системы на деформацию и смещение почвенных агрегатов во время роста, значительно снижаются энергетические затраты на обработку почвы. Содержание гумуса зависит от почвенно-климатических условий, структуры посевных площадей, интенсивности обработки почвы, количества применяемых удобрений и мелиорантов.

Анализ полученных данных указывает на то, что чернозем типичный тяжелосуглинистый является наиболее сбалансированным по содержанию гумуса и минеральных веществ, далее следует лугово-черноземная среднесуглинистая почва, чернозем типичный песчаный. Самым бедным по химическому составу является элювий мела.

### 3.4. Изучение урожайность люцерны в различных условиях экотопа

Полевой опыт по изучению урожайности сорта люцерны Краснояружская 1 проводили в 2016-2017 гг. на селекционных участках ЗАО «Краснояружская зерновая компания».

Так как люцерна является ценной комовой культурой, то важным показателем служит сбор сырой надземной фитомассы. В наших опытах наибольший сбор сырой фитомассы был на чернозёме типичном и лугово-черноземной почве (табл. 3.12.). На черноземе песчаном урожайность сырой фитомассы была ниже на 22,71 % и на 11,63 % соответственно. На элювии мела урожайность сырой массы была минимальной и снижалась по сравнению с черноземом типичным и лугово-черноземной почвой на 75,93 % и на 72,48 % соответственно.

Таблица 3.12.

Сбор сырой надземной фитомассы люцерны, кг/ м<sup>2</sup>

Тип почвы	2016 г.	2017 г.	В среднем
чернозем типичный тяжелосуглинистый	2,14±0,11	3,85±1,9	2,95±0,15
лугово–черноземная среднесуглинистая	2,04±0,10	3,16±0,16	2,58±0,13
чернозем типичный песчаный	2,09±0,10	2,48±0,12	2,28±0,11
элювий мела	0,68±0,03	0,74±0,04	0,71±0,03

С точки зрения кормопроизводства важным является содержание сухих веществ в надземной массе растений люцерны.

Проведенный анализ показал, что по сбору сухой надземной фитомассы лучшими были образцы, полученные на черноземе типичном тяжелосуглинистом (табл.3.13.). Люцерна на лугово-черноземной почве дала выход массы на 25,88 % ниже, на черноземе типичном песчаном на 37,81% ниже, на элювии мела на 67,51 %.

Таблица 3.13.

Сбор сухой надземной фитомассы люцерны, г абс. сух. в-ва/ м<sup>2</sup>

Тип почвы	2016 г.	2017 г.	В среднем
чернозем типичный тяжелосуглинистый	392,82±18,64	790,31±39,34	591,63±28,59
лугово–черноземная среднесуглинистая	310,33±15,52	566,79±28,34	438,54±21,927
чернозем типичный песчаный	374,51±18,73	361,43±18,07	367,91±18,40
элювий мела	91,47±4,58	106,23±5,31	192,25±9,18

Для селекционной семеноводческой работы ценным качеством селекционного материала является способность растений к семенообразованию. Люцерна – культура насекомоопыляемая, поэтому урожайность семян во многом определяется количеством опылителей.

Однако важное значение для сохранения завязавшихся семян, их формирование играют условия экотопа, особенно почва (табл. 3.14).

Таблица 3.14.

Семенная продуктивность люцерны, г/ м<sup>2</sup>

Тип почвы	2016 г.	2017 г.	В среднем
Чернозем типичный тяжелосуглинистый	43,23±2,13	54,91±2,34	49,14±2,43
Лугово–черноземная среднесуглинистая	31,71±1,59	28,97±1,42	30,38±1,51
Чернозем типичный песчаный	22,66±1,13	25,48±1,27	24,67±1,22
элювий мела	9,58±0,10	12,65±0,63	11,12±0,56

Люцерна на лугово-черноземной почве дала выход семян на 38,18% ниже, на черноземе типичном песчаном на 49,80 %, на элювии мела на 77,37 %.

Таким образом, люцерна, возделываемая на черноземе типичном, дает максимальных выход сырой и сухой фитомассы, а также имеет высокую семенную продуктивность.

### 3.5. Статистическая обработка полученных данных

С целью понимания влияния отдельных факторов (количества ризобиальной микрофлоры, степени обеспеченности почвы минеральными веществами) на продуктивность растений люцерны был проведен дисперсионный анализ.

Далее проводилась статистическая обработка данных, полученных при вычислении КМАиФАНМ на ГРМ-агаре, БГКП на среде Эндо, грибов на среде Чапека разностным методом.

Для этого взяли результаты разведений  $1:10^6$  и сравнили три пробы в каждом типе почвы (по датам анализа) между собой. Далее производилось сравнение между каждым типов почвы по датам анализов. За контроль был принят чернозем типичный тяжелосуглинистый.

Достоверность различий определяли по критерию Стьюдента.

Результаты изучения количества бактерий группы кишечной палочки (БКГП) в различные периоды роста и развития растений люцерны при

разведении  $1:10^6$  в почве чернозем типичный тяжелосуглинистый представлены в таблице 3.15.

Таблица 3.15.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде Эндо (чернозем типичный тяжелосуглинистый)

Дата отбора образцов						
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.	d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
140	123	17	1	1	2,08	7,69**
133	121	12	-4	16		
144	125	19	3	9		
x1cp=139	x2cp=123	dcp=16	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=26$		
Дата отбора образцов						
Июль 2017 г.	Май 2108 г.	d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
140	144	-4	-0,67	0,45	1,20	3,06*
133	139	-5	-1,67	2,79		
144	145	-1	2,33	5,43		
x1cp=139	x3cp= 142,67	dcp=-3,33	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=8,67$		
Дата отбора образцов						
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.	d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
123	144	-21	-1,33	1,77	0,88	22,35** *
121	139	-18	1,67	2,79		
125	145	-20	-0,33	0,11		
x2cp=123	x3cp= 142,67	dcp=-19,67	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=4,67$		

Примечание: \*– разность существенна на уровне  $p < 0,05$ ,  $t_{таб} = 2,78$ ;

\*\* – разность существенна на уровне  $p < 0,01$ ,  $t_{таб} = 4,60$ ;

\*\*\* – разность существенна на уровне  $p < 0,001$ ,  $t_{таб} = 8,61$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно



сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=7,69$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=3,06$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=22,35$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Результаты статистической обработки значений количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почве чернозем типичный тяжелосуглинистый представлены в таблице 3.16.

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=1,84$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=1$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=2,24$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Таблица 3.16.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении  
КМАиФАнМ (КОЕ/г×10<sup>7</sup>) в разведении 1: 10<sup>6</sup> на среде ГРМ-агар (чернозем  
типичный тяжелосуглинистый)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
87	77	10	-13	169	12,50	1,84*
99	51	48	25	625		
79	68	11	-12	144		
x1cp=88,33	x2cp=65,33	dcp=23	∑=0	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =938		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
87	84	3	-0,67	0,45	4,63	1*
99	87	12	8,33	69,39		
79	83	-4	-7,67	58,83		
x1cp=88,33	x3cp=84,67	dcp=3,67	∑=-0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =128,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
77	84	-7	12,33	152,03	8,65	2,24*
51	87	-36	-16,67	277,89		
68	83	-15	4,33	18,75		
x2cp=65,33	x3cp=84,67	dcp=-19,33	∑=-0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =448,67		

Результаты изучения количества грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении 1:10<sup>6</sup> в почве чернозем типичный тяжелосуглинистый представлены в таблице 3.17.

Таблица 3.17.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении грибов  
(КОЕ/г×10<sup>7</sup>) в разведении 1: 10<sup>6</sup> на среде Чапека (чернозем типичный  
тяжелосуглинистый)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
32	20	12	6,33	40,07	3,18	1,78*
22	19	3	-2,67	7,13		
23	21	2	-3,67	13,47		
x1cp= 25,67	x2cp=20	dcp=5,67	∑=-0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =60,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
32	23	9	9,33	87,05	4,70	1,1*
22	26	-4	-3,67	13,47		
23	29	-6	-5,67	32,15		
x1cp=25,67	x3cp=26	dcp=-0,33	∑=-0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =132,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
20	23	-3	3	9	1,53	3,92**
19	26	-7	-1	1		
21	29	-8	-2	4		
x2cp=20	x3cp=26	dcp=-6	∑=0	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =14		

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=1,78$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=1,1$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=3,92$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Результаты изучения количества бактерий группы кишечной палочки (БКГП) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  на элювии мела представлены в таблице 3.18.

Таблица 3.18.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП ( $\text{КОЕ/г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде Эндо (элювий мела)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
68	54	14	0,33	0,11	1,45	6,67**
65	49	16	2,33	5,43		
59	48	11	-2,67	7,13		
x1cp=64	x2cp=50,33	dcp=13,67	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=12,67$		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
68	58	10	0,67	0,45	2,91	3,21**
65	51	14	4,67	21,81		
59	55	4	-5,33	28,41		
x1cp=64	x3cp=54,67	dcp=9,33	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=50,67$		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
54	58	4	5,67	32,15	3,18	1,36*
49	51	-2	-0,33	0,11		
48	55	-7	-5,33	28,41		
x2cp=50,33	x3cp=54,67	dcp=-1,67	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=60,67$		

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=6,67$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Разница между первой (июль 2017) г. и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=3,21$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) не существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} > t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=1,36$   $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Результаты статистической обработки значений количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  на элювии мела представлены в таблице 3.19.

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=5,43$   $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической не значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} > t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=0,67$   $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=5,11$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Таблица 3.19.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАНМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде ГРМ-агар (элювий мела)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
67	51	16	-2,33	5,43	3,38	5,43**
70	45	25	6,67	44,49		
66	52	14	-4,33	18,75		
x1cp=67,67	x2cp=49,33	dcp=18,33	∑=0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =68,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
67	69	-2	-1,67	2,79	1,00	0,67*
70	69	1	0,67	0,45		
66	64	2	1,67	2,79		
x1cp=67,67	x3cp=67	dcp=0,33	∑=0,67	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =6,03		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
51	69	-18	0	0	3,46	5,11**
45	69	-24	-6	36		
52	64	-12	6	36		
x2cp=49,33	x3cp=67	dcp=-18	∑=0	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =72		

Результаты изучения количества грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении 1:10<sup>6</sup> на эловии мела представлены в таблице 3.20.

Таблица 3.20.

Статистическая обработка цифровых значений полученных при вычислении грибов (КОЕ/г×10<sup>7</sup>) в разведении 1: 10<sup>6</sup> на среде Чапека (эловий мела)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
66	45	21	5,33	28,41	2,73	5,74**
65	51	14	-1,67	2,79		
55	43	12	-3,67	13,47		
x1cp=62	x2cp=46,33	dcp=15,67	∑=-0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =44,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
66	67	-1	-2,33	5,43	4,01	0,35*
65	56	9	7,67	58,83		
55	59	-4	-5,67	32,15		
x1cp=62	x3cp=60,62	dcp=1,33	∑=-0,33	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =96,41		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
45	67	-22	-7,67	58,83	4,98	2,88*
51	56	-5	9,33	87,05		
43	59	-16	-1,67	2,79		
x2cp=46,33	x3cp=60,67	dcp=-14,33	∑=-0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =148,67		

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=5,74$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) не существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=0,35$ ,  $t_{таб}=2,8$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=2,88$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Результаты изучения количества бактерий группы кишечной палочки (БКГП) в различные периоды роста и развития растений люцерны при

разведении  $1:10^6$  в почве чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.21.

Таблица 3.21.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде Эндо (чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
80	69	19	5,67	32,15	3,48	3,06*
88	81	7	-6,33	40,07		
91	77	14	0,67	0,45		
x1cp=86,33	x2cp=75,67	dcp=13,33	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=72,67$		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
80	67	13	-15,33	235,01	7,67	3,69*
88	52	36	7,67	58,83		
91	55	36	7,67	58,83		
x1cp=86,33	x3cp=58	dcp=28,33	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=352,67$		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
69	67	2	-15,67	245,55	8,09	2,18*
81	52	29	11,33	128,37		
77	55	22	4,33	18,75		
x2cp=75,67	x3cp=58	dcp=17,67	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=392,29$		

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=3,06$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно



сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=3,69$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} > t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=2,18$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Результаты статистической обработки значений количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почве чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.22.

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=4,23$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=3,35$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,005$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} > t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=2,18$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Таблица 3.22.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАНМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде ГРМ-агар (чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
43	32	11	-6,33	40,07	4,10	4,23*
44	28	16	-1,33	1,77		
48	23	25	7,67	58,83		
x1cp= 45	x2cp= 27,67	dcp=17,33	∑=0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =100,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
43	33	10	2,67	7,13	2,19	3,35*
44	41	3	-4,33	18,75		
48	39	9	1,67	2,79		
x1cp= 45	x3cp= 37,67	dcp=7,33	∑=0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =28,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
32	33	-1	9	81	4,58	2,18*
28	41	-13	-3	9		
23	39	-16	-6	36		
x2cp= 27,67	x3cp= 37,67	dcp=-10	∑=0	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =126		

Результаты изучения количества грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почве чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.23.

Таблица 3.23.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении грибов ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде Чапека (чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
27	10	17	4	16	2,08	6,25**
25	13	12	-1	1		
26	16	10	-3	9		
x1cp= 26	x2cp= 13	dcp=13	∑=0	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =26		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
27	22	5	1,67	2,79	0,88	3,78*
25	23	2	-1,33	1,77		
26	23	3	-0,33	0,11		
x1cp= 26	x3cp= 22,67	dcp=3,33	∑=0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> = 4,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
10	22	-12	-2,33	5,43	1,45	6,67**
13	23	-10	-0,33	0,11		
16	23	-7	2,67	7,13		
x2cp= 13	x3cp= 22,67	dcp=-9,67	∑=-0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =12,67		

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=6,25$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=3,78$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=6,67$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Результаты изучения количества бактерий группы кишечной палочки (БКГП) в различные периоды роста и развития растений люцерны при

разведении  $1:10^6$  в почве лугово-черноземная среднесуглинистая представлены в таблице 3.24.

Таблица 3.24.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП(КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде Эндо (лугово-черноземная среднесуглинистая)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
33	20	13	0,67	0,4489	0,67	18,49
34	23	11	-1,33	1,7689		
38	25	13	0,67	0,4489		
x1cp= 35	x2cp=22,67	dcp=12,33	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=2,6667$		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
33	25	8	4	16	2	2
34	32	2	-2	4		
38	36	2	-2	4		
x1cp=35	x3cp=31	dcp=4	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=24$		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
20	25	-5	3,33	11,09	1,76	4,73
23	32	-9	-0,67	0,45		
25	36	-11	-2,67	7,13		
x2cp=22,67	x3cp=31	dcp=-8,33	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=18,67$		

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=18,49$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=2$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=4,73$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Результаты статистической обработки значений количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почве лугово-черноземной тяжелосуглинистой в таблице 3.25.

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно не существенной разнице сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=2,59$ ,  $t_{таб}=2,78$ . Есть тенденция к значимости.

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической не значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=1,1$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=5$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Таблица 3.25.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАНМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде ГРМ-агар (лугово-черноземная среднесуглинистая)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
42	24	18	1,67	2,79	2,19	2,59*
38	26	12	-4,33	18,75		
49	30	19	2,67	7,13		
x1cp= 25,67	x2cp=20	dcp=16,33	∑=0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =28,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
42	35	7	-0,67	0,45	1,76	1,1*
38	33	5	-2,67	7,13		
49	38	11	3,33	11,09		
x1cp=25,67	x3cp=26	dcp=7,67	∑=- -0,01	∑(d-dcp) <sup>2</sup> - =18,67		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
24	35	-11	-2,33	5,43	1,20	5**
26	33	-7	1,67	2,79		
30	38	-8	-0,67	0,45		
x2cp=20	x3cp=26	dcp=-8,67	∑=-1,33	∑(d-dcp) <sup>2</sup> =8,67		

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно не существенной разнице сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=2,59$ ,  $t_{таб}=2,78$ . Есть тенденция к значимости.

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической не значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=1,1$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=5$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Результаты изучения количества грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почве лугово-черноземная среднесуглинистая представлены в таблице 3.26.

Таблица 3.26.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении грибов ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде Чапека (лугово-черноземная среднесуглинистая)

Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Октябрь 2017 г.					
55	41	14	1,67	2,79	2,73	4,52*
45	38	7	-5,33	28,41		
53	37	16	3,67	13,47		
$x_{1cp}=51$	$x_{2cp}=38,67$	dcp=12,33	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=44,67$		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Июль 2017 г.	Май 2018 г.					
55	49	6	6	36	3,21	1*
45	50	-5	-5	25		
53	54	-1	-1	1		
$x_{1cp}=51$	$x_{3cp}=51$	dcp=0	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=62$		
Дата отбора образцов		d	d-dcp	(d-dcp) <sup>2</sup>	Sd(1-2)	tфакт. (1-2)
Октябрь 2017 г.	Май 2018 г.					
41	49	-8	4,33	18,75	2,60	4,74**
38	50	-12	0,33	0,11		
37	54	-17	-4,67	21,81		
$x_{2cp}=38,67$	$x_{3cp}=51$	dcp=-12,33	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=40,67$		

Разница между первой (июль 2017 г.) и второй пробой (октябрь 2017 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт.}$   $t_{факт.}=4,52$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между первой (июль 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической не значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=1$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между второй (октябрь 2017 г.) и третьей пробой (май 2018 г.) существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=4,74$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Результаты сравнения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и лугово-черноземной среднесуглинистой представлены в таблице 3.27.

Таблица 3.27.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАНМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде ГРМ-агар (чернозем типичный тяжелосуглинистый и лугово-черноземная среднесуглинистая)

Дата отбора образцов	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	Лугово-черноземная среднесуглинистая	d	d - dcp	$(d - dcp)^2$	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	87	42	45	-0,33	0,11	8,95	7,00**
	99	38	61	15,67	245,55		
	79	49	30	-15,33	235,01		
	$\bar{x}_1 = 88,33$	$\bar{x}_2 = 25,67$	dcp=45,33	$\sum = 0,01$	$\sum (d - dcp)^2 = 480,67$		
Октябрь 2017 г.	77	24	53	14,33	205,35	8,09	4,78**
	51	26	25	-13,67	186,87		
	68	30	38	-0,67	0,45		



продолжение табл.3.27.

	$x_{cp1}=65,33$	$x_{2cp}=26,67$	$d_{cp}=38,67$	$\sum=-0,01$	$\sum(d-d_{cp})^2=392,67$		
Май 2018 г.	84	35	49	-0,33	0,11	2,6 1	18,91* **
	87	33	54	4,67	21,81		
	83	38	45	-4,33	18,75		
	$\bar{x}_1=84,67$	$x_{2cp}=35,33$	$d_{cp}=49,33$	$\sum=0,01$	$\sum(d-d_{cp})^2=40,67$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=18,91$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=4,78$   $t_{таб}=4,60$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=18,91$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Результаты сравнения количества БГКП в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и лугово-черноземной среднесуглинистой представлены в таблице 3.28.

Таблица 3.28.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП  
(КОЕ/г×10<sup>7</sup>) в разведении 1: 10<sup>6</sup> на среде Эндо (чернозем типичный  
тяжелосуглинистый и лугово-черноземная среднесуглинистая)

Дата отбора образцов	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	Лугово-черноземная среднесуглинистая	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	140	33	107	3	9	2,5 2	41,27** *
	133	34	99	-5	25		
	144	38	106	2	4		
	$\bar{x}1cp=139$	$\bar{x}cp=35$	$dcp=104$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=38$		
Октябрь 2017 г.	123	20	103	2,67	7,13	1,4 5	69,19** *
	121	23	98	-2,33	5,43		
	125	25	100	-0,33	0,11		
	$\bar{x}1cp=123$	$\bar{x}2cp=22,67$	$dcp=100,33$	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=12,67$		
Май 2018 г.	144	24	120	8,83	77,97	4,5 7	24,44** *
	139	34	105	-6,67	44,49		
	145	35	110	-1,67	2,79		
	$\bar{x}1cp=142,67$	$\bar{x}2cp=31$	$dcp=111,67$	$\Sigma=0,49$	$\Sigma(d-dcp)^2=125,25$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=41,27$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=69,19$ ,  $t_{таб}=8,61$ . Разница между пробами май 2018 г. существенна на

уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=24,44$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ . Результаты сравнения количества грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и лугово-черноземной среднесуглинистой представлены в таблице 3.29.

Таблица 3.29.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении грибов ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде Чапека (чернозем типичный тяжелосуглинистый и лугово-черноземная среднесуглинистая)

Дата отбора образцов	Лугово-черноземная среднесуглинистая	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	55	32	-23	2,33	5,43	2,33	10,87** *
	45	22	-23	2,33	5,43		
	53	23	-30	-4,67	21,81		
	$\bar{x}_{1cp}=51$	$\bar{x}_{2cp}=25,67$	dcp = -25,33	$\sum = -0,01$	$\sum (d - dcp)^2 = 32,67$		
Октябрь 2017 г.	41	20	-21	-2,33	5,43	1,45	12,88** *
	38	19	-19	-0,33	0,11		
	37	21	-16	2,67	7,13		
	$\bar{x}_{1cp}=38,67$	$\bar{x}_{2cp}=20$	dcp = -18,67	$\sum = 0,01$	$\sum (d - dcp)^2 = 12,67$		
Май 2018 г.	49	23	-26	-1	1	0,58	43,10** *
	50	26	-24	1	1		
	54	29	-25	0	0		
	$\bar{x}_{1cp}=51$	$\bar{x}_{2cp}=26$	dcp = -25	$\sum = -0$	$\sum (d - dcp)^2 = 2$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=10,87$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ . Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=12,88$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ . Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=43,10$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ .

Результаты сравнения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.30.

Таблица 3.30.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАНМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде ГРМ-агар (чернозем типичный тяжелосуглинистый и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	Чернозем типичный песчаный	d	d - dcp	$(d - dcp)^2$	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	87	43	44	0,67	0,45	7,4 5	5,82**
	99	44	55	11,67	136,19		
	79	48	31	-12,33	152,03		
	$x1_{\text{ср}}=88,33$	$x2_{\text{ср}}=45$	$d_{\text{ср}}=43,3$ 3	$\sum=0,0$ 1	$\sum(d-dcp)^2=288,6$ 7		
Октябрь 2017 г.	77	32	45	7,33	53,73	7,3 3	5,14**
	51	28	23	-14,67	215,21		

продолжение табл.3.30.

	68	23	45	7,33	53,73		
	$\bar{x}_{cp1}=65,33$	$\bar{x}_{cp2}=27,6$ 7	$\bar{d}_{cp}=37,6$ 7	$\Sigma=-$ -0,01	$\Sigma(d-$ $d_{cp})^2=322,6$ 7		
Май 2018 г.	84	33	51	4	16	2,0 8	22,60** *
	87	41	46	-1	1		
	83	39	44	-3	9		
	$\bar{x}_{1cp}=84,67$	$\bar{x}_{2cp}=37,6$ 7	$\bar{d}_{cp}=47$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-$ $d_{cp})^2=26$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=5,82$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=5,14$ ,  $t_{таб}=4,60$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=22,60$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Результаты сравнения количества бактерий группы кишечной палочки (БКГП) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.31.

Таблица 3.31.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде Эндо (чернозем типичный тяжелосуглинистый и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	Чернозем типичный песчаный	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	140	80	60	7,33	53,73	4,33	12,16** *
	133	88	45	-7,67	58,83		
	144	91	53	0,33	0,11		
	$\bar{x}1cp=139$	$\bar{x}2cp=86,33$	$dcp=52,67$	$\sum=-0,01$	$\sum(d-dcp)^2=112,67$		
Октябрь 2017 г.	123	69	54	6,67	44,49	4,06	11,66** *
	121	81	40	-7,33	53,73		
	125	77	48	0,67	0,45		
	$\bar{x}1cp=123$	$\bar{x}2cp=75,67$	$dcp=47,33$	$\sum=0,01$	$\sum(d-dcp)^2=98,67$		
Май 2018 г.	144	67	77	-7,67	58,83	3,93	21,27** *
	139	52	87	2,33	5,43		
	145	55	90	5,33	28,41		
	$\bar{x}1cp=142,67$	$\bar{x}2cp=58$	$dcp=84,67$	$\sum=-0,01$	$\sum(d-dcp)^2=92,67$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=12,16$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=11,66$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=21,27$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Результаты сравнения грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.32.

Таблица 3.32.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении грибов (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде Чапека (чернозем типичный тяжелосуглинистый и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	Чернозем типичный песчаный	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	32	27	5	5	25	2,52	0,13*
	22	25	-2	-2	4		
	23	26	-3	-3	9		
	$\bar{x}_{1cp}=25,67$	$\bar{x}_{2cp}=26$	dcp=0	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=38$		
Октябрь 2017 г.	20	10	10	3	9	1,53	0,22*
	19	13	6	-1	1		
	21	16	5	-2	4		
	$\bar{x}_{1cp}=20$	$\bar{x}_{2cp}=13$	dcp=7	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=14$		
Май 2018 г.	23	22	1	-2,33	5,43	1,45	0,45*
	26	23	3	-0,33	0,11		
	29	23	6	2,67	7,13		
	$\bar{x}_{1cp}=26$	$\bar{x}_{2cp}=22,67$	dcp=3,33	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=12,67$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=0,13$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} > t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=0,22$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} > t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=0,45$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Результаты сравнения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАиФАНМ) в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и элювий мела в представлены таблице 3.33.

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=4,46$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=2,77$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ . Значение стремится к значимости.

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=12,19$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ .

Таблица 3.33.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАНМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде ГРМ-агар (чернозем типичный тяжелосуглинистый и элювий мела)



Дата отбора пробы	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	Элювий мела	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	87	67	20	-0,67	0,45	4,63	4,46*
	99	70	29	8,33	69,39		
	79	66	13	-7,67	58,83		
	$\bar{x}1_{cp}=88,33$	$\bar{x}2_{cp}=67,67$	$d_{cp}=20,67$	$\sum=-0,01$	$\sum(d-d_{cp})^2=128,67$		
Октябрь 2017 г.	77	51	26	10	100	5,77	2,77*
	51	45	6	-10	100		
	68	52	16	0	0		
	$\bar{x}_{cp1}=65,33$	$\bar{x}_{cp2}=49,33$	$d_{cp}=16$	$\sum=0$	$\sum(d-d_{cp})^2=200$		
Май 2018 г.	84	69	15	-2,67	7,13	1,45	12,19** *
	87	69	18	0,33	0,11		
	83	63	20	2,33	5,43		
	$\bar{x}1_{cp}=84,67$	$\bar{x}2_{cp}=67$	$d_{cp}=17,67$	$\sum=-0,01$	$\sum(d-d_{cp})^2=12,67$		

Результаты сравнения количества БГКП в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении 1:10<sup>6</sup> в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и элювий мела приведены в таблице 3.34.

Таблица 3.34.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП (КОЕ/г×10<sup>7</sup>) в разведении 1: 10<sup>6</sup> на среде Эндо (чернозем типичный тяжелосуглинистый и элювий мела)

Дата отбора образцов	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	Элювий мела	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	140	68	72	-3	9	5,13	14,62** *
	133	65	68	-7	49		
	144	59	85	10	100		
	$\bar{x}1cp=139$	$\bar{x}2cp=64$	dcp=75	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=158$		
Октябрь 2017 г.	123	54	69	-4,67	21,81	3,28	22,16** *
	121	49	72	-1,67	2,79		
	125	48	80	6,33	40,07		
	$\bar{x}1cp=123$	$\bar{x}2cp=50,33$	dcp=73,67	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=64,67$		
Май 2018 г.	144	58	86	-3,67	13,47	2,73	32,23** *
	139	51	88	-1,67	2,79		
	145	55	95	5,33	28,41		
	$\bar{x}1cp=142,67$	$\bar{x}2cp=54,67$	dcp=89,67	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=44,67$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=14,67$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=22,16$ ,  $t_{таб}=8,61$ . Значение стремится к значимости.

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=32,23$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Результаты сравнения грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах чернозем типичный тяжелосуглинистый и элювий мела представлены в таблице 3.35.

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=10,75$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ . Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=8,70$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ . Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=7,42$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Таблица 3.35.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении грибов ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде Чапека (чернозем типичный тяжелосуглинистый и элювий мела)

Дата отбора образцов	Чернозем типичный тяжелосуглинистый (Контроль)	Элювий мела	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	32	66	-34	2,33	5,43	3,38	10,75***
	22	65	-43	-6,67	44,49		
	23	55	-32	4,33	18,75		
	$x1_{cp}=25,67$	$x2_{cp}=62$	dcp=- 36,33	$\sum=-$ 0,01	$\sum(d-$ dcp) <sup>2</sup> =68,67		
Октябрь 2017 г.	20	45	-25	1,33	1,77	2,96	8,70***
	19	51	-32	-5,67	32,15		
	21	43	-22	4,33	18,75		
	$x1_{cp}=20$	$x2_{cp}=46,33$	dcp=- 26,33	$\sum=-$ 0,01	$\sum(d-$ dcp) <sup>2</sup> =52,67		

продолжение табл. 3.35.

Май 2018 г.	23	67	-44	-9,33	87,05	4,67	7,42**
	26	56	-30	4,67	21,81		
	29	59	-30	4,67	21,81		
	$\bar{x}1_{cp}=26$	$x2_{cp}=60,67$	$d_{cp} = -34,67$	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-d_{cp})^2=130,67$		

Результаты сравнения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почвах лугово-черноземная среднесуглинистая и чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.36.

Таблица 3.36.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАиМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде ГРМ-агар (лугово-черноземная среднесуглинистая и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Лугово-черноземная среднесуглинистая	Чернозем типичный песчаный	d	d - dcp	$(d - dcp)^2$	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	42	43	-1	1	1	2,08	9,29** *
	38	44	-6	-4	16		
	49	48	1	3	9		
	$\bar{x}1_{cp}=25,67$	$x2_{cp}=45$	$d_{cp} = -2$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-d_{cp})^2=26$		
Октябрь 2017 г.	24	32	-8	-7	49	4,36	0,23*
	26	28	-2	-1	1		
	30	23	7	8	64		
	$\bar{x}_{cp1}=26,67$	$x2_{cp}=27,67$	$d_{cp} = -1$	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-d_{cp})^2=114$		
Май 2018 г.	35	33	2	4,33	18,75	2,96	0,79*
	33	41	-8	-5,67	32,15		

продолжение табл.3.36.

	38	39	-1	1,33	1,77		
	$\bar{x}_1 = 35,33$	$\bar{x}_2 = 37,6$ 7	$d_{cp} =$ -2,33	$\sum = 0$	$\sum (d - d_{cp})^2 = 52,67$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=9,29$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=0,23$   $t_{таб}=2,78$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=0,79$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Результаты сравнения количества БГКП в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в лугово-черноземная среднесуглинистая и чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.37.

Таблица 3.37.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде Эндо (лугово-черноземная среднесуглинистая и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Лугово-черноземная среднесуглинистая	Чернозем типичный песчаный	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	33	80	-47	4,33	18,75	2,19	23,44***
	34	88	-54	-2,67	7,13		
	38	91	-53	-1,67	2,79		
	$\bar{x}_{1cp}=35$	$\bar{x}_{2cp}=86,33$	dcp = -51,33	$\sum = -0,01$	$\sum (d-dcp)^2 = 28,67$		
Октябрь 2017 г.	20	69	-49	4	16	2,65	20,00***
	23	81	-58	-5	25		
	25	77	-52	1	1		
	$\bar{x}_{1cp}=22,67$	$\bar{x}_{2cp}=75,67$	dcp = -53	$\sum = 0$	$\sum (d-dcp)^2 = 42$		
Май 2018 г.	24	67	-43	-16	256	8,02	3,37*
	34	52	-18	9	81		
	35	55	-20	7	49		
	$\bar{x}_{1cp}=31$	$\bar{x}_{2cp}=58$	dcp = -27	$\sum = 0$	$\sum (d-dcp)^2 = 386$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=23,44$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=20,00$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=3,37$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Результаты сравнения количества грибов различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в лугово-черноземная

среднесуглинистая и чернозем типичный песчаный представлены в таблице 3.38.

Таблица 3.38.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении грибов (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении 1: 10<sup>6</sup> на среде Чапека (лугово-черноземная среднесуглинистая и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Лугово-черноземная среднесуглинистая	Чернозем типичный песчаный	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	55	27	28	3	9	2,5 2	9,93***
	45	25	20	-5	25		
	53	26	27	2	4		
	$\bar{x}_{2cp}=51$	$\bar{x}_{2cp}=26$	dcp=25	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=38$		
Октябрь 2017 г.	41	10	31	5,33	28,41	2,9 1	8,82***
	38	13	25	-0,67	0,45		
	37	16	21	-4,67	21,81		
	$\bar{x}_{2cp}=38,67$	$\bar{x}_{2cp}=13$	dcp=25,6 7	0,01	$\Sigma(d-dcp)^2=50,6$ 7		
Май 2018 г.	49	22	27	-1,33	1,77	1,3 3	21,30** *
	50	23	27	-1,33	1,77		
	54	23	31	2,67	7,13		
	$\bar{x}_{2cp}=51$	$\bar{x}_{2cp}=22,6$ 7	dcp =28,33	$\Sigma=0,0$ 1	$\Sigma(d-dcp)^2=10,6$ 7		

Разница между пробами июль 2017 существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=8,82$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о

статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=11,66$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=21,30$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Результаты сравнения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почве лугово-черноземной среднесуглинистой и элювии мела представлены в таблице 3.39.

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=6,23$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=9,73$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=9,41$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ .

Таблица 3.39.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАНМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде ГРМ-агар (лугово-черноземная среднесуглинистая и элювий мела)



Дата отбора образцов	Лугово-черноземная среднесуглинистая	Элювий мела	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	42	67	-25	2,33	5,43	6,74	6,23**
	38	70	-40	-12,67	160,53		
	49	66	-17	10,33	106,71		
	$\bar{x}_1 = 25,67$	$\bar{x}_2 = 67,67$	dcp = -27,33	$\sum = -0,01$	$\sum (d - dcp)^2 = 272,67$		
Октябрь 2017 г.	24	51	-27	-4,33	18,75	2,33	9,73***
	26	45	-19	3,67	13,47		
	30	52	-22	0,67	0,45		
	$\bar{x}_1 = 26,67$	$\bar{x}_2 = 49,33$	dcp = -22,67	$\sum = 0,01$	$\sum (d - dcp)^2 = 32,67$		
Май 2018 г.	35	69	-34	-2,33	5,43	3,37	9,41***
	33	69	-36	-4,33	18,75		
	38	63	-25	6,64	44,09		
	$\bar{x}_1 = 35,33$	$\bar{x}_2 = 67$	dcp = -31,67	$\sum = -0,02$	$\sum (d - dcp)^2 = 68,27$		

Результаты сравнения количества БГКП в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении 1:10<sup>6</sup> в почве лугово-черноземной среднесуглинистой и элювии мела представлены в таблице 3.40.

Таблица 3.40.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП (КОЕ/г×10<sup>7</sup>) в разведении 1: 10<sup>6</sup> на среде Эндо (лугово-черноземная среднесуглинистая и элювий мела)

Дата отбора образцов	Лугово-черноземная среднесуглинистая	Элювий мела	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	33	68	-35	-4,67	21,81	4,67	6,21**
	34	65	-35	-4,67	21,81		
	38	59	-21	9,33	87,05		
	$\bar{x}_1 = 35$	$\bar{x}_2 = 64$	dcp = -30,3	$\sum = -0,01$	$\sum (d - dcp)^2 = 130,67$		

продолжение табл. 3.40.

Октябрь 2017 г.	20	54	-34	-6,33	40,07	3,28	8,43**
	23	49	-26	1,67	2,79		
	25	48	-23	4,67	21,81		
	$\bar{x}_1=22,67$	$\bar{x}_2=50,33$	$d_{cp}=-$ 27,67	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-$ $d_{cp})^2=64,67$		
Май 2018 г.	24	58	-34	-10,33	106,71	5,24	4,52*
	34	51	-17	6,67	44,49		
	35	55	-20	3,67	13,47		
	$\bar{x}_1=31$	$\bar{x}_2=54,67$	$d_{cp}=-$ 23,67	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-$ $d_{cp})^2=125,25$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=6,21$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=8,43$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=4,52$   $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Результаты сравнения количества грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  в почве лугово-черноземной среднесуглинистой и элювии мела представлены в таблице 3.41.

Таблица 3.41.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении грибов  
(КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении 1: 10<sup>6</sup> на среде Чапека (лугово-черноземная  
среднесуглинистая и элювий мела)

Дата отбора образцов	Лугово-черноземная среднесуглинистая	Элювий мела	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	55	66	-11	0	0	5,20	2,12*
	45	65	-20	-9	81		
	53	55	-2	9	81		
	$\bar{x}_{2cp}=51$	$\bar{x}_{2cp}=62$	dcp=-11	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=162$		
Октябрь 2017 г.	41	45	-4	3,67	13,47	2,73	2,81*
	38	51	-13	-5,33	28,41		
	37	43	-6	1,67	2,79		
	$\bar{x}_{2cp}=38,67$	$\bar{x}_{2cp}=46,33$	dcp=-7,67	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=44,67$		
Май 2018 г.	49	67	-18	-8,33	69,39	4,18	2,31*
	50	56	-6	3,67	13,47		
	54	59	-5	4,67	21,81		
	$\bar{x}_{2cp}=51$	$\bar{x}_{2cp}=60,67$	dcp=-9,67	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=104,67$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=2,12$ ,  $t_{таб}=2,78$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=2,81$ ,  $t_{таб}=2,78$ . Значение стремится к значимости.

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической

незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=2,31$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Результаты сравнения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  на элювии мела и чернозёмной типичной песчаной почве представлены в таблице 3.42.

Таблица 3.42.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении КМАиФАиМ ( $\text{КОЕ}/\text{г} \times 10^7$ ) в разведении  $1:10^6$  на среде ГРМ-агар (элювий мела и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Элювий мела	Чернозем типичный песчаный	d	d – dcp	(d – dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	67	43	24	1,33	1,77	2,40	9,46***
	70	44	26	3,33	11,09		
	66	48	18	-4,67	21,81		
	x1cp=67,67	x2cp=45	dcp=22,67	$\sum=-0,01$	$\sum(d-dcp)^2=34,67$		
Октябрь 2017 г.	51	32	19	-2,67	7,13	3,71	5,84**
	45	28	17	-4,67	21,81		
	52	23	29	7,33	53,73		
	x1cp=49,33	x2cp=27,67	dcp=21,67	$\sum=-0,01$	$\sum(d-dcp)^2=82,67$		
Май 2018 г.	69	33	36	6,67	44,49	3,53	8,31**
	69	41	28	-1,33	1,77		
	63	39	24	-5,33	28,41		
	x1cp=67	x2cp=37,67	dcp=29,33	$\sum=0,01$	$\sum(d-dcp)^2=74,67$		

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=9,46$ ,  $t_{\text{таб}}=8,61$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=5,84$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=8,31$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Результаты сравнения количества БГКП в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении  $1:10^6$  на элювии мела и чернозёмной типичной песчаной почве представлены в таблице 3.43.

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=8,59$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,01$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} < t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=4,84$ ,  $t_{\text{таб}}=4,60$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{\text{таб}} > t_{\text{факт}}$ .  $t_{\text{факт}}=1,17$ ,  $t_{\text{таб}}=2,78$ .

Таблица 3.43.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении БГКП (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении  $1: 10^6$  на среде Эндо (элювий мела и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Элювий мела	Чернозем типичный песчаный	d	d – dcp	(d – dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	68	80	-28	-0,33	0,11	2,60	8,59**
	65	88	-23	4,67	21,81		
	59	91	-32	-4,33	18,75		
	$\bar{x}1cp=64$	$\bar{x}2cp=86,33$	dcp=-27,67	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=40,67$		
Октябрь 2017 г.	54	69	-15	10,33	106,71	5,24	4,84**
	49	81	-32	-6,67	44,49		
	48	77	-29	-3,67	13,47		
	$\bar{x}1cp=50,33$	$\bar{x}2cp=75,67$	dcp=-25,33	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=164,67$		
Май 2018 г.	58	67	-9	-5,67	32,15	2,85	1,17*
	51	52	-1	2,33	5,43		
	55	55	0	3,33	11,09		
	$\bar{x}1cp=54,67$	$\bar{x}2cp=58$	dcp=-3,33	$\Sigma=-0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=48,67$		

Результаты сравнения количества грибов в различные периоды роста и развития растений люцерны при разведении 1:10<sup>6</sup> на элювии мела и чернозёмной типичной песчаной почве представлены в таблице 3.44.

Разница между пробами июль 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=10,54$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами октябрь 2017 г. существенна на уровне значимости  $P=0,001$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической значимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} < t_{факт}$ .  $t_{факт}=10,16$ ,  $t_{таб}=8,61$ .

Разница между пробами май 2018 г. существенна на уровне значимости  $P=0,05$ . Следуя из этих показаний, можно сказать о статистической

незначимости сравниваемых показателей так как  $t_{таб} > t_{факт}$ .  $t_{факт}=10,53$ ,  $t_{таб}=8,6$ .

Таблица 3.44.

Статистическая обработка значений, полученных при вычислении количества грибов (КОЕ/г $\times 10^7$ ) в разведении 1:  $10^6$  на среде Чапека (элювий мела и чернозем типичный песчаный)

Дата отбора образцов	Элювий мела	Чернозем типичный песчаный	d	d - dcp	(d - dcp) <sup>2</sup>	Sd (1-2)	t факт (1-2)
Июль 2017 г.	66	27	39	3	9	3,51	10,54***
	65	25	40	4	16		
	55	26	29	-7	49		
	$\bar{x}_1cp=62$	$\bar{x}_2cp=26$	dcp=36	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=74$		
Октябрь 2017 г.	45	10	35	1,67	2,79	3,28	10,16***
	51	13	38	4,67	21,81		
	43	16	27	-6,33	40,07		
	$\bar{x}_1cp=46,33$	$\bar{x}_2cp=13$	dcp=33,33	$\Sigma=0,01$	$\Sigma(d-dcp)^2=$		
Май 2018 г.	67	22	45	7	49	3,61	10,53***
	56	23	33	-5	25		
	59	23	36	-2	4		
	$\bar{x}_1cp=60,67$	$\bar{x}_2cp=22,67$	dcp=38	$\Sigma=0$	$\Sigma(d-dcp)^2=78$		

Проведя статистический анализ можно сделать вывод, что разница между пробами существенна на различных уровнях значимости, следовательно, полученные результаты достоверны.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения количественного состава ризобиальной микрофлоры установлено, что оптимальным разбавлением для всех типов почв, позволяющим получить достоверные, статистически значимые результаты при подсчете числа колоний грибов, так же, как и для подсчета числа колоний мезофильных и анаэробных микроорганизмов и для бактерий группы кишечной палочки, является разбавление  $1:10^6$ .

Установлено, что динамика численности ризосферных микроорганизмов изменяется по периодам роста растений. В их развитии наблюдаются два максимума: первый приходится на период отрастания зеленой массы, второй – на период цветения и плодоношения. В эти же периоды происходит максимум корневых выделений.

В период созревания и завядания активность и численность ризосферных микроорганизмов снижается.

Изучение смены бактериальных сообществ в ризосфере в процессе вегетации люцерны позволило установить, что на начальных этапах роста растений преобладают грамотрицательные бактерии, которые по мере старения растения замещаются грамположительными. Такой характер сукцессии, по-видимому связан с заменой бактерий, питающихся продуктами экзосмоса растений, на гидролитиков, разлагающих корневой опад и микробную биомассу. Другой фактор смены состава микрофлоры в процессе вегетации растений является видоизменение состава корневых выделений, служащих источником питания бактерий. Данный состав в разные фазы развития растений зависит от проходящих в эти фазы синтетических процессов. В наибольшем количестве в ризосфере развиваются бактерии рода *Pseudomonas*. Начальный период вегетации и в период активного роста растений спороносные бактерии рода *Bacillus* находятся в ризосфере в незначительном количестве, а в конце вегетации их количество



увеличивается (за счёт появления растительного опада). Так же в ходе исследования были обнаружены *Escherichia*, *Enterococcus*, *Proteus* (среда Эндо), *Streptococcus* (среда ГРМ-агар); *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Streptomyces*, *Candida* (среда Чапека). В прикорневой микрофлоре на ранних стадиях развития обнаруживаются актиномицеты. К концу вегетации число актиномицетов заметно увеличивается.

Определение содержания гумуса, кислотности почвы, содержания доступных форм азота, фосфора и калия в ризосфере выявило существенные различия. Исходя из полученных данных, можно отметить, что чернозем типичный тяжелосуглинистый является наиболее обогащённым гумусом, минеральными веществами, далее следует лугово-черноземная среднесуглинистая почва, чернозем типичный песчаный. Самым бедным по химическому составу является элювий мела.

Люцерна является ценной комовой культурой. Важным показателем оптимального взаимодействия в системе «почва-растение», который отражает способность люцерны реализовать свой генетический потенциал, является ее семенная продуктивность и сбор сырой и сухой фитомассы. Наибольший сбор сырой фитомассы люцерны был получен на чернозёме типичном и лугово-черноземной почве. На черноземе песчаном урожайность сырой фитомассы была ниже на 22,71 % и на 11,63 % соответственно. На элювии мела урожайность сырой массы была минимальной и снижалась по сравнению с черноземом типичным и лугово-черноземной почвой на 75,93 % и на 72,48 % соответственно.

По сбору сухой надземной фитомассы лучшими были образцы, полученные на черноземе типичном тяжелосуглинистом. Люцерна на лугово-черноземной почве дала выход сухой массы на 25,88 % ниже, на черноземе типичном песчаном на 37,81% ниже, на элювии мела на 67,51 %.

Семенная продуктивность люцерны также была максимальной на черноземе типичном тяжелосуглинистом. На лугово-черноземной почве

выход семян снижался на 38,18%, на черноземе типичном песчаном – на 49,80 %, на элювии мела – на 77,37 %.

Таким образом, на черноземе типичном тяжелосуглинистом в посевах люцерны изменчивой формировались благоприятные условия экотопа, что выражалось в оптимальном развитии микробоценоза в ризосферной зоне. Количественный и качественный состав микроорганизмов, наряду с оптимальными агрохимическими показателями почвы, способствовал формированию высокой продуктивности растений.

Лугово-черноземные и песчаные почвы менее благоприятны для формирования полноценного микробоценоза в ризосфере люцерны.

Установлено, что на элювии мела, при минимальном содержании в почвенном субстрате минеральных и органических веществ, в ризосферной почве выявлены колонии грибов, мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов и бактерий группы кишечной палочки.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атлас «Природные ресурсы и экологическое состояние Белгородской области» – Белгород: Белгородская областная типография, 2005. – 180 с.
2. Адиньяев Э.Д. Влияние минеральных удобрений и биопрепаратов на фотосинтетическую деятельность зернобобовых культур / Э.Д. Адиньяев, А.А. Абаев, З.А. Гасинова, М.Т. Карсанова // Вестник Международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности. – С-Петербург, 2008. – Том 13. – № 3. – С. 146-150.
3. Анспок П.И. Микроудобрения / П.И. Анспок. – Л.: Агропромиздат, 1990. – 279 с.
4. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв / И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. – М.: Изд-во Моск. ун-та., 1983. – 149 с.
5. Базилинская М.В. Биоудобрения / М.В. Базилинская. – М.: Агропромиздат, 1983. – 128 с.
6. Барильник В.Т. Многолетние травы при летних сроках посева / В.Т. Барильник О.А. Панюкова // Орошаемое земледелие. – Киев, 1986. – С. 51-54.
7. Белясова, Н.А. Микробиология: Учебник / Н.А. Белясова. – Мн.: Вышэйшая школа, 2012. – 443 с.
8. Берестецкий О.А. Фитотоксины почвенных микроорганизмов и их экологическая роль / О.А. Берестецкий. – Л.: Агропромиздат, 1978. – С. 7–30.
9. Билай В.И., Гвоздяк Р.И., Скрипаль И.Г. Микроорганизмы возбудители болезней растений / В.И. Билай, Р.И. Гвоздяк, И.Г. Скрипаль. – Киев: Наук, 1988. – 522 с.
10. Бжеумыхов В.С. Накопление азота посевами люцерны / В.С. Бжеумыхов // Аграрная наука. – 2002. – № 4. – С. 24-25.

11. Бжеумыхов В.С. Повышение эффективности возделывания люцерны на основе интенсификации симбиотической азотфиксации / В.С. Бжеумыхов, И.В. Кобозев М.М. Токбаев // Известия ТСХА. – 2007. – Вып. 2. – С. 28-37.
12. Бжеумыхов В.С. Совершенствование способов обработки почвы после люцерны на черноземах, выщелоченных в центральном Предкавказье / В.С. Бжеумыхов, И.В. Кобозев, М.М. Токбаев // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – М., 2006. – Вып. 3. – С. 36-40.
13. Булавская Е.В. Влияние молибдена на микрофлору бобовых культур / Е.В. Булавская // Труды Горьковской с.-х. опытной станции. – 1959. – С. 118-123.
14. Быков В.А., Крылов И.А., Манаков М.Н. Биотехнология: Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов / В.А. Быков, И.А. Крылов, М.Н. Манаков. – М.: Высш. шк., 1987. – 143 с.
15. Вавилов П.П. Многолетние бобовые травы / П.П. Вавилов, В.В. Гриценко, В.С. Кузнецов, Н.Н. Третьяков, И.С. Шатилов // Растениеводство. – М.: Агропромиздат, 1986. – С. 314-327.
16. Васильева Г.Г. Физиологическая роль кальция при бобово-ризобиальном симбиозе / Г.Г. Васильева, А.А. Ищенко, А.К. Глянько // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2011. – Т. 7. – №4. – С. 398-414.
17. Васюк Л.Ф. Эффективность и специфичность взаимодействия ассоциативных азотфиксаторов с различными сельскохозяйственными культурами / Л.Ф. Васюк // Труды ВНИИСХМ. – 1996. – Т. 59. – С. 58–64.
18. Вербицкая Л.П. Способы повышения урожайности старовозрастных посевов люцерны / Л.П. Вербицкая // Труды Кубанского с.-х. института. – 1986. – Вып. 270 (238). – С. 43-48.
19. Веселов С.Ю., Иванова Т.Н., Саминян М.В., Мелентьев А.И. Исследования цитокининов, продуцируемых ризосферными микроорганизмами / С. Ю. Веселов, Т.Н. Иванова, М.В. Саминян, А.И.

Мелентьев // Прикл. Биохимия и микробиология. – 1998.– Т.34.– №2.– С.175–179

20. Войнова-Райкова В.В., Райков В.М., Ампова Г.А. Микроорганизмы и плодородие / В.В. Войнова-Райкова, В.М. Райков, Г.А. Ампова. – М.: Агропромиздат, 1986. – 120 с.

21. Воробейков Г.А. Микроорганизмы, урожай и биологизация земледелия / Г.А. Воробейко. – СПб.: Наука, 1998. – 120 с.

22. Газданов А.У. Значение многолетних бобовых и злаковых трав в повышении плодородия почв и защите её от эрозии / А.У. Газданов, П.М. Шорин, З.П. Джигкаева // Вестник Международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности. – С-Петербург, 2008. – Том 13. – № 3. – С. 131-133.

23. Гамзиков Г.П., Завалин А.А. Проблемы азота в земледелии России / Г.П. Гамзиков, А.А. Завалин // Плодородие. – 2006. – №5. – 313 с.

24. Голобородько С.П. Люцерна / С.П. Голобородько, Н.Н. Лазарев. – М.: РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2009. – 425 с.

25. Гончаров П.Л. Биологические особенности возделывания люцерны / П.Л. Гончаров, П.А. Лубенец. – Новосибирск: Наука, 1985. – 256 с.

26. ГОСТ 26107-84 Почвы. Методы определения общего азота.

27. ГОСТ 26204-91 Почвы. Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Чирикова в модификации ЦИНАО.

28. ГОСТ 26423-85 Почвы. Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки.

29. ГОСТ 27821-88 Почвы. Определение суммы поглощенных оснований по методу Каппена.

30. Дегунова Н.Б. Урожайность сортов люцерны изменчивой при инокуляции ризоторфином / Н.Б. Дегунова, Ю.Б. Данилова // Кормопроизводство. – 2013. № 7. – С. 26-27.

31. Дедов А.В. Влияние многолетних трав на плодородие почв / А.В. Дедов, М.А. Несмеянова // *Агрехимический вестник*. – 2012. – № 4. – С. 7-9.
32. Дидович С.В., Дидович А.Н. Влияние бактеризации семян на микробиологические процессы и продуктивность бобовых культур в агроценозах Крыма / Дидович С.В., Дидович А.Н. // *Инновации в науке*. – 2015. – № 42. – С. 66-71.
33. Доросинский Л.М. Основные вопросы применения нитрагина в СССР / Л.М. Доросинский. – М.: Наука, 1978. – С. 605–612.
34. Доросинский Л.М. Минеральный и биологический азот в земледелии СССР / Л.М. Доросинский. – М.: Наука, 1985. – С. 142–150.
35. Доспехов В.А. Методика полевого опыта / В.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
36. Думачева Е.В., Чернявских В.И., Бородаева Ж.А., Беспалова Е.Н. Экологические особенности многолетних бобовых трав в естественных фитоценозах Юга Среднерусской возвышенности / Под ред. И.С. Белюченко // *Совмещенные посевы полевых культур в севообороте агроландшафта*. Международная научная экологическая конференция, 2016. – С. 347-350.
37. Думачева Е.В., Чернявских В.И. Ризосферный индекс как показатель конкурентоспособности бобовых трав в смешанных посевах на карбонатных почвах / Под ред. И.С. Белюченко // *Совмещенные посевы полевых культур в севообороте агроландшафта*. Международная научная экологическая конференция, 2016. – С. 150-153.
38. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай / А.А. Завалин. – М.: Изд-во ВНИИА, 2005. – 302 с.
39. Захаренко А.В. Теоретические основы управлению сорным компонентом агроценоза в системах земледелия / А.В. Захаренко. – М., Изд-во ГСХА, 2000. – 470 с.
40. Земенков Н.А. Несимбиотическая азотфиксация и возможности ее интенсификации / Н.А. Земенков, Д.В., Речкин, О.В. Сушкова // *Азотный*

обмен и продуктивность зерновых культур в условиях химизации земледелия Западной Сибири. – Новосибирск: Юпитер, 1984. – С. 71–76.

41. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии / И.В. Асеева, И.П. Бабьева, Б.А. Вызов, В.С. Гузев, Т.Г. Добровольская, Д.Г. Звягинцев, Г.М. Зенова, П.А. Кожевин, А.В. Кураков, Л.В. Лысак, О.Е. Марфенина, Т.Г. Мирчинк, Л.М. Полянская, Н.С. Паников. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

42. Иванова К.А. Защитные реакции в бобово-ризобиальном симбиозе / К.А. Иванова, В.Е. Цыганов // Сельскохозяйств. биол. – 2014. – № 3. – С. 3-12.

43. Каримов Х.З. Семеноводство многолетних бобовых трав / Х.З. Каримов, О.Л. Шайтанов, М.Ш. Тагиров, М.Ш. Лапина // Настольная книга земледельца. – Казань, 2007. – С. 133-150.

44. Кожемяков А.П. Использование биопрепаратов – дополнительный источник элементов питания растений / И.А. Тихонович, А.А. Завалин, Г.Г. Благовещенская, А.П. Кожемяков // Плодородие. 2011. № 3. С. 9-13.

45. Кожемяков А.П. Роль клубеньковых бактерий в возделывании бобовых культур / А.П. Кожемяков, Ю.В. Лактионов, В.В. Елисеев // Агроинформ, 2014. – С. 34-36.

46. Кожемяков А.П. Агротехнологические основы создания новых форм микробных биопрепаратов для земледелия / А.П. Кожемяков, Ю.В. Лактионов, Т.А. Попова, А. Г. Орлова, А.Л. Кокорина, О.Б. Вайшля, Е.В. Агафонов, С.А. Гужвин, А.А. Чураков, М.Т. Яковлева // Сельскохозяйственная биология. 2015. - № 3, Т.50.- С. 369-376.

47. Козырев А.Х. Кормовая ценность люцерны в зависимости от условий выращивания / А.Х. Козырев, А.Т. Фарниев // Кормопроизводство. – 2009. – № 7. – С. 28-31.

48. Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. Биологическая фиксация азота: бобово–ризобиальный симбиоз / Коць С.Я., Моргун В.В., Патыка В.Ф. – К.: Логос. – 2011. – 523 с.
49. Кравченко Л.В. Ризосфера область взаимодействия микроорганизмов и растений / Л.В. Кравченко. – СПб.: Лань, 2001. – 59 с.
50. Красильников Н.А. Определитель бактерий и актиномицетов / Н.А. Красильников. – Л.: Изд-во АН СССР, 1949. – 838 с.
51. Кретович В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями / В.Л. Кретович. – М.: Наука, 1994. – 167 с.
52. Лукин С.В. Агроэкологическое состояние и продуктивность почв Белгородской области / С.В. Лукин. – Белгород: Константа, 2016. – 344 с.
53. Никитин Д.И. Почвенная микробиология / Д.И. Никитин. – М.: Колос, 1979. – 318 с.
54. Новоселов, Ю.К. Роль бобовых культур в совершенствовании полевого травосеяния России / Ю.К. Новоселов, А.С. Шпаков, М.Ю. Новоселов, В.В. Рудоман // Кормопроизводство. – 2010. – № 7. – С. 15-19.
55. Ландина М.М. Влияние плотности и влажности почвы на ее биологическую активность, процесс азотфиксации и состав почвенного воздуха / М.М. Ландина, И.Я. Клевенская // Почвоведение. – 1984. – № 5. – 758 с.
56. Определитель бактерий Берджи в 2-х томах под ред. Дж. Хоулта и др.. М.: Мир, 1997. – 780 с.
57. Писковацкий Ю.М. Люцерна для многовидовых агрофитоценозов // Кормопроизводство. – 2012. – № 11. – С. 25-26.
58. Проворов Н.А. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум / Н.А. Проворов // Общая биология. – 2009. – Т. 70, № 1. – С. 10–34.
59. Рыбаковский, О.Л. Теория статистики: Учебно-методическое пособие / О.Л. Рыбаковский. – М.: РАГС, 2008. – 124 с.



60. Сакович Г.С., Безматерных М.А. Физиология и количественный учет микроорганизмов / Г.С. Сакович, М.А. Безматерных // М. – 2015. – 40 с.
61. Самохин Л.В. Влияние стрессовых факторов на взаимодействие ассоциативных ризобактерий и растений: дис. канд. биолог. наук / Л.В. Самохина; Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева. – Москва, 2011. – 169 с.
62. Сиротин А.А. Практикум по микробиологии / А.А. Сиротин. – Б. – 2007 – 80 с.
63. Соколова И.А. Азотфиксация сои при разных способах основной обработки почвы и применения удобрений / И.А. Соколова // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. – 2013. – № 2. – С. 75–78.
64. Сытников Д.М., Коць С.Я., Даценко В.К. Эффективность биопрепаратов клубеньковых бактерий сои, модифицированных гомологичным лектином / Д.М. Сытников, С.Я. Коць, В.К. Даценко // Прикл. биохим. микробиол. – 2007. – Т. 43, № 3. – 310 с.
65. Тагиров М.Ш. Оценка накопления органического вещества новыми сортами люцерны в серых лесных почвах Татарстана / М.Ш. Тагиров, О.Л. Шайтанов, Г.Ф. Шарипова // Земледелие. – 2015. – № 3. – С. 17-20.
66. Тихонович И.А., Круглов Ю.В. Микробиологические аспекты плодородия почвы и проблемы устойчивого земледелия / И.А. Тихонович, Ю.В. Круглов // Плодородие. – 2006. – № 5. – С. 9–12.
67. Тихонович И.А., Кожемяков А.П., Чеботарь В.К., Круглов В.А., Кандыбин Н.В., Лаптев Г.Ю. Биопрепараты в сельском хозяйстве. Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве / И.А. Тихонович, А.П. Кожемяков, В.К. Чеботарь, В.А. Круглов, Н.В. Кандыбин, Г.Ю. Лаптев. – М.: Россельхозакадемия, 2005. – 154 с.

68. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин Е.С. Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашников, Е.С. Воронин. – М.: Высшая школа, 2008. – 469 с.
69. Шумный В.К., Сидорова К.К., Клевенская И.Л. Биологическая фиксация азота / В.К. Шумный, К.К. Сидоров, И.Л. Клевенская. – Новосибирск: Наука, 1991. – 262 с.
70. Erice G. Water use efficiency, transpiration and net CO<sub>2</sub> exchange of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery / G. Erice, S. Louahlia, J.J. Irigoyen, M. Sanchez-Diaz, I.T. Alami, J.-C. Avice // *Environ. Exp. Bot.* – 2011. – V. 72. – P. 123-130.
71. Kereszt A. Innate immunity effectors and virulence factors in symbiosis / A. Kereszt, P. Mergaert, G. Maróti, É. Kondorosi // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2011. – 14 (1). – P. 76-81.
72. Lancaster Kyle M. X-ray Emission Spectroscopy Evidences a Central Carbon in the Nitrogenase Iron-Molybdenum Cofactor / Kyle M. Lancaster, M. Roemelt, P. Ettenhuber, Yilin Hu, M.W. Ribbe, F. Neese, U. Bergmann, S. DeBeer // *Science.* – 2011. – V. 334. – P. 974–977.
73. Mita De S. Evolution of a symbiotic receptor through gene duplications in the legume – rhizobium mutualism / S. De Mita, A. Streng, T. Bisseling, R. Geurts // *New Phytol.* – 2014. – Vol. 201(3). – P. 961-972.
74. Nakagawa T. From defense to symbiosis: Limited alterations in the kinase domain of LysM receptor-like kinases are crucial for evolution of legume – Rhizobium symbiosis / T. Nakagawa, H. Kaku, Y. Shimoda, A. Sugiyama, M. Shimamura et al. // *Plant J.* – 2011. – Vol. 65. – P.169-180.
75. Pembleton K.G. Partitioning of Taproot Constituents and Crown Bud Development are Affected by Water Deficit in Regrowing Alfalfa (*Medicago sativa* L.) / K.G. Pembleton, J.J. Volenec, R.P. Rawnsley, D.J. Donaghy // *Grop Sci.* – 2010. – V. 50. – P. 989-999.
76. Storey S., Ashaari M.M., Dempsey R. Microbial community structure during fluoranthene degradation in the presence of plants / Storey S., Ashaari

M.M., Dempsey R., Clipson N., Doyle E.M., McCabe G., Harty M., Doyle O. // *Journal of Applied Microbiology*. – 2014. – T. 117. – № 1. – P. 74-84.

77. Uteau D., Peth S. Oxygen and redoxpotential gradients in the rhizosphere of alfalfa grown on a loamy soil / Uteau D., Peth S., Hafner S., Kuzyakov Y., Pagenkemper S.K., Horn R., Wiesenberg G.L.B. // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. – 2015. – T. 178. – № 2. – P. 278-287.

78. Wang X.L., Cui W.J. Rhizobia inhabiting nodules and rhizosphere soils of alfalfa: A strong selection of facultative microsymbionts / Wang X.L., Cui W.J., Feng X.Y., Li Y., Chen W.X., Chen W.F., Tian C.F., Zhong Z.M., Shao X.M. // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2018. – T. 116. – P. 340-350.

79. Xiong H.Y., Zhang X.X., Guo H.J. The epidemicity of facultative microsymbionts in faba bean rhizosphere soils / Xiong H.Y., Zhang X.X., Guo H.J., Ji Y.Y., Li Y., Wang X.L., Zhao W., Mo F.Y., Chen J.C., Chen W.X., Tian C.F., Yang T., Zong X. // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2017. – T. 115. – P. 243-252.

80. Siddiqui S., Sattar S. Quantifying the effect of microbial consortium and alfalfa to accelerate the degradation of oily sludge / Siddiqui S., Sattar S., Bano A., Shahzad A. // *Journal of Himalayan Earth Sciences*. – 2016. – T. 49. – № 1. – P. 117-123.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

## Приложение 1

## Таблица 1

Число колоний БГКП в разные даты отбора образцов

Почва чернозем типичный тяжелосуглинистый, среда Эндо				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1 \cdot 10^{-5}$	1	200	180	190
	2	196	153	177
	3	199	170	181
Среднее значение		198,33	167,67	182,67
$1 \cdot 10^{-6}$	1	140	123	144
	2	133	121	139
	3	144	125	145
Среднее значение		139	123	142,67
$1 \cdot 10^{-7}$	1	123	105	119
	2	119	110	124
	3	133	114	123
Среднее значение		125	109,67	122

## Приложение 2

## Таблица 2

Количество колоний КМАиФАнМ в разные даты отбора образцов

Почва чернозем типичный тяжелосуглинистый, среда ГРМ				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1 \cdot 10^{-5}$	1	115	88	120
	2	123	63	110
	3	145	79	112
Среднее значение		127,67	76,67	114
$1 \cdot 10^{-6}$	1	87	77	84
	2	99	51	87
	3	79	68	83
Среднее значение		88,33	65,33	84,67
$1 \cdot 10^{-7}$	1	34	25	23
	2	38	31	33
	3	45	28	36
Среднее значение		39	28	30,67

## Приложение 3

## Таблица 3

## Количество грибов в разные даты отбора образцов

Почва чернозем типичный тяжелосуглинистый, среда Чапека				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1 \cdot 10^{-5}$	1	27	20	34
	2	30	21	35
	3	36	23	28
Среднее значение		31	21,33	32,33
$1 \cdot 10^{-6}$	1	32	20	23
	2	22	19	26
	3	23	21	29
Среднее значение		25,67	20	26
$1 \cdot 10^{-7}$	1	21	17	25
	2	22	20	21
	3	22	20	21
Среднее значение		21,67	19	22,33

## Приложение 4

## Таблица 4

## Число колоний БГКП в разные даты отбора образцов

Почва лугово-черноземная среднесуглинистая, среда Эндо				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1 \cdot 10^{-5}$	1	45	24	25
	2	61	24	32
	3	53	23	36
Среднее значение		53	23,67	31
$1 \cdot 10^{-6}$	1	33	20	24
	2	34	23	34
	3	38	25	35
Среднее значение		35	22,67	31
$1 \cdot 10^{-7}$	1	23	10	20
	2	25	15	26
	3	23	15	26
Среднее значение		23,67	13,33	24

## Приложение 5

## Таблица 5

## Количество колоний КМАиФАНМ в разные даты отбора образцов

Почва лугово-черноземная среднесуглинистая, среда ГРМ				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1 \cdot 10^{-5}$	1	55	24	43
	2	60	28	46
	3	62	33	47
Среднее значение		59	28,33	45,33
$1 \cdot 10^{-6}$	1	42	24	35
	2	38	26	33
	3	49	30	38
Среднее значение		43	26,67	35,33
$1 \cdot 10^{-7}$	1	26	19	30
	2	28	20	25
	3	35	23	27
Среднее значение		29,67	20,67	27,33

Приложение 6

Таблица 6

## Количество плесневых грибов в разные даты отбора образцов

Почва лугово-черноземная среднесуглинистая, среда Чапека				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1 \cdot 10^{-5}$	1	88	67	79
	2	100	53	69
	3	94	58	81
Среднее значение		94	59,33	76,33
$1 \cdot 10^{-6}$	1	55	41	49
	2	45	38	50
	3	53	37	54
Среднее значение		51	38,67	51
$1 \cdot 10^{-7}$	1	40	35	41
	2	49	37	39
	3	51	36	45
Среднее значение		46,67	36	41,67

Приложение 7

Таблица 7

## Число колоний БГКП в разные даты отбора образцов

Элювий мела, среда Эндо				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1 \cdot 10^{-5}$	1	88	50	72
	2	76	54	73
	3	77	66	69
Среднее значение		80,33	56,67	71,33
$1 \cdot 10^{-6}$	1	68	54	58
	2	65	49	51
	3	59	48	55
Среднее значение		64	50,33	54,67
$1 \cdot 10^{-7}$	1	43	31	40
	2	34	29	42
	3	39	32	37
Среднее значение		38,67	30,67	39,67

Приложение 8

Таблица 8

Количество колоний КМАиФАНМ в разные даты отбора образцов

Элювий мела, среда ГРМ				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1 \cdot 10^{-5}$	1	99	70	80
	2	85	56	79
	3	82	61	81
Среднее значение		88,67	62,33	80
$1 \cdot 10^{-6}$	1	67	51	69
	2	70	45	69
	3	66	52	63
Среднее значение		67,67	49,33	67
$1 \cdot 10^{-7}$	1	41	22	38
	2	37	30	33
	3	40	26	29
Среднее значение		39,67	26	23,33

Приложение 9

Таблица 9

Количество грибов в разные даты отбора образцов

Элювий мела, среда Чапека				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1*10^{-5}$	1	88	55	84
	2	98	67	87
	3	79	54	80
Среднее значение		88,33	58,67	83,67
$1*10^{-6}$	1	66	45	67
	2	65	51	56
	3	55	43	59
Среднее значение		62	46,33	60,67
$1*10^{-7}$	1	36	20	29
	2	32	23	30
	3	31	23	27
Среднее значение		33	22	28,67

Приложение 10

Таблица 10

### Число колоний БГКП в разные даты отбора образцов

Почва чернозем типичный песчаный, среда Эндо				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1*10^{-5}$	1	123	108	110
	2	119	89	99
	3	122	61	115
Среднее значение		121,33	86	108
$1*10^{-6}$	1	80	69	67
	2	88	81	52
	3	91	77	55
Среднее значение		86,33	75,67	58
$1*10^{-7}$	1	61	45	45
	2	54	48	55
	3	57	50	51
Среднее значение		57,33	47,67	50,33

Приложение 11

Таблица 11

### Количество колоний КМАиФАНМ в разные даты анализа



Почва чернозем типичный песчаный, среда ГРМ				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1*10^{-5}$	1	88	55	67
	2	77	45	67
	3	69	51	62
Среднее значение		78	50,33	65,33
$1*10^{-6}$	1	43	32	33
	2	44	28	41
	3	48	23	39
Среднее значение		45	27,67	37,667
$1*10^{-7}$	1	33	19	29
	2	43	22	28
	3	42	23	24
Среднее значение		39,33	21,33	27

Приложение 12

Таблица 12

Количество грибов в разные даты анализа

Почва чернозем типичный песчаный, среда Чапека				
Разбавление	№ чашки	июл.17	окт.17	май.18
$1*10^{-5}$	1	34	20	24
	2	35	23	26
	3	38	28	33
Среднее значение		35,67	23,67	27,67
$1*10^{-6}$	1	27	10	22
	2	25	13	23
	3	26	16	23
Среднее значение		26	13	22,67
$1*10^{-7}$	1	10	6	10
	2	9	10	8
	3	9	8	8
Среднее значение		9,33	8	8,67

Колонии КМАиФАНМ на ГРМ-агаре, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  
почва черноземная типичная тяжелосуглинистая

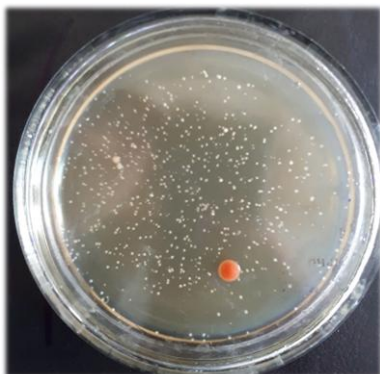


Рис. 1. июль 2017 г.



Рис. 2. октябрь 2017 г.

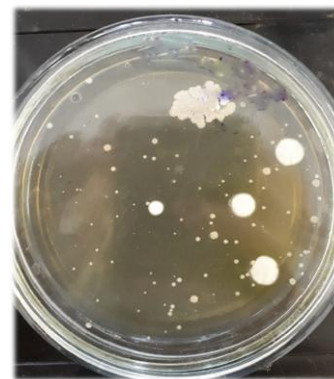


Рис. 3. май 2018 г.

Колонии БГКП на среде Эндо, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  
почва черноземная типичная тяжелосуглинистая

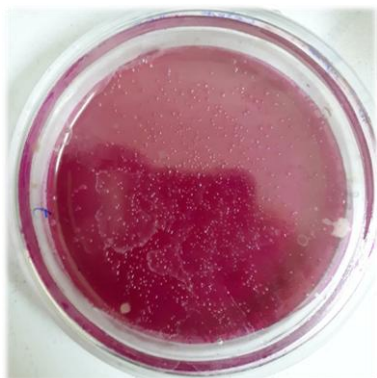


Рис. 4. июль 2017 г.



Рис. 5. октябрь 2017 г.



Рис. 6. май 2018 г.

## Приложение 19

Колонии грибов, на среде Чапека, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  
почва черноземная типичная тяжелосуглинистая

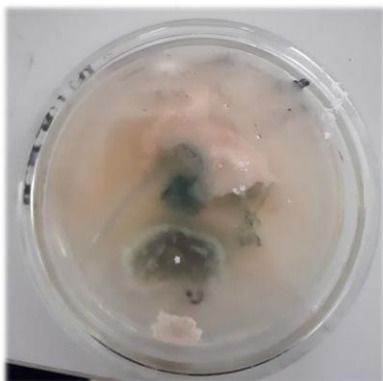


Рис. 7. июль 2017 г.



Рис. 8. октябрь 2017 г.



Рис. 9. май 2018 г.

## Приложение 20

Колонии КМАиФАНМ на ГРМ-агаре, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  
почва лугово-черноземная среднесуглинистая

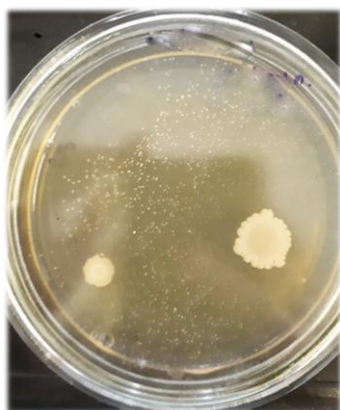


Рис. 10. июль 2017 г.

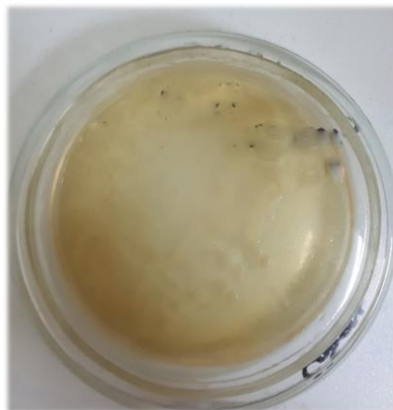


Рис. 11. октябрь 2017 г.

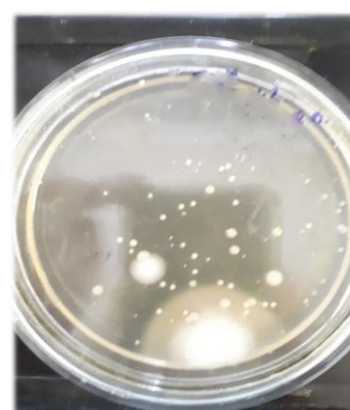


Рис. 12. май 2018 г.

## Приложение 22

Колонии БГКП на среде Эндо, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  
почва лугово-черноземная среднесуглинистая



Рис. 13. июль 2017 г.

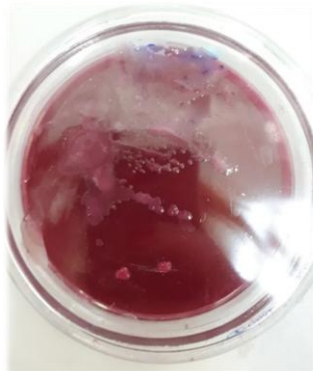


Рис. 14. октябрь 2017 г.



Рис. 15. май 2018 г.

## Приложение 23

Колонии грибов, на среде Чапека, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ , июль 2017 г.,  
почва лугово-черноземная среднесуглинистая



Рис. 16. июль 2017 г.



Рис. 17. октябрь 2017 г.

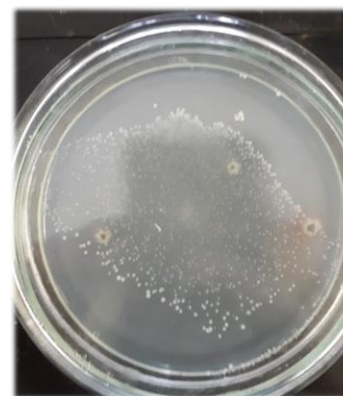


Рис. 18. май 2018 г.

## Приложение 24

Колонии КМАиФАНМ на ГРМ-агаре, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ , июль 2017 г.,  
почва чернозем типичный песчаный



Рис. 19. июль 2017 г.



Рис. 20. октябрь 2017 г.

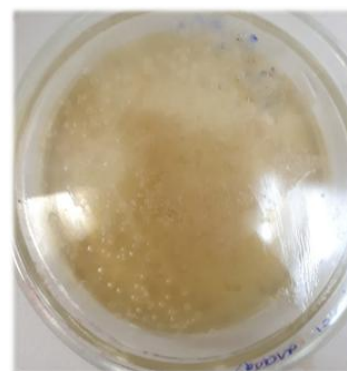


Рис. 21. май 2018 г.

## Приложение 25

Колонии БГКП на среде Эндо, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  
почва чернозём типичный песчаный



Рис. 22. июль 2017 г.



Рис. 23. октябрь 2017 г.

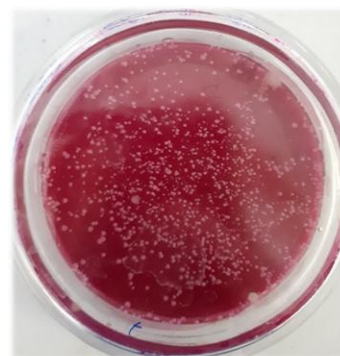


Рис. 24. май 2018 г.

## Приложение 26

Колонии грибов, на среде Чапека, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ , июль 2017 г.,  
почва чернозём типичный песчаный

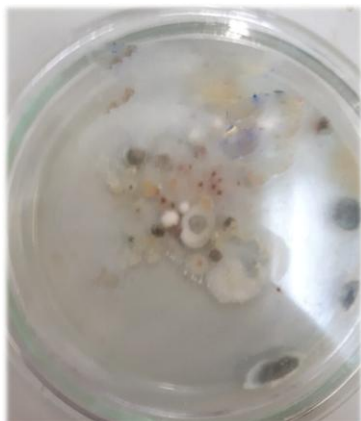


Рис. 25. июль 2017 г.

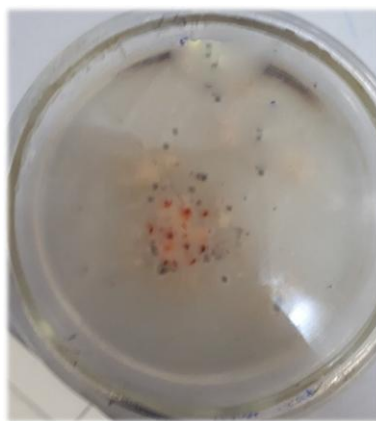


Рис. 26. октябрь 2017 г.

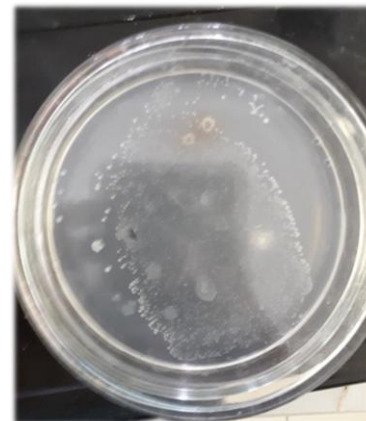


Рис. 27. май 2018 г.

## Приложение 27

Колонии КМАиФАНМ на ГРМ-агаре, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  
элювий мела



Рис. 28. июль 2017 г.



Рис. 29. октябрь 2017 г.



Рис. 30. май 2018 г.

## Приложение 28

Колонии БГКП на среде Эндо, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ ,  
элювий мела



Рис. 31. июль 2017 г.

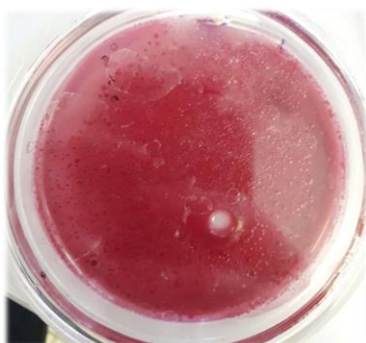


Рис. 32. октябрь 2017 г.

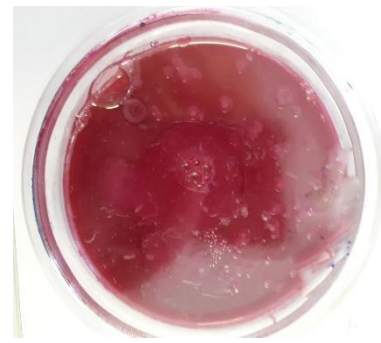


Рис. 33. май 2018 г.

## Приложение 29

Колонии грибов, на среде Чапека, разбавление  $1 \cdot 10^{-6}$ , июль 2017 г.,  
элювий мела



Рис. 34. июль 2017 г.



Рис. 35. октябрь 2017 г.



Рис. 36. май 2018 г.