

## Результаты второго этапа (второго года) работ

Объектом исследования являются почвы – экспериментальные образцы пироугля, полученные в лабораторных условиях при температурах 400-800°C и длительностях 1-4 часа.

Целью данного этапа работ являлись экспериментальные исследования влияния пироугля на качество почв и урожайность растений в условиях лабораторного и мелкоделяночного экспериментов, а также подготовка к проведению полевого эксперимента.

В ходе выполнения ПНИЭР Исполнитель проекта за счет собственных средств, затраты которых возмещаются Субсидией, выполнил работы и получил результаты, представленные ниже.

Разработан метод иммобилизации консорциумов микроорганизмов на пироугле. В процессе разработки проведен анализ антагонистической активности штаммов *Azospirillum zae*, *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas putida*, *Bacillus megaterium* и показано отсутствие негативного эффекта микроорганизмов в составе консорциума друг на друга. Для выявления наиболее эффективного метода иммобилизации были экспериментально оценены различные условия реализации процесса, а именно, соотношение микробных культур в консорциуме (исходная, удвоенная и утроенная), иммобилизация из индивидуальных культур и из консорциума, соотношение количества микробной культуры и пироугля, время контакта пироугля и микробной культуры (6,18,24 часа), вид пироугля (полученный при 400, 600 и 800°C). Для оценки эффективности процесса иммобилизации проведено исследование численности микроорганизмов на пироугле, устанавливаемая по количеству копий генов индивидуальных бактерий, определяемому методом ПЦР в реальном времени с последующим пересчетом на КОЕ. Показано, что при иммобилизации микроорганизмов из жидкой культуральной среды для эффективного закрепления микроорганизмов на пироугле необходимо использование соотношения микробная культура – пироуголь 3:1 и времени контакта 24 часа. Показано, что при использовании пироугля, полученного при 400°C, количество иммобилизованных микроорганизмов составило в среднем  $1,4 \cdot 10^6$  копий генов в 1 г пироугля.

Далее, с целью построения ГИС-картограмм полей Индустриального партнера была произведена дешифровка пахотных полей на площади 2726,6 га на основании фотоснимков, имеющим разрешение 15 и 30 метров. Фотоснимки получены из данных дистанционного зондирования земли спутником Landsat. В результате была получена электронная векторная карта полей ООО «Агрофирма «Заинский сахар»». К полученной электронной векторной карте была присоединена атрибутивная информация по

агрохимическим характеристикам почв, севооборотам, заболеваемости растений. В результате была сформирована геоинформационная база данных, на основе которой была создана ГИС. С использованием данной ГИС были созданы ГИС-картограммы и тематические карты по агрохимическим показателям почв, севооборотам и заболеваемости культурных растений. Указанные данные вошли в «Геоинформационную базу данных распределения сельскохозяйственной растительности и агрохимических показателей почв крупного агрохолдинга», которая получила регистрацию в ФИПС РФ (Свидетельство №2018621912 от 3 декабря 2018 г.).

Далее разработана Программа и методики экспериментальных исследований влияния пироугля на почвенные микробные сообщества и растения в условиях лабораторного, мелкоделяночного и полевого экспериментов. Программа содержит 10 методик для исследований в условиях лабораторного эксперимента, 8 методик для испытаний пироугля, полученного при различных температурных режимах пиролиза, 10 методик для исследований в условиях мелкоделяночного эксперимента и 10 методик для исследований в условиях полевого эксперимента. Документ включает в себя условия предъявления объекта испытаний на испытания, порядок отбора объектов испытаний, комплектность объектов, предъявляемых на испытания, общие требования к условиям, обеспечению и проведению испытаний (в т.ч. место проведения испытаний, требования к средствам проведения испытаний, перечень средств измерений и требований к нему), требования к условиям проведения испытаний, к подготовке объекта испытаний, к безопасности при проведении испытаний, программу испытаний, режимы испытаний, методы испытаний, требования к отчетности и приложения. Согласно Программе, оценка влияния пироугля на почвенные микробные сообщества и растения в условиях лабораторного, мелкоделяночного и полевого экспериментов осуществляется после отбора почвенных проб, а также проб растений и доставки их в лабораторию. Оценка заболеваемости растений пшеницы и ячменя в условиях лабораторного эксперимента осуществляется сразу после его окончания. Оценка заболеваемости растений пшеницы и ячменя в условиях мелкоделяночного и полевого эксперимента производится путем отбора растений в период от начала колошения до молочной спелости зерна и осуществляется непосредственно после доставки проб в лабораторию. Для определения ряда показателей (структура микробных сообществ почв, выживаемость штаммов, внесенных в почву на пироугле) из образцов почвы выделяется тотальная ДНК и методом ПЦР в реальном времени определяется количество бактерий и грибов в исследуемой почве, с последующим выявлением уникальных бактериальных ОТЕ (операционные таксономические единицы). Для определения физиологического профиля микробных

сообществ почв, внеклеточной ферментативной активности почв с помощью флуоресцирующих субстратов из образцов почвы готовят почвенные суспензии. Для оценки респираторной активности почвы используют свежую почву, инкубирование почвенных образцов осуществляют в закрытых сосудах. Определение химических показателей почвы (содержание С, N, К, Р, тяжелых металлов) производится из воздушно-сухого образца параллельно друг с другом. Дополнительно проводятся испытания физико-химических и токсикологических показателей пироугля, полученного при различных температурных режимах пиролиза.

На следующем этапе работ был проведен лабораторный эксперимент для оценки влияния гранулированного и порошкообразного пироугля на почвы и растения.

Первоначально было определено содержание основных биогенных элементов в почвах до внесения пестицидов, удобрения, пироугля или фитопатогенов и до посева растений. Содержание органического углерода в почве составляло 16-17 г/кг, общего азота - 1,4-1,5 г/кг, подвижного калия - 0,32-0,35 г/кг и подвижного фосфора - 0,018-0,025 г/кг. В контрольном образце (Кw) под пшеницей на 1 сутки эксперимента содержание биогенных элементов соответствовало представленным выше значениям. Ни в одном из опытных образцов с пшеницей без пироугля содержание азота не изменилось относительно контрольных значений. Внесение порошкообразного пироугля (Bw), а также его в сочетании с любыми другими факторами привело к увеличению содержания азота на 18-113%. Как и в случае с N, превышение содержания К над контрольным имело место быть в образцах с внесенным пироуглем. Так, при внесении порошкообразного пироугля содержание К увеличивалось на 60-110% на 1 сутки эксперимента, при внесении гранулированного - на 45-80% по сравнению с контролем. В отличие от N, содержание К увеличивалось так же при внесении минерального удобрения в почву без пироугля, однако такое повышение было не столь значительным по сравнению с эффектом пироугля (27-49%). На 28 сутки эксперимента содержание К практически во всех исследуемых образцах было сопоставимо с таковым на 1 сутки. Наиболее значимые изменения при внесении пироугля наблюдались для содержания фосфора. Так, в образце с порошкообразным пироуглем (Bw) превышение содержания Р над контролем составило 977%, а в образце с гранулированным пироуглем (gBw) - 883%. Аналогичные тенденции изменений содержания биогенных элементов отмечены и для почв под ячменем.

Развитие фузариозной гнили на растениях пшеницы и ячменя в случае искусственного заражения почвы составило 0,20-12,7%, распространение - 1,80-89%. Применение пестицидов привело к снижению развития фузариозной гнили на 54% и распространения - на 76%. Внесение консорциума микроорганизмов, включающего штаммы, обладающие

супрессивным действием по отношению к почвенным фитопатогенам, привело к снижению развития фузариоза на 47%, распространения – на 86%. Совместное использование пестицидов и консорциума микроорганизмов не привело к достоверному снижению как развития, так и распространения фузариозной корневой гнили по сравнению с отдельно используемыми. Внесение пироугля, как совместно с удобрениями, пестицидами и их комбинацией, так и без них, привело к снижению развития и распространения фузариоза на 11-17% и 5-16% соответственно. Иммунизация консорциума микроорганизмов на пироугле более эффективна по сравнению с его непосредственным внесением в почву - снижение развития фузариозной корневой гнили составило 22-45%. Гранулирование пироугля с нанесенным на нем консорциумом микроорганизмов не привело к снижению эффективности их применения по сравнению с порошкообразным аналогом.

Численность бактерий в контрольной почве под пшеницей составила  $2,32 \cdot 10^6$  копий генов/г, под ячменем –  $1,68 \cdot 10^6$  копий генов/г. Численность микромицетов в образцах почвы под пшеницей составила  $6,39 \cdot 10^4$  копий генов/г, под ячменем  $5,96 \cdot 10^4$  копий генов/г. В течение эксперимента численность бактерий и грибов изменялась в 1,4-2 раза. Это говорит о том, что в течение эксперимента бактериальное сообщество и сообщество микроскопических грибов оставалось относительно стабильным с точки зрения валовых показателей. В составе бактериального сообщества контрольных почв под пшеницей и ячменем (Kw и Kb) доминировали представители одних и тех же таксонов – *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Verrucomicrobia* и *Proteobacteria*, однако соотношение между их обилиями были различны. Внесение порошкообразного пироугля не привело к достоверному изменению численности бактерий. Усредненная численность бактерий для образцов с пироуглем составила  $1,94 \cdot 10^6$ , усредненная численность микроскопических грибов составила  $4,59 \cdot 10^4$  копий генов/г. Достоверных различий между эффектом от внесения порошкообразного и гранулированного пироугля (попарное сравнение образцов Bw/gBw, BMw/gBMw, BMSw/gBMSw и Bb/gBb, BMb/gBMb, BMSb/gBMSb) не выявлено. Отсутствие значимого влияния пироугля на численность бактерий рассматривается нами как положительное. Из остальных исследованных факторов (удобрение, пестицид, фитопатоген, микроорганизмы и их сочетаний) наибольший вклад в изменение численностей бактерий и грибов внесли пестициды и объединенное воздействие всех исследованных факторов, наименьший – микроорганизмы. При внесении в почву гранулированного пироугля количество уникальных бактериальных ОТЕ в почве под обеими видами культур (gBw и gBb) снизилось. При этом в почве под пшеницей (gBw) увеличилось обилие бактерий типов

*Actinobacteria* и *Verrucomicrobia* и снизилось обилие бактерий типов *Acidobacteria* и *Bacteroidetes*, а в почве под ячменем (gBb) увеличилось обилие бактерий типов *Acidobacteria* и *Cyanobacteria*. Из остальных исследованных факторов наибольший вклад в изменение бактериального сообщества почвы оказало применение иммобилизованного на гранулированном пироугле консорциума микроорганизмов и комплексного минерального удобрения. При внесении в почву под пшеницей микроорганизмов на пироугле (gBMw) значительно увеличилось количество бактериальных ОТЕ и изменился состав бактериального сообщества по сравнению с контрольной почвой. Обработка почвы под пшеницей удобрением (KFw) вызвала снижение бактериальных ОТЕ; состав бактериального сообщества обработанной почвы изменился по сравнению с контролем.

Внесение консорциума штаммов, состоящего из *A. zeae*, *B. megaterium*, *P. putida* PCL и *P. fluorescence* WCS365 незначительно изменило общую численность бактерий в почве. При этом выживаемость внесенных штаммов оценивается как высокая, поскольку в конце эксперимента численность внесенных штаммов увеличилась в 1,08-15,72 раз, либо оставалась неизменной. Наибольшей выживаемостью в почве характеризовался штамм *P. fluorescence* WCS365, наименьшей – штамм *A. zeae*. Иммобилизация на пироугле (как порошкообразном, так и гранулированном) на фоне и без применения минеральных удобрений и пестицидов не оказала статистически значимого влияния на выживаемость штаммов консорциума в почвах.

На основании анализа почвенных образцов, отобранных при выращивании пшеницы, можно заключить, что, любое воздействие на почву (внесение минеральных удобрений, обработка пестицидом, микроорганизмами) оказывало влияние на физиологический профиль сообществ. Показано, что физиологический профиль сообществ почв, обработанных порошкообразным и гранулированным пироуглем, так же отличаются от такового в контроле, но не различаются между собой. Порошкообразный пироугль с иммобилизованным консорциумом вызывает изменение исходного физиологического профиля микробных почвенных сообществ, тогда как его гранулированный аналог - не оказывает существенного влияния на микробные сообщества. Аналогичные тенденции выявлены в почве под ячменем. Эффект от пироуглей был более выраженным непосредственно после их внесения и практически нивелировался к концу эксперимента, что свидетельствует о восстановлении статуса сообществ. При сравнении вариантов внесения пироуглей в исходную почву и почву, обработанную минеральными удобрениями и пестицидом, выявлено, что фактором, обеспечивающим различия в сообществах, в первую очередь, являются минеральные удобрения. Так же не выявлено

различий в эффектах пироугля и пироугля с иммобилизованными микробами на сообщества исходной почвы и почвы с минеральными удобрениями.

Наименьшие уровни респираторной активности с минимальными колебаниями в течение лабораторного эксперимента установлены для контрольного образца под пшеницей K<sub>w</sub> (0,003-0,01 мг CO<sub>2</sub>·г<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>), а также образцов с внесенным консорциумом KM<sub>w</sub> (0,007-0,009 мг CO<sub>2</sub>·г<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>), порошкообразным B<sub>w</sub> (0,006-0,011 мг CO<sub>2</sub>·г<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>) и гранулированным gB<sub>w</sub> (0,004-0,010 мг CO<sub>2</sub>·г<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>) пироуглем. В случае ячменя наименьшие уровни респираторной активности с минимальными колебаниями установлены для контрольного образца K<sub>b</sub> (0,005-0,012 мг CO<sub>2</sub>·г<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>) и образца с внесенным пироуглем B<sub>b</sub> (0,005-0,013 мг CO<sub>2</sub>·г<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>). Наибольшее воздействие на респираторную активность почвенных образцов оказало совместное применение удобрений и пестицидов, вне зависимости от наличия или отсутствия других факторов - превышение значений респираторной активности над контролем составило 1,3-4,0 раз.

Первоначально ферментативные активности были оценены в почве, используемой для лабораторного эксперимента, перед высевом растений. Они составили 617±15 нмоль\*г<sup>-1</sup>\*ч<sup>-1</sup> для ФА, 102±10 нмоль\*г<sup>-1</sup>\*ч<sup>-1</sup> для ГА и 158±8 нмоль\*г<sup>-1</sup>\*ч<sup>-1</sup> для АА. Далее активности рассчитывались в процентах относительно указанных начальных значений. В контрольной почве под пшеницей ФА колебалась от 64% до 92%, ГА - от 90% до 210%, АА - от 52% и 198 % в течение эксперимента. Указанные диапазоны колебаний были приняты за «контрольный коридор», превышение активности над верхней границей которого считали стимулированием, а снижение активности ниже нижней границы которого – ингибированием для соответствующего фермента. При внесении в почву под пшеницей порошкообразного и гранулированного пироуглей уровни ферментативных активностей в основном находились в пределах «контрольных коридоров» или были близки к ним. В контрольной почве под ячменем колебания активностей в течение лабораторного эксперимента составили: от 68% до 144% для ФА, от 110% до 235% для ГА, от 66% до 180% для АА. При внесении порошкообразного и гранулированного пироуглей, как и в случае почв под пшеницей, уровни ферментативных активностей в основном находились в пределах «контрольных коридоров» или были близки к ним. Это свидетельствует о том, что использование обоих типов пироугля не привело к значительным изменениям уровней ферментативных активностей под пшеницей и ячменем, что рассматривается нами как положительное явление.

Далее была наработана экспериментальная партия пироугля для обеспечения мелкоделяночного эксперимента. Нарботка осуществлена в пиролизной установке роторного типа, реализующей технологию slow-пиролиза. Установка расположена на

территории соисполнителя Проекта ООО «Челны-Бройлер». В качестве субстрата для пиролиза был использован куриный помет подстилочного типа. При наработке пироугля были использованы 5 температурных режимов (300, 400, 500, 600, 700°C). Партии пироугля, полученные при температуре 400°C, были приготовлены при 4 временных режимах (1, 2, 3, 4 часа). Таким образом, было наработано 6800 кг пироугля при температуре пиролиза 400°C и длительности пиролиза 2 часа, а также по 5 кг пироугля – при температуре пиролиза 400°C и при длительностях пиролиза 1, 3 и 4 часа; по 5 кг пироугля - при температурах пиролиза 300, 500, 600 и 700°C и длительности пиролиза 2 часа. На 3400 кг пироугля, полученного при 400°C и времени пиролиза 2 часа, был иммобилизован консорциум микроорганизмов.

На следующем этапе осуществлена наработка экспериментальной партии гранулированного пироугля для обеспечения мелкоделяночного эксперимента. Нарботка партий осуществлялась при помощи пресс-грануляторов ZLSP 120B, позволяющих получать гранулы без применения высоких температур и избыточного давления. В качестве пластификатора для грануляции пироугля и пироугля с иммобилизованным консорциумом микроорганизмов был выбран кремнезоль «ЛЭЙКСИЛ®» 40-AL, обеспечивающий выживаемость микроорганизмов иммобилизованного консорциума и нетоксичный по отношению к двум тест-объектам (*Paramecium caudatum* и *Daphnia magna*). Нарботано 1700 кг гранулированного пироугля и 1700 кг гранулированного пироугля с иммобилизованным консорциумом микроорганизмов.

В ходе мелкоделяночного эксперимента оценено влияние пироугля на заболеваемость растений и микробное сообщество почв.

При оценке заболеваемости растений определяли развитие и распространенность корневых гнилей и листовых микозов. Развитие и распространение корневых гнилей для растений пшеницы достоверно не изменялось в течение вегетационного периода и составляло 2,0-8,4% и 2,3-5,7%, соответственно. Развитие и распространение листовых микозов у растений пшеницы достоверно не изменялось в течение вегетационного периода и составило для мучнистой росы 0,5-2,2% и 0,5-2,5%, соответственно, для бурой ржавчины 0,05-0,25% и 0,5-2,5%, соответственно, для септориоза 0,5-2,4% и 0,5-2,3%, соответственно. Развитие и распространение корневых гнилей для растений ячменя достоверно ниже по сравнению с таковыми у растений пшеницы, и составляло 1,3-7,0% и 1,8-4,6%, соответственно. Развитие и распространение листовых микозов у растений ячменя достоверно не изменялось в течение вегетационного периода и составило для мучнистой росы 0,05-0,26% и 0,5-2,5%, соответственно, для темно-бурой пятнистости 0,01-0,05% и 1,0-5,0%, соответственно. Установленные уровни заболеваемости являются

низкими, поэтому эффекта от применения пироугля, удобрений и пестицидов не выявлено.

Численность бактерий в контрольной почве под пшеницей составила  $(7,43-9,19) \cdot 10^6$ , под ячменем  $(6,49-6,98) \cdot 10^6$  копий генов/г; численность микромицетов в почве под пшеницей  $-7,36 \cdot 10^4 - 1,01 \cdot 10^5$ , в почве под ячменем  $- (2,77-5,96) \cdot 10^4$  копий генов/г. Внесение микроорганизмов в почву в целом не привело к увеличению численности бактерий, причем зависимости численности бактерий в почве от дозы их внесения (1%, 10% и 20%) не наблюдалось. В составе бактериального сообщества контрольных почв под пшеницей и ячменем (образцы Kw и Kb) доминировали представители одних и тех же таксонов – *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Verrucomicrobia* и *Proteobacteria*, однако соотношение между их обилиями было различным. Внесение порошкообразного пироугля (Bb, BM20%b, BM10%b, BM1%b и Bw, BM20%w, BM10%w, BM1%w) не привело к достоверному изменению численности бактерий и микромицетов. Так же не выявлено достоверных различий между эффектом от внесения порошкообразного и гранулированного пироугля (попарное сравнение образцов Bb/gBb, BM20%b/gBM20%b, BM10%b/gBM10%b, BM1%b/gBM1%b и Bw/gBw, BM20%w/gBM20%w, BM10%w/gBM10%w, BM1%w/gBM1%w). При обработке почвы под ячменем порошкообразным пироуглем (Bb) количество бактериальных ОТЕ снизилось по сравнению с контрольной почвой. Количество бактериальных ОТЕ так же снизилось при внесении в почву под пшеницей пироугля в виде гранул (gBw). На примере почвы под пшеницей было показано, что при использовании обоих видов пироугля (Bw и gBw) состав бактериальных сообществ почвы незначительно отличался от контроля – преобладали одни и те же бактериальные таксоны, но соотношение между их обилиями различались. При использовании пироугля в почве под пшеницей (Bw) увеличилось обилие бактерий типов *Actinobacteria*, *Planctomycetes* и *Verrucomicrobia*, а обилие бактерий типов *Acidobacteria* и *Chloroflexi* снизилось. В почве под пшеницей с гранулированным пироуглем (gBw) было отмечено увеличение обилия бактерий, относящихся к типам *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes* и *Verrucomicrobia* и уменьшение обилия бактерий типа *Chloroflexi* относительно контроля.

Внесение штаммов консорциума, состоящего из *A. zeaе*, *B. megaterium*, *P. putida* PCL и *P. fluorescence* WCS365, незначительно изменило общую численность бактерий в почве, поскольку численность интродуцентов составляла лишь 1-4% от всех бактерий. При этом выживаемость внесенных штаммов оценивается как высокая, поскольку в конце эксперимента она составила 51-128% от начальной численности. Наибольшей выживаемостью в почве характеризовался штамм *P. fluorescence* WCS365, наименьшей –



штамм *B. megaterium*. Иммобилизация консорциума на пироугле (как порошкообразном, так и гранулированном) на фоне и без применения минеральных удобрений и пестицидов не оказала статистически значимого влияния на выживаемость штаммов консорциума в почвах.

Анализ различий физиологических профилей микробных сообществ почв под растениями пшеницы и ячменя в динамике мелкоделяночного эксперимента методом MDS выявил следующее: во-первых, существенный эффект на микробные сообщества, статус которых определяли по их физиологическому профилю, оказывают климатические факторы, а именно температура и влажность почвы; во-вторых, микробные сообщества почв, на которых выращивали пшеницу, в большей мере зависят от климатических факторов, подтверждением чему являются данные в группах образцов, сформированных с учетом даты отбора проб; в-третьих, физиологический профиль микробных сообществ почв под ячменем наряду с климатическими факторами, вероятно, зависит от цикла жизнедеятельности самих растений. Определяющим фактором активности микробных сообществ в почвах служат в большей мере корневые выделения растений, эффект которых проявляется после полных стадии всходов. Далее, на протяжении всего эксперимента корневые выделения остаются постоянными и продолжают существенно влиять на физиологический профиль микробных сообществ; в-четвертых, при обработке почвы минеральными удобрениями физиологические профили микробных сообществ, различаются меньше, особенно на заключительных этапах выращивания пшеницы и ячменя. В целом, отсутствие существенных изменений в физиологическом профиле сообществ, связанных с интродукцией пироугля или пироугля с иммобилизованными микроорганизмами, в условиях действия природных климатических факторов можно считать положительным, так как это демонстрирует отсутствие стресса для микробных сообществ при внесении пироугля.

На 1 сутки эксперимента респираторная активность в образцах Kw и Kb составляла  $0,0045 \text{ мг CO}_2 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$  и  $0,021 \text{ мг CO}_2 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$ . Внесение пироугля, удобрений, пестицидов, консорциума микроорганизмов изменило как абсолютные значения респираторной активности, так и динамику ее изменения на протяжении всего вегетационного периода. Минимальные изменения относительно контролей отмечено для образцов Bw, gBM1%w, BM10%w, KM20%b, BM1%Fb. Значения РА в контрольном образце (Kw) и в образце с внесенным порошкообразным пироуглем (Bw) на протяжении всего вегетационного периода (эксперимента) достоверно не отличались, вероятно, порошкообразный пироуголь оказывает минимальное стрессовое воздействие на микробное сообщество почвы. Внесение гранулированного пироугля приводило к увеличению респираторной

активности на 14 сутки с последующим ее снижением на 30 и 60 сутки, но к 90 суткам РА в почвах с внесенным гранулированным и порошкообразным пироуглем достоверно не различались. Существенного влияние фактора грануляции пироугля на фоне применения удобрений и пестицидов установлено не было. Внесение удобрений и пестицидов снижало респираторную активность на 30 и 60 сутки: в частности, в образце ВFw, в образце ВМ10%Fw – в 3,8-4,5 раз. В целом, наиболее близкие значения РА между образцами наблюдались на 90 сутки эксперимента, что, вероятно, говорит о снижении степени воздействия факторов (внесение пироугля, удобрений, пестицидов, консорциума микроорганизмов, вида растений).

Ферментативные активности почвы мелких делянок на 1 сутки, до внесения пироугля, удобрения и семян растений составляли  $57,2 \pm 12,3$  нмоль\*  $\text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$  для ГА,  $422,6 \pm 84,0$  нмоль\*  $\text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$  для ФА и  $40,5 \pm 4,8$  нмоль\*  $\text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}$  для АА. В образце Кw в течение эксперимента ФА колебалась от 86% до 138%, ГА - от 90% до 167%, АА - от 73% и 153 % от начальных значений. Изменения ФА имели схожий характер для образцов Вw, gBw, KFw, BFw, gBFw – на 14 и 30 сутки уровень значений был примерно вдвое выше, чем на 60 и 90 сутки. При этом внесение пироугля, удобрений и пестицидов привело к отклонениям значений от установленного «контрольного коридора». Достоверных различий между влиянием порошкообразного и гранулированного пироуглей на уровень ФА не выявлено. Внесение пироугля на фоне минеральных и удобрений и пестицидов так же не привело к дополнительным эффектам. Внесение пироугля и удобрений с пестицидами по-разному повлияло как на уровень АА, а так и на характер ее динамики. Динамика, схожая с контрольной, наблюдалась в образцах с удобрениями – KFw, BFw и gBFw. Достоверных различий между уровнями АА в образцах с порошкообразным и гранулированным пироуглями не выявлено. Из трех проанализированных ферментов, наибольшие изменения в связи с внесением пироугля и удобрений с пестицидами претерпела ГА. Причем для этого фермента ни для одного из образцов ни в одну из временных точек не было отмечено ингибирования. Стимулирование же отмечено в 15 из 20 случаев, причем его уровень составлял 32-160%. При культивировании ячменя в образце Кb в течение мелкоделяночного эксперимента ФА колебалась от 93% до 127%, ГА - от 91% до 224%, для АА - от 93% до 172 % в % от начальных значений. При внесении порошкообразного и гранулированного пироугля достоверно значимых изменений ФА не обнаружено. Анализ изменения АА показал, на 14 сутки для образцов KFb и gBFb незначительное ингибирование относительно нижней границы коридора (4% и 10%, соответственно). Внесение порошкообразного и гранулированного пироугля без удобрений и пестицидов привело к увеличению АА на 30 сутки эксперимента.

Стимулирование АА «относительно коридора» отмечено для следующих образцов: gVb, VFb, gVFb на 30 сутки (77%, 28%, 18%, соответственно). Достоверные различия между уровнями АА в образцах с порошкообразным и гранулированным пироуглями выявлены лишь на 30 сутки. Значения ГА для всех образцов в течение эксперимента находились в пределах «контрольного коридора».

На следующем этапе работ была разработана Программа и методики экспериментальных исследований влияния пироугля и гранулированного пироугля на урожайность пшеницы, ячменя и сахарной свеклы в условиях лабораторного и мелкоделяночного экспериментов. Программа включает в себя условия предъявления объекта испытаний на испытания, порядок отбора объектов испытаний, комплектность объектов, предъявляемых на испытания, общие требования к условиям, обеспечению и проведению испытаний (в т.ч. место проведения испытаний, требования к средствам проведения испытаний, перечень средств измерений и требований к нему), требования к условиям проведения испытаний, к подготовке объекта испытаний, к безопасности при проведении испытаний, режимы испытаний, методы испытаний, требования к отчетности и приложения. Согласно Программе, оценка влияния пироугля и гранулированного пироугля на урожайность пшеницы, ячменя и сахарной свеклы осуществляется в конце эксперимента, после сбора урожая, снопов растений, корнеплодов сахарной свеклы и доставки их в лабораторию. Подготовка к лабораторному и мелкоделяночному эксперименту включает проращивание зерен пшеницы, ячменя и сахарной свеклы в течение 72 ч. Экспериментальная оценка характеристик урожая в условиях мелкоделяночного эксперимента осуществляется после сбора урожая и доставки его в лабораторию. Определение различных параметров урожайности пшеницы, ячменя и сахарной свеклы производится параллельно друг с другом. Биомассу растений, длину стебля и корня в условиях лабораторного эксперимента измеряют после окончательного сбора растений, в условиях мелкоделяночного эксперимента - путем отбора растений на конкретные сутки эксперимента.

Далее были проведены лабораторные экспериментальные исследования влияния пироугля и гранулированного пироугля на урожайность пшеницы, ячменя и сахарной свеклы. Оценку влияния осуществляли при выращивании на фоне минеральных удобрений и пестицидов и в их отсутствие. Анализ осуществляли на исходных почвах и почвах, искусственно зараженных модельным фитопатогеном *F.usarium oxysporum*. Для характеристики урожайности культур в условиях лабораторного эксперимента оценивали биомассу, всхожесть, длину стебля и корня растений и содержание хлорофилла в растениях. Показано, что внесение порошкообразного пироугля оказывает

положительный эффект на биомассу растений пшеницы, при этом эффект наиболее выражен на почве, зараженной фитопатогеном. Гранулированный пироуголь оказывал меньший эффект. Внесение пироугля на фоне минеральных удобрений и пестицида приводят к увеличению уровня биомассы по сравнению с контролем, причем и в этом случае эффект был более значим при росте растений на зараженной почве. Внесение как порошкообразного, так и гранулированного пироугля с иммобилизованными микроорганизмами не оказывало существенно эффекта на биомассу растений пшеницы, однако, при совместном внесении с минеральными удобрениями стимулировало развитие биомассы на 60%. Установлено, что ячмень является более отзывчивым на внесение пироугля по сравнению с пшеницей. Наибольший эффект на биомассу ячменя оказывает внесение порошкообразного пироугля по сравнению с гранулированным (увеличение биомассы в 2,6 и 1,6 раз соответственно). В случае ячменя применение пироугля на фоне минеральных удобрений оказывает меньший эффект в отношении биомассы растений по сравнению с его применением в чистом виде. Пироуголь с иммобилизованными микроорганизмами, используемый на фоне минеральных удобрений, способствует увеличению биомассы растений ячменя на 83 и 76% на незараженной и зараженной почвах, соответственно. Выявлено, что на биомассу свеклы с одинаковой эффективностью воздействует как порошкообразный, так и гранулированный пироуголь. Внесение пироугля на фоне минеральных удобрений незначительно снижает его эффективность. Пироуголь и пироуголь с иммобилизованными микроорганизмами не вызывал увеличения всхожести семян пшеницы, однако на фоне внесения минеральных удобрений оказывал. Пироуголь не повлиял на всхожесть семян ячменя. Выявленным эффектом является более дружная всхожесть семян растений в образце с внесением порошкообразного пироугля и достижение 99% всхожести уже на 4 день эксперимента, тогда как в контроле она составляла менее 40%. Внесение в почву минеральных удобрений также привело к появлению более дружных всходов, так уже на 4 сутки анализа всхожесть превысила 65%. При анализе влияния пироугля на всхожесть растений свеклы выявлено, что в отличие от зерновых культур, пироуголь оказывает на ее всхожесть положительно влияние. Так, всхожесть свеклы при внесении порошкообразного пироугля оказалась в 1,4, а гранулированного - в 1,8 раз выше контрольной. Внесение пироугля на фоне минеральных удобрений не привело к дополнительным эффектам. Внесение пироугля и гранулированного пироугля не повлияло на длины стеблей и корней растений пшеницы, они были сопоставимы с размерами контрольного варианта. Не оказало достоверного влияния на указанные параметры и внесение пироугля и гранулированного пироугля с иммобилизованными микроорганизмами. Аналогичные результаты были получены при

анализе растений, выращенных на фоне минеральных удобрений и пестицидов. Внесение пироугля и гранулированного пироугля привело к незначительному увеличению длин стеблей растений ячменя (на 21 и 12% соответственно). Обработка почвы пироуглем на фоне минеральных удобрений и пестицидов обеспечивает увеличение размеров стебля на 20%. Не выявлено каких-либо достоверных положительных эффектов на корни ячменя от применения пироугля и гранулированного пироугля как на фоне минеральных удобрений и пестицида, так и без них. Показано, что внесение порошкообразного и гранулированного пироугля вызывает незначительный положительный эффект в отношении корня свеклы (12 и 10%, соответственно). Установлено, что внесение пироугля и гранулированного пироугля не привело к изменению содержания хлорофилла в растениях пшеницы. Содержание хлорофилла у растений, выращенных на обработанной минеральными удобрениями и пестицидами почве увеличивается на 11-12% по сравнению с контролем, обработка почвы пироуглем на фоне минеральных удобрений приводит к дополнительному увеличению содержания хлорофилла на 24%. Таким образом, можно заключить, что минеральные удобрения и пироуголь дополняют друг друга, оказывая синергический эффект. Применение пироуглей с иммобилизованными микроорганизмами как на зараженной, так и незараженной фитопатогеном почве, как на фоне минеральных удобрений, так и без них, не оказывало достоверного эффекта. Аналогичные тенденции отмечены в динамике содержания хлорофилла в листьях ячменя и свеклы.

Для обобщения и интерпретации результатов лабораторного и мелкоделяночного экспериментов использовались методы регрессионного моделирования и дисперсионного анализа. Для каждого сочетания эксперимента (лабораторного или мелкоделяночного) и растения (пшеница, ячмень) строилась модель от переменных BGP (форма внесения пироугля), M (внесение микроорганизмов), I (заражение почвы модельным фитопатогеном), F (внесение удобрений), Pс (использование пестицидов) и PF (применение удобрений и пестицидов). Использовались 2 линейных модели: а) не учитывающая взаимодействие между переменными и б) учитывающая взаимодействия между ними. Вычисляемыми функциями в моделях являлись как отдельные показатели состояния почв и растений (например, содержание N, P, K, активность почвенных ферментов, урожайность и заболеваемость растений), так и т.н. «суммарная оптимальность», выражающая общий эффект от различных факторов на почвы и растения. В результате анализа удалось установить, что наибольший вклад в изменение как отдельных показателей состояния, так и «суммарной оптимальности» для обоих типов экспериментов (лабораторный и мелкоделяночный) имеет внесение пироугля, а также

сочетание этого внесения с такими факторами, как удобрения и консорциум микроорганизмов. Использование моделей позволило не только обобщить и проанализировать полученные экспериментальные данные, но и спрогнозировать «суммарную оптимальность» при сочетании факторов, не реализованных в рамках экспериментов.

При выполнении работ за счет собственных средств из внебюджетных источников Исполнитель проекта получил следующие результаты:

Разработан способ создания консорциумов штаммов с полезными свойствами и супрессивных штаммов. Способ включает индивидуальное выращивание микроорганизмов на индивидуальных питательных средах (в случае наращивания для исследовательских целей), либо на среде с бардой (для получения консорциумов в большом объеме) и последующее смешивание культур в соотношении 1:1. На этапе выращивания и после смешивания производят контроль количества клеток (в выросших культурах либо методом ПЦР в реальном времени, либо прямым счетом клеток цитометром, после смешивания культур - методом ПЦР в реальном времени). Составленные консорциумы проанализированы на наличие целевых свойств и установлено, что консорциум, в состав которого входят *Azospirillum zae* и *Bacillus megaterium* обладает азотфиксирующей (0,3-0,8 мкгN/мл/ч) и фосфат-мобилизующей (150-400 мг/л) активностями. Консорциум, в состав которого входят *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas putida* демонстрировал супрессивность в тестах с пшеницей (5-10%) и ячменем (10-25%). Показано, что хранение индивидуальных микроорганизмов в течение 2 недель перед смешиванием не снижает активности консорциума, однако, после смешивания необходимо максимально быстро использовать полученные консорциумы. Установлено, что смешивание двух консорциумов не приводит к потере полезных свойств, что делает возможным их совместное использование. На основании полученных результатов разработана Технологическая инструкция получения консорциумов штаммов с полезными свойствами и супрессивных штаммов.

Разработан программный компонент получения пироугля с оптимальными свойствами. Программа «Pyrooptim» написана на языке статистической системы R, и выполняется в среде системы R. Программа предназначена для выбора оптимального режима производства пироугля на основе многофакторного анализа набора физико-химических и токсикологических характеристик пироуглей с использованием методов разведочного анализа данных и регрессионного анализа. Для выбора оптимального режима используется интегральная функция оптимальности, которая задается экспертом на основе результатов разведочного анализа данных. Программа позволяет задавать и

сравнивать несколько вариантов интегральной функции оптимальности, для чего выводятся калибровочные графики связи интегральной оптимальности и параметров режима производства пироугля с выделением области, в которой интегральная оптимальность достигает максимума. Программа зарегистрирована в ФИПС РФ, Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ «Pyrooptim» №2018664611 от 20.11.2018г.

Создан лабораторный музей и каталог фитопатогенов. Для этого из почвенных образцов, отобранных на полях Индустриального партнера, засеянных яровой и озимой пшеницей, яровым ячменем, сахарной свеклой, горчицей и другими культурами, были выделены фитопатогенные грибы. Выделение осуществляли методом посева на плотные питательные среды почвенных суспензий с различными разведениями. Всего было выделено более тысячи изолятов. Изоляты были подвергнуты визуальному осмотру и сделано описание морфологии колоний. Далее колонии были подвергнуты микрофотографированию при увеличении 10X10 с использованием микроскопа Axio Scope A1. При микрофотографировании оценивали вегетативные и репродуктивные органы. На основании микрофотографирования изоляты были отнесены к 33 видам. Для указанных изолятов была проведена процедура идентификации методами молекулярной биологии, что позволило отнести их к родам *Alternaria*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, и составить на их основе лабораторный музей. Описание изолятов и их микрофотографии внесены в каталог фитопатогенов.

Проведены экспериментальные исследования влияния видов пироугля (полученных при пиковых температурах пиролиза 300, 400, 500, 600 и 700 °C) и доз внесения (0,5%, 1%, 2%, 5%) на качество почвы и рост растений. На основании полученных данных осуществлено математическое моделирование использованием статистических моделей регрессионного типа.

Показано, что оптимальным видом пироугля является вид, полученный при пиковой температуре пиролиза 400 °C. Действительно, образцы пироугля, полученные при данной температуре, характеризовались максимальным содержанием общего углерода - 49%, азота – 5%, фосфора – 2,1%, низкой токсичностью по отношению к *Paramecium caudatum* и *Daphnia magna* (Кр 1,2 и 14,3, соответственно). Внесение пироугля, полученного при 400°C, в почву не оказывало негативного воздействия на физиологические характеристики почвенных микроорганизмов, не изменяло существенно РА, не приводило к значительным отклонениям ГА, ФА и АА от контрольного диапазона и резким колебаниям уровней ГА, ФА и АА в динамике (в сопоставлении с контролем). С точки зрения влияния на растения

внесение данного вида пироугля приводило к максимальному увеличению биомассы, длин корня и стебля.

Математическое моделирование влияния доз пироугля на качество почвы и рост растений показало, что оптимальной является доза внесения является 1% (от массы почвы). Действительно, внесение в почву 1%, 2% и 5% пироугля приводило к достоверному увеличению содержания N, P, K, причем содержание элементов увеличивалось с ростом дозы внесения. Даже минимальные дозы внесения (0,5-1%) привели к увеличению биомассы, длин корня и стебля пшеницы и ячменя. Доза внесения пироугля 0,5-2% не приводила к существенному изменению РА по сравнению с контролем, а соответственно не вызывала стрессовой реакции почвенного микробного сообщества. Внесение пироугля в дозах 2 и 5% в почву под ячменем и пшеницей привело преимущественно к ингибированию ФА, ГА и АА.

Разработана Программа и методики экспериментальных исследований агрохимических свойств почв в мелкоделяночном и полевом экспериментах. Программа состоит из условий предъявления объекта испытаний на испытания, порядка отбора объектов испытаний, комплектности объектов, предъявляемых на испытания, общих требований к условиям, обеспечению и проведению испытаний (в т.ч. место проведения испытаний, требований к средствам проведения испытаний, перечень средств измерений и требований к нему), требований к условиям проведения испытаний, к подготовке объекта испытаний, к безопасности при проведении испытаний, режимам испытаний, методам испытаний, требованиям к отчетности и приложения. Согласно Программе, исследования агрохимических свойств почв в условиях мелкоделяночного и полевого экспериментов осуществляются после отбора проб почв и доставки их в лабораторию на анализ. Для определения ряда показателей (рН, электропроводности) из почвенных проб готовят водную вытяжку. Определение содержания различных химических показателей производится параллельно друг с другом. Программа и методики экспериментальных исследований агрохимических свойств почв в мелкоделяночном и полевом экспериментах включает 7 методик для исследований в условиях мелкоделяночного эксперимента, 8 методик для исследований в условиях полевого эксперимента.

В результате выполнения работ за счет средств Индустриального партнера Исполнителем проекта получены следующие результаты:

В ходе исследований агрохимических свойств почв в рамках мелкоделяночного эксперимента установлено, что до начала эксперимента (до внесения пироуглей, удобрений и посева растений) содержание биогенных элементов в почве составляло  $2,56 \pm 0,05\%$  для Сорг,  $0,23 \pm 0,01\%$ , для N,  $0,037 \pm 0,02\%$  и  $0,003 \pm 0,000\%$  для подвижных



форм К и Р, соответственно. В контрольной почве под пшеницей содержание органического углерода изменялось в диапазоне 3,03-3,09%, азота - 0,236-0,238%, подвижных форм К – 0,029-0,038% и подвижных форм Р – 0,003-0,004% в течение всего мелкоделяночного эксперимента. В контрольной почве под ячменем содержание органического углерода составляло 2,62-2,64%, азота - 0,2%, подвижных форм К – 0,034-0,039% и подвижных форм Р – 0,004% в течение всего мелкоделяночного эксперимента. Наибольший вклад в изменение содержания азота вносила обработка почвы пироуглем как в порошкообразном, так и гранулированном виде (на 10-58% по сравнению с почвой на 1 сутки эксперимента). Внесение удобрений привело к меньшему эффекту на содержание N в сравнении с внесением пироугля. Аналогично, наибольший вклад в увеличение содержания подвижных форм калия в почве вносило применение как порошкообразного, так и гранулированного пироугля - на 42-101% по сравнению с почвой на 1 сутки эксперимента, при этом максимальное увеличение содержания подвижных форм калия за счет внесения удобрений составило только 21%. Максимальный эффект от внесения как порошкообразного, так и гранулированного пироугля наблюдался для Р – так, его содержание в почве увеличилось 193-900%, внесение же удобрений привело к увеличению концентрации подвижных форм Р на 10-22%.

На 24 полях, предназначенных для проведения полевого эксперимента в 2019 г., сделана оценка агрохимических показателей и установлено, что среднее по полям содержание Сорг изменяется в пределах от 2,1 до 4,2%, N - от 0,17 до 0,37%. Анализ содержания металлов в почвах позволил выявить, что по их среднему содержанию по полю металлы могут быть выстроены в следующий ряд  $Cr \geq Ni > Zn > Cu >> Co \geq Cd > Pb$  (Cr – 29,9, Ni- 28,7, Zn – 25,9, Cu – 18, Co - 2,5, Cd – 2,4, Pb – 1,7 мг/кг). По степени кислотности почвы были отнесены в основном к нейтральным, меньшая их часть - к слабокислым, с низким уровнем влажности (2,4-5,8%) и электропроводности (9-21 мСм/см). Для построения интерполированных картограмм для внесения минеральных удобрений в определенных дозах была проведена оценка вариабельности ряда дополнительных агрохимических параметров: содержание гидролизуемого азота, подвижных калия и фосфора. Для этого были обследованы поля с отбором смешанного образца с 5 га (вместо традиционных 20 га), что позволило выявить существенную вариабельность агрохимических показателей в пределах одних полей севооборота, даже при их небольших размерах. Сильное варьирование наблюдается по содержанию доступных форм Р и К, среднее - по содержанию гидролизуемого N. Таким образом, подтверждено, что предложенная детализация агрохимического обследования (1 смешанный образец на 5 га пашни) необходима и достаточна для внедрения систем

дифференцированного внесения удобрений, а выявленная неоднородность полей по содержанию доступных элементов питания обеспечивает эффективное использование технологий точного внесения удобрений. На основе исследования отдельных полей и массивов пашни проведен сравнительный анализ подходов к созданию интерполированных карт обеспеченности биогенными элементами. Установлено, что если площадь поля составляет больше 200-250 га, отбор смешанных образцов с 5 га позволяет использовать для интерполяции геостатистические методы, в этом случае можно предложить коэффициент пространственной вариации агрохимического показателя как основной критерий, позволяющий выбрать метод интерполяции. Показано, что при сильной и очень сильной вариации агрохимических параметров целесообразно использовать ординарный метод кригинга, при слабой вариации – метод обратных взвешенных расстояний (IDW). В случае средней вариабельности способ интерполяции должен быть выбран с учетом размера поля и себестоимости выращиваемой культуры. Установлено критическое значение коэффициента вариации, равное 15%. Предложено для применения метода ординарного кригинга при небольшой площади отдельных полей их объединение в массивы интерполяции (кластеры). В этом случае предлагается проведение интерполяции всего массива данным указанным методом, и последующее проведение оценки прогнозируемой вариабельности по отдельным полям (по показателю - спрогнозированный размах варьирования). Необходимость проведения подобных расчетов связана с тем, что конечная (сниженная) дисперсия интерполированной карты, полученная по результатам применения метода ординарного кригинга для объединенных массивов, будет зависеть не только от вариабельности признака на отдельном поле, но и от площади, формы поля, содержания агрохимических показателей на соседних полях и др. В качестве критического значения спрогнозированного размаха варьирования (для выбора метода интерполяции) рекомендуется значение равное 24-25%, поскольку отклонения от спрогнозированного среднего на 12-12,5% в сторону увеличения и уменьшения, могут дать достаточный разброс расчетных доз минеральных удобрений, и эффективность их внесения будет обеспечиваться точностью интерполяции. При меньших значениях спрогнозированного размаха варьирования дифференцированное внесение удобрений по интерполированным картограммам, полученным методом ординарного кригинга, экономически неэффективно. В этом случае рекомендуется применение жесткого детерминистского интерполятора IDW. На основании проведенного анализа были созданы интерполированные картограммы для анализируемых полей. Для этого 23 поля были сгруппированы в 6 совместно интерполируемых кластеров.

Индустриальным партнером проекта за счет собственных средств из внебюджетных источников выполнены следующие работы и получены следующие результаты:

Выполнены подготовительные агрохимические мероприятия для проведения мелкоделяночного эксперимента. В рамках указанных мероприятий проведена оценка сорных растений. В ходе исследования обнаружено 28 сорных видов из 17 семейств, 16 порядков и двух отделов: Equisetophyta и Magnoliophyta. Доминантными видами в посевах ячменя и пшеницы являются: дымянка лекарственная (*Fumaria officinalis*), осот полевой (*Sonchus arvensis*), фиалка полевая (*Viola arvensis*), бодяк щетинистый (*Cirsium setosum*), вьюнок полевой (*Convolvulus arvensis*), звездчатка средняя (*Stellaria media*), гречишка вьюнковая (*Fallopia convolvulus*), а также марь белая (*Chenopodium album*). Для провоцирования сорной растительности и уничтожения личинок насекомых-вредителей в осенний период проведено лущение (рыхление) стерни трактором МТЗ-1221 с дисковой бороной БДМ на глубину 10-12 см. Через две недели после лущения была проведена вспашка зяби трактором МТЗ-1221 с плугом ПЛН-5-35. После схода снега и подсыхания верхнего слоя почвы проведено рыхление (боронование) верхнего слоя почвы зубowymi боронами БЗТУ-1 в два следа сцепкой С-11 трактором МТЗ-1221. После повторного боронования разбиты делянки. Для этого созданы защитные полосы по 15 м для удаления от дорог и других полей. Делянки организовывали в виде прямоугольных участков с пятиметровыми защитными полосами между ними. На делянки вносили пироуголь, минеральные удобрения и обрабатывали пестицидами. Размещение вариантов эксперимента по делянкам осуществляли рандомизировано. Далее была проведена культивация зяби трактором МТЗ-82 с культиватором КПС-4М на глубину 6-8 см, обеспечивающая рыхление почвы и прикатывание. На такой подготовленной почве осуществляли посев суперэлитных семян яровой пшеницы сорта «Йолдыз Элита», семена ячменя сорта «Раушан» и сахарной свеклы сорта «РМС 121 F1». Семена, минеральные удобрения, пестициды, ГСМ были закуплены в зимний период.

Оценено влияние пироугля на урожайность растений в рамках мелкоделяночного эксперимента. Урожайность пшеницы сорта «Йолдыз Элита» на контрольной делянке ( $K_w$ ) составила  $19,66 \pm 2,02$  ц/га. Применение порошкообразного пироугля ( $B_w$ ) привело к значительному увеличению урожайности – на 41%. Гранулирование пироугля ( $gB_w$ ) не снизило эффекта на урожайность. Внесение иммобилизованных на пироугле микроорганизмов во всех исследуемых концентрациях (1%, 10% и 20%) так же привело к повышению урожайности среди образцов на 18%-43%. Иммобилизация микроорганизмов на пироуголь не привела к дополнительному положительному эффекту. Внесение

минеральных удобрений не оказало влияния на урожайность пшеницы, ни само по себе, ни в сочетании с другими факторами. Поскольку положительные эффекты от внесения а) пироугля (и порошкообразного, и гранулированного), б) микроорганизмов в неиммобилизованном виде (в любых концентрациях) и в) микроорганизмов в иммобилизованном виде (в любых концентрациях и на любой вид пироугля) являлись сопоставимыми, с экономической точки зрения следует отдать предпочтение внесению пироугля.

Урожайность ячменя сорта «Раушан» на контрольной делянке (Kb) составила  $18,57 \pm 4,59$  ц/га. Внесение удобрений привело к значительному повышению урожайности (KFb) – на 49%. Внесение порошкообразного (Bb) и гранулированного (gBb) пироуглей привело к повышению урожайности на 46% и 43%, соответственно. В обоих случаях положительный эффект усилился на фоне применения минеральных удобрений и пестицидов – урожайность в образце BFb превысила контрольную на 72%, а в образце gBFb – на 76%. Внесение неиммобилизованных на пироугле микроорганизмов во всех исследуемых концентрациях (1%, 10% и 20%) привело к повышению урожайности – на 37-43%. Этот эффект был сильнее на фоне применения минеральных удобрений и пестицидов. Иммобилизация же микроорганизмов на пироугле не привела к дополнительным эффектам с точки зрения повышения урожайности ячменя. С экономической точки зрения, следует рекомендовать использование пироугля (как порошкообразного, так и гранулированного) на фоне применения минеральных удобрений и пестицидов для повышения урожайности ячменя.

Проведен комплекс агротехнических мероприятий по обеспечению условий мелкоделяночного эксперимента. Комплекс мероприятий включал: а) посев ячменя и яровой пшеницы трактором МТЗ-80 с сеялкой СЗП-3,6 на глубину 4-6 см, норма высева семян ячменя составила 4,5 млн всхожих зёрен на 1 гектар, пшеницы - 5 млн зёрен; б) прикатывание посева кольчато-шпоровым катком ЗККШ-3,6 на тракторе МТЗ-80; в) отбивку защитных полос трактором МТЗ-80 с культиватором КОН-2,8; г) боронование посевов всходов поперёк посева трактором МТЗ-80 с посевными боронами ЗБП-0,6; д) рыхление культиватором КОН-2,8, навешенном на трактор МТЗ-80 (каждые две недели); е) ручное удаление крупных сорных растений; ж) обработку гербицидом и фунгицидом з) прополка и рыхление мотыгами защитных полос; и) отбор снопов для проведения структурного анализа; к) уборку урожая прямым комбайнированием мелкоделяночным комбайном САМПО-1210; л) сортировку сорняков на «воздушной колонке» на сортировочном пункте; м) взвешивание урожая.

Разработана Программа и методики экспериментальных исследований фитопатогенного фона почв сельхозугодий. Программа состоит из следующих разделов: условия предъявления объекта испытаний на испытания; порядок отбора объектов испытаний; комплектность объектов, предъявляемых на испытания; общие требования к условиям, обеспечению и проведению испытаний (в т.ч. место проведения испытаний, требования к средствам проведения испытаний, перечень средств измерений и требований к нему); требования к условиям проведения испытаний, к подготовке объекта испытаний, к безопасности при проведении испытаний; режимы испытаний; методы испытаний; требования к отчетности и приложения. Согласно Программе, экспериментальные исследования фитопатогенного фона почв сельхозугодий осуществляются после отбора проб почв, а также проб растений и доставки их в лабораторию. Согласно Программе, 2 типа испытаний должны проводиться параллельно: 1) из почвенного образца выделяется тотальная грибная ДНК и методом ПЦР в реальном времени идентифицируется присутствие наиболее распространенных для данной климатической зоны фитопатогенных грибов; 2) производится осмотр отобранных растений на развитие и распространенность заболеваний (листовых микозов и корневых гнилей).

Проанализировано развитие и распространенность корневых гнилей и листовых микозов пшеницы, ячменя и сахарной свеклы, произрастающих на полях Индустриального партнера. Корневые гнили определяли трижды за вегетационный сезон (в фазы конца выхода в трубку, флагового листа-начало колошения, молочной спелости), листовые микозы - однократно. Установлено, что развитие корневых гнилей пшеницы варьируется от 1,1-2,6% в первую точку отбора до 1,9-6,0% в третью. Распространенность корневых гнилей по полям составила от 20 до 60%, причем низкое распространенность (до 40%) отмечена на 60% всех полей. При оценке листовых микозов пшеницы анализировали три наиболее часто встречающихся заболевания – мучнистую росу, бурую ржавчину и септориоз. Выявлено, что распространенность мучнистой росы и септориоза составляет 80-90%. Развитие болезни в случае мучнистой росы составило от 1,1 до 3,1%, и оказалось существенно ниже по сравнению с септориозом (8,9% - 18,6%). Заболеванию бурая ржавчина были подвержены только растения двух полей. Показано, что развитие корневых гнилей ячменя составило в среднем по полям 4%, 6,6% и 8,3% при отборе образцов в фазы конца выхода в трубку, флагового листа-начало колошения и молочной спелости, соответственно, и увеличивалось со временем. Так же и значения показателя распространенности корневых гнилей увеличивались со временем, при этом на двух полях к третьей точке отбора распространенность болезни составляет 100%. При анализе листовых микозов ячменя

оценивали темно бурую пятнистость, сетчатую пятнистость, настоящую мучнистую росу. Развитие темно-бурой пятнистости составило от 0,02 до 0,05%, а ее распространенность – 20-40%. Развитие болезни настоящая мучнистая роса составило 0,11-0,38%, а распространенность - лишь 20-30%. Анализ ячменя на наличие сетчатой пятнистости выявил отсутствие признаков этой болезни в посевах на всех полях. Выявлено, что минимальное развитие корневых гнилей сахарной свеклы было отмечено на двух полях и составило 2%, максимальное развитие наблюдали так же на двух полях – 9%. Минимальное распространенность болезни установлена для одного из полей с минимальным развитием болезни (10%), а максимальное значение показателя распространенности болезни составило 60%. При анализе листовых микозов свеклы рассматривали следующие заболевания: фомоз, пероноспороз и настоящая мучнистая роса. Установлено, что растения заражены всеми тремя анализируемыми болезнями: развитие фомоза свеклы наблюдали на всех полях, однако интенсивность развития болезни колебалась от 0,09 до 0,33%. Меньшая вариабельность отмечена при анализе настоящей мучнистой росы. Развитие болезни колебалось от 0,11 до 0,2%. Пероноспороз отсутствовал на 30% полей на остальных полях развитие болезни составила от 0,04 до 0,17%. Анализ распространение болезней выявил, что количество заболевших растений не было высоким. Так, распространенность фомоза и настоящей мучнистой росы составляло в среднем по полям 18 и 22%. При этом только на одном поле количество растений свеклы, пораженных настоящей мучнистой росой, составило более 30%. Еще ниже оказалось распространенность такой болезни как пероноспороз: количество заболевших растений составило в среднем 8%. Таким образом, нами были проанализированы развитие и распространенность следующих заболеваний: корневые гнили у всех культур; бурая пятнистость, сетчатая пятнистость, настоящая мучнистая роса – у ячменя, мучнистая роса, бурая ржавчина и септориоз – у пшеницы, фомоз, пероноспороз и настоящая мучнистая роса – у свеклы. Полученные результаты свидетельствуют, что развитие и распространенность болезней в первую очередь зависит от вида сельскохозяйственной культуры. Так, наиболее подверженной заболеваниям оказалась пшеница, для которой продемонстрировано наиболее высокое и развитие и распространенность болезней. Ячмень и свекла характеризовались более низкими и примерно одинаковыми уровнями заболеваний, которые увеличивались со временем вегетации. Учет в почве фитопатогенов проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием индивидуальных праймеров к фитопатогенам. Выявлено, что во всех почвенных образцах обнаруживаются все проанализированные фитопатогены, независимо от выращиваемой агрокультуры. Среднее количество копий генов *Alternaria* spp в почвах, отобранных в первой декаде

июня и третьей декаде июля (первый и второй отбор проб) составляло  $2,32 \cdot 10^4$  и  $3,01 \cdot 10^5$ , *Fusarium graminearum* –  $6,24 \cdot 10^4$  и  $5,88 \cdot 10^5$ , *Fusarium oxysporum* –  $3,15 \cdot 10^4$  и  $3,22 \cdot 10^5$ , *Septoria tritici* –  $2,99 \cdot 10^4$  и  $2,92 \cdot 10^5$  и *Tilletia caries*  $2,77 \cdot 10^4$  и  $3,05 \cdot 10^5$  в 1 г почвы, соответственно. Скорее всего, это связано с тем, что в почве всегда присутствуют указанные грибы, негативный эффект которых проявляется при выращивании конкретной культуры. Установили, что количество фитопатогенов в образцах, отобранных в третью декаду июля, было выше в среднем в 10 раз по сравнению с их количеством в пробах, отобранных в июне. Такое распределение связано с природными сукцессиями, обусловленными климатическими факторами и стадиями развития растений.

Поставленные задачи решены в полном объеме.