2011

УДК 579.64

МОНИТОРИНГ МИКРОМИЦЕТОВ ВЫЩЕЛОЧЕННОГО ЧЕРНОЗЕМА АГРОЦЕНОЗОВ ЧЕРЕМШАНСКОГО РАЙОНА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

И.А. Сахабиев, С.С. Рябичко, В.В. Иванова, А.А.А. Ахмед, Б.Р. Григорьян, Ф.К. Алимова

Аннотация

Использован метод иммуноферментного анализа для исследования возможности реализации системного подхода в определении состава и содержания микромицетов в почвах, в частности в выщелоченных черноземах. Впервые в почве единовременно определялись все сообщества микромицетов, на основе чего были составлены картограммы содержания микромицетов. Предложено использовать составление картограмм для системного анализа изменения динамики роста и распространения микроорганизмов в агроценозах с целью применения эффективных стратегий управления их видовым составом и количеством. Сделана попытка оценить структуру и численность экологических групп микромицетов. При этом показано преимущество иммунологических методов по сравнению с методом классического микробиологического посева при проведении микробиологического мониторинга почв. Иммунологические методы определения микроорганизмов являются более дешевыми, быстрыми, позволяют определять большой массив микроорганизмов.

Ключевые слова: мониторинг почв, микромицеты, иммуноферментный анализ, картограммы содержания микромицетов, фитопатогены.

Введение

Одной из составляющей комплексного мониторинга почвенного покрова является микробиологическая оценка состояния почв исследуемых территорий. При этом исследователи, как правило, определяют количество патогенных микроорганизмов и их антагонистов. Проведение микробиологического мониторинга почв является наиболее трудоемким по сравнению с другими видами мониторинга почвенного покрова, так как методы количественного определения микроорганизмов занимают достаточно длительное время, требуют значительных денежных затрат при большом количестве образцов. В связи с этим в большинстве случаев удается определить малое количество пар патоген - антагонист, тогда как необходим системный анализ микобиоты почвенного покрова [1]. Исследования подобного характера становятся все более актуальными. Например, ранее системный анализ был использован при определении видов лишайников [2]. Однако для использования системного подхода определения почвенной микробиоты требуются быстрые и относительно недорогие методы идентификации и количественного определения микроорганизмов, выявления закономерностей их распространения в зависимости от агрохимического фона почвенного покрова.

В настоящей работе нами предпринята попытка системного определения микромицетов в почвах как одной из экологических групп патогенов растений.

Микромицеты, паразитируя на растениях, вызывают их гибель и снижение урожая, что влечет за собой колоссальный экономический ущерб. Только такое заболевание пшеницы, как фузариозная корневая гниль, приводит к снижению урожая от 5% до 30% [3]. Кроме того, плесневые грибы способны выделять вторичные метаболиты — микотоксины, обладающие канцерогенным и мутагенным свойствами по отношению к человеку и животным [4]. Поэтому требуется вести тщательный контроль содержания микромицетов в окружающей среде и, особенно, в главном их резервуаре — почве.

Анализ распространения патогенных микроорганизмов привел к формированию концепции ландшафтной эпидемиологии. Цель ландшафтной эпидемиологии заключается в идентификации факторов, влияющих на распространение патогенов, что позволяет определить риск развития болезней растений. Определение рисков развития позволит выбрать верную стратегию защиты растений, использовать эффективные меры по снижению патогенов на исследуемой территории [5].

В последнее время вследствие накопившихся противоречивых данных, а также развития устойчивости микромицетов к применяемым химическим средствам защиты растений большое внимание уделяется проблеме распространения фитопатогенных микромицетов в почвах. Современные методы анализа распространения фитопатогенов используют возможности ГИС для составления карт содержания почвенных микромицетов. К примеру, в Индии ГИС-технологии использовали для определения *Fusarium mangiferae*, вредителя манго [6]. Методы ГИС использовались также для выявления взаимосвязи содержания фитопатогенов с распространением микотоксинов или заболеваемости растений [7, 8].

Исследования подобного рода проводятся достаточно редко. Кроме того, при составлении карт распространения микроорганизмов учитывается либо один определенный возбудитель заболевания растений, либо пара фитопатоген — антагонист [9, 10]. В связи с этим на сегодняшний день огромное значение имеют исследования взаимодействия системы сообществ микромицетов, а также влияния различных факторов на их распространение.

Основными целями настоящей работы являются оценка фитосанитарного состояния агроценозов Черемшанского района Республики Татарстан (РТ) и обоснование использования системного подхода к определению содержания микромицетов в почвах.

Объекты и методы исследования

Обследование почв проводилось на полях ООО «Плодородие» Черемшанского района РТ. Площадь полей составляет 220.3 и 184.4 га (рис. 1). На участке обследования почвенный покров представлен черноземами выщелоченными среднемощными тяжелосуглинистыми. Для построения картограмм содержания микромицетов отбор почвенных проб проводили согласно ГОСТ 28168–89 [8] маршрутами на четырех элементарных участках каждого поля, схема маршрутов представлена на рис. 2. При каждом маршруте отбирались 10–15 почвенных образцов на глубине 10–15 см пахотного горизонта, из которых методом квартования

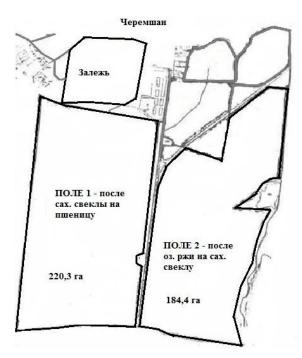


Рис. 1. Участок обследования

была выделена объединенная проба. С каждого элементарного участка было отобрано по 2 объединенной пробы. В качестве фоновых значений агрохимических показателей почвенного покрова почвенные пробы отбирались на участке залежи, расположенной в северной части залегания агроценозов (рис. 2).

Образцы почв были подвергнуты агрохимическому, микробиологическому и иммуноферментному анализам. Агрохимический анализ почв проводился для определения содержания гумуса, общего азота, подвижных форм фосфора, калия, а также рН водной и солевой вытяжки. Все анализы определения показателей плодородия почв были выполнены согласно действующим ГОСТ [11–16].

Микромицеты в почвах определялись двумя группами методов.

1. Микробиологические методы.

- 1) Метод посева предельных разведений на питательные среды. Анализ проводили согласно методике [17]. Серию разведений в 3 повторностях высевали на следующие агаризованные среды: стандартная среда Чапека, картофельноглюкозный агар (КГА), почвенный и голодный агары. Колонии образующие единицы (КОЕ) вычисляли по таблице МакКреди. Данные были пересчитаны на сухую массу почвы, которую определили гравиметрическим методом.
- 2) Метод обрастания комочков почвы. Для учета частоты встречаемости микроорганизмов в почве использовали метод обрастания комочков почвы согласно методике Виноградского [18]. Формировали комочки почвы на упомянутых агаризованных питательных средах, инкубировали во влажной камере при 25 °C и вели учет встречаемости сформированных колоний микромицетов.

2. Метод иммуноферментного анализа.

Процедуру постановки твердофазного непрямого конкурентного двухстадийного иммуноферментного анализа (ИФА) проводили на приборе «Униплан»

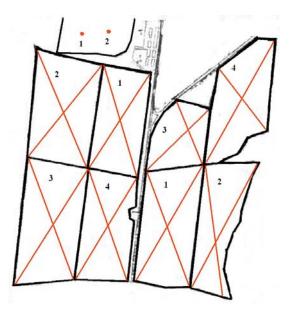


Рис. 2. Схема маршрута отбора образцов почв (точками 1 и 2 указаны пробы залежи); 1–4 – элементарные почвенные участки поля 1 и поля 2

(ЗАО «Пикон», г. Москва) согласно рекомендациям А.М. Егорова [3]. В планшетные стрипы вносили 50 мкл образца (экстракт почвы) и 50 мкл раствора кроличьей антисыворотки («Хема-Медика», г. Москва). Экстракт почвы получали следующим образом. К 1 г почвы добавляли 0.1 М натрий-фосфатный солевой буфер (рН 7.0). После инкубации в течение 1 ч при 37 °С центрифугировали 12000 g 10 мин. Супернатант использовали для анализа. Для построения калибровочной кривой также вносили в отдельные стрипы 5 калибраторов с различной концентрацией по 50 мкл и добавляли 50 мкл антисыворотки. Далее инкубировали 1 ч при 37 °C. Несвязавшиеся антитела отмывали фосфатно-солевым буфером с твином (рН 7.2) 3 раза. Добавляли раствор конъюгата антивидовых антител с пероксидазой хрена и инкубировали 0.5 ч при 37 °C с последующей пятикратной отмывкой. После удаления влаги вносили 100 мкл раствора субстрата, содержащего тетраметилбензидин (ТМБ) и перекись водорода. Инкубировали в темноте и останавливали реакцию 100 мкл 5%-ной серной кислоты по мере окрашивания. Детекцию проводили при 450 нм. Зависимость оптической плотности от концентрации антигенов была обратной.

Статистически достоверное различие содержания и встречаемости микромицетов в агроценозах определяли, используя расчет критерия Манна — Уитни. Для определения достоверных различий содержания агрохимических показателей почв использовали *t*-критерий Стьюдента. Корреляцию между выборками проводили, учитывая коэффициент корреляции по Спирману.

Результаты и их обсуждение

Нами изучены основные показатели почвенного плодородия (табл. 1).

Отмечено достоверное различие (p = 0.05) в содержании валового азота, подвижного фосфора, подвижного калия, pH водной и солевой вытяжек между

Значения статистических показателей Статистический Гумус. Азот Подвиж-ПодвижpН pН показатель % ный касолевой валовый, ный водной % фосфор, лий, вытяжки вытяжки мг/100 г $M\Gamma/100$ г 0.53 Поле Среднее 7.36 43.88 42.84 6.5 5.7 **№** 1 0.54 0.139.79 19.13 0.25 0.30 Стандартная отклонение 7.41 24.82 43.61 22.85 3.86 5.17 Коэффициент вариации Поле 6.96 0.38 47.59 Среднее 37.88 6.6 5.9 № 2 Стандартная 0.31 0.06 15.80 6.64 0.45 0.36 отклонение 4.41 41.71 Коэффициент 15.56 13.96 6.89 6.14 вариации 7.65 0.44 34.38 18.47 6.2 5.4 Среднее Залежь

Табл. 1 Статистические показатели агрохимического анализа почв

полем № 1 и залежью и между полем № 2 и залежью. Имеется также различие в содержании азота между полем № 1 и полем № 2. Содержание гумуса имеет различие между полем № 2 и залежью.

По содержанию гумуса, фосфора подвижного, калия подвижного различия между полями незначимы, по значениям рН водной и солевой вытяжек, по содержанию азота валового поля имеют статистическую разницу.

На территории агроценозов были обнаружены следующие виды микромицетов, определены процент встречаемости и содержание КОЕ на грамм абсолютно сухой почвы (табл. 2). В таблице представлены средние значения встречаемости и количества грибов по квадрантам полей. Несмотря на видимые различия, достоверная разница выявлена не во всех случаях.

Встречаемость грибов в поле № 1 и поле № 2 достоверно различается (p = 0.05) для: *B. cinerea*, *Stemphylium* spp., *Acremonium* spp., *Verticillium* sp., *T. viride*, *A. terreus*, *P. notatum*, *F. oxysporum*, *Absidia* spp., *Rhyzopus* spp. Количество грибов в поле № 1 и поле № 2 достоверно различаются для: *A. alternata*, *Gliocladium* spp., *T. viride*, *A. niger*, *P. chrysogenum*, *F. oxysporum*, *M. sterilia*.

Во встречаемости грибов в поле \mathbb{N}_{2} 1 и залежи нет достоверных различий для: *A. alternata, Verticillium* spp., *A. terreus, P. chrysogenum, P. notatum, Sphaeridium candidum, Torula* spp., *Mucor* spp., *M. sterilia, Rhyzomucor* spp. Количество грибов в поле \mathbb{N}_{2} 1 и залежи достоверно различаются для: *A. alternata, A. infectoria, T. viride, A. niger, A. terreus, P. chrysogenum, M. sterilia*.

Во встречаемости грибов в поле $Noldsymbol{Noldsymbol$

 Табл. 2

 Встречаемость и количество микромицетов

No	Название	Средняя встречаемость, %			Средняя концентрация, КОЕ/г почвы		
			Поле № 2			Поле № 2	
1	Botrytis cinerea	19.5	11.0	10.0	0	0	0
2	Alternaria alternata	9.8	13.1	10.5	0	55	550
3	Alternaria infectoria	0.0	0.0	2.5	0	0	50
4	Verticillium spp.	35.1	53.9	42.5	4	1	10
5	Fusarium oxysporum	16.1	0.0	41.5	404	0	5
6	Neurospora spp.	0.0	0.0	5.0	0	0	0
7	Gliocladium spp.	4.5	4.1	0.0	100	0	100
8	Trichoderma viride	9.9	9.0	13.5	662500	66250	10000
9	Talaromyces vermiculatus	0.0	0.0	12.0	0	0	0
10	Setodochium caseariae	0.0	0.0	2.5	0	0	0
11	Ulocladium spp.	0.0	0.0	4.5	0	0	0
12	Stemphylium spp.	23.4	11.8	13.5	0	0	0
13	Acremonium spp.	3.9	0.0	17.0	0	0	0
14	Aspergillus niger	39.6	48.9	100.0	213	18	1000
15	Aspergillus terreus	67.5	92.3	100.0	88750	426250	500
16.	Aspergillus nidulans	0.0	0.0	22.0	0	0	0
17	Penicillium glaucum	75.6	74.5	45.0	1900	888	5500
18.	Penicillium chrysogenum	97.0	94.1	100.0	775000	76375	55000
19	Penicillium notatum	89.9	57.1	100.0	663	1539	5500
20	Sphaeridium candidum	0.0	1.5	0.0	0	0	0
21	Torula spp.	46.0	54.5	51.0	0	0	0
22	Mucor rouxii	0.0	0.0	50.0	0	0	0
23.	Mucor spp.	96.3	100.0	100.0	0	0	0
	Absidia spp.	0.0	85.5	72.0	0	0	0
25	Rhyzopus spp.	76.1	100.0	87.5	0	0	0
26	Mycelia sterilia	0.0	0.0	0.0	888	438	100
27	Rhyzomucor spp.	55.6	0.0	0.0	0	0	0

Отсутствие достоверности при значительных различиях средних значений объясняется высокими дисперсиями выборок, которые, в свою очередь, можно объяснить высокой вариабельностью количества и встречаемости грибов в пределах одного поля, что является доказательством необходимости составления картограмм содержания фитопатогенных микромицетов.

Наблюдается значительное превосходство содержания грибов в образце почв поля № 1 по сравнению с полем № 2. Количество грибов в залежи по сравнению с агроценозом представлено весьма малой величиной (рис. 3).

Идентифицированные почвенные грибы сгруппировали по трем экологическим категориям: 1) патогены – фитопатогенные микромицеты (\mathbb{N} 2 1–6 в табл. 2); 2) антагонисты – грибы, чья жизнедеятельность носит антагонистический характер по отношению к фитопатогенам (\mathbb{N} 2 7–8); 3) нейтральная биота (сапрофиты) – микромицеты, предположительно, не проявляющие агрессивные свойства к растениям или их патогенам (\mathbb{N} 2 9–27).

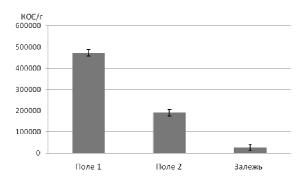


Рис. 3. Содержание микромицетов в почвах

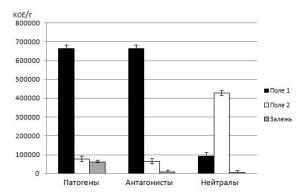


Рис. 4. Количество микромицетов различных категорий в почвах

Поле № 1 превосходит по количеству патогенов и антагонистов поле № 2, в то время как количество грибов, относящихся к нейтральной биоте, в поле № 2 значительно выше, чем в поле № 1 (рис. 4).

Как показано на рис. 5, процентное отношение содержания грибов различных групп сильно варьирует на разных территориях. Если в поле № 1 достаточно велика численность как патогенов, так и их антагонистов, то в поле № 2 доминирует по численности нейтральная биота, в залежи — патогены. Очевидно, что в залежи доля численности патогенных микромицетов превалирует не по причине их высокой концентрации, а вследствие низкой концентрации антагонистической и нейтральной биоты.

Достоверная корреляция между общим количеством грибов и агрохимическими показателями почв выявлена лишь для содержания валового азота (r = -0.71). Наблюдались также достоверные корреляции содержания тех или иных экологических групп грибов с некоторыми показателями агрохимического состава, однако данные корреляции были достаточно низкими. Таким образом, из всех определяемых агрохимических показателей почв на состав и количество грибов влияние оказывает содержание азота: чем больше азота, тем выше концентрация патогенов и антагонистов. Однако также не исключается, что концентрация азота на содержание микромицетов влияет опосредованно.

На обследованных территориях используется следующая схема севооборота: 1) пшеница; 2) рожь озимая; 3) рожь яровая; 4) сахарная свекла. Предшественник поля \mathbb{N} 1 – яровая рожь; поля \mathbb{N} 2 – сахарная свекла. Очевидно, что подобная

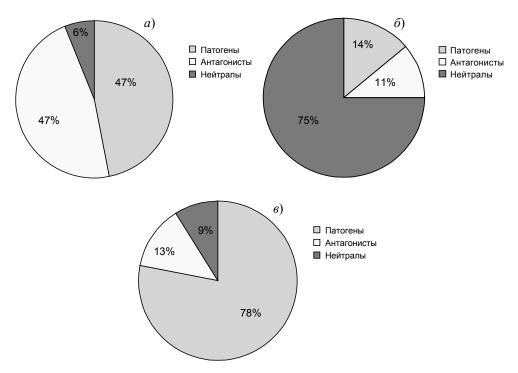


Рис. 5. Процентное отношение содержания грибов различных групп: a − поле № 1; δ − поле № 2; a − залежь

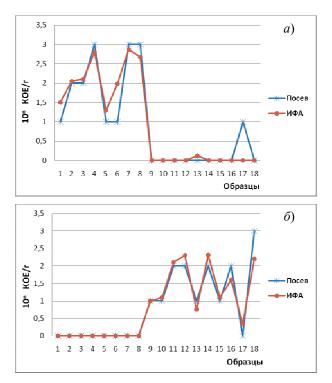


Рис. 6. Анализ количества КОЕ/г посевом и методом И Φ А: a-Fusarium; $\delta-Alternaria$

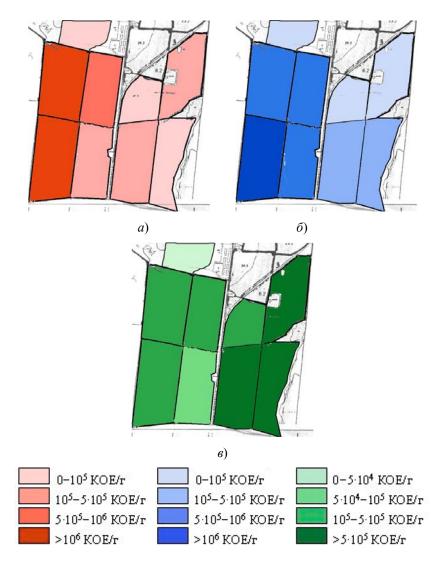


Рис. 7. Картограммы содержания: a) фитопатогенных микромицетов; δ) микромицетовантагонистов; δ) нейтральной биоты

схема севооборота вносит определенный вклад в формирование взаимоотношений между популяциями почвенных микроорганизмов. После культивирования зерновых, концентрация фитопатогенных грибов рода *Fusarium* увеличивается, в то время как концентрация грибов рода *Alternaria* увеличивается после сахарной свеклы. После культивирования зерновых также заметно снижается содержание грибов рода *Trichoderma*, являющихся антагонистами многих фитопатогенных микромицетов, в том числе рода *Fusarium*. Чередование сахарной свеклы после зерновых является хорошим агротехническим приемом для снижения количества патогенных микроорганизмов.

Для быстрой идентификации и количественного определения микромицетов в почвах нами предложен метод ИФА, который имеет ряд очевидных преимуществ по сравнению с классическим микробиологическим посевом. Метод посевов суспензий разведений почвы на твердые питательные среды позволяет определить число колоний образующих единиц (КОЕ), а метод ИФА — массу грибов. Таким образом, для сравнения двух методов необходимо было построить калибровочные кривые зависимости КОЕ от массы для каждого гриба. По имеющимся калибровочным кривым (не представлены) определили содержание КОЕ грибов родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Phoma* в образцах почв (рис. 6). Грибы рода *Phoma* в образцах не обнаружили ни одним из методов.

Значение корреляции между массивами значений КОЕ грибов родов Fusarium и Alternaria, определенных методами посевов разведений и ИФА, составляет r = 0.95 для Fusarium и r = 0.96 для Alternaria. Для сравнения данных, полученных двумя разными методами, использовали статистический метод сравнения Бленда — Альтмана. Средняя разность между значениями составила 0.02 для Fusarium и 0.01 для Alternaria. Стандартное отклонение составило 0.38 для Fusarium и 0.26 для Alternaria, что невелико по сравнению с самими значениями. Данные исследования позволяют судить о возможности использования иммунологических методов. Таким образом, метод ИФА применим в качестве более быстрого и дешевого метода определения грибов в почве по сравнению с классическими микробиологическими методами.

В результате определения встречаемости и количества фитопатогенных грибов, их антагонистов и нейтральной биоты на исследуемых территориях были составлены следующие картограммы с использованием интенсивности окрашивания в зависимости от количества грибов: красным цветом – патогены, синим – антагонисты, зеленым – нейтральные микромицеты (рис. 7).

В связи с малой выборкой данных пока не представляется возможным определить группировки почв по концентрации микромицетов, а также выявить коэффициенты зараженности почв микромицетами, отражающие преобладающее содержание грибов в системе патоген — антагонист. Поэтому необходимо развитие исследований для выявления пороговых значений (шкал, градаций) показателей содержания микроорганизмов в почвах и иных объектах с целью разработки корректных мер управления и рационального использования микробиологической составляющей почвенного покрова в сельском хозяйстве.

Заключение

Фитопатологическая ситуация в выщелоченных черноземах Черемшанского района Республики Татарстан сложилась следующим образом: доля патогенов по отношению к антагонистам в агроценозах варьирует в зависимости от содержания валового азота, участок залежи содержит повышенное количество патогенов вследствие низкой концентрации антагонистической и нейтральной биоты. Общая биомасса микроскопических плесневых грибов в образцах залежи значительно ниже, чем в агроценозе.

Сравнение микробиологических методов и иммуноферментного анализа содержания микромицетов в почвах выявило высокую корреляцию значений. Иммунологические методы определения микромицетов являются более дешевыми, быстрыми и менее трудоемкими, позволяют в короткие сроки проводить микробиологический мониторинг почв, выявлять новые закономерности развития грибов и их взаимного сосуществования, анализировать большой массив микобиоты по сравнению с классическими микробиологическими методами.

Применен новый подход к исследованию распространения почвенных микроорганизмов, который заключается в системном изучении всех идентифицированных видов на примере микромицетов. Объединялись и сравнивались микромицеты по экологическим группам, предложено использование количественных градаций содержания отдельных экологических групп в почвах на различных посевных территориях.

Настоящая работа является первым этапом по созданию картограмм содержания возбудителей болезней растений в почвах. Впервые картограммы составляются на основе анализа всех идентифицированных видов, а не конкретных видов фитопатогенов, что позволит контролировать распространение возбудителей и принимать соответствующие меры, а также анализировать последствия воздействий.

Summary

I.A. Sakhabiev, S.S. Ryabichko, V.V. Ivanova, A.A.A. Ahmed, B.R. Grigoryan, F.K. Alimova. Monitoring of Micromycetes of Leached Chernozems in Agrocenoses of the Cheremshan Region of the Republic of Tatarstan.

The method of ELISA was used to investigate the possibility of realization of system approach to determination of composition and content of micromycetes in soils, particularly in leached chernozems. For the first time, all micromycete communities were simultaneously determined in soil; cartograms of micromycetes content were drawn. These cartograms were suggested to be used for systemic analysis of changes in growth and distribution dynamics of microorganisms in agrocenoses for application of effective strategies of their composition and content management. An attempt was made to estimate structure and quantity of ecological groups of micromycetes. Advantages of immunological methods in comparison with classical microbiological plate-enrichment techniques during the microbiological monitoring of soils were revealed. Immunological methods of microorganism determination were found to be cheaper, faster, and to define larger amount of microorganisms.

Key words: soil monitoring, micromycetes, immunoenzymatic analysis, cartograms of micromycetes content, phytopathogens.

Литература

- 1. *Shaw M.W.* Pathogen population dynamics // The Epidemiology of Plant Diseases / Eds. B.M. Cooke, D.G. Jones, B. Kaye. Springer, 2006. P. 193–214.
- 2. *Kapusta P., Szarek-Lukaszewska G., Kiszka J.* Spatial analysis of lichen species richness in a disturbed ecosystem (Niepolomice forest, S. Poland) // The lichenologist. 2004. V. 36, No 3–4. P. 249–260.
- 3. *Егоров Е.А.* Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высш. шк., 1991. 288 с.
- 4. *Bennett J.W., Klich M.* Mycotoxins // Clin. Microbiol. Rev. 2003. V. 16, No 3. P. 497–516.
- 5. *Plantegenest M., Le May C., Fabre F.* Landscape epidemiology of plant disease // J. Royal Soc. Interface. 2007. V. 4, No 16. P. 963–972.
- 6. Reddy I.V.S., Usha K., Singh B., Chander S. Agro ecological zonation of Fusarium mangiferae for Andhra Pradesh and Uttar Pradesh States of India // Archives XXXVIII-8/W3 Workshop Proceedings: Impact of Climate Change on Agriculture. 2009. P. 68—71. URL: http://www.isprs.org/proceedings/XXXVIII/8-W3/B1/10-62_ISRO%20F.pdf, свободный.

- 7. Schlang N. Spatial distribution of Fusarium head blight pathogens and associated mycotoxins in wheat fields // 3rd Int. FHB Symposium. 2008. P. 573–577.
- 8. *Wu B.M.* Spatial analysis of Lettuce Downy Mildew using Geostatistics and Geographic Information Systems // Phytopathol. 2001. V. 91, No 2. P. 134–142.
- 9. *Kessel G.J.T.* Modeling spatial characteristics in the biological control of fungi at leaf scale: competitive substrate colonization by Botrytis cinerea and the saprophytic antagonist Ulocladium atrum // Phytopathol. 2005. V. 95, No 4. P. 439–448.
- 10. *Laine A.L.*, *Hanski I.* Large-scale spatial dynamics of a specialist plant pathogen in a fragmented landscape // J. Ecol. 2006. V. 94, No 1. P. 217–226.
- 11. ГОСТ 28168-89. Почвы. Отбор проб. М.: Изд-во стандартов, 1989. 8 с.
- 12. ГОСТ $26423-85 \Gamma$ ОСТ 26428-85. Методы определения катионно-анионного состава водной вытяжки. М.: Изд-во стандартов, 1985. 7 с.
- 13. ГОСТ 26204–91. Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Чирикова в модификации ЦИНАО. М.: Изд-во стандартов, 1992. 8 с.
- 14. ГОСТ 26107–84. Почвы. Методы определения общего азота. М.: Изд-во стандартов, 1984.-11 с.
- 15. ГОСТ 26213–91. Почвы. Методы определения органического вещества. М.: Издво стандартов, 1992. 8 с.
- 16. ГОСТ 26483–85 ГОСТ 26490–85. Почвы. Определение рН солевой вытяжки, обменной кислотности, обменных катионов, содержания нитратов, обменного аммония и подвижной серы методами ЦИНАО. М.: Изд-во стандартов, 1985. 4 с.
- 17. *Красноженов Е.П.* Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии. Томск: СибГМУ, 2003. 260 с.
- 18. Виноградский С.Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы. М.: Изд-во АН СССР, 1952. 752 с.

Поступила в редакцию 28.02.11

Сахабиев Ильназ Алимович – аспирант кафедры почвоведения Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: ilnassoil@yandex.ru

Рябичко Сергей Сергеевич – аспирант кафедры биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: anomalhead@mail.ru

Иванова Вилена Витальевна – аспирант кафедры биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: vilenavitalievna@rambler.ru

Ахмед Атеф Абдельмохсен Абдельрахман – аспирант кафедры биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: atefnagi2000@yahoo.com

Григорьян Борис Рубенович – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой почвоведения Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: Boris. Grigoryan@ksu.ru

Алимова Фарида Кашифовна – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: farida alimova@hotmail.com