

Развитие микробных сообществ на поверхности пожнивных остатков

© 2025. М. А. Алёшин¹, д. б. н., зав. кафедрой, Т. В. Полюдова², к. б. н., доцент,
А. И. Ботин², студент, А. А. Завалин³, академик РАН, зав. лабораторией,

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет,
614068, Россия, г. Пермь, ул. Букирева, д. 15,

²Пермский государственный аграрно-технологический университет
им. академика Д.Н. Прянишникова,

614990, Россия, г. Пермь, ул. Петропавловская, д. 23,

³Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н. Прянишникова,
127550, Россия, г. Москва, ул. Прянишникова, д. 31а,
e-mail: Matvei0704@mail.ru

В рамках лабораторного модельного эксперимента обнаружены микробные сообщества на поверхности соломы зерновых культур, которые формируются в начальный период её разложения в дерново-подзолистой среднесуглинистой почве (*Eutric Albic Retisols (Abruptic, Loamic, Cutanic)*) в виде полимикробных биоплёнок. Метаболическая активность микроорганизмов на поверхности соломы гороха (*Pisum sativum* L.) была выше, чем на соломе пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и характеризовалась следующей динамикой: в первые сутки наблюдается значительный прирост биомассы бактерий с высокой метаболической активностью; со 2-х по 15 сутки уровень метаболической активности остаётся неизменным, микроорганизмы пребывают в стадии стационарного роста; после 15 суток начинается фаза отмирания. Сравнительный анализ динамики метаболической активности микроорганизмов на поверхности стерилизованных автоклавированием и нестерильных фрагментов соломы не выявил влияния исходного сапротрофного пула при организации микробного сообщества на поверхности соломы и при её дальнейшем разложении. В соскобах с соломы, инкубируемой в почве 5 и более суток, наблюдалось значительное преобладание количества микробов на соломе гороха. Микробиота была представлена мелкими грамотрицательными и грамположительными палочками, также присутствовали споры бацилл и микромицеты. Солома пшеницы эффективно поддерживала рост и метаболизм микробных сообществ, которые более длительное время сохраняли биологическую стабильность, по сравнению с биоплёнками на поверхности соломы гороха.

Ключевые слова: солома, деструкция, микробное сообщество, биоплёнки, метаболическая активность.

The microbial communities' development on the surface of crop residues

© 2025. М. А. Alyoshin¹ ORCID: 0000-0001-7111-8768, Т. В. Poludova² ORCID: 0000-0003-2618-762X³

А. И. Botin² ORCID: 0009-0008-2162-7730, А. А. Zavalin³ ORCID: 0000-0001-7717-877X³

¹Perm State National Research University,
15, Bukireva St., Perm, Russia, 614068,

²Perm State Agro-Technological University named after D.N. Pryanishnikov,
23, Petropavlovskaya St., Perm, Russia, 614990,

³All-Russian Scientific Research Institute of Agrochemistry named after D.N. Pryanishnikov,
31a, Pryanishnikova St., Moscow, Russia, 127550,
e-mail: Matvei0704@mail.ru

As part of a laboratory model experiment, microbial communities were found on the surface of grain straw. As polymicrobial biofilms they formed during the initial period of the straw decomposition in sod-podzolic medium loamy soil (*Eutric Albic Retisols (Abruptic, Loamic, Cutanic)*). The metabolic activity of microorganisms on the surface of pea straw (*Pisum sativum* L.) was higher than on wheat straw (*Triticum aestivum* L.). The following dynamics was recorded. On day 1, an exponential growth phase was determined, within which an increase in metabolic activity and a significant increase in bacterial biomass were observed. From 2nd to 15th day there was the phase of stationary growth. From day

15, the phase of microorganism growth was replaced by the phase of death. A comparative analysis of the metabolic activity of microorganism dynamics on the surface of sterilized by autoclaving and non-sterile straw didn't reveal the effect of the initial saprotrophic pool in the organization of microbial community on the surface of straw during its further decomposition. In scrapings from straw incubated in the soil for 5 or more days, a significant predominance of microbes on pea straw was observed. The microbiota was represented by small gram-negative and gram-positive rods, bacillus spores and micromycetes were also present. When straw is introduced into the soil, the gradient of the microbiome density distribution is determined. The study showed that bacteria immobilized on straw have increased viability, higher metabolic activity and contribute to more efficient decomposition of plant substrate. Adding straw to the upper soil layers helps restore and strengthen the soil microbiome.

Keywords: straw, destruction, microbial community, biofilms, metabolic activity.

При выращивании сельскохозяйственных культур помимо основной продукции образуется большая масса растительных остатков. На территории РФ образуется более 120 млн т растительных остатков сельскохозяйственных культур, большая часть которых (80%) приходится на солому зерновых культур [1]. Солома является важнейшим источником питательных элементов, служит активным материалом для пополнения запасов органического вещества в почве и повышения её микробиологической активности [2], являясь местом локализации почвенной биоты. Содержание углерода в соломе в 3–4 раза больше, чем в других органических удобрениях, поэтому она выступает в качестве основного трофического и энергетического субстрата для почвенных микроорганизмов [3, 4].

Разложение растительных остатков в почве начинается с формирования на их поверхности сообщества микроорганизмов. Результат разрушения зависит от биохимического состава субстрата и структуры разлагающего его микробного сообщества [5]. Микроорганизмы, участвующие в разрушении растительных остатков, как правило, образуют трофическую цепь, в состав которой входят как внесённые с самими растительными остатками, так и автохтонные микроорганизмы почвы [6, 7]. Изучение закономерностей формирования и изменения структуры микробного сообщества почвы при разложении растительных остатков сельскохозяйственных культур является одним из важнейших направлений современной агрохимической науки [8, 9]. На сегодняшний день наблюдается повышенный интерес к исследованиям биохимических механизмов деградации соломы и её основных компонентов (целлюлозы, клетчатки и т. д.) [3, 6, 10], динамики и таксономической принадлежности составляющих микробного сообщества [7, 11, 12]. Однако, основная доля этих работ посвящена изучению данных процессов на поздних этапах разложения соломы. Поэтому, поле для новых изысканий достаточно обширно. Так, при изучении разложения растительных

остатков, рассматривается микробное сообщество почвы, в свою очередь, оценка степени участия микробного сообщества растительных остатков чаще остаётся вне поля зрения исследователей. Недостаточно подробно изучен процесс колонизации соломы микроорганизмами. Оценка состава микробного сообщества часто приводится только для почвы на момент частичного или полного разложения соломы, что исключает из обзора отдельных представителей микробиома, инициирующих этот процесс. Немногочисленные данные о развитии и составе микробных сообществ на поверхности соломы злаковых культур разных видов получены в работах [11–13], полностью отсутствуют сведения о скорости разложения и динамике развития микробиоты на пожнивных остатках гороха – наиболее распространённой зернобобовой культуры в нашей стране. Немногочисленные данные, полученные секвенированием генов 16S рРНК, позволили раскрыть таксономический состав и динамику микробных сообществ в почве, формирующихся при разложении в ней растительных остатков злаковых культур [11–13]. Вместе с тем, практически отсутствуют простые методики описания микробных пейзажей на поверхности растительных остатков, которые позволяли бы оценивать сукцессионные изменения сообществ микроорганизмов без привлечения дорогостоящих генетических исследований.

Почвенные бактерии, как и микроорганизмы других сред обитания, предпочитают существовать не в виде отдельных клеток и агрегатов, их сообщества преимущественно существуют в виде биоплёнок [14]. Это хорошо организованные структуры, заключённые в самопродуцируемый матрикс, присутствующие в различных нишах агроэкосистем [15, 16]. Биоплёнки почвенных бактерий, привлекаемые корневыми экссудатами, ассоциированные с экто-, эндоризосферой и ризопланой растений, а также с микоризой грибов, хорошо изучены и описаны в научной литературе [13–15]. Несмотря на высокую актуальность исследо-

ваний микробных биоплёнок, практически отсутствует информация относительно их образования почвенными микроорганизмами на поверхности пожнивных остатков. В то же время, интенсивно изучается возможность использования сельскохозяйственных отходов в качестве твёрдых носителей для закрепления и роста микроорганизмов [17]. Твёрдые растительные остатки являются привлекательным носителем для биоплёнок почвенных микробов. Они являются источником углерода, обеспечивают больше возможностей для размножения бактерий и способствуют более высокой плотности их популяции. Пористость структуры пожнивных остатков способствует увеличению площади для прикрепления и роста микроорганизмов [14, 15]. Кроме того, эти сельскохозяйственные отходы длительное время сохраняют стабильную физическую структуру, что связано с их составом, который медленно поддаётся биоразложению, но обеспечивает увеличение пористости структур по мере удаления легкоразлагаемых веществ. Следовательно, сельскохозяйственные отходы в целом и пожнивные остатки, в частности, могут служить носителями для микробных биоплёнок, тем самым способствуют развитию почвенной микробиоты [14–16, 18].

Анализ развития микробных сообществ на соломе разных культур позволяет определить влияние условий среды, биохимического состава субстрата и взаимодействия автохтонных микроорганизмов соломы и почвы на динамику и структуру развития микробного сообщества на поверхностях и на эффективность разложения соломы. Результаты подобных исследований позволяют дополнить обоснование практического использования соломы зерновых культур в качестве удобрения и активатора почвенных микробиоценозов.

Целью работы явилось изучение динамики развития аэробной микробиоты на поверх-

ности соломы пшеницы и гороха в начальные периоды разложения пожнивных остатков для оценки роли автохтонной микробиоты почвы и микробиоты, внесённой вместе с растительными остатками.

Объекты и методы исследования

Изучение динамики развития микробных сообществ на поверхности соломы зерновых культур на начальном этапе её разложения в почве было проведено в лабораторном модельном эксперименте. Для этого использовались пластиковые сосуды, в которые помещалось 0,25 л дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы (*Eutric Albic Retisols (Abruptic, Loamic, Cutanic)*), подробная характеристика которой приведена в таблице 1.

Почва характеризовалась низким содержанием гумуса, средней ёмкостью катионного обмена, высокой степенью насыщенности основаниями. Реакция среды слабокислая, повышенное содержание подвижных форм фосфора и калия.

Элементный состав соломы гороха и пшеницы до закладки эксперимента определяли общепринятыми методами: содержание углерода (С) согласно методу Тюрина в модификации Янишевского с соавторами [19]; содержание азота (N), фосфора (P₂O₅) и калия (K₂O) методом Куркаева в модификации Пиневиц [20].

Измельчённую до 2 см солому яровой пшеницы и посевного гороха заделывали в почву из расчёта по 20 шт./сосуд на глубину 5 см. Для установления влияния сапрофитных микроорганизмов соломы на динамические характеристики сапротрофного пула микроорганизмов и формирование его структуры, одна часть соломы подвергалась стерилизации посредством автоклавирования (120 °С при 1,1 атм в течение 1 ч).

Таблица 1 / Table 1

Агрохимическая характеристика дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы
 Agrochemical characteristics of sod-podzolic medium loamy soil

| Гумус, % Humus, % | H _г | S | ЕКО CEC | V, % | рН _{KCl} | Подвижные формы элементов питания, мг/кг / Mobile forms for plant nutrition, mg/kg | | |
|----------------------|---|------|------------|------|-------------------|--|-------------------------------|------------------|
| | H _у | | | | | N _{мин} N _{min} | P ₂ O ₅ | K ₂ O |
| | мг-экв./100 г почвы mg-eq./100 g of soil | | | | | | | |
| 1,20 | 1,5 | 16,1 | 17,6 | 90,9 | 5,9 | 50 | 154 | 227 |

Примечание: H_г – гидролитическая кислотность, S – сумма обменных оснований, ЕКО – ёмкость катионного обмена, V – степень насыщенности почв основаниями.

Note: H_у – hydrolytic acidity, S – the amount of exchanged bases, CEC – cation-exchange capacity, V – the degree of soil saturation with bases.

Инкубирование сосудов с почвой и соломой производилось в термостате при постоянной влажности (60% полной полевой влагоёмкости) и температуре (25 ± 2 °C). Отбор и последующий анализ образцов соломы проводился в 3-х кратной повторности на 1, 2, 5, 15, 20 и 30 сут при разборе сосудов.

После удаления остатков почвы с поверхности соломы, её помещали в 0,1% раствор красителя (2,3,5-трифенил-тетразолий хлористый), приготовленного на 0,2% растворе глюкозы, на 1 час. Затем фрагменты соломы измельчали до частиц 1,0–1,5 мм, которые помещали в пробирки Эппендорфа на 2 мл, заливали 1 мл лизирующего раствора (20% твин-80 на 45% этаноле) для экстракции формазана, образовавшегося под действием ферментов микроорганизмов [21]. Через 24 ч экспозиции с лизирующим раствором производили центрифугирование содержимого пробирок (Microspin 12 «BioSan», Латвия). Интенсивность окрашивания надосадочной жидкости оценивали на планшетном спектрофотометре при $\lambda=470$ нм (Benchmark plus «BioRad», США).

Изучение микробного пейзажа сообществ, формирующихся на соломе в процессе её разложения, проводилось с помощью микровизора (mVizo-103 «Ломо», Россия). С этой целью проводили соскобы со всей наружной поверхности 3 фрагментов соломы каждого вида (не окрашенных тетразолием) с помощью металлического заострённого шпателя. Соскобы объединяли, суспендировали в 3 мл стерильной воды, затем по 5 мкл наносили на обезжиренное предметное стекло в трёхкратной повторности. Высушивали в асептических условиях, фиксировали в пламени и окрашивали по Граму с помощью набора реактивов «ЭКОлаб». Также готовили препарат типа «раздавленная капля» из 10 мкл полученных суспензий, накрывая покровным стеклом со стороной 18 мм.

Статистическую обработку данных проводили в программе MS Excel 2010, рассчитывая средние значения и их доверительные интервалы, при $\alpha=0,05$.

Результаты и обсуждение

Наличие метаболически активных микроорганизмов на поверхности пожнивных остатков пшеницы и гороха оценивали путём их окрашивания солями тетразолия. При наличии у микроорганизмов метаболической дыхательной активности происходит восстановление бесцветных солей тетразолия до

окрашенного продукта – формазана, который придаёт колониям красный цвет [21]. Следует подчеркнуть, что клетки, окрашенные солью тетразолия, находятся в активном метаболическом состоянии, поэтому количество окрашенных клеток не отражает потенциальную способность перехода микробного сообщества к активному метаболизму при смене условий. По наличию окраски можно судить о начале, скорости и интенсивности метаболизма колониями микробов, адгезированных на соломе и формирующих биоплёнку на внешней и внутренней её поверхности. Интенсивность окраски отражает степень метаболической активности и прямо пропорциональна количеству активных микроорганизмов, колонизирующих поверхность [22].

Перед началом эксперимента на нестерильных и стерилизованных автоклавированием фрагментах соломы пшеницы и гороха метаболическая активность на их поверхностях не была обнаружена. На поверхности соломы не выявлялись окрашенные в красный цвет биообрастания. Это свидетельствовало об отсутствии жизнеспособных форм (стерилизованная солома) или о пребывании микроорганизмов в покоящемся состоянии, когда дыхательная активность резко снижена или отсутствует.

Уже через сутки пребывания соломы в увлажнённой почве на её поверхности были обнаружены метаболически активные сообщества микроорганизмов. Наиболее явно отдельные скопления микроорганизмов выявлялись на поверхности соломы гороха. Наши наблюдения совпадают с уже известным фактом, что начальные элементы микробных биоплёнок могут формироваться (в зависимости от видов бактерий и условий роста) уже в течение первых 2–4 ч инкубации, часто достигая максимальной интенсивности через 24 ч [23].

При инкубировании соломы гороха и пшеницы в почве, уже по истечении 1 сут экспозиции, благодаря восстановлению бесцветных солей тетразолия до окрашенного формазана, было зафиксировано наличие метаболической дыхательной активности микроорганизмов. Площадь окрашенных, т. е. колонизированных микроорганизмами участков на соломе гороха и пшеницы постепенно увеличивалась по мере инкубации. Биоплёночные сообщества микроорганизмов наиболее явно выявлялись на поверхности фрагментов гороха на протяжении всего периода эксперимента. Формирование формазана в биомассе микробных сообществ

на соломе гороха визуализировалось более ярким цветом и чётким контуром колоний. Выявленный факт может свидетельствовать о том, что солома гороха является наиболее привлекательным субстратом с точки зрения обеспеченности элементами питания и их доступности для микробов-деструкторов. В отличие от соломы гороха, окрашенные участки визуальнo фиксировались не на всех фрагментах соломы пшеницы. Со временем площадь окрашенных участков увеличивалась. На 15 сут площади окрашенных участков на соломе пшеницы и гороха в среднем увеличились до 28 и 43%, на 30 сут – до 35 и 54% от всей площади поверхности соломы соответственно.

Таким образом, уничтожение микробиоты соломы автоклавированием при 120 °С не приводило к изменению интенсивности формирования биоплёнок на поверхности растительных остатков. Однако, на стерилизованных растительных остатках гороха наблюдалась тенденция к более высокой метаболической активности колонизировавших их микробных сообществ, по сравнению с нестерилизованными фрагментами соломы гороха. Данный факт может быть связан с тем, что при агрессивном воздействии температуры и повышенного давления в процессе автоклавирования произошло частичное разрушение биополимеров в составе соломы гороха. Олигомерные фрагменты более доступны для микроорганизмов, что стимулирует их метаболизм. По сравнению с соломой гороха, пшеница содержит значительно меньшее количество белка и олигосахаров [2]. Для автогидролиза

полимеров соломы пшеницы необходимы более высокие температура и давление [24].

В условиях настоящего эксперимента наблюдалась различная динамика развития микробных сообществ на поверхностях фрагментов гороха и пшеницы. Данные, представленные на рисунке 1, свидетельствуют о том, что интенсивность колонизации нестерильных растительных остатков и предварительно стерилизованных автоклавированием достоверно не отличается на обоих типах растительного субстрата.

Уже через сутки солома, как нативная, так и подвергшаяся стерилизации, активно заселялась микроорганизмами, что позволяет предположить, что микробное сообщество на поверхности растительных фрагментов сформировалось преимущественно благодаря микробиоте почвы. Несмотря на то, что эпифитной микробиоте соломы отводится немаловажная роль в её разложении, поскольку она участвует в деструкции растительных остатков [25, 26], в наших экспериментах данный факт не нашёл подтверждения.

Анализ динамики метаболической активности микробного сообщества на соломе гороха позволяет выделить несколько фаз его развития. В течение первых 24 ч происходит адгезия почвенных микробов на поверхности растительных остатков, их закрепление, агрегация и активное размножение быстрорастущих микроорганизмов, что способствует интенсивной колонизации соломы. Резкое возрастание дыхательной активности сообществ на остатках гороха и пшеницы в первые сутки

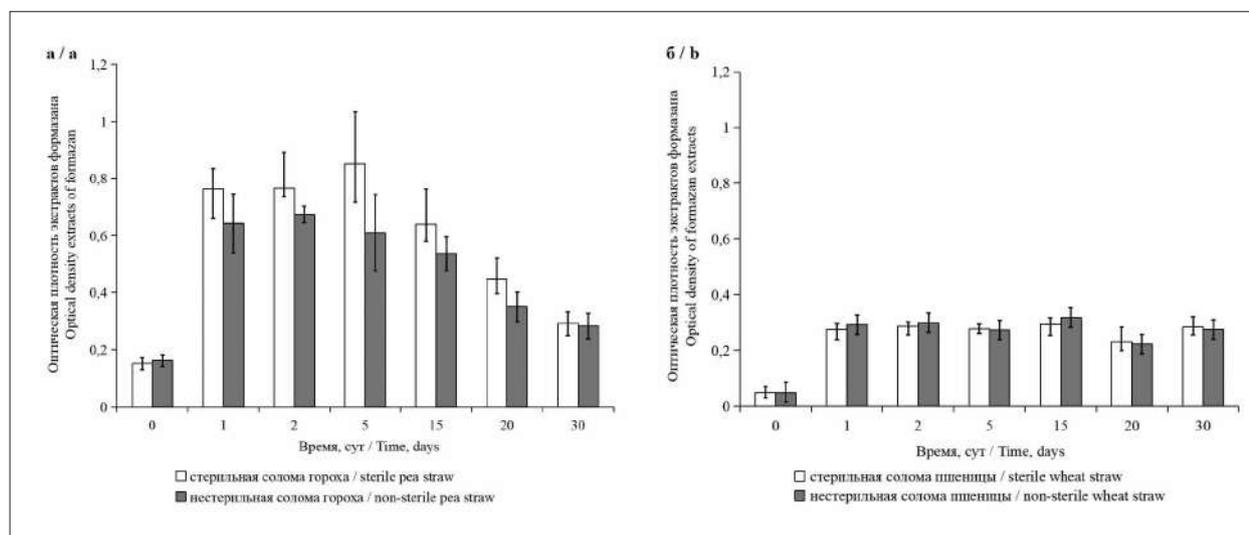


Рис. 1. Метаболическая активность микробных сообществ на поверхности соломы гороха (а) и пшеницы (б), определённая по величине оптической плотности экстрактов формазана при $\lambda=470$ нм
Fig. 1. Metabolic activity of microbial communities on the pea (a) and wheat (b) straw surface was determined by the optical density of formazan extracts at $\lambda=470$ nm

эксперимента, вероятно, связано с потреблением легкодоступных моно- и олигомерных органических веществ, которых значительно больше в соломе зернобобовых культур [13, 27]. Известно, что химический состав соломы гороха и пшеницы значительно отличается содержанием клетчатки, гороховая солома богаче протеином, азотом, кальцием и фосфором [10]. Кроме того, в соломе и растительных остатках зерновых культур соотношение С:N, как правило шире (55–114:1), чем у зернобобовых (28–44:1). Растительные остатки с широким отношением С к N не обеспечивают достаточного количества азота для метаболизма микроорганизмов, даже при их высокой активности. Когда быстро метаболизируемые субстраты (простые углеводы) истощаются, лимитирование питания микробов сменяется от азота к углероду [28]. При последующем увеличении соотношения С:N разложение соломы замедляется, наблюдается процесс иммобилизации азота [29]. От исходного содержания азота, отношений С:N и лигнин:N в составе растительного материала также зависит характер деградации, которая осуществляется преимущественно бактериями или грибами [30]. В нашем исследовании также показано, что содержание углерода в соломе гороха несколько выше, чем в соломе пшеницы, содержание азота выше в 3 раза, однако солома пшеницы содержит более чем в 2 раза больше фосфора, по сравнению с соломой гороха (табл. 2). Соотношение С:N в соломе гороха значительно уже (в 2,8 раза), что свидетельствует о большей привлекательности этого органического субстрата для деградации микроорганизмами.

На поверхности растительных остатков гороха к 20 сут наблюдалось снижение метаболической активности биоплёнок. Это может быть связано с различными факторами, такими как уменьшение количества доступных питательных веществ, накопления продуктов метаболизма, изменения локального уровня рН или межвидовой конкуренции. На 30 сут метаболическая активность сообществ на поверхности соломы гороха принимала наименьшие значения за весь период исследова-

ния (рис. 1а). Ожидаемо, что в дальнейшем на данном субстрате произойдут сукцессионные изменения и смена состава микробного сообщества, как это было продемонстрировано в работе [12].

Метаболическая активность бактерий на поверхности соломы пшеницы на протяжении всего эксперимента поддерживалась на более низком уровне, чем на соломе гороха (рис. 1б). За период проведения эксперимента не наблюдалось сукцессионного перехода, а биоплёнка на соломе пшеницы стабильно персистировала. В период персистенции биоплёнок, который может длиться продолжительное время, в них могут формироваться полости и каналы, увеличиваться доля матричных, слизеподобных компонентов [31]. Разложение растительных полимеров является медленным процессом, в результате которого не происходит скачкообразных приростов биомассы микроорганизмов, количество метаболически активных клеток в сообществе остаётся на одном уровне в течение продолжительного времени [13]. Данный факт и был зафиксирован для микробного сообщества на поверхности соломы пшеницы (рис. 1б), доступность компонентов которой значительно ниже, чем у гороха.

При микроскопическом изучении мазков из соскобов с поверхности соломы наблюдалось существенное различие в их плотности в начале и в конце эксперимента. Так, через 5 сут пребывания фрагментов соломы гороха в почве в мазках из соскобов преобладали бактерии палочковидной формы. Бактерии были собраны в скопления, агрегированы между собой (рис. 2а). Явных различий в микробном пейзаже соскобов стерилизованной (рис. 2а, б) и нестерилизованной (рис. 2в, г) соломы гороха, не наблюдалось. Через 15 сут пребывания растительных остатков в увлажнённой почве микробный пейзаж несколько изменился (рис. 2б, г). В мазках наблюдались тяжи и паутинообразные окрашенные структуры, особенно в соскобах со стерилизованной соломы гороха (рис. 2г), которые, вероятно, представляли собой биологические полимеры

Таблица 2 / Table 2

Элементный состав соломы гороха и пшеницы, %
The elemental composition of pea and wheat straw, %

| Растение Plant | Содержание элементов питания Nutrition element content | | | | Соотношение С:N C:N ratio |
|--------------------------|---|------|-------------------------------|------------------|------------------------------|
| | C | N | P ₂ O ₅ | K ₂ O | |
| <i>Pisum sativum</i> | 42,4 | 1,41 | 0,23 | 1,26 | 30:1 |
| <i>Triticum aestivum</i> | 39,7 | 0,47 | 0,54 | 1,13 | 84:1 |

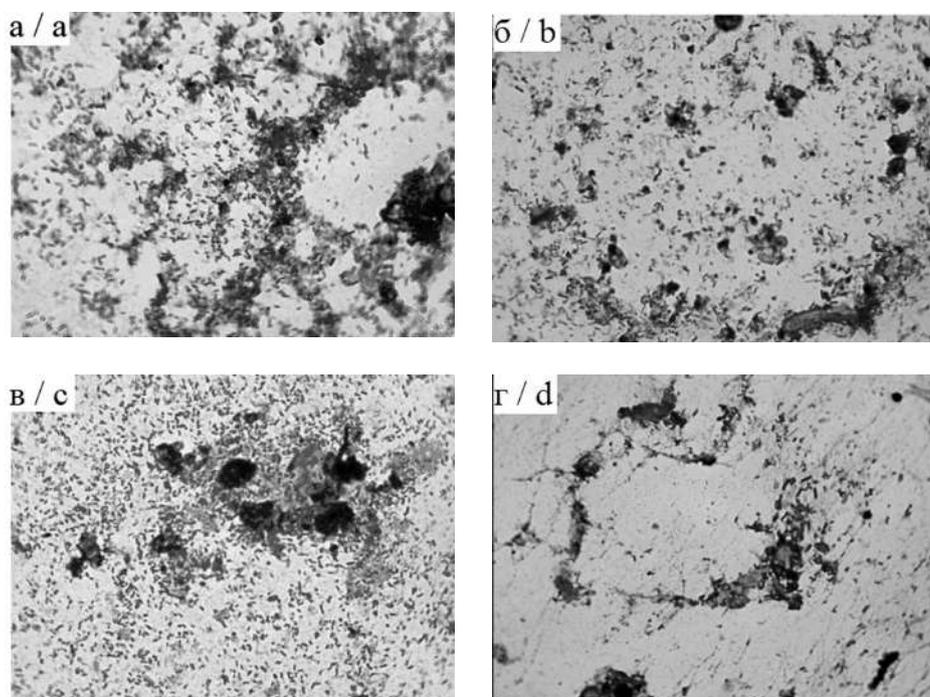


Рис. 2. Соскобы с фрагментов соломы гороха через 5 сут (а, в) и 15 сут (б, г) пребывания в почве: а, б – нестерилизованная солома; в, г – стерилизованная автоклавированием ($\times 1000$)
Fig. 2. Scrapings from pea straw fragments after 5 days (a, c) and 15 days (b, d) of residence in soil: a, b – unsterilized straw; c, d – sterilized by autoclaving ($\times 1000$)

бактерий (экзополисахариды, белки и нуклеиновые кислоты), которые либо являются компонентами матрикса биоплёнок [23], либо результатом разрушения бактериальных клеток. Также в мазках появилось большее количество светопреломляющих микробных клеток (рис. 2б, г), вероятно, спор бацилл. Переход бактерий р. *Bacillus* в покоящееся состояние, как правило, происходит при истощении питательных веществ, при этом один из регуляторных механизмов перехода (PhoP-PhoR) реагирует на недостаток фосфата, содержание которого в соломе гороха снижено (табл. 2) [32].

Помимо однородной бактериальной биоты в мазках из соскобов с соломы гороха присутствовали фрагменты конидий микромицетов, предположительно р. *Alternaria*, которые были выявлены в препарате «раздавленная капля» (рис. 3).

Плотность мазков, приготовленных из соскобов соломы пшеницы, была существенно ниже, чем в препаратах соскобов с соломы гороха, что подтверждает меньшую интенсивность микробной колонизации соломы злака (рис. 4). При сравнении микробного сообщества изначально стерилизованной (рис. 4а, б) и нестерилизованной (рис. 4в, г) соломы пшеницы видно, что микробный пейзаж и плотность микроорганизмов практически

не отличаются при исследовании с помощью светового микроскопа. Это подтверждает и отсутствие разницы в метаболической активности на обоих типах соломы пшеницы, представленной на рисунке 1б.

Во всех препаратах (рис. 3, 4) обращают на себя внимание прокрашенные не клеточные аморфные структуры, зафиксированные на стекле в виде фона, которые могут представлять собой полимеры матрикса, либо фрагменты разрушенных бактериальных клеток и растительного субстрата. Наибольшее

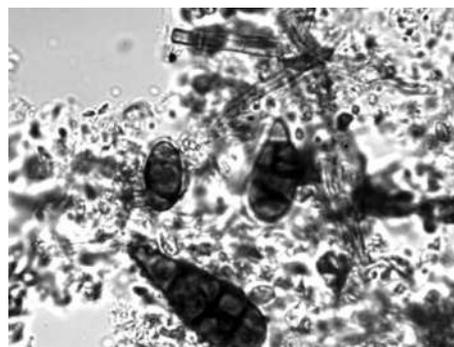


Рис. 3. Фрагменты мицелия и споры микромицетов *Alternaria* sp. в соскобах с поверхности соломы гороха через 5 суток инкубации в почве ($\times 1000$) / **Fig. 3.** Mycelium fragments and spores of *Alternaria* sp. micromycetes in scrapings from the pea straw surface after 5 days of incubation in the soil ($\times 1000$)

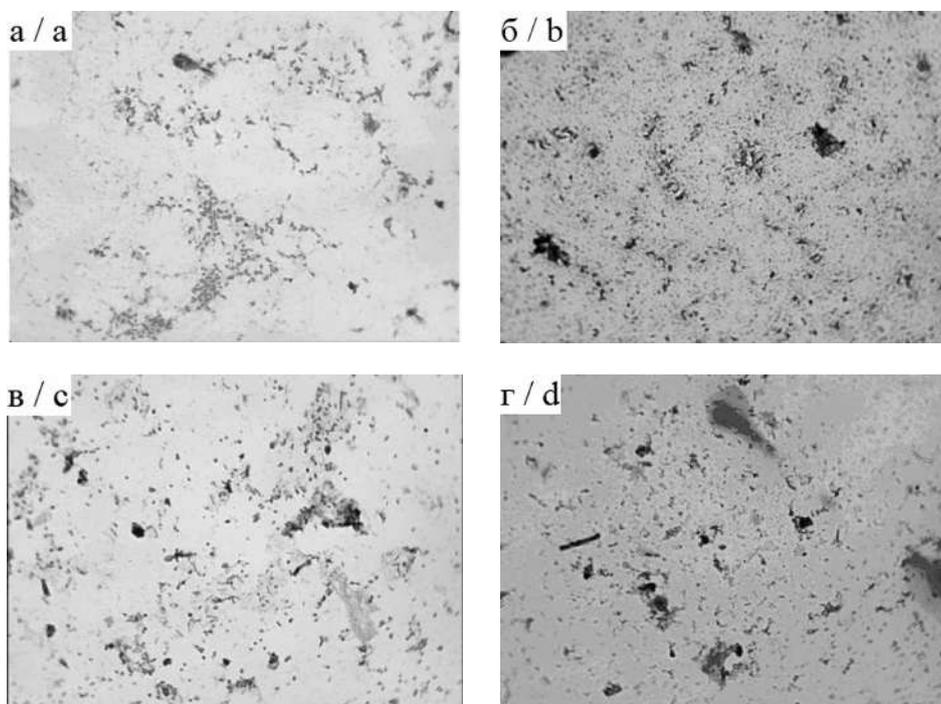


Рис. 4. Соскобы с фрагментов соломы пшеницы через 5 сут (а, в) и 15 сут (б, г) пребывания в почве: а, б – нестерилизованная солома; в, г – стерилизованная автоклавированием ($\times 1000$)
Fig. 4. Scrapings from wheat straw fragments after 5 days (a, c) and 15 days (b, d) of residence in soil: a, b – unsterilized straw; c, d – sterilized by autoclaving ($\times 1000$)

количество фонового детрита наблюдалось в препаратах из соскобов с нестерилизованной соломы пшеницы через 15 сут инкубации в почве (рис. 4б).

Поскольку метаболическая активность биоплёнок на поверхности соломы пшеницы не менялась за весь период наблюдений (рис. 1б), можно предположить, что и общее количество активных микробных клеток было примерно на одном уровне. Отсутствие в мазках соскобов соломы, инкубированной 15 сут, явных клеточных форм микроорганизмов может быть связано с наличием биополимеров в соскобе, которые препятствуют закреплению и удержанию на предметном стекле во время окрашивания даже зафиксированных микробных клеток, способствуя их смыву на этапах окрашивания. Это могло повлиять на результаты микроскопирования и выявления незначительного количества микробных клеток в мазке. Кроме того, в соскобах количество микроорганизмов к 15 сут, действительно, могло быть ниже ввиду того, что по мере размягчения растительных тканей метаболически активные бактерии внедряются в более глубокие слои соломы и прочно удерживаются там [33]. Пшеничная солома, содержащая медленно разлагаемые полимеры, может обеспечить большую поверхность для роста микробов внутри стебля,

формирующего пористую структуру. Диаметры пор на поперечном срезе соломы по мере её разложения могут достигать 25 мкм, что увеличивает площадь, где могут закрепляться микроорганизмы [34].

Полученные изображения подтверждают факт, что трудноразлагаемые растительные полимеры, такие как солома пшеницы, являются хорошим субстратом для иммобилизации почвенных бактерий, который эффективно поддерживает рост и метаболизм микробных сообществ, длительное время сохраняющих биологическую стабильность.

Заключение

Таким образом, проведённое исследование показало, что началом деструкции растительных остатков можно считать момент формирования на их поверхности сообщества микроорганизмов в виде микробных биоплёнок. Солома гороха заселялась микроорганизмами активнее соломы пшеницы на протяжении всего периода инкубирования. Это свидетельствует о большей привлекательности горохового субстрата с точки зрения обеспеченности элементами питания и доступности легкоразлагаемых компонентов. По истечению 30 сут инкубирования активность микроорганизмов на поверхности соломы гороха снижается до значения метаболической

активности биоплёнки на соломе пшеницы, что может быть связано с исчерпанием легкодоступных питательных веществ в соломе гороха и определённым выравниванием биохимического состава деструктируемого растительного субстрата. Это обстоятельство может служить условием, которое вынуждает микроорганизмы, входящие в состав микробного сообщества, переходить из вегетирующей формы в спорую. Внесение пожнивных остатков в виде соломы способствует иммобилизации на них почвенных микроорганизмов, а не активизации эпифитной микробиоты, что подтверждается применением в данном исследовании стерилизованных фрагментов растительного сырья. Иммобилизованные на соломе бактерии обладают повышенной жизнеспособностью, более высокой метаболической активностью и способствуют более эффективному разложению растительного субстрата. Добавление соломы в верхние слои почвы способствует восстановлению и укреплению почвенного микробиома.

Литература

1. Русакова И.В. Биопрепараты для разложения растительных остатков в агроэкосистемах // *Juvenis Scientia*. 2018. № 9. С. 4–9. doi: 10.32415/jscientia.2018.09.01
2. Кольбе Г., Штумпе Г. Солома как удобрение. М.: Колос, 1972. 88 с.
3. Русакова И.В., Еськов А.И. Оценка влияния длительного применения соломы на воспроизводство органического вещества дерново-подзолистой почвы // Доклады РАСХН. 2011. № 5. С. 28–31.
4. Семенов В.М., Ходжаева А.К. Агроэкологические функции растительных остатков в почве // *Агрохимия*. 2006. № 7. С. 63–81.
5. Байматов Р.А., Нурузова З.А., Эргашева З.Н. Биоплёнка – как форма существования микроорганизмов // *Re-health journal*. 2019. № 3. С. 58–68.
6. Круглов Ю.В. Микробное сообщество почвы: физиологическое разнообразие и методы исследования // *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Т. 51. № 1. С. 46–59. doi: 10.15389/agrobiol.2016.1.46rus
7. Орлова О.В., Чирак Е.Л., Воробьёв Н.И., Свиридова О.В., Лисина Т.О., Андронов Е.Е. Таксономический состав и организация микробного сообщества дерново-подзолистых почв после внесения соломы зерновых культур и использования препарата Баркон // *Сельскохозяйственная биология*. 2019. Т. 54. № 1. С. 47–64. doi: 10.15389/agrobiol.2019.1.47rus
8. Русакова И.В. Эффективность микробных деструкторов послеуборочных остатков в лабораторных и полевых экспериментах // *Владимирский земледелец*. 2021. № 2 (96). С. 34–40. doi: 10.24412/2225-2584-2021-2-34-40
9. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G. Microbial diversity and soil functions // *Eur. J. Soil Sci.* 2003. V. 54. No. 4. P. 655–670. doi: 10.1046/j.1351-0754.2003.0556.x
10. Ерёмин Д.И., Ахтямова А.А. Химический состав растительных остатков сельскохозяйственных культур, выращенных на различном агрофоне в лесостепной зоне Зауралья // *Вестник КрасГАУ*. 2017. № 2. С. 32–38.
11. Орлова О.В., Андронов Е.Е., Воробьёв Н.И., Колодяжный А.Ю., Москалевская Ю.П., Патыка Н.В., Свиридова О.В. Состав и функционирование микробного сообщества при разложении соломы злаковых культур в дерново-подзолистой почве // *Сельскохозяйственная биология*. 2015. Т. 50. № 3. С. 305–314. doi: 10.15389/agrobiol.2015.3.305rus
12. Орлова О.В., Кичко А.А., Першина Е.В., Пинаев А.Г., Андронов Е.Е. Сукцессия бактериальных сообществ при разложении соломы овса в двух разных типах почв // *Почвоведение*. 2020. № 11. С. 1383–1392. doi: 10.31857/S0032180X20090117
13. Чирак Е.Л., Орлова О.В., Аксенова Т.С., Кичко А.А., Чирак Е.Р., Проворов Н.А., Андронов Е.Е. Динамика микробного сообщества типичного чернозёма при биодegradации целлюлозы и соломы ячменя // *Сельскохозяйственная биология*. 2017. Т. 52. № 3. С. 588–596. doi: 10.15389/agrobiol.2017.3.588rus
14. Pandit A., Adholeya A., Cahill D., Brau L., Kochar M. Microbial biofilms in nature: unlocking their potential for agricultural applications // *J. Appl. Microbiol.* 2020. V. 129. No. 2. P. 199–211. doi: 10.1111/jam.14609
15. Rana K.L., Kour D., Yadav A.N., Yadav N., Saxena A.K. Agriculturally important microbial biofilms: biodiversity, ecological significances, and biotechnological applications // *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering: microbial biofilms* / Eds. M.K. Yadav, B.P. Singh. Elsevier, 2020. P. 221–265. doi: 10.1016/B978-0-444-64279-0.00016-5
16. Rossi F. Beneficial biofilms for land rehabilitation and fertilization // *FEMS Microbiol. Lett.* 2020. V. 367. No. 21. Article No. 184. doi: 10.1093/femsle/fnaa184
17. Zhou X., Sun Y., Wang T., Tang L., Ling W., Mosa A., Wang J., Gao Y. Remediation potential of an immobilized microbial consortium with corn straw as a carrier in polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil // *J. Hazard. Mater.* 2024. V. 469. Article No. 134091. doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.134091
18. Sun B., Wang X., Wang F., Jiang Y., Zhang X.X. Assessing the relative effects of geographic location and soil type on microbial communities associated with straw decomposition // *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. V. 79. No. 11. P. 3327–3335. doi: 10.1128/AEM.00083-13
19. Янишевский Ф.В., Королева Т.А., Серегин В.В. Модификация метода Тюрина для определения содержания углерода в растительном материале // *Агрохимия*. 2000. № 3. С. 78–80.

20. Куркаев В.Т. Ускорение определение азота, фосфора и калия в растениях из одной навески // Почвоведение. 1959. № 9. С. 114–117.
21. Калинина А.А., Македошин А.С., Гурский Н.В., Соколова Т.Н., Смирнов В.Ф. Кинетическое исследование восстановления иоднитротетразолия хлорида суспензией в физиологическом растворе грамотрицательных бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* // Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 1. С. 25–32. doi: 10.25750/1995-4304-2018-1-025-032
22. Pyle B.H., Broadaway S.C., McFeters G.A. Factors affecting the determination of respiratory activity on the basis of cyanoditolyl tetrazolium chloride reduction with membrane filtration // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. No. 12. P. 4304–4309. doi: 10.1128/aem.61.12.4304-4309.1995
23. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биооплёнки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2011. Т. 88. № 3. С. 99–109.
24. Евстафьев С.Н., Чечикова Е.В. Превращения полисахаридов соломы пшеницы в динамических условиях процесса субкритического автогидролиза // Химия растительного сырья. 2015. № 1. С. 41–49. doi: 10.14258/jcrpm.201501426
25. Васильева Е.Н., Ахтемова Г.А., Жуков В.А., Тихонович И.А. Эндوفитные микроорганизмы в фундаментальных исследованиях и сельском хозяйстве // Экологическая генетика. 2019. Т. 17. № 1. С. 19–32. doi: 10.17816/ecogen17119-32
26. Щербаков А.В., Заплаткин А.Н., Чеботарь В.К. Эндوفитные бактерии, населяющие семена пшеницы, перспективные продуценты микробных препаратов для сельского хозяйства // Достижения науки и техники АПК. 2013. № 7. С. 35–38.
27. Лебедева Т.Б., Надежкин С.М., Арефьева М.В. Трансформация растительного вещества и гумусовое состояние чернозёма выщелоченного при использовании удобрений и известкования // Агрехимия. 2006. № 11. С. 18–24.
28. Семенов В.М. Функции углерода в минерализационно-иммобилизационном обороте азота в почве // Агрехимия. 2020. № 6. С. 78–96. doi: 10.31857/S0002188120060101
29. Дедов А.А., Дедов А.В., Несмеянова М.А. Динамика разложения растительных остатков в чернозёме типичном и продуктивность культур севооборота // Агрехимия. 2016. № 6. С. 3–8.
30. Neely C.L., Beare M.H., Hargrove W.L., Coleman D.C. Relationships between fungal and bacterial substrate-induced respiration, biomass and plant residue decomposition // Soil Biol. Biochem. 1991. V. 23. No. 10. P. 947–954. doi: 10.1016/0038-0717(91)90175-J
31. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биооплёнка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? // Микробиология. 2007. Т. 76. № 2. С. 149–163.
32. Каюмов А.Р., Шарипова М.Р. Механизмы регуляции синтеза бактериальных субтилиз // Учён. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2005. Т. 147. № 2. С. 89–98.
33. Liu X., Qi Y., Lian J., Song J., Zhang S., Zhang G., Fan J., Zhang N. Construction of actinomycetes complex flora in degrading corn straw and an evaluation of their degradative effects // Biotechnol. Lett. 2022. V. 44. No. 12. P. 1477–1493. doi: 10.1007/s10529-022-03313-3
34. Zhang C., Yang L., Tsapekos P., Zhang Y., Angelidaki I. Immobilization of *Clostridium kluyveri* on wheat straw to alleviate ammonia inhibition during chain elongation for *n*-caproate production // Environ. Int. 2019. V. 127. P. 134–141. doi: 10.1016/j.envint.2019.03.032

References

- Rusakova I.V. Biopreparations for decomposition of plant residues in agroecosystems // *Juvenis Scientia*. 2018. No. 9. P. 4–9 (in Russian). doi: 10.32415/jscientia.2018.09.01
- Kolbe G., Stumpe G. Straw as fertilizer. Moskva: Kolos, 1972. 88 p. (in Russian).
- Rusakova I.V., Eskov A.I. Assessment of the effect of long-term use of straw on the reproduction of organic matter of sod-podzolic soil // *Russian Agricultural Science*. 2011. No. 5. P. 28–31 (in Russian).
- Semenov V.M., Khodzhaeva A.K. Agroecological functions of plant residues in soil // *Agrokhimiya*. 2006. No. 7. P. 63–81 (in Russian).
- Baymatov R.A., Nuruzova Z.A., Ergasheva Z.N. Microbial biofilm as a form of the existence of microorganisms // *Rehealth journal*. 2019. No. 3. P. 58–68 (in Russian).
- Kruglov Yu.V. Microbial community of soil: physiological diversity patterns and assessment // *Agricultural Biology*. 2016. V. 51. No. 1. P. 46–59 (in Russian). doi: 10.15389/agrobiol.2016.1.46rus
- Orlova O.V., Chirak E.L., Vorob'ev N.I., Sviridova O.V., Lisina T.O., Andronov E.E. Taxonomic composition and organization of the microbial community of soddy-podzolic soils after application of straw of cereal crops and using of the Barkon biopreparation // *Agricultural Biology*. 2019. V. 54. No. 1. P. 47–64 (in Russian). doi: 10.15389/agrobiol.2019.1.47rus
- Rusakova I.V. Efficiency of microbial destructors of after harvest residues in laboratory and field experiments // *Vladimirskiy zemledelets*. 2021. No. 2 (96). P. 34–40 (in Russian). doi: 10.24412/2225-2584-2021-2-34-40
- Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G. Microbial diversity and soil functions // *Eur. J. Soil Sci.* 2003. V. 54. No. 4. P. 655–670. doi: 10.1046/j.1351-0754.2003.0556.x
- Eryomin D.I., Akhtyamova A.A. Chemical composition of crop residues grown on different soil fertility background in forest-steppe zone of Trans-Urals // *Bulletin of KrasGAU*. 2017. No. 2. P. 32–38 (in Russian).

11. Orlova O.V., Andronov E.E., Vorobyov N.I., Kolodyazhnii A.Yu., Moskalevskaya Yu.P., Patyka N.V., Sviridova O.V. Composition and functioning of microbial communities in the decomposition of straw cereals in sod podzolic soil // *Agricultural Biology*. 2015. V. 50. No. 3. P. 305–314 (in Russian). doi: 10.15389/agrobiology.2015.3.305rus
12. Orlova O.V., Kichko A.A., Pershina E.V., Pinaev A.G., Andronov E.E. Succession of bacterial communities in the decomposition of oats straw in two soils with contrasting properties // *Eurasian Soil Science*. 2020. No. 11. P. 1383–1392 (in Russian). doi: 10.31857/S0032180X20090117
13. Chirak E.L., Orlova O.V., Aksenova T.S., Kichko A.A., Chirak E.R., Provorov N.A., Andronov E.E. Dynamics of chernozem microbial community during biodegradation of cellulose and barley straw // *Agricultural Biology*. 2017. V. 52. No. 3. P. 588–596 (in Russian). doi: 10.15389/agrobiology.2017.3.588rus
14. Pandit A., Adholeya A., Cahill D., Brau L., Kochar M. Microbial biofilms in nature: unlocking their potential for agricultural applications // *J. Appl. Microbiol.* 2020. V. 129. No. 2. P. 199–211. doi: 10.1111/jam.14609.
15. Rana K.L., Kour D., Yadav A.N., Yadav N., Saxena A.K. Agriculturally important microbial biofilms: biodiversity, ecological significances, and biotechnological applications // *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering: microbial biofilms* / Eds. M.K. Yadav, B.P. Singh. Elsevier, 2020. P. 221–265. doi: 10.1016/B978-0-444-64279-0.00016-5
16. Rossi F. Beneficial biofilms for land rehabilitation and fertilization // *FEMS Microbiol. Lett.* 2020. V. 367. No. 21. Article No. 184. doi: 10.1093/femsle/fnaa184
17. Zhou X., Sun Y., Wang T., Tang L., Ling W., Mosa A., Wang J., Gao Y. Remediation potential of an immobilized microbial consortium with corn straw as a carrier in polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil // *J. Hazard. Mater.* 2024. V. 469. Article No. 134091. doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.134091
18. Sun B., Wang X., Wang F., Jiang Y., Zhang X.X. Assessing the relative effects of geographic location and soil type on microbial communities associated with straw decomposition // *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. V. 79. No. 11. P. 3327–3335. doi: 10.1128/AEM.00083-13
19. Yanishevskiy F.V., Koroleva T.A., Seregin V.V. Modification of the Tyurin method for determining the carbon content in plant material // *Agrokhimiya*. 2000. No. 3. P. 78–80 (in Russian).
20. Kurkaev V.T. Acceleration of nitrogen, phosphorus and potassium determination in plants from one sample // *Pochvovedenie*. 1959. No. 9. P. 114–117 (in Russian).
21. Kalinina A.A., Makedoshin A.S., Gurskiy N.V., Sokolova T.N., Smirnov V.F. Kinetic study of reduction of iodotetrazolium chloride by suspension of gram-negative bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* in a physiological solution // *Theoretical and Applied Ecology*. 2018. No. 1. P. 25–32 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-1-025-032
22. Pyle B.H., Broadaway S.C., McFeters G.A. Factors affecting the determination of respiratory activity on the basis of cyanoditolyl tetrazolium chloride reduction with membrane filtration // *Appl. Environ. Microbiol.* 1995. V. 61. No. 12. P. 4304–4309. doi: 10.1128/aem.61.12.4304-4309.1995
23. Romanova Yu.M., Gintsburg A.L. Bacterial biofilms as a natural form of existence of bacteria in the environment and host organism // *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2011. No. 3. P. 99–109.
24. Evstafev S.N., Chechikova E.V. Transformations of wheat straw polysaccharides in dynamic conditions of subcritical autohydrolysis // *Chemistry of plant raw material*. 2015. No. 1. P. 41–49. doi: 10.14258/jcprm.201501426
25. Vasileva E.N., Akhtemova G.A., Zhukov V.A., Tikhonovich I.A. Endophytic microorganisms in fundamental research and agriculture // *Ecological genetics*. 2019. V. 17. No. 1. P. 19–32. doi: 10.17816/ecogen17119-32
26. Shcherbakov A.V., Zaplatkin A.N., Chebotar V.K. Endophytic bacteria inhabiting wheat seeds as perspective producers of microbial preparations for agriculture // *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2013. No. 7. P. 35–38 (in Russian).
27. Lebedeva T.B., Nadezhkin S.M., Arefeva M.V. Transformation of plant matter and humus state of leached chernozem while fertilizers and liming application // *Agrokhimiya*. 2006. No. 11. P. 18–24 (in Russian).
28. Semenov V.M. Functions of carbon in the mineralization–immobilization turnover of nitrogen in soil // *Agrokhimiya*. 2020. No. 6. P. 78–96 (in Russian). doi: 10.31857/S0002188120060101
29. Dedov A.A., Dedov A.V., Nesmeyanova M.A. The dynamics of decomposition of vegetable residues in typical chernozem and the productivity of crop rotation // *Agrokhimiya*. 2016. No. 6. P. 3–8 (in Russian).
30. Neely C.L., Beare M.H., Hargrove W.L., Coleman D.C. Relationships between fungal and bacterial substrate-induced respiration, biomass and plant residue decomposition // *Soil Biol. Biochem.* 1991. V. 23. No. 10. P. 947–954. doi: 10.1016/0038-0717(91)90175-J
31. Nikolaev Yu.A., Plakunov V.K. Biofilm – “city of microbes” or an analogue of a multicellular organism? // *Microbiology*. 2007. V. 76. No. 2. P. 149–163 (in Russian).
32. Kayumov A.R., Sharipova M.R. The mechanisms of regulation of bacterial subtilases synthesis // *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*. 2005. V. 147. No. 2. P. 89–98 (in Russian).
33. Liu X., Qi Y., Lian J., Song J., Zhang S., Zhang G., Fan J., Zhang N. Construction of actinomycetes complex flora in degrading corn straw and an evaluation of their degradative effects // *Biotechnol. Lett.* 2022. V. 44. No. 12. P. 1477–1493. doi: 10.1007/s10529-022-03313-3
34. Zhang C., Yang L., Tsapekos P., Zhang Y., Angelidaki I. Immobilization of *Clostridium kluyveri* on wheat straw to alleviate ammonia inhibition during chain elongation for *n*-caproate production // *Environ. Int.* 2019. V. 127. P. 134–141. doi: 10.1016/j.envint.2019.03.032