

УДК 631.461.51:631.811.98

АССОЦИАТИВНАЯ АЗОТФИКСАЦИЯ И ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ В ПОСЕВАХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

© 2019 г. А. А. Завалин¹, А. А. Алферов^{1,*}, Л. С. Чернова¹¹Всероссийский научный-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н. Прянишникова
127550 Москва, ул. Прянишникова, 31а, Россия

* E-mail: alferov72@yandex.ru

Поступила в редакцию 23.04.2019 г.

После доработки 29.04.2019 г.

Принята к публикации 13.05.2019 г.

Рассмотрены вопросы ассоциативной азотфиксации как вида биологической фиксации азота и ее роли в повышении продуктивности агроценозов, влияния удобрений, агрохимических показателей плодородия почвы и метеорологических условий на эффективность биопрепаратов ассоциативных диазотрофов в увеличении урожайности яровых зерновых культур и устойчивости агроэкосистем. Приведены данные о размерах ассоциативной азотфиксации в посевах сельскохозяйственных культур, ее изменения с учетом реакции почвенной среды, содержания в почве гумуса, элементов минерального питания, влажности и температуры почвы. Описана в исторической ретроспективе трансформация знаний об этом процессе. Указаны группы микроорганизмов, осуществляющие азотфиксацию, показана эффективность применения в посевах сельскохозяйственных культур микробных препаратов, созданных на основе активных штаммов. Раскрыты особенности использования растениями азота удобрений ¹⁵N при инокуляции семян биопрепаратами, показаны источники азота (удобрение, почва, биологический и “экстра” азот) в формировании урожая, выявлено влияние инокулянтов на потоки азота в системе удобрения—почва—растения—атмосфера, формировании устойчивости агроэкосистемы при использовании различных источников питания растений. Показано значение инокуляции семян биопрепаратами в повышении урожайности сельскохозяйственных культур, вовлечении в агроценозы биологического азота, повышение коэффициента использования растениями азота из минеральных удобрений и роста их окупаемости прибавкой урожая.

Ключевые слова: ассоциативная азотфиксация, урожайность культур, эндогенные и экзогенные факторы, потоки азота в агроэкосистеме, микробные препараты.

DOI: 10.1134/S0002188119080143

ВВЕДЕНИЕ

Величина урожая сельскохозяйственных культур, наряду с другими лимитирующими факторами в значительной степени определяется обеспеченностью растений азотом [1–4]. В Российской Федерации в последнее время использование азотных и других минеральных и органических удобрений не обеспечивает оптимальный баланс азота [2, 5].

Основные запасы азота (75–80%) сосредоточены в атмосфере ($4\text{--}6 \times 10^{15}$ т) в молекулярном виде и недоступны растениям. Несмотря на то, что над каждым квадратным метром земной поверхности в воздухе содержится 7–8 т азота, потребности растений, произрастающих на этой площади, в азоте не удовлетворяются, и они часто испытывают азотное голодание [6, 7]. Жизнь на Земле в значительной мере зависит от жизнедеятельности азотфиксирующих микроорганизмов, поскольку

за счет симбиотической и несимбиотической фиксации в круговорот вовлекается наибольшая часть природного азота. Масштаб биологической фиксации азота на земной суше составляет до 200 млн т в год, мировой океан дает до 120 млн т в год. Для сравнения: за счет всей химической промышленности в мире производится всего 84 млн т азотных удобрений [8, 9]. В работе [10] приведены данные поступления азота в результате биологической азотфиксации в наземные экосистемы — ≈ 150 млн т фиксированного азота, в том числе около 44 млн т — в сельскохозяйственные угодья. Сельскохозяйственные растения получают 2/3 необходимого им азота из азотного резерва почв, созданного и поддерживаемого деятельностью микроорганизмов-диазотрофов [11]. Вклад биологической азотфиксации в сельское хозяйство достаточно высок [12], примерно вдвое превосходит вклад химических азотных удобрений, а в

ежегодном потоке азота на земной суше почти в 3 раза больше, чем вклад азота минеральных удобрений [13, 14].

Изучению вопросов биологической фиксации атмосферного азота посвящены многочисленные работы [6, 13, 15–23], в которых обобщены результаты экспериментальных исследований. Вместе с тем, многие вопросы по накоплению и использованию биологического азота в земледелии России недостаточно изучены и дискуссионны.

ВЛИЯНИЕ ДИАЗОТРОФОВ НА ПРОЦЕСС АЗОТФИКСАЦИИ

Способностью усваивать атмосферный азот обладают diaзотрофы – свободноживущие, ассоциативные и симбиотические азотфиксирующие бактерии [6, 20, 24–26]. Среди микроорганизмов, осуществляющих процесс азотфиксации, наиболее изучены бактерии рода *Rhizobium*, которые живут в симбиозе с бобовыми культурами, и ассоциативные азотфиксирующие бактерии родов *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, некоторые актиномицеты (род *Frankia*) и цианобактерии [27, 28]. Вышеперечисленные бактерии характеризуются наличием одинакового ферментного комплекса – нитрогеназы, который выступает катализатором процесса азотфиксации [29]. Первое место по вкладу в биологическую фиксацию азота занимает симбиоз клубеньковых бактерий рода *Rhizobium* с представителями семейства бобовых [29–33]. Однако, несмотря на высокую эффективность азотфиксации в симбиозах с бобовыми сельскохозяйственными растениями, в масштабах биосферы их вклад в общий баланс “биологического” азота сравнительно невелик, что обусловлено ограниченностью распространения таких сообществ: даже в агроэкосистемах доля бобовых культур не превышает 10% от общей площади посевов сельскохозяйственных культур, а в природных фитоценозах бобовые растения присутствуют лишь на первых этапах растительных сукцессий и их практически нет в климаксных экосистемах [26]. В 2016 г. площади зернобобовых культур, включая сою, в России составили 5.0% от общей посевной площади, однолетние травы – 5.2%, многолетние травы – 13.3% [34]. Принимая во внимание, что однолетние и многолетние травы содержат смеси злаковых и бобовых трав, то, следовательно, площади под бобовыми посевными культурами в пересчете на чистые посевы составили чуть более 14%.

Интенсивно исследуют свободноживущие азотфиксаторы различных таксономических групп микроорганизмов и ассоциативные, живущие за

счет корневых выделений и дающие возможность улучшить азотное питание небобовых растений [25, 35]. Несимбиотическая азотфиксация осуществляется многочисленной популяцией гетеротрофных микроорганизмов, обитающих в почве и на поверхности растений: *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Clostridium* [6, 36–39], а также зелеными водорослями и цианобактериями [40].

Использование во второй половине XX века высокочувствительных и точных методов регистрации активности азотфиксации в почве (изотопный и ацетиленовый методы) позволило выявить новые группы микроорганизмов, обитающих в ризосфере растений и участвующих в этом процессе, а также дала возможность найти решение в управлении активностью ассоциации растений–азотфиксирующие бактерии [23, 41, 42], что открыло большие возможности для применения ассоциативной азотфиксации в сельском хозяйстве. Установлено, что нитрогеназная активность выявлена у более 50% бактерий, выделенных из ризосферы небобовых растений [23, 43], обнаружена повышенная активность азотфиксации в фитоплане (ризосфере и филлосфере) небобовых растений [25]. Среди сельскохозяйственных культур наиболее изучена ассоциативная фиксация азота в ризоплане сахарного тростника, пшеницы, ржи, ячменя, кукурузы, сорго, овсяницы луговой, ежи сборной, овощных культур [25, 44, 45]. Установлена высокая отзывчивость ряда сельскохозяйственных культур на обработку биопрепаратами азотфиксаторов [46, 47]. Наибольшей отзывчивостью на бактериализацию обладают злаковые растения [13, 48–50]. Положительное действие на рост и продуктивность растений установлено для многих штаммов бактерий, относящихся к разным систематическим группам, причем механизм этого действия не всегда известен [51].

Выделено и описано свыше 46 родов микроорганизмов-дiazотрофов, включая представителей разных таксономических групп хемотрофов и фототрофов, аэробов и анаэробов. Активные штаммы ассоциативных азотфиксаторов относятся к родам *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Derxia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Serratia*, *Xantobacter*. [6, 8, 11, 23, 39, 42, 52–56]. Продолжаются исследования свойств вышеуказанных микроорганизмов, их функционирования во взаимоотношениях с высшими растениями, к наиболее изученным относятся роды *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Clostridium* и *Pseudomonas* [11, 42, 54, 57–59].

Другой группой азотфиксаторов выступают бактерии, которые способны колонизировать внутренние ткани растения, не оказывая отрицательного влияния на его развитие и не вызывая заболеваний [60–62]. Накоплен достаточно обширный материал об эндофитных бактериях, ассоциированных с высшими растениями [63–66]. Эндофитные микроорганизмы, благотворно влияющие на растения, используют внутреннюю среду растений (эндосферу) в качестве уникальной экологической ниши, защищающей их от изменений внешней среды [43, 67, 68]. Эндофитные бактерии обычно колонизируют межклеточные пространства, могут быть выделены из растений, относящихся как к классу однодольных, так и двудольных, начиная с древесных, таких как дуб (*Quercus* L.) и груша (*Pyrus* L.), до травянистых, таких как пшеница (*Triticum vulgare* L.), картофель (*Solanum tuberosum*), сахарная свекла (*Beta vulgaris* L.), кукуруза (*Zea mays* L.), хлопчатник (*Gossypium herbaceum*), сахарный тростник (*Saccharum officinarum*) [63, 64, 69]. При исследовании кукурузы (*Zea mays* L.), сорго (*Sorghum vulgare* Moench), сои (*Glycine max* (L.) Merr.), пшеницы (*Triticum vulgare* L.) и ряда дикорастущих растений (злаковые и бобовые травы) были изолированы 853 штамма бактериальных эндофитов, которые относились к 15 родам: *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Cellulomonas*, *Clavibacter*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rothia*, *Xanthomonas* [63, 70]. При этом некоторые эндофиты не являются узкоспециализированными, т.е. заселяющими определенные культурные растения. Например, представители родов *Arthrobacter* и *Bacillus* не являются специфичными эндофитами для растений семейства злаковых, они выступают как космополиты, что позволяет их использовать в качестве основы биопрепаратов для многих сельскохозяйственных культур [71].

Отмечены такие позитивные функции эндофитных групп бактерий как способность переводить атмосферный азот в формы, доступные для усвоения, тем самым улучшать азотное питание и стимулировать рост растения-хозяина, повышать устойчивость растений к действию фитопатогенов [63, 72, 73]. Другими важными способностями эндофитных микросимбионтов являются синтез фитогормонов, стимулирующих усиленный рост корневой системы растения и соответственно приводящий к улучшению минерального питания [74–76]. Использование бактериальных эндофитов открывает новые перспективы поиска, выделения и характеристики прокариотических микроорганизмов с целью создания новых микробных

препаратов для регулирования условий жизни, в том числе азотного питания растений [55].

В отношении азотфиксации у эндофитных N_2 -фиксаторов, обитающих в тканях или в проводящей системе растений, эффективность больше, чем у ризосферных, т.к. продукты нитрогеназной активности эндофитов не рассеиваются в окружающей среде. Наиболее изученные эндофиты – представители родов *Azospirillum*, *Azoarcus*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspirillum*; их практическое значение определяется способностью к колонизации злаковых растений, включая рис и пшеницу [77–80].

ВЛИЯНИЕ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА МЕТАБОЛИЗМ РАСТЕНИЯ-ХОЗЯИНА

Деятельность азотфиксирующих микроорганизмов не ограничивается фиксацией молекулярного азота. Механизм действий бактерий на небобовые растения имеет комплексный характер. В процессе жизнедеятельности они продуцируют биологически активные вещества, которые позволяют ускорить рост корневой системы и тем самым обеспечить повышение площади питания, а также регулировать развитие растений, способствуют увеличению скорости поглощения воды [57, 81]. Ассоциативные азотфиксаторы улучшают фосфорное питание растений, подавляют развитие фитопатогенов на корнях растений за счет выделения антибиотических соединений, растворяют гифы патогенных грибов, подавляют стрессовые реакции растений, стимулируют прорастание семян, увеличивают их всхожесть [11, 13, 25, 43, 69, 82, 83]. Ассоциативные диазотрофы положительно влияют на активность симбиотических азотфиксаторов: при совместном использовании препаратов, содержащих штаммы *Azospirillum* и *Rhizobium*, облегчают проникновение клубеньковых бактерий в корневые волоски бобовых [35, 84, 85]. Повышение устойчивости растений в стрессовых условиях (низкая температура воздуха, засуха, засоление и загрязнение почвы тяжелыми металлами) и биоконтроль над патогенами некоторые исследователи считают более важными, чем азотфиксация, поскольку повышение продуктивности растений не всегда коррелирует с азотфиксирующей активностью микроорганизмов [86, 87].

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ АЗОТФИКСАЦИИ

Биологический азот имеет важное экологическое значение, так как поступает в почву постепенно, в течение всей вегетации, что исключает избыточное его накопление и снижает опасность

загрязнения растениеводческой продукции и окружающей среды [88]. Другим аспектом экологической составляющей азотфиксации является то, что “биологический азот”, получаемый в результате его микробной фиксации из атмосферного воздуха, не может загрязнять окружающую среду (почвы, водоемы), поскольку для большинства азотфиксирующих систем характерно тесное сопряжение процессов азотфиксации и фотосинтеза, вследствие чего, весь фиксированный азот немедленно поступает в метаболические пути и используется для биосинтеза азотсодержащих соединений. Для его накопления требуются относительно небольшие затраты энергии на активацию азотфиксирующих микроорганизмов. При биологической фиксации источником энергии являются, как правило, продукты фотосинтеза, фиксированный азот усваивается растениями практически полностью [43, 89].

РАЗМЕРЫ АССОЦИАТИВНОЙ АЗОТФИКСАЦИИ

Ассоциативная азотфиксация проходит в ризосфере небобовых растений во всех типах почв, но с различной скоростью [6, 90, 91]. В исследованиях второй половины XX века в основном оценивали количественные параметры несимбиотической азотфиксации, которые постоянно подвергались существенной переоценке. По данным [92], в зоне умеренного климата за счет свободноживущих азотфиксирующих бактерий в почву за период вегетации поступает лишь 3–5 кг/га. Позднее, в работе [93] с использованием метода баланса было установлено, что за счет несимбиотической азотфиксации может поступать в почву 23–55 кг N/га в год. В третьей четверти XX века [10] приведены размеры несимбиотической азотфиксации под различными культурами (зерновыми, коноплей, хлопчатником) и на разных типах почв (дерново-подзолистых, серых лесных, черноземных почвах и сероземах), равные 30–40 кг/га в год. В исследовании [94] по результатам 5-летнего опыта путем обогащения активной фазы органического вещества серой лесной почвы ^{15}N размеры азотфиксации составили на фоне применения РК – 73 кг/га, и на фоне N120PK – 107 кг N/га. В дерново-подзолистых почвах при наличии активно вегетирующей растительности (ячменя, злаковых трав) параметры суммарной продуктивной ассоциативной и несимбиотической азотфиксации составляли 40–55 кг N/га, в парующей почве – 10–13 кг/га в год [95]. В почве рисовых полей за счет несимбиотической фиксации атмосферного азота ежегодно накапливается

до 60–70 кг N/га азота [96]. В посевах яровой пшеницы за счет ассоциативной азотфиксации ежегодное поступление азота достигает 20–30 кг N/га [41, 97, 98].

В условиях Западной Сибири [6] поступление атмосферного азота за счет несимбиотической азотфиксации в злаковые агроценозы меняется в пределах 8–36 кг/га в год, в среднем составляет около 30 кг N/га в год. В различных почвах Сибири [99] за вегетационный период фиксируется 2–27 кг N/га. По другим данным, в условиях Сибири за счет ассоциативной азотфиксации в посевах зерновых, технических и кормовых культур может накапливаться до 40–70 кг N/га за сезон [100]. По данным других исследований, ассоциативная азотфиксация в зоне умеренного климата достигает 50–150 кг N/га, в тропических широтах – от 170 до 600 кг N/га в год [101, 102].

Фиксация молекулярного азота ассоциативными микроорганизмами осуществляется при постоянном притоке энергии и наличии источников электронов, необходимых для функционирования нитрогеназного комплекса [103]. В посевах уровень азотфиксации в почве значительно выше, чем в их отсутствии, поскольку корневые выделения и корневой опад растений являются энергетическим субстратом для ассоциативных бактерий-дiazотрофов и, кроме того, в ризоплане создаются благоприятные условия для поддержания высокой активности нитрогеназы, корни растений быстро поглощают азотсодержащие метаболиты азотфиксаторов, а муцигель защищает нитрогеназу от избытка кислорода [101, 104, 105]. Изменения интенсивности фотосинтеза в течение онтогенеза растений является причиной изменений величины азотфиксации на протяжении вегетационного периода [6, 23, 82, 106, 107].

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЕ–АССОЦИАТИВНЫЕ ДИАЗОТРОФЫ

В системе растение–ассоциативные diaзотрофы ведущая роль принадлежит растению, что обусловлено его генотипическими свойствами, обеспечивающими такие физиологические параметры, которые приводят к взаимодействию с микроорганизмами [106, 108]. Эти свойства растений названы *nis*-признаком [109], который характеризуется как сложная полигенная структура, которую можно представить в виде многоступенчатого процесса образования и функционирования ассоциации растение–diaзотроф [110]. Среди зерновых культур наиболее интенсивно *nis*-при-

знак проявляется у кукурузы и сорго, менее – у пшеницы, ячменя, овса, озимой ржи [90].

Действие растений на ассоциативную фиксацию азота заключается в обеспеченности последних продуктами экзосмоса и корневого опада. До 1/3 всего углерода фотосинтеза прижизненно выделяется растениями в почву в виде богатых энергией, легкодоступных для микроорганизмов углеводов [111]. По данным [23, 26], поступление с растительным опадом глюкозы, сахарозы, крахмала и других легкодоступных углеродсодержащих соединений значительно стимулирует азотфиксацию вне зависимости от свойств почв и свидетельствует о том, что деятельность гетеротрофных азотфиксирующих бактерий в почвах лимитирована, главным образом, недостатком легкодоступного энергетического субстрата. Количество прижизненного легкодоступного для diaзотрофов органического опада и выделений растений, поступающих в прикорневую зону, варьирует в пределах 10–30% всех продуктов фотосинтеза [6, 95].

Важным фактором, определяющим эффективность ассоциативной азотфиксации, является применение биологических препаратов, созданных на основе активных штаммов микроорганизмов, обладающих повышенной способностью к ассоциации с культурными растениями и интенсивной азотфиксацией [26, 42, 43, 112]. Среди факторов окружающей среды, влияющих на азотфиксацию, при использовании микробных препаратов следует отметить: влажность и гранулометрический состав почвы [6, 25, 113, 114], содержание, качественный состав и распределение органического вещества по профилю почвы [18, 25, 111, 115, 116], погодные условия вегетации растений [117], температура почвы и воздуха, концентрация углекислоты в филлосфере [11, 95, 118]. По мере увеличения влажности почвы интенсивность связывания атмосферного азота diaзотрофами возрастает, при полной полевой влагоемкости – снижается [119, 120]. Температура верхнего слоя 0–10 см почвы в течение вегетации слабо влияет на азотфиксацию [26]. Однако существует большая зависимость ассоциативной азотфиксации в филлосфере от изменений температуры воздуха, оптимальная величина которой находится в пределах от 20 до 34°C [6, 119, 121].

На азотфиксацию оказывает влияние наличие и содержание в почве подвижных соединений азота, фосфора и калия [13, 22], реакция почвенной среды [122–124]. Другим не менее важным фактором является численность, состав и взаимодействие микробных сообществ в фитоплане [125]. Азотфиксирующая активность может раз-

личаться в пределах одного типа почв – более высокая в типичных черноземах, менее – в выщелоченных черноземах. Различия характерны и для профиля разных почв: в черноземах максимальную азотфиксирующую активность отмечали в слое 0–50 см, в серых лесных почвах – в слое 0–20 см [6, 126]. Экспериментально показано, что эффективность применения биопрепаратов ассоциативных diaзотрофов в посевах яровых зерновых культур определяется типом почв [49, 127, 128]. Без внесения азотных удобрений на черноземных почвах, характеризующихся высоким уровнем естественного плодородия, средневзвешенная прибавка урожайности зерна яровой пшеницы от применения биопрепаратов составляла до 23%. На серых лесных почвах положительное действие препаратов проявляется в увеличении урожайности зерна до 14%. При применении препаратов ризоагрина (*Agrobacterium radiobacter* шт. 204) и флавобактерина (*Flavobacterium* sp. L-30) на дерново-подзолистых почвах, имеющих по сравнению с черноземами и серыми лесными почвами более низкое содержание гумуса и обладающих низкой микробиологической активностью, увеличение урожайности зерна достигало 13–18%. Прибавка урожайности зерна ячменя от инокуляции биопрепаратами составляла для этих типов почв соответственно 12, 11 и 13–19%.

Потенциальная активность азотфиксации больше на известкованных почвах, границы реакции почвенного раствора, в которых развиваются ассоциативные diaзотрофы, находится в пределах pH_{KCl} 5.8–7.0 [23, 129].

Органические вещества, образующиеся при разложении растительных остатков, также в значительной мере регулируют состав и численность почвенной микрофлоры, в том числе diaзотрофов [6]. Активизация азотфиксации происходит и при внесении в почву соломы и других растительных остатков. Она более активна при соотношении углерода к азоту в растительных остатках и больше при более узком соотношении C : N [19, 130].

Максимальное влияние на величину прибавки урожайности зерна от применения биопрепаратов оказывает содержание гумуса в почве, реакция почвенной среды (pH_{KCl}) и гидротермические условия периода вегетации (ГТК). Связь между содержанием гумуса, величиной pH_{KCl} , гидротермическим коэффициентом (ГТК) на дерново-подзолистых почвах и эффективностью применения биопрепаратов, выраженной величиной прибавки урожайности зерна яровых пшеницы и ячменя, достоверно описывается уравнениями вида параболы. С увеличением содержания гумуса в

почве и приближением реакции почвенной среды к нейтральной закономерно увеличивается прибавка урожайности зерна [13, 129, 131, 132].

Наибольшую прибавку урожайности зерна яровой пшеницы от инокуляции биопрепаратами ассоциативных diaзотрофов (3 ц/га) на фоне РК-удобрений можно получить при содержании гумуса в почве 2.5–2.7%, нейтральной реакции почвенной среды (pH_{KCl} 6.5–6.7) и оптимальном увлажнении в мае (ГТК за май = 1.0–1.3). При недостатке влаги (ГТК за май <0.8) или повышенном увлажнении (ГТК за май >1.8) эффективность препаратов на основе ризосферных ассоциативных diaзотрофов снижается [13, 133].

Максимальную прибавку урожайности зерна ярового ячменя от инокуляции биопрепаратами ассоциативных diaзотрофов (2.2 ц/га) на фоне РК-удобрений можно получить при содержании гумуса в почве 2.5–2.7%, нейтральной реакции почвенной среды (pH_{KCl} 6.1–6.7) и достаточном увлажнении в мае–июне (ГТК за май–июнь = 1.3–1.8). На дерново-подзолистых почвах со средним содержанием гумуса ведущая роль в повышении урожайности зерна яровой пшеницы принадлежит сидерату (биомассе горчицы белой) и минеральным удобрениям, прибавка от применения N45 составляла не менее 42, сидерата – 58%, при совместном их внесении – 99%. Прибавка от ризосферных биопрепаратов (ризоагрин) составляла 8–19%, от биопрепаратов на основе эндофитных микроорганизмов – 25–33% [13, 131, 134].

Среди факторов, оказывающих существенное влияние на процесс азотфиксации, важное место принадлежит обеспеченности растений азотом. Растения и микроорганизмы легко усваивают минеральный азот и с повышением его содержания в почве активность ассоциативной азотфиксации снижается, минеральный азот в почве тормозит процесс ассоциативной азотфиксации [6, 95]. По другим данным [23, 98, 135], только высокие дозы N100–150 могут кратковременно подавлять ассоциативную азотфиксацию. На фоне применения “стартовых” доз азотных удобрений азотфиксация на 30–45% больше, чем без них [10]. Внесение азота в дозах, не превышающих физиологическую потребность растений, усиливает азотфиксацию и участие биологического азота в питании растений [6, 13, 98, 136].

ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДИАЗОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Среди элементов питания растений азот занимает особое место, т.к. он оказывает наибольшее

влияние на рост урожайности и повышение качества растениеводческой продукции [1, 4, 50]. В мировом производстве минеральных удобрений азотные занимают 1-е место среди макроэлементов [4]. Долевое участие азотных удобрений в формировании прибавки урожайности, например, яровой пшеницы составляет: в южной таежно-лесной зоне – 43, лесостепной – 47 и в степной – 26% [137]. Отзывчивость сельскохозяйственных растений на применение фосфорных и калийных удобрений определяется в первую очередь обеспеченностью почв их подвижными формами [138–141]. Эффективность азотных удобрений зависит от обеспеченности почв минеральными формами азота (аммонийным и нитратным), чем больше его содержание в почве, тем меньше прибавка урожая от применения азотных удобрений [1, 142–144], эта закономерность отмечена для разных почвенно-климатических условий [1, 145].

Коэффициент использования азота удобрений растениями составлял 20–75% от внесенной дозы азота, недостаток влаги приводит к его резкому снижению [1, 3, 10]. Придавая большое значение производству и применению азотных удобрений, Д.Н. Прянишников [146] ратовал за широкое использование не только удобрений (минеральных и органических), но и всех источников биологического азота, какими являются, прежде всего, бобовые культуры, что представляет особый интерес для Нечерноземной полосы с ее бедными дерново-подзолистыми почвами. Наряду с бобовыми культурами (клевером, люцерной, эспарцетом, соей, горохом, викой, люпином, сераделлой) в качестве удобрения возможно использование зеленой и корневой массы других растений (горчицы, рапса, редьки масличной, сурепицы, фацелии) [147]. Однако применение органических удобрений в России снизилось в 3–4 раза и в среднем по стране составляет условного навоза до 0.9–1.3 т/га [2, 147–149]. Установлено, что при использовании сидерата (горчица белая) и инокуляция семян яровой пшеницы ризосферными diaзотрофами (препаратом ризоагрин) усиливается потребление растениями азота минерального удобрения на 5–9% в зависимости от погодных условий, а из биомассы горчицы – только отмечена положительная тенденция. Применение биопрепаратов эндофитных микроорганизмов увеличивает использование азота минерального удобрения на 8–12% [150, 151]. При внесении сидерата азот минеральных удобрений в почве включается в циклические минерализационно-ремобилизационные превращения. Высокая иммобилизация азота удобрения в дерново-подзолистой почве является ключевым процессом, кото-

рый обуславливает устойчивость агроэкосистемы. Абсолютные размеры иммобилизации в структуре баланса меченого азота минерального удобрения составляют 16–32% от внесенного количества и повышаются при применении сидерата до 18–38%. При внесении биомассы горчицы размеры иммобилизации в структуре баланса составляют $52 \pm 7\%$. Инокуляция биопрепаратами как ризосферных diaзотрофов (препарат ризоагрин), так и эндофитных микроорганизмов, не влияет на иммобилизацию азота минерального удобрения; на иммобилизацию азота сидерата отмечена только положительная тенденция [13, 128, 131, 133, 150, 152].

Неучтенные потери меченого азота минерального удобрения составляют 19–50% от внесенного количества в зависимости от погодных условий и снижаются на 6–9% (до 10–40%) при сочетании органического и минерального удобрений и инокуляции семян ризоагрином. Потери меченого азота сидерата в различных погодных условиях вегетации составляют 17–37% от внесенного количества. Инокуляция семян ризоагрином увеличивает потребление азота N-удобрений и обеспечивает положительную тенденцию к закреплению в почве азота сидерата и снижает его потери на 4–6% [128, 131, 133].

Инокуляция семян биопрепаратами влияет на коэффициент использования азота минеральных удобрений яровой пшеницей, он возрастает на дерново-подзолистых почвах с 36–50 до 39–60%, серых лесных почвах – с 29 до 31 и черноземах – с 28 до 46%; у ячменя соответственно с 39–49 до 46–58%, с 39 до 52%, с 31 до 36% соответственно. Инокуляция семян биопрепаратами способствует повышению окупаемости азота минерального удобрения в посевах яровой пшеницы: на черноземах – в 2.3 раза, на дерново-подзолистых почвах – в 1.5–2.1 раза, на серых лесных – в 2.1 раза; ячменя – соответственно в 2.4, 1.6–2.0 и в 1.8 раза [1, 6, 13, 127]. При этом дополнительное использование азота яровыми зерновыми (пшеницей, ячменем) за счет применения ассоциативных биопрепаратов на дерново-подзолистых суглинистых и серых лесных почвах составляет до 10, черноземах – до 12 кг N/га.

Применение стабильного азота ^{15}N позволило установить источники азота в формировании урожая зерна при инокуляции семян биопрепаратами [13]. В частности, формирование биомассы яровой пшеницы на дерново-подзолистой почве осуществляется в основном за счет почвенного азота, доля которого достигает 4/5 общего выноса элемента при применении минеральных удобрений и 3/4 при использовании только сидерата

(биомассы горчицы). Вклад азота сидерата в формирование урожая яровой пшеницы определяется гидротермическими условиями: при благоприятных – возрастает, в засушливых условиях и при повышенном увлажнении – снижается на 5–8%. Доля участия “экстра”-азота в продукционном процессе ограничена (15% от общего выноса при внесении азотного удобрения отдельно и в сочетании с применением биомассы горчицы) [1, 133, 152].

За счет инокуляции семян препаратом ризоагрин отмечали дополнительное использование фиксированного азота яровой пшеницей на дерново-подзолистой почве, которое составляло 8–13 кг/га и изменялось с учетом метеорологических условий от 2 до 30 кг/га (минимум – в засушливых условиях и максимум – при достаточном увлажнении) [1, 6, 117, 133].

В связи с тем что 70–75% азота в урожае сельскохозяйственных культур имеет иное, чем азот удобрения, происхождение (это азот биологический и азот минерализующегося органического вещества почвы, также преимущественно микробиологического происхождения), поэтому азотфиксация выделена, наряду с фотосинтезом, в ряд основных физиологических процессов, а биологический азот рассматривается как фактор сохранения плодородия почвы и формирования продуктивности сельскохозяйственных культур. По обобщенным данным, применение биопрепаратов, созданных на основе активных штаммов ассоциативных микроорганизмов, приводит к росту урожайности зерновых в среднем на 15–20%, овощных и других сельскохозяйственных культур – на 20–30% [43, 82]. Биопрепараты повышают не только урожайность зерна яровой пшеницы, но и способствуют увеличению таких характеристик как масса 1000 зерен и содержание белка в зерне [153–162].

Эффективность биопрепаратов определяется погодными условиями вегетационного периода и уровнем плодородия почвы. При недостатке атмосферных осадков урожайность от инокуляции не изменяется. При количестве осадков, близком к среднемноголетней норме, применение ассоциативных биопрепаратов эквивалентно внесению азотного удобрения под озимые пшеницу, рожь и тритикале, а также ячмень и овес в дозе N30, под яровую пшеницу – N30–45, под кукурузу – N45–60 и под картофель N40–45 [13, 43, 83]. Положительные результаты от инокуляции препаратами *Azospirillum*, выраженные прибавкой урожая 5–40% получены зарубежными исследователями [41, 84, 163].

Исследования последних лет позволили определить режим функционирования агроэкосистемы при применении азотного удобрения, сидерата и препарата ризоагрин, который зависит от сбалансированности потоков нетто-минерализованного и (ре)иммобилизованного азота в почве [131]. На дерново-подзолистой легкосуглинистой почве агроэкосистема функционирует в режиме гомеостаза (норма) при применении сидерата (биомассы горчицы белой (БМ)), в режиме стресса (допустимый) при совместном использовании БМ и минерального азотного удобрения. При применении аммиачной селитры агроэкосистема менее устойчива, функционирует в режиме резистентности (предельно допустимый), в годы с повышенным увлажнением переходит в зону репрессии (недопустимый). При применении только азотного удобрения на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве агроэкосистема функционирует в режиме резистентности. Функционирование агроэкосистемы при внесении азотного удобрения существенно варьирует при изменении метеорологических условий в период вегетации: в засушливых и влажных погодных условиях ее устойчивость снижается, что подтверждается уравнением регрессии – сильной по тесноте и криволинейной по форме ($\eta_{yx} = 0.82$, $t_{\eta} > t_{\tau}$).

Существенных различий по показателю функционирования агроэкосистем между вариантами с инокуляцией яровой пшеницы различными биопрепаратами (ризоагрин, экстрасол, биопрепаратов на основе *Bacillus megasterium* V-3 и *Bacillus subtilis* V4) и без них не установлено. Применение ризоагрина способствует относительному усилению нетто-минерализации (в среднем на 5%) и иммобилизации (в среднем на 6%) азота растительной массы горчицы при метеорологических условиях, близких к среднепогодным показателям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в соответствии с [164], в Российской Федерации намечены пути увеличения использования в земледелии биологизированных форм удобрений. Это может быть достигнуто за счет использования эффекта ассоциативной азотфиксации, осуществляемой в ризосфере и ризоплане сельскохозяйственных растений. В приведенном обзоре приведены сведения о размерах ассоциативной азотфиксации в посевах сельскохозяйственных культур, ее изменения с учетом реакции почвенной среды, содержания в почве гумуса, элементов минерального питания, влажности и температуры почвы. Описываются в ис-

торической ретроспективе трансформация знаний об этом процессе. Приведены группы микроорганизмов, осуществляющие азотфиксацию, дана эффективность применения в посевах сельскохозяйственных культур микробных препаратов, созданных на основе активных штаммов. Раскрыты особенности использования растениями азота удобрений ^{15}N при инокуляции семян биопрепаратами, показаны источники азота (удобрение, почва, биологический, “экстра”) в формировании урожая, выявлено влияние инокулянтов на потоки азота в системе удобрения–почва–растения–атмосфера, формирование устойчивости агроэкосистемы при использовании различных источников питания растений. Показано значение инокуляции семян биопрепаратами в повышении урожайности сельскохозяйственных культур, вовлечение в агроценозы биологического азота, повышение коэффициента использования растениями азота из минеральных удобрений и роста их окупаемости прибавкой урожая.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гамзиков Г.П. Агрохимия азота в агроценозах. Новосибирск: РАСХН, СО; НовосибирскГАУ, 2013. 790 с.
2. Кудеяров В.Н. Оценка питательной деградации пахотных почв России // Вестн. РАН. 2015. Т. 85. № 9. С. 771–775.
3. Завалин А.А., Соколов О.А. Потоки азота в агроэкосистеме: от идеи Д.Н. Прянишникова до наших дней. М.: ВНИИА, 2016. 591 с.
4. Шафран С.А., Духанина Т.М. Значение комплексного агрохимического окультуривания почв в повышении эффективности применения азотных удобрений под пшеницу // Агрохимия. 2017. № 11. С. 21–30.
5. Сычев В.Г., Шафран С.А. О балансе питательных веществ в земледелии России // Плодородие. 2017. № 1. С. 1–4.
6. Шотт П.Р. Биологическая фиксация азота в однолетних агроценозах лесостепной зоны Западной Сибири: Дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.04. Барнаул, 2007. 287 с.
7. Mosier A.R., Syers J.K., Freney J.R. Agriculture and the nitrogen cycle. Washington: Island press, 2004. 321 p.
8. Игнатов В.В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы // Сорос. обр. журн. 1998. № 9. С. 28–33.
9. Crews T.E., Peoples M.B. Can the synchrony of nitrogen supply and crop demand be improved in legume and fertilizer-based agroecosystems? A Review // Nutr. Cycl. Agroecosyst. 2005. V. 72. № 2. P. 101–120.
10. Кудеяров В.Н. Цикл азота в почве и эффективность удобрений. М.: Наука, 1989. 216 с.

11. Умаров М.М. Азотфиксация в ассоциациях организмов // Пробл. агрохим. и экол. 2009. № 2. С. 22–26.
12. Herridge D.F., Peoples M.B., Boddey R.M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems // Plant and Soil. 2008. V. 311. № 1–2. P. 1–18.
13. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай. М.: ВНИИА, 2005. 302 с.
14. Paul E.A. Advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems // Intern. Symp. Brisbane (Austral) / Ed. Willson J.R. 1988. V. 1. P. 417.
15. Кретович В.Л. Усвоение и метаболизм азота у растений. М.: Наука, 1987. 486 с.
16. Мильто Н.И. Клубеньковые бактерии и продуктивность бобовых растений. Минск: Наука и техника, 1982. 296 с.
17. Берестецкий О.А., Возняковская Ю.М., Доросинский Л.М. Биологические основы плодородия почвы. М.: Колос, 1984. 287 с.
18. Современное состояние и перспективы исследований микробной азотфиксации // Перспективы развития почвенной биологии. Тр. Всерос. конф. Москва, 22.02.2001 / Под ред. Звягинцева Д.Г. М.: Макс Пресс, 2001. С. 47–56.
19. Шумный В.К., Сидорова К.К., Клевенская И.Л. Биологическая фиксация азота. Новосибирск: Наука, СО, 1991. 271 с.
20. Трепачев Е.П. Агрохимические аспекты биологического азота в современном земледелии. М.: Агроконсалт, 1999. 532 с.
21. Завалин А.А., Алметов Н.С. Применение биопрепаратов и биологический азот в земледелии Нечерноземья. М.: ВНИИА, 2009. 152 с.
22. Завалин А.А., Бердников В.В., Алметов Н.С. Эффективность применения биопрепаратов и удобрений под яровую пшеницу // Вестн. РАСХН. 2004. № 5. С. 76–78.
23. Шабаев В.П. Роль биологического азота в системе “почва–растение” при внесении ризосферных микроорганизмов: Дис. ... д-ра биол. наук: 06.01.04. Пушино, 2004. 277 с.
24. Кретович В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями. М.: Наука, 1994. 167 с.
25. Умаров М.М. Микробиологическая трансформация азота в современных агроценозах // Биологические источники элементов минерального питания растений. III Сибирские агрохимические Прянишниковские чтения: мат-лы междунард. научн. конф. (Омск, 12–16 июля 2005 г.). Новосибирск: РАСХН, СО, 2006. С. 33–47.
26. Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве. М.: ГЕОС, 2007. 138 с.
27. Franche C., Lindström K., Elmerich C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants // Plant Soil. 2009. V. 321. P. 35–59.
28. Шапошников А.И., Белимов А.А., Кравченко Л.В., Виванко Д.М. Взаимодействие ризосферных бактерий с растениями: механизмы образования и факторы эффективности ассоциативных симбиозов (обзор) // Сел.-хоз. микробиол. 2011. № 3. С. 16–22.
29. Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. Микробиология: учеб. для вузов. 5-е изд., перераб. и доп. М.: Дрофа, 2005. 445 с.
30. Unkovich M.J., Pate J.S. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N₂ fixation by annual legumes // Field Crops Res. 2000. V. 65. № 2–3. P. 211–228.
31. Herridge D., Rose I. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes // Field Crops Research. 2000. V. 65. № 2–3. P. 229–248.
32. Bothe H., Ferguson S.J., Newton W.E. Biology of the nitrogen cycle. Amsterdam: Elsevier, 2007. 397 p.
33. Divito G.A., Sadras V.O. How do phosphorus, potassium and sulphur affect plant growth and biological nitrogen fixation in crop and pasture legumes? A meta-analysis // Field Crops Res. 2014. V. 156. № 1. P. 161–171.
34. Росстат. Официальная статистика. Сельское хозяйство, охота и лесное хозяйство / http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/enterprise/economy/#, 2017.
35. Фурина Е.К., Бонарцева Г.А. Влияние совместной и раздельной инокуляции растений люцерны культурами *Azospirillum lipoferum* и *Sinorhizobium meliloti* на активность процессов денитрификации и азотфиксации // Прикл. биохим. и микробиол. 2007. Т. 43. № 3. С. 318–324.
36. Емцев В.Т., Чумаков М.И., Брук М.Х. Об ассоциативном симбиозе *Clostridium* с высшими растениями // Биологический азот в сельском хозяйстве СССР. М.: Наука, 1989. С. 124–131.
37. Кравченко И.К., Дорошенко Е.В. Азотфиксирующая активность торфяной почвы верхового болота // Микробиология. 2003. № 1. С. 111–116.
38. Кириченко Е., Тутова Л., Коць С. Эффективность бактериализации семян пшеницы яровой новым штаммом *Azotobacter chroococcum* T79 // Stiinta Agricola. 2010. № 1. С. 21–24.
39. Kahindi J.H.P., Woome P., George T., de Souza Moreira F.M., Karanja N.K., Giller K.E. Agricultural intensification, soil biodiversity and ecosystem function in the tropics: the role of nitrogen-fixing bacteria // Appl. Soil Ecol. 1997. V. 6. P. 55–46.
40. Цыганков А.А. Азотфиксирующие цианобактерии – продуценты водорода (обзор) // Прикл. биохим. и микробиол. 2007. Т. 43. № 3. С. 279–288.
41. Galal Y.G.M., El-Ghandour I.A., Aly S.S., Soliman S., Gadalla A. Non-isotopic method for the quantification of biological nitrogen fixation and wheat production under field conditions // Biol. Fertil. Soil. 2000. V. 32. № 1. P. 47–51.
42. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты // Сел.-хоз. биол. 2011. № 3. С. 3–9.
43. Тихонович И.А., Завалин А.А. Перспективы использования азотфиксирующих и фитостимулирующих микроорганизмов для повышения эффективности агропромышленного комплекса и улучшения агроэкологической ситуации РФ // Плодородие. 2016. № 5. С. 28–32.

44. Аужсанова А.Д., Поползухина Н.А., Стрелецкий А.М., Божко А.А. Ассоциативная азотфиксация как фактор ресурсосбережения и повышения продуктивности яровой пшеницы // Сб. тр. Международ. научн.-практ. конф. обучающихся в магистратуре. Омск: Институт экономики и финансов ОмГАУ им. П.А. Столыпина, 2014. С. 10–14.
45. Venieraki A., Dimou M., Vezuri E., Kefalogianni I., Argyris N., Liara G., Pergalis P., Chatzipavlidis I., Katinakis P. Characterization of nitrogen-fixing bacteria isolated from field-grown barley, oat, and wheat // J. Microbiol. 2011. № 49. P. 525.
46. Кожемяков А.П., Белоброва С.Н., Орлова А.Г. Создание и анализ базы данных по эффективности микробных биопрепаратов комплексного действия // Сел.-хоз. биол. 2011. № 3. С. 112–115.
47. Завалин А.А., Алметов Н.С., Чернова Л.С. Эффективность использования минеральных удобрений и биопрепаратов в зернотравяных севооборотах // Агрохимия. 2014. № 9. С. 35–47.
48. Алметов Н.С., Бердников В.В., Волков Е.Г., Семенов П.Н. Эффективность использования ассоциативных азотфиксирующих биопрепаратов на посевах зерновых культур // Бюл. ВИУА. 2001. № 114. С. 56.
49. Никитин С.Н. Оценка эффективности применения удобрений, биопрепаратов и диатомита в лесостепи Среднего Поволжья. Ульяновск: УлГТУ, 2017. 316 с.
50. Никитин С.Н., Завалин А.А. Влияние удобрений и биопрепаратов на продуктивность зернопарового севооборота, потоки элементов питания и свойства чернозема выщелоченного в лесостепи Среднего Поволжья // Агрохимия. 2017. № 6. С. 12–29.
51. Bashan Y., Holguin G., de-Bashan L.E. Azospirillum-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997–2003) // Canad. J. Microbiol. 2004. V. 50. № 8. P. 521–577.
52. Злотников А.К., Казакова М.Л., Злотников К.М., Казаков А.В., Умаров М.М. Физиологические и биохимические свойства бактериальной ассоциации *Klebsiellaterrigena* Е6 и *Vacillusfirmus* Е3 // Прикл. биохим. и микробиол. 2007. Т. 43. № 3. С. 338–346.
53. Фунг Тхи Ми, Манучарова Н.А., Степанов А.Л., Поздняков Л.А., Селицкая О.В., Емцев В.Т. *Agrobacterium tumefaciens* – ассоциативная азотфиксирующая бактерия // Вестн. МГУ. Сер. 17. Почвоведение. 2015. № 3. С. 50–55.
54. Wani S.P. Inoculation with associative nitrogen-fixing bacteria: Role in cereal grain production improvement // Ind. J. Microbiol. 1990. V. 30. № 4. P. 363–393.
55. Ryan R.P., Germaine K., Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N. Bacterial endophytes: recent developments and applications // FEMS Microbiol. Lett. 2008. V. 278. P. 1–9.
56. Holguin G., Patten C.L., Glick B.R. Genetics and molecular biology of *Azospirillum* // Biol. Fertil. Soil. 1999. V. 29. P. 10–23.
57. Dobbelaere S., Croonenborghs A., Thys A. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum* // Austr. J. Plant Physiol. 2001. V. 28. № 9. P. 871–879.
58. Bashan Y., Hernandez J.P., Leyva L.A., Bacilio M. Algininate microbeads as inoculant carriers for plant growth-promoting bacteria // Biol. Fertil. Soil. 2002. V. 35. № 5. P. 359–368.
59. Froussart E., Bonneau J., Franche C., Bogusz D. Recent advances in actinorhizal symbiosis signaling // Plant Mol. Biol. 2016. V. 90. № 6. P. 613–622.
60. Чеботарь В.К., Шербаков А.В., Масленникова С.Н., Заплаткин А.Н., Канарский А.В., Завалин А.А. Эндодифитные бактерии древесных растений как основа комплексных микробных препаратов для сельского и лесного хозяйства // Рос. сел.-хоз. наука. 2016. № 4. С. 40–44.
61. Schulz B., Boyle C.J.C., Sieber T.N. (Ed.) What are endophytes? / Microbial Root Endophytes. Berlin: Springer-Verlag, 2006. P. 191–206.
62. Bhattacharjee R.B., Singh A., Mukhopadhyay S.N. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: prospects and challenges // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2008. V. 80. № 2. P. 199–209.
63. Чеботарь В.К., Шербаков А.В., Шербакова Е.Н., Масленникова С.Н., Заплаткин А.Н., Мальфанова Н.В. Эндодифитные бактерии древесных растений как основа комплексных микробных препаратов для сельского и лесного хозяйства // Сел.-хоз. биол. 2015. Т. 50. № 5. С. 648–654.
64. Шербаков А.В., Заплаткин А.Н., Чеботарь В.К. Эндодифитные бактерии, населяющие семена пшеницы, перспективные продуценты микробных препаратов для сельского хозяйства // Достиж. науки и техн. АПК. 2013. № 7. С. 35–38.
65. Compant S., Mitter B., Colli-Mull J.G., Gangl H., Sessisch A. Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: Identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization // Microbial. Ecol. 2011. V. 62. № 1. P. 188–197.
66. Ryan R.P., Germaine K., Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N. Bacterial endophytes: recent developments and applications // FEMS Microbiol. Lett. 2008. V. 278. P. 1–9.
67. Шербаков А.В., Брагина А.В., Кузьмина Е.Ю., Берг К., Мунтян А.Н., Макарова Н.М., Мальфанова Н.В., Кардинале М., Берг Г., Чеботарь В.К., Тихонович И.А. Эндодифитные бактерии сфагновых мхов как перспективные объекты сельскохозяйственной микробиологии // Микробиология. 2013. Т. 82. № 3. С. 312–322.
68. Zhu Y., She X. Evaluation of the plant-growth-promoting abilities of endophytic bacteria from the psammophyte *Ammodendron bifolium* // Canad. J. Microbiol. 2018. V. 75. № 1. P. 1–12.
69. Microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants // Electron. J. Biotechnol. 2000. V. 3. P. 40–65.
70. Iniguez A.L., Dong Y., Triplett E.W. Nitrogen fixation in wheat provided by *Klebsiella pneumoniae* 342 // Mol. Plant Microbe Interact. 2004. V. 17. № 10. P. 1078–1085.
71. Patel J.K., Archana G. Diverse culturable diazotrophic endophytic bacteria from Poaceae plants show cross-colonization and plant growth promotion in wheat // Plant and Soil. 2017. V. 417. № 1–2. P. 99–116.

72. Barraclough D. The direct or MIT route for nitrogen immobilization: a ^{15}N mirror image study with leucine and glycine // Soil Biol. Biochem. 1997. V. 29. № 1. P. 101–108.
73. Rothballer M., Schmid M., Hartmann A. Diazotrophic bacterial endophytes in gramineae and other plants // Microbiol. Monographs. 2009. V. 8. P. 273–302.
74. Чеботарь В.К., Заплаткин А.Н., Шербаков А.В., Мальфанова Н.В., Старцева А.А., Костин Я.В. Микробные препараты на основе эндофитных и ризобактерий, которые перспективны для повышения продуктивности и эффективности использования минеральных удобрений у ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и овощных культур // Сел.-хоз. биол. 2016. Т. 51. № 3. С. 335–342.
75. Triplett E. Diazotrophic endophytes: prospects for nitrogen fixation in monocots // Plant and Soil. 1996. V. 186. P. 29–38.
76. Ruby E.J., Raghunath T.M. A Review: Bacterial endophytes and their bioprospecting // J. Pharm. Res. 2011. V. 4. № 3. P. 795–799.
77. Döbereiner J., Reis V.M., Paula M.A., Olivares F. Endophytic diazotrophs in sugar cane, cereals and tuber plants // New Horizons in Nitrogen Fixation. 1993. P. 671–676.
78. Reinhold-Hurek B., Hurek T. *Azoarcus* spp. and their interactions with grass roots // Plant and Soil. 1997. V. 194. № 1–2. P. 57–64.
79. Hurek T., Handley L.L., Reinhold-Hurek B. *Azoarcus* grass endophytes contribute fixed nitrogen to the plant in an unculturable state // Mol. Plant Microb. Interact. 2002. V. 15. № 3. P. 233–242.
80. Silveira A.P.D., Sala V.M.R., Cardoso E.J.B.N., Labanca E.G., Cipriano M.A.P. Nitrogen metabolism and growth of wheat plant under diazotrophic endophytic bacteria inoculation // Appl. Soil Ecol. 2016. V. 107. P. 313–319.
81. Кравченко Л.В. Роль корневых экзометаболитов в интеграции микроорганизмов с растениями: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.07. М., 2000. 51 с.
82. Тихонович И.А., Кожемяков А.П., Чеботарь В.К., Круглов Ю.В., Кандыбин Н.В., Лантев Г.Ю. Биопрепараты в сельском хозяйстве. Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве. М.: ВНИИС-ХМ РАСХН, 2005. 154 с.
83. Тихонович И.А., Завалин А.А., Благовещенская Г.Г., Кожемяков А.П. Использование биопрепаратов – дополнительный источник элементов питания растений // Плодородие. 2011. № 3. С. 9–13.
84. O'kon Y., Inzigo R. The development of *Azospirillum* as a commercial inoculant for improving crop yields // Biotechnol. Adv. 1995. V. 13. № 3. P. 415–424.
85. Molla A., Shamsuddin Z., Saud H. Mechanism of root growth and promotion of nodulation in vegetable soybean by *Azospirillum brasilense* // Commun. Soil Sci. Plant Anal. 2001. V. 32. № 13–14. P. 2177–2187.
86. Лукин С.А., Кожевин П.А., Звягинцев Д.Г. Динамика азоспириллы в ризосфере ячменя и гороха // Микробиология. 1989. Т. 58 № 1. С. 133–146.
87. Tamosiune I., Baniulis D., Stanys V. Role of endophytic bacteria in stress tolerance of agricultural plants: Diversity of microorganisms and molecular mechanisms // Probiotics in Agroecosystem. Singapore: Springer, 2017. 537 p.
88. Лактионов Ю.В., Кожемяков А.П., Яхно В.В., Корчагин В.И., Сумина Н.А. Урожайность и качество сельскохозяйственной продукции при использовании биопрепаратов // Агромир Черноземья. 2013. № 1–2(103). С. 24–25.
89. Ковальская Н.Ю., Лобакова Е.С., Биабани А.Х., Умаров М.М. Паранодуляция корней небобовых растений (на примере *Brassica napus* var. *napus* и *Triticum aestivum*) // Докл. по экол. почвоведению. 2006. № 1. Вып. 1. С. 102–118.
90. Elmerich C., Newton W.E. Associative and endophytic nitrogen-fixing bacteria and cyanobacterial associations. P.O. Box 17, 3300 AA Dordrecht. The Netherlands, 2007. 323 p.
91. Herridge D.F., Peoples M.B., Boddey R.M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems // Plant and Soil. 2008. V. 311. № 1–2. P. 1–18.
92. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М.: Наука, 1968. 531 с.
93. Мишустин Е.Н., Черепков Н.И. Роль бобовых культур и свободноживущих азотфиксирующих микроорганизмов в азотном балансе земледелия // Круговорот и баланс азота в системе почва–удобрение–растение–вода. М.: Наука, 1979. С. 9–18.
94. Кудеяров В.Н., Благодатский С.А., Ларионова А.А. Изменение внутрипочвенных потоков азота при внесении азотных удобрений // Агрохимия. 1990. № 11. С. 47–53.
95. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация. М.: Изд-во МГУ, 1986. 136 с.
96. Ягодина М.С., Ягодин Б.А., Веревкин Е.Л. Интенсивность несимбиотической фиксации атмосферного азота при различных сочетаниях органического вещества, влажности и температуры // Изв. ТСХА. 1979. № 2. С. 71–77.
97. Bremer E., Janzen H.H., Gilbertson C. Evidence against associative N_2 -fixation as a significant N source in long-term wheat plots // Plant and Soil. 1995. V. 175. № 1. P. 13–19.
98. Galal Y.G.M., El-Ghandour I.A., El-Alel E.A. Stimulation of wheat growth and N_2 -fixation through *Azospirillum* and *Rhizobium* inoculation: A field trial with ^{15}N techniques // Plant Nutrition / Eds. Horst W.J., Schenk M.K. 2001. P. 666–667.
99. Клевенская И.Л., Мозжерин Н.М. Актуальная активность азотфиксации и ее искусственная стимуляция // Применение ^{15}N в агрохимических исследованиях. Новосибирск: Наука, СО, 1988. С. 124–125.
100. Гамзиков Г.П., Гамзикова О.И., Широких П.С. Возможности использования нетрадиционных удобрений в сибирском земледелии // Достиж. науки и техн. АПК. 2012. № 3. С. 9–12.
101. Феоктистова Н.В., Марданова А.М., Хадиева Г.Ф., Шарипова М.Р. Ризосферные бактерии // Уч. зап.

- Казан. ун-та. Сер. естеств. науки. 2016. Т. 158. Кн. 2. С. 207–224.
102. *Abeysingha N.S., Weeraratne C.S.* A preliminary study on quantification of biological nitrogen fixation in sugarcane grown in Sevanagala in Sri Lanka // *J. Nat. Sci. Found. Sri Lanka*. 2010. V. 38. № 3. P. 207–210.
 103. *Брей С.* Азотный обмен в растениях / пер. с англ. и предисл. Хавкина Э.Е. М.: Агропромиздат, 1986. 200 с.
 104. *Добровольская Т.Г.* Структура бактериальных сообществ почв. М.: Академкнига, 2002. 282 с.
 105. *Isobe K., Ohte N.* Ecological perspectives on microbes involved in N-cycling // *Microb. Environ.* 2014. V. 29. № 1. P. 4–16.
 106. *Шабаев В.П.* Оптимизация минерального питания зерновых культур и ярового рапса инокуляцией ризосферными бактериями, стимулирующими рост растений // *Агрохимия*. 2011. № 9. С. 29–42.
 107. *Kirizii D.A., Vorobei N.A., Kots S.Ya.* Relationships between nitrogen fixation and photosynthesis as the main components of the productivity in alfalfa // *Rus. J. Plant Physiol.* 2007. V. 54. № 5. P. 589–594.
 108. *Гамзикова О.И.* Генетика агрохимических признаков пшеницы. Новосибирск: СО РАСХН, 1994. 220 с.
 109. *Rennie R.J.* Dinitrogen-fixing bacteria: computer-assisted identification of soil isolates // *Canad. J. Microbiol.* 1980. V. 26. № 11. P. 1275–1283.
 110. *Емцев В.Т., Чумаков М.И.* Об эффективности азотфиксирующего ассоциативного симбиоза у небобовых растений // *Почвоведение*. 1990. № 11. С. 116–126.
 111. *Садыков Б.Ф.* Эколого-социальные аспекты использования биологического азота в агроценозах // *Пограничные проблемы экологии: сб. научн. тр.* Свердловск: УНЦ АН СССР, 1986. С. 76–83.
 112. *Jain D.K., Patriquin D.* Root hair deformation, bacterial attachment and plant growth in wheat. *Azospirillum* associations // *Appl. Environ. Microbiol.* 1984. V. 48. № 2. P. 1208–1213.
 113. *Кунакова А.М.* Взаимодействие ассоциативных ризобактерий с растениями при различных агроэкологических условиях: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07. СПб., 1998. 20 с.
 114. *Mazzola M., Funnell D.L., Raaijmakers J.M.* Wheat cultivar-specific selection of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* species from resident soil populations // *Microb. Ecol.* 2004. V. 48. № 3. P. 338–348.
 115. *Fallik E., Okon Y.* Growth response of maize roots to *Azospirillum* inoculation: effect of soil organic matter content, number of rhizosphere bacteria and timing of inoculation // *Soil Biol. Biochem.* 1988. V. 20. P. 45–49.
 116. *Oik D.C.* A chemical fractionation for structure – function relations of soil organic matter in nutrient cycling // *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 2006. V. 70. P. 1013–1022.
 117. *Бердников В.В.* Влияние удобрений и биопрепаратов на продуктивность яровой пшеницы в условиях республики Марий Эл: Дис. ... канд. с.-х. наук: 06.01.04. Йошкар-Ола, 2002. 163 с.
 118. *Puri G., Asham M.R.* Microbial immobilization of ¹⁵N-labeled ammonium and nitrate in a temperate woodland soil // *Soil Biol. Biochem.* 1999. V. 31. № 6. P. 929–931.
 119. *Садыков Б.Ф.* Биологическая азотфиксация в агроценозах. Уфа: БНЦ УрО АН СССР, 1989. 107 с.
 120. *Михайловская Н.А.* Азоспириллы и их влияние на злаковые культуры // *Почвовед. и агрохим (Республика Беларусь)*. 2015. № 2. С. 167–181.
 121. *Baldani V.L.D., Baldani J.I., Olivares F.L., Döbereiner J.* Identification and ecology of *Herbaspirillum seropedicae* and the closely related *Pseudomonas rubrisubalbicans* // *Symbiosis*. 1992. V. 13. P. 65–73.
 122. *Лекомцев П.В.* Влияние уровня азотного питания и биопрепаратов на формирование продуктивности яровой пшеницы и гороха в чистых и смешанных посевах: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.01.04. М., 2002. 23 с.
 123. *Пасынков А.В.* Агрохимические закономерности формирования продуктивности и качества зерновых культур: Дис. ... д-ра биол. наук: 06.01.04. М., 2004. 435 с.
 124. *Завалин А.А., Благовещенская Г.Г., Чернова Л.С., Шмырева Н.Я.* Управление азотным питанием растений в почве // *Агрохим. вестн.* 2012. № 4. С. 38–40.
 125. *Звягинцев Д.Г.* Проблемы управления азотфиксаторами в ризосфере и ризоплане // *Бюл. ВНИИСХМ. Л.*, 1985. № 42. С. 629.
 126. *Миннибаев Ф.Р.* Азотфиксирующая активность микроорганизмов черноземов и серых лесных почв: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: Уфа, 1990. 23 с.
 127. *Алферов А.А., Чернова Л.С., Кожемяков А.П.* Эффективность применения биопрепарата на яровой пшенице в европейской части России на разных фонах минерального питания // *Рос. сел.-хоз. наука*. 2017. № 6. С. 17–21.
 128. *Алферов А.А., Завалин А.А., Чернова Л.С.* Урожайность и качество зерна яровой пшеницы при инокуляции семян ризоагрином // *Вестн. сел.-хоз. науки*. 2018. № 2. С. 12–16.
 129. *Козлова Ю.Е., Козлова Н.В., Горленко М.В., Умаров М.М.* Структурно-функциональные особенности комплекса микроорганизмов самовосстанавливающейся дерново-подзолистой почвы // *Вестн. МГУ. Сер. 17. Почвоведение*. 2008. № 4. С. 40–45.
 130. *Лобкова В.Т., Бобкова Ю.А.* Влияние органических удобрений и возделываемых культур на азотный режим темно-серой лесной почвы // *Агрохимия*. 2015. № 10. С. 3–9.
 131. *Алферов А.А.* Ассоциативный азот: продуктивность яровых зерновых культур и устойчивость агроэкосистемы // *Динамика изменения показателей плодородия почв и комплекс мер по их регулированию при длительном применении систем удобрения в разных почвенно-климатических зонах. Мат.-лы Международ. научн. конф. / Под ред. Сычева В.Г. М.: ВНИИА, 2018. С. 116–126.*
 132. *Milosevic N., Jarak M.* Značajazotofiksacije u snabdevanjubiljakaazotom (in Serbian) // *Nitrogen – agrochemical, cultural practice, physiological and eco-*

- logical aspects / Ed. Kastori R. Novi Sad: Institute of Field and Vegetable Crops, 2005. P. 305–352.
133. *Алферов А.А.* Влияние агрохимических свойств дерново-подзолистых почв и метеорологических условий вегетационного периода на эффективность применения биопрепаратов и азотного удобрения на яровой пшенице // Сб. научн. докл. Всерос. научн.-практ. конф., посвящ. 125-летию организации “Особой экспедиции лесного департамента по испытанию и учету различных способов и приемов лесного и водного хозяйства в степях южной России”. Воронеж: Истоки, 2017. С. 227–236.
134. *Шотт П.Р., Литвинцев П.А., Литвинцева Т.А., Кожемяков А.П.* Применение препаратов корневых diaзотрофов при возделывании зерновых культур на Алтае // Достиж. науки и техн. АПК. 2010. № 6. С. 29–31.
135. *Волкогон В.В.* Приемы регулирования активности ассоциативной азотфиксации // Бюл. ин-та сел.-хоз. микробиол. Чернигов, 1997. С. 17–19.
136. *Волкогон В.В.* Ассоциативная азотфиксация в корневой зоне представителей семейства злаковых: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07. Киев, 1987. 28 с.
137. *Шафран С.А.* Динамика плодородия почв Нечерноземной зоны и ее резервы // Агрохимия. 2016. № 8. С. 3–10.
138. *Соколов О.А., Семенов В.М., Агаев В.А.* Нитраты в окружающей среде. Пушкино: ОНТИ Центра биологических исследований АН СССР, 1990. 316 с.
139. *Державин Л.М.* Роль химизации и биологизации земледелия в отечественном производстве сельскохозяйственной продукции и обеспечение продовольственной безопасности Российской Федерации // Агрохимия. 2010. № 9. С. 3–18.
140. *Шафран С.А., Прошкин В.А., Духанина Т.М.* Окупаемость калийных удобрений прибавкой урожая зерновых культур на почвах России // Агрохимия. 2012. № 12. С. 31–40.
141. *Шафран С.А.* Влияние типа почв и содержания в них подвижных фосфатов на эффективность фосфорных удобрений // Агрохимия. 2015. № 3. С. 26–33.
142. *Кореньков Д.А.* Агроэкологические аспекты применения азотных удобрений. М.: Агроконсалт, 1999. 296 с.
143. *Шафран С.А., Прошкин В.А.* Влияние агрохимических свойств почв Центрального района на урожайность зерновых культур // Агрохимия. 2008. № 7. С. 1–9.
144. *Прошкин В.А.* Оценка тесноты и достоверности связи прибавки урожайности озимой пшеницы и агрохимических свойств почвы // АгроЭкоИнфо. 2010. № 2. <http://agroecoinfo.narod.ru/journal/STATYI/2010/2/st12doc>
145. *Подколзин А.И.* Эволюция, воспроизводство плодородия почв и оптимизация применения удобрений в агроландшафтах Центрального Предкавказья: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: М., 2008. 46 с.
146. *Прянишников Д.Н.* Избр. тр. М.: Наука, 1976. 591 с.
147. *Лошаков В.Г.* Зеленые удобрения в земледелии России / Под ред. Сычева В.Г. М.: ВНИИА, 2015. 300 с.
148. *Мерзлая Г.Е., Державин Л.М., Завалин А.А., Лошаков В.Г., Ваулина Г.И., Козлова А.В., Яковлева Т.А.* Рекомендации по эффективному использованию соломы и сидератов в земледелии / Под ред. Сычева В.Г. М.: ВНИИА, 2012. 44 с.
149. *Кудеяров В.Н., Соколов М.С., Глинушкин А.П.* Современное состояние почв агроценозов России, меры по их оздоровлению и рациональному использованию // Агрохимия. 2017. № 6. С. 3–11.
150. *Алферов А.А., Чернова Л.С., Завалин А.А., Чеботарь В.К.* Эффективность применения эндофитных биопрепаратов и азотного питания // Вестн. рос. сел.-хоз. науки. 2017. № 5. С. 21–24.
151. *Compant S., Reiter B., Sessitsch A., Nowak J., Clement C., Barka E.A.* Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by a plant growth-promoting bacterium, *Burkholderia* sp. strain PsJN // Appl. Environ. Microbiol. 2005. V. 71. P. 1685–1693.
152. *Алферов А.А., Чернова Л.С.* Влияние сидерата и ризоагрина на продуктивность яровой пшеницы и трансформацию азота удобрения // Кормопроизводство. 2017. № 12. С. 8–11.
153. *Mertens T., Hess D.* Yield increases in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) inoculated with *Azospirillum lipoferum* under greenhouse and field conditions of a temperate region // Plant and Soil. 1984. V. 82. № 1. P. 87–99.
154. *Karimi N., Zarea M.J., Mehnaz S.* Endophytic *Azospirillum* for enhancement of growth and yield of wheat // Environ. Sustainab. 2018. V. 1. № 2. P. 149–158.
155. *Завалин А.А., Кандаурова Т.М., Чернова Л.С.* Влияние препаратов азотфиксирующих микроорганизмов на питание и продуктивность яровой пшеницы // Агрохимия. 1997. № 3. С. 33–40.
156. *Завалин А.А., Кожемяков А.П., Сологуб Д.Б., Зинковская Т.С.* Действие биопрепарата ризоагрина на продуктивность и азотное питание яровой пшеницы // Докл. РАСХН. 2001. № 2. С. 23–25.
157. *Завалин А.А., Пасынков А.В., Пасынкова Е.Н.* Оценка доли влияния различных факторов на формирование урожая и технологические качества зерна растений яровой мягкой пшеницы в условиях Северо-Востока Нечерноземной зоны России // Сел.-хоз. биол. 2003. № 3. С. 89–93.
158. *Завалин А.А., Духанина Т.М., Хусайнов Х.А., Ляличкин О.А., Соколов В.А., Тарасов А.Л., Новоселов С.И., Евдокимова М.А.* Действие удобрений и биопрепаратов на продуктивность сортов ячменя // Агрохимия. 2003. № 1. С. 30–37.
159. *Завалин А.А., Алметов Н.С., Бердников В.В., Благовещенская Г.Г.* Эффективность применения биопрепаратов в севообороте // Агрохимия. 2010. № 6. С. 28–37.
160. *Завалин А.А.* Азотное питание и продуктивность сортов яровой пшеницы. М.: Агроконсалт, 2003. 152 с.
161. *Сологуб Д.Б.* Эффективность применения ризосферных diaзотрофов под зерновые в зависимо-

- сти от содержания органического вещества в почве: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: М., 2005. 22 с.
162. Сержанов И.М., Шайхутдинов Ф.Ш., Нуриев С.Ш., Майоров И.И. Влияние биологических удобрений на урожайность и качество зерна яровой пшеницы в условиях северной части лесостепи // Докл. АПК. 2013. № 9. С. 29–31.
163. Fallik E., Okon Y. Inoculants of *Azospirillum brasilense*: Biomass production, survival and growth promotion of *Setaria italic* and *Zea mays* // Soil Biol. Biochem. 1996. V. 28. № 1. P. 123–126.
164. Consultant.ru>law/hotdocs/48053.html/

Associative Nitrogen Fixation and the Practice of Application of Biological Products in Agricultural Crops

A. A. Zavalin^a, A. A. Alferov^{a,#}, and L. S. Chernova^a

^aAll-Russian Scientific Research Institute of Agrochemistry named after D.N. Pryanishnikov, ul. Pryanishnikova 31a, Moscow 127550, Russia

[#]E-mail: alferov72@yandex.ru

The issues of associative nitrogen fixation, as a form of biological nitrogen fixation and its role in improving the productivity of agricultural lands, effect of fertilizers, agrochemical parameters of soil fertility and meteorological conditions on the efficiency of biological preparations of associative diazotrophs in increasing the yield of spring grain crops and sustainability of agroecosystems were considered. The data on the size of the associative nitrogen fixation in crops, its changes taking into account the reaction of the soil environment, soil humus content, elements of mineral nutrition, humidity and soil temperature were reduced. Describes in historical perspective transforce knowledge about this process. The groups of microorganisms carrying out nitrogen fixation are indicated, the efficiency of application of microbial preparations created on the basis of active strains in crops of agricultural crops is given. The features of the use of nitrogen fertilizers ¹⁵N by plants during inoculation of seeds with biopreparations are revealed, the sources of nitrogen (fertilizer, soil, biological, “extra”) in the formation of the crop are shown, the influence of inoculants on the nitrogen flows in the fertilizer-soil-plants-atmosphere system, the formation of the stability of the agricultural system using various sources of plant nutrition is revealed. The importance of inoculation of seeds with biological products in increasing the yield of crops, involvement of biological nitrogen in agrocenoses, increasing the utilization of nitrogen from mineral fertilizers by plants and increasing their payback by increasing the yield is shown.

Key words: associative nitrogen fixation, practice of application, biological products, agricultural crops.