

И.Э. СМИРНОВА¹, А.К. САДАНОВ¹, Р.Ш. ГАЛИМБАЕВА¹, Х.Д. ДЖАМАНТИКОВ²

¹РГП «Институт микробиологии и вирусологии», г. Алматы

²ТОО «Казахский НИИ рисоводства им. И. Жахаева», г. Кызылорда

РАССОЛЕНИЕ ВТОРИЧНО-ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВ ПРИАРАЛЬЯ НА ОСНОВЕ ПРИМЕНЕНИЯ БИОМЕЛИОРАНТОВ

Аннотация

На основе целлюлолитических бактерий получены биомелиоранты – ферментированные отходы риса. Установлено, что внесение биомелиорантов способствует значительному рассолению вторично-засоленных почв и созданию благоприятных условия для развития растений риса, что положительно сказывается на его урожайности, которая увеличивается на 12,5%.

Ключевые слова: почва, вторичное засоление, целлюлолитические бактерии, твердофазная ферментация, отходы риса

Приаральский регион Казахстана из-за существующих экологических проблем, таких как дефицит водных ресурсов, засоление почв, загрязнение вод пестицидами, гербицидами и другими опасными веществами, неудовлетворительное снабжения населения качественной питьевой водой, деградация пастбищ и пахотных земель (засоление орошаемых земель), гибель тугайных и саксауловых лесов, с 1992 признан года официально зоной экологического бедствия. Одной из главных экологических проблем региона является вторичное засоление земель [1]. Развитию вторичного засоления почв и ухудшению экологической обстановки региона способствует повышение минерализации грунтовых вод. Именно процесс засоления почв является одним из ведущих деградационных процессов на орошаемых землях Приаралья. Нынешнее состояние почв в Приаральском регионе является критическим. Содержание гумуса за последние полвека снизилось на 30-40%, а около 60% посевных площадей содержат менее 1% гумуса [2,3]. В результате вторичного засоления орошаемые земли выходят из сельскохозяйственного оборота, формируя новые пятна солевых пустынь. В настоящее время, выведено более 58,0 тыс. га плодородных земель, которые либо заболочены, либо засолены и покрыты тонкой коркой соли. Площадь непригодных к использованию сильнозасоленных земель только в Кызылординской области составляет более 40 тыс. га или 13,9%, средnezасоленных - около 200 тыс. га (69,4%), слабозасоленных - 43 тыс. га (16,7%). Незасоленные почвы в этом регионе практически отсутствуют. В связи с этим, первоочередной проблемой земледелия Приаралья является мелиорация засоленных почв и возврат в сельскохозяйственный оборот пахотнопригодных земель.

Одним из путей восстановления плодородия засоленных почв является их восстановление на основе применения биомелиорантов, таких как солома, пожнивные остатки и др. Применение биомелиорантов способствует улучшению структуры почвы, снижает засоленность и активизирует микробные почвенные процессы. Существует много научных исследований, посвященных этой проблеме [4-6]. Недостатком этих способов является незначительная деструкция отходов растениеводства в почве и, как следствие, недостаточное снижение щелочного токсикоза растений, культивируемых на вторично-засоленных почвах. Кроме того, деградация целлюлозосодержащих отходов в почве осуществляется представителями спонтанной микрофлоры, образующей токсичные вещества для растений, которые угнетают рост и развитие проростков растений.

Задачей исследования явилось изучение возможности снижения засоленности почв Приаралья путем внесения в почву биомелиорантов (отходов рисового производства), предварительно подготовленных с помощью целлюлолитических бактерий.

Материалы и методы

Объектами исследования служили коллекционные штаммы целлюлолитических бактерий. Культивирование микроорганизмов проводили на жидких средах (среды Гетчинсона, МПБ, РПБ) на качалке при скорости 180-200 об/мин и на твердых питательных средах Гетчинсона, РПА, МПА.

О целлюлазной активности бактерий судили по степени гидролиза фильтровальной бумаги и по диаметру зон гидролиза твердой среды с 0,1% Na-КМЦ после окрашивания раствором конго-рот и соответственного пересчета, выражали в ед/мл [7]. Общую целлюлазную активность определяли методом Мандельс-Вебера [8].

Исследование наличия или отсутствия антагонизма между культурами проводили по методу Егорова [9].

Твердофазную ферментацию целлюлозосодержащих отходов растениеводства проводили по типу силосования. Целлюлолитические бактерии использовали в качестве биозаквасок. Измельченное сырье смачивали водой до конечной влажности 60-65% и вносили суспензию целлюлолитических бактерий. Массу тщательно перемешивали, утрамбовывали и герметично укупоривали. После 30-суточной инкубации полученный продукт оценивали по органолептическим и биохимическим показателям [10].

Статистическую достоверность полученных результатов определяли по коэффициенту Стьюдента для доверительной вероятности $p < 0,01$.

Результаты и их обсуждение

Подготовку отходов рисового производства (рисовой соломы или шелухи) проводили методом твердофазной ферментации с применением специально отселекционированных штаммов целлюлолитических бактерий. Жидкую культуру бактерий для инокуляции целлюлозосодержащего сырья выращивали в колбах со средой Гетчинсона с 2% рисовой соломы до концентрации 10^7 - 10^8 кл/мл. Далее разводили суспензию водопроводной водой до концентрации 10^3 кл/мл и проводили обработку рисовой соломы или шелухи.

Модельные опыты показали возможность регуляции кислотно-щелочного баланса почвы за счет внесения ферментированных отходов рисового производства. В таблице 1 представлены данные о влиянии обработки целлюлолитическими бактериями на биохимические показатели ферментированной в анаэробных условиях рисовой соломы. В качестве контроля использовали рисовую солому без инокуляции целлюлолитическими бактериями.

Из данных таблицы следует, что обработка штаммами целлюлолитических бактерий существенно влияет на разложение целлюлозы. Так, если в контроле содержание целлюлозы составляло 38,2%, гемицеллюлоз - 27,7%, то при обработке рисовой соломы бактериями содержание целлюлозы снизилось до 26,9 и 23,3%, гемицеллюлоз - до 17,4-13,2%. Полученные данные свидетельствуют об интенсивном размножении бактерий и активной утилизации ими целлюлозы.

Также установлено существенное увеличение количества молочной и уксусной кислот при одновременном снижении концентрации масляной кислоты по сравнению с контрольным вариантом. Полученная ферментированная рисовая солома имеет значительно более низкое значение pH (4,5-4,7), чем контрольный вариант (pH 6,7). Внесение в пахотный горизонт соломы, ферментированной с помощью целлюлолитических бактерий, помимо увеличения количества целлюлолитических бактерий, благоприятно влияющих на почвенные процессы и микрофлору засоленных почв, способствует снижению засоленности вторично-засоленных почв.

Таблица 1 - Влияние целлюлолитических бактерий на биохимические показатели ферментированной рисовой соломы

Показатель	рН	Целлюлоза, %	Гемицеллюлозы, %	Органические кислоты, %				
				свободные			связанные	
				молочная	уксусная	масляная	уксусная	масляная
Контроль	6,7	38,2	27,7	0,32	0,86	0,36	0,62	0,41
Рисовая солома + штамм №1	4,7	26,9	17,4	1,4	0,56	0,03	0,25	0,12
Рисовая солома + штамм №2	4,5	23,3	13,2	1,5	0,58	0,01	0,23	0,10

Это связано с тем, что полученное сырье имеет кислое значение рН (4,5-4,7), при внесении его в почву происходит реакция нейтрализации избыточной щелочность почв. Поскольку штамм №2 зарекомендовал себя как наиболее эффективный по степени утилизации целлюлозы и уровню накопления органических кислот, дальнейшие исследования продолжили с этим штаммом.

Изучение влияния ферментированной соломы на процессы транзитного выноса токсичных солей из пахотного горизонта проводили на территории Караултубинского опытно-производственного хозяйства Кызылординской области на сильнозасоленной такыровидной почве (сумма ионов солей составляет 24,3 г/л). Ферментацию рисовой соломы проводили описанным выше способом, затем проводили запашку соломы в почву в количестве 2 т/га под культуру риса. В качестве контроля был использован вариант без внесения соломы. Полученные данные представлены в таблице 2.

Мелиоративное действие ферментированной соломы выражается в существенном повышении минерализации почвенных фильтратов. Данные, приведенные в таблице 2, свидетельствуют о том, что ферментированная солома, взаимодействуя с почвой, повышает щелочность среды, закрепляя анион SO_4^{2-} и катионы Ca^{2+} , а также способствует транзитному выносу солей растворимых соединений, токсично влияющих на рост и развитие растений риса. Так, общая щелочности среды в HCO_3^- возростала относительно контроля в 1,5 раза, относительно варианта, где была внесена солома без ферментации - в 1,7 раза, общая сумма солей увеличилась по сравнению с контролем в 2 раза, с вариантом, где использовали не ферментированную солому в 1,5 раза.

Эти показатели свидетельствует о положительном сдвиге значения рН почвы в нейтральную сторону, то есть внесение ферментированной соломы в засоленную почву способствует ее значительному рассолению и созданию благоприятных условия для развития растений.

Таблица 2 - Минерализация почвенных фильтратов при внесении ферментированной соломы под рис (20-й день опыта)

Варианты опыта	Сумма солей, %	Анионы (М. экв)			Катионы (М. экв)		
		Щелочность общая в HCO_3^-	Cl^-	SO_4^{2-}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	$Na^+ + K^+$ по разности
Контроль	2,429	46,0	27,8	28,0	54,0	28,0	35,0
Солома	3,502	41,0	34,7	28,0	82,0	15,4	34,0
Солома + штамм №2	5,082	70,0	27,8	18,00	36,4	11,0	46,0

Культивирование риса сорта «Маржан» на засоленных почвах с внесением ферментированных отходов риса показало, что их применение оказывает высокое положительное влияние на урожайность риса. В таблице 3 представлены результаты влияния ферментированных отходов на структуру и урожай риса.

Таблица 3 - Влияние ферментированных отходов на структуру урожая риса

Вариант	Всхожесть семян, %	Густота всходов, шт./м ²	Кустиность (число стеблей на одно растение), шт.	Озерненность метелок, шт.	Масса 1000 шт. зерен, г	Урожай, г/сосуд
Контроль	53	74	1,0	95,8	28,0	24,0
Солома	49	71	1,2	103,3	30,4	36,7
Солома + штамм № 2	65	83	1,4	117,2	32,2	41,3

Исследование структуры урожая показало, что за счет повышения кустиности растений, озерненности метелок и увеличения массы зерна, формируется повышенный урожай риса. При этом урожайность риса увеличивается в 1,5 раза по сравнению с контролем и на 12,5 % по сравнению с вариантом, где использовали солому без ферментации. Отмечено улучшение качества урожая за счет снижения количества пустых и неполноценных зерен риса.

Таким образом, внесение биомелиорантов (ферментированных отходов риса), полученных с помощью целлюлолитических бактерий, в сильнозасоленную почву приводит к активизации микробных почвенных процессов, создает условия для транзитного выноса солей растворимых соединений, токсично действующих на рост и развитие растений риса, нормализует pH засоленных почв. Все это способствует значительному рассолению почв и созданию благоприятных условия для развития растений риса и положительно сказывается на его урожайности.

Литература:

- 1 Рекс Л.М. Системные исследования мелиоративных процессов и систем. М.: Алан, 2005. - 97 с.
- 2 Аверьянов С.Ф. Борьба с засолением орошаемых земель. - М.: Колос, 1998. - 43 с.
- 3 Добровольский Г.В., Васильевская В.Д., Зайдельман Ф.Р., Звягинцев Д.Г. и др. Факторы и виды деградации почв // Деградация и охрана почв. - М.: Мир, 2002. - С. 33-60.
- 4 Зайдельман Ф.Р. Мелиорация почв. - М.: МГУ, 2006. - 87 с.
- 5 Камара Кордова Х., Куст Г.С. Современное состояние и развитие почв и ландшафтов дельтовых территорий района Сентла (Штат Табаско, Мексика). // Почвоведение. - 2006. - №10. - С. 41-48.
- 6 Ed. M. Ajmal Khan, Benno Boer, German S.Kust, Hans-Jorg Barth // Sabkha Ecosystems. Volume II: West and Central Asia. Springer. Netherlands. - 2006. - 259 p.
- 7 Толченев А. А., Зубов Д. В., Сергеева А. В. Программные системы: теория и приложения. Переславль-Залесский.: Наука. - 2009. - 216 с.
- 8 Mandels M., Weber W. The production of cellulose //Adv. Chem. Ser. - 1996. - Vol.112. - P.395-434.
- 9 Егоров Н.С. Метаболизм микроорганизмов. - М.:МГУ, 1980. - 256 с.
- 10 Лукашик Н.А., Тащилин В.А. Зоотехнический анализ кормов. - М.: Наука, 1968. - С.106-120.

Түйін

И.Э.СМИРНОВА¹, А.К.САДАНОВ¹, Р.Ш.ГАЛИМБАЕВА², Х.Д. ДЖАМАНТИКОВ²

¹РМК «Микробиология және вирусология институты» ҚР БҒМ ҒК, Алматы қ.

²«Ы.Жақаев атындағы Қазақ ҒЗИ» ЖШС, Қызылорда қ.

11

БИОМЕЛИОРАНТТАРДЫ ҚОЛДАНУ НЕГІЗІНДЕ ЕКІНШІЛІК ТҰЗДАНҒАН АРАЛ МАҢЫ ТОПЫРАҚТАРЫН ТҰЗСЫЗДАНДЫРУ

Целлюлолитикалық бактериялар негізінде күріштің ферментативті қалдықтары биомелиоранттар алынды. Биомелиоранттарды енгізу нәтижесінде екіншілік тұзданған топырақтарды тұзсыздандыруға және күріштің дамуы үшін қолайлы жағдай туғызып, өнімділігіне оңды әсер беріп, 12,5% жоғарлағандығы нақтыланды.

Кілт сөздері: екіншілік тұзданған топырақтарды, целлюлолитикалық бактериялар, қоқыс күріштің

I.E.SMIRNOVA¹, A.K.SADANOV¹, R.SH.GALIMBAYEVA¹, H. DZHAMANTIKOV²

¹SNE "Institute of Microbiology and Virology", SK MES RK Almaty

² "Kazakh Research Institute of Rice", Kyzylorda

DESALINIZATION SECONDARY SOIL SALINITY ARAL SEA REGION ON THE BASIS OF BIOMELIORANTS

Summary

On the basis of cellulolytic bacteria obtained biomeliorants - fermented wastes of the rice. Found that the introduction of biomeliorants contributes significantly desalinization secondary saline soils and the creation of favorable conditions for the development of the rice, which positively affects their productivity (12,5%).

Key words: soil salinity, cellulolytic bacteria, solid-state fermentation, waste rice

Aral Sea region in Kazakhstan region due to existing environmental problems such as water scarcity, soil salinity, water pollution with pesticides, herbicides and other hazardous substances, inadequate supply of quality drinking water, degradation of pastures and arable land (salinity of irrigated lands), the loss of riparian and saxaul. Since 1992 was officially recognized, as a ecological disaster zone. One of the major environmental problems in the region is the secondary salinity [1]. Development of secondary salinity and deterioration of the environmental situation in the region contributes to increasing groundwater salinity. It is the process of soil salinity is one of the leading degradation processes on irrigated soils Aral Sea region. The current state of the soil in the Aral Sea region is critical. Humus content of the soil in the last half-century has decreased by 30-40%, and about 60% of cultivated areas contain less than 1% of humus [2, 3]. As a result, secondary salinity of irrigated land out of agricultural use new spots forming salty empty. Currently, more derived 58,0 thousand hectares of fertile lands that are either waterlogged or saline and covered with a thin crust of salt. Area unusable strongly saline lands only in Kyzylorda region is more than 40 thousand hectares, or 13,9%, medium saline - about 200 thousand hectares (69,4 %), slightly saline - 43 thousand hectares (16,7%). Non-saline soil in this region is practically absent. In this regard, the primary problem is

agriculture Aral Sea region reclamation of saline soils and return to the agricultural use of arable land.

One of the ways to restore the fertility of saline soils is their recovery through the application biomeliorants such as straw, crop residues, etc. Application biomeliorants improves soil structure, reduces salinity and activates microbial soil processes. There is a lot of research on this problem [4-6]. The disadvantage of these methods is a minor crop waste destruction in the soil and, consequently, the lack of toxicity reduction alkali plants cultivated on secondary saline soils. In addition, the degradation of cellulose wastes in soil carried out by representatives of spontaneous microflora forming toxic substances for plants that inhibit the growth and development of plant seedlings.

Task of our study was to investigate the possibility of reducing the salinity in the Aral Sea region by making the soil biomeliorants (waste rice production), previously prepared with the help of cellulolytic bacteria.

Materials and methods

Objects of study were strains of cellulolytic bacteria. Cultivation of microorganisms were performed on liquid media (medium Hutchinson, meat and fish peptone mediums) on a shaker at a speed of 180-200 r/min and solid media Hutchinson, meat and fish peptone mediums.

On bacterial cellulase activity was appreciated by the degree of hydrolysis of filter paper , and the diameter of zones of hydrolysis of the solid medium with 0,1% Na- CMC after staining with Congo-red solution and the respective mouth, conversion is expressed in units per ml [7]. Total cellulase activity was determined using Mandels –Weber method [8].

Investigation of the presence or absence of antagonism between the cultures performed Egorov method [9].

Solid-state fermentation of cellulose waste carried by type of crop silage. Cellulolytic bacteria used as bio starters. The crushed raw material is wetted with water to a final moisture content of 60-65 % and cellulolytic bacteria suspension were added. The mass was mixed thoroughly, and hermetically sealed at rammed. After 30 day incubation, the resultant product was evaluated by the organoleptic and biochemical characteristics [10].

Statistical reliability of the results was determined by Student's coefficient for a confidence level of $p < 0,01$.

Results and Discussion

Preparation of waste rice production (rice straw or husks) was performed by solid-state fermentation using specially selected strains of cellulolytic bacteria. Liquid cultures of bacteria for inoculation was grown in the cellulose raw material with a medium Hutchinson flasks with 2% concentration of rice straw before 10^7 - 10^8 cell/ml. Next, the suspension was diluted with tap water to a concentration processing was performed and 10^3 cell/ml straw or rice husks.

Model experiments have shown the possibility of regulation of acid-base balance of the soil by introducing waste fermented rice production. Table 1 presents data on the effect of treatment with cellulolytic bacteria on biochemical indices of anaerobic fermented rice straw. As a control, rice straw without inoculation cellulolytic bacteria.

Table 1 - Effect of cellulolytic bacteria on biochemical parameters of fermented rice straw

Variants	pH	Cellulose, %	Hemycel- luloses, %	Organic acids, %				
				availability			related	
				lactic	acetic	butyric	acetic	butyric
Control	6,7	38,2	27,7	0,32	0,86	0,36	0,62	0,41
Rice straw + strain №1	4,7	26,9	17,4	1,4	0,56	0,03	0,25	0,12
Rice straw + strain №2	4,5	23,3	13,2	1,5	0,58	0,01	0,23	0,10

From the table 1 it follows that treatment with cellulolytic bacteria strains significantly affects the degradation of cellulose. So if the control cellulose content was 38,2%, hemicelluloses – 27,7 %, while the processing of rice straw bacteria cellulose content decreased to 26,9 and 23,3 %, hemicelluloses - to 17,4 – 13,2%. The findings suggest that intensive breeding of bacteria and active utilization of cellulose. Also, it was found a significant increase in lactic acid and acetic acid while reducing the concentration of butyric acid as compared to the control. The resulting fermented rice straw is significantly lower pH (4,5-4,7) than the control variant (pH 6,7). Adding to the arable horizon straw fermented using cellulolytic bacteria, in addition to increasing the number of cellulolytic bacteria favorably affect soil processes and saline soil microflora, will help to reduce salinity secondary saline soils. This is due to the fact that the resultant material has the acidic pH (4,5-4,7) at its entering the neutralization reaction will be excessive alkalinity of the soil. Since the strain number 2 has established itself as the most effective at raising the level of utilization of cellulose and the accumulation of organic acids, further studies continued with this strain.

Study of the influence of fermented straw processes transit removal of toxic salts of the plow horizon was carried out on the territory of Karaultyubinsk experimental industrial enterprise Kyzylorda region on strongly takyr soil (amount of salt ions is 24,3 g/l). Rice straw fermentation method described above was performed, and then carried into the soil tillage straw in an amount of 2 tons per ha of rice crop. As a control was used without making straw without inoculation. Obtained results presented in table 2.

Ameliorative effect of fermented straw reflected in a substantial increase mineralization of soil liquors. The data shown in table 2 indicate that the fermented straw, interacting with the soil, increases alkalinity environment, consolidating anion SO_4^{2-} and cations Ca^{2+} , and also promotes transit removal of salts soluble compounds, toxic impact on growth and development rice plants. Thus, the total alkalinity in HCO_3^{-} increased relative to control 1,5 times, on the option, where it was introduced not fermented straw – 1,7 times the total amount of salt increased compared with the control in 2 times, to one that was used not fermented straw 1,5.

These figures indicates a positive shift of the pH of the soil in a neutral party, the introduction of fermented straw in saline soils significantly contributes to its desalination and create favorable conditions for the development of plants.

Table 2 - Mineralization of soil liquors when making fermented rice straw under (the 20th day of the experiment)

Variants	Sum of salt, %	Anions (M. eq)			Cations (M.eq)		
		General alkalinity, HCO_3^{-}	Cl^{-}	SO_4^{2-}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	$Na^{+}+K^{+}$ in difference
Control	2,429	46,0	27,8	28,0	54,0	28,0	35,0
Rice straw	3,502	41,0	34,7	28,0	82,0	15,4	34,0
Rice straw + strain №2	5,082	70,0	27,8	18,00	36,4	11,0	46,0

Cultivation of rice variety of "Marjan" in saline soils with the introduction of rice fermenting wastes showed that their use has a high positive impact on the productivity of rice. table 3 shows the results of the effect on the structure of the fermented waste and rice crops.

Table 3 - Effect of fermented waste rice crop structure

Variant	Germination seeds, %	Density of seedlings/ m^2	Bushiness (number of stems per plant), pcs.	Panicle grain content, pcs.	Weight of 1000 grains, g	Grain harvest, g/container
Control	53	74	1,0	95,8	28,0	24,0
Rice straw	49	71	1,2	103,3	30,4	36,7
Rice straw + strain №2	65	83	1,4	117,2	32,2	41,3

Investigation of the structure harvest showed that by increasing bushiness plants, grain content of panicles and grain weight increase, increased rice crop is formed. Thus, rice yield increased by almost 1,5 times compared to control and by 12,5% in comparison with the case where the straw was used without fermentation. The improvement of crop quality by reducing the number of empty and defective grains of rice.

Thus, the introduction biomeliorants (fermented rice wastes) obtained by cellulolytic bacteria, strongly saline soils leads to the activation of microbial soil processes, creates the conditions for transit of salt removal of soluble compounds, toxic effects on growth and development of rice plants, and normalizes the pH of saline soil. All this contributes to significant soil desalinate and create favorable conditions for the development of the rice plants and its positive impact on productivity.

References:

- 1 Rex L. System studies of reclamation processes and systems. M.: Alan, 2005. - 97 p.
- 2 Aver'yanov SF Salinity control of irrigated land. - Moscow: Kolos, 1998. - 43 p.
- 3 Dobrovolsky G.V., Vasilyevskaya V.D., Zaydelman F.R., Zvyagintsev D.G. et al. Factors and types of soil degradation // Degradation and soil conservation. - New York: Wiley, 2002. - P. 33-60.
- 4 Zaydelman F.R. Soil improvement. - Moscow: Moscow State University. - 2006. - 87 p.
- 5 Cordoba H. Camara, Bush G.S. Current state and development of soil and land- Shafts deltaic areas Sentla District (State of Tabasco, Mexico) // Soil Science. - 2006. - № 10. - P. 41-48.
- 6 Ed. M. Ajmal Khan, Benno Boer, German S. Kust, Hans-Jorg Barth // Sabkha Ecosystems. Volume II: West and Central Asia. Springer. Netherlands, 2006. - 259 p.
- 7 Tolchenov A.A., Zubov D., Sergeev A.V/ Software Systems: Theory and Applications .Pereslavl.: Science. - 2009. - 216 c.
- 8 Mandels M., Weber W. The production of cellulose // Adv. Chem. Ser. - 1996. - Vol. -112. - P.395-434.
- 9 Egorov N.S.The metabolism of microorganisms. - Moscow: Moscow State University, 1980. - 256 p.
- 10 Lokashic N.A., Tashchilin V.A. Zootechnical feed analysis. - Moscow: Nauka, 1968. - P.106 - 120.