



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) KZ (13) A4 (11) 27624

(51) C05F 11/08 (2006.01)

C12N 1/22 (2006.01)

C12S 3/04 (2006.01)

КОМИТЕТ ПО ПРАВАМ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ИННОВАЦИОННОМУ ПАТЕНТУ

(21) 2013/0303.1

(22) 11.03.2013

(45) 15.11.2013, бюл. №11

(72) Саданов Аманкелди Курбанович; Смирнова Ирина Эльевна; Джамантиков Хасый; Галимбаева Рамиля Шариповна; Кузнецова Татьяна Валерьевна

(73) Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения "Институт микробиологии и вирусологии" Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан

(56) SU 1740358 A1, 15.06.1992

(54) **БИОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ МЕЛИОРАЦИИ ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВ ПОД КУЛЬТУРУ РИСА**

(57) Изобретение относится к сельскому хозяйству, преимущественно, к способу почвенной технологии восстановления плодородия вторично засоленных почв.

Способ включает внесение и запашку в пахотный горизонт ферментированных отходов рисопроизводства и отличается тем, что для ускорения процесса рассоления почвы используют штамм целлюлолитических бактерий *Bacillus cytaseus* ИМиВ В - 52 в дозе 10^3 клеток на 1 г рисовой соломы или шелухи. Внесение ферментированных отходов рисового производства, полученных с помощью целлюлолитических бактерий *Bacillus cytaseus* ИМиВ В-52, в

сильнозасоленную почву приводит к активизации микробных почвенных процессов и создает условия для транзитного выноса солей растворимых соединений, токсично действующих на рост и развитие растений риса. Мелиоративное действие ферментированной соломы выражается в существенном повышении минерализации почвенных фильтратов, при этом общая щелочности среды возрастает относительно контроля в 1,5-1,7 раза, общая сумма солей увеличивается по сравнению с контролем в 2 раза. Использование способа приводит к повышению плодородия почв, при этом прирост гумуса к контролю составляет 4,09 - 4,87% и положительно влияет на показатели структуры урожая, увеличивая всхожесть семян до 65%, кустистость растений (1,4), озерненность метелок (117,2 шт.) и общую массу 1000 шт. зерен (32,2 г), что положительно сказывается на урожайности риса, которая возрастает в 1,9 раза по сравнению с контролем. Применение данного способа экологически безопасно и соответствует требованиям охраны окружающей среды, поскольку не приводит к загрязнению почвы и нарушению биологического равновесия, так как целлюлолитические бактерии являются полезными представителями микрофлоры почвы, участвующими в процессах повышения почвенного плодородия.

(19) KZ (13) A4 (11) 27624

Изобретение относится к сельскому хозяйству, преимущественно, к способу почвенной технологии восстановления плодородия вторично засоленных почв.

Известен способ мелиорации вторично засоленных почв путем весенней заделки соломы. Недостатком этого метода является незначительная деструкция соломы в почве и, вследствие этого, недостаточное снижение щелочного токсикоза растений, культивируемых на вторично засоленных почвах. Кроме того, деградация соломы в почве осуществляется представителями спонтанной микрофлоры, образующей токсичные вещества для растений, угнетающие рост и развитие проростков риса.

Известен способ мелиорации солонцовых почв в условиях орошения, основанный на выращивании озимых сельскохозяйственных культур, преимущественно пшеницы, с последующей уборкой зерна, разбрасыванием измельченной соломы и заделкой ее в поверхностный слой почвы (Мелихов В.В. и др. SU №2297128, опубл. 20.04.2007). Недостатком этого способа является то, что после запахивания соломы дополнительно вносятся азотные удобрения и химический мелиорант - аммонизированный фосфогипс, что значительно удорожает способ мелиорации засоленных почв.

Наиболее близким по технической сущности к предлагаемому изобретению является способ мелиорации засоленных почв под культуру риса, основанный на применении бактерий, способных деградировать целлюлозу (Нелидов С.Н., Саубенова М.Г., Смирнова И.Э. SU №1740358, опубл. 15.06.92). Недостатком этого способа является то, что инокуляцию соломы бактериями проводят непосредственно перед запашкой и процесс деградации целлюлозы осуществляется в почве и поэтому он существенно замедлен, что значительно снижает процессы рассоления почв и эффективность применения способа.

Сущностью настоящего изобретения является разработка способа ускорения рассоления почв путем активации микробных почвенных процессов и предотвращение гибели растений риса от солевого токсикоза.

Поставленная задача решается путем внесения в почву предварительно подготовленных отходов рисового производства - рисовой соломы или шелухи. Подготовка отходов проводится путем твердофазной ферментации по типу силосования с помощью штамма целлюлолитических бактерий *Bacillus cytaseus* ИМиВ В-52 в анаэробных условиях. Штамм *Bacillus cytaseus* ИМиВ В-52 депонирован в коллекции Института микробиологии и вирусологии МОН РК. Копия справки о депонировании прилагается.

Характеристика штамма

Штамм выделен из разлагающейся древесины с последующей селекцией активного варианта на жидких и твердых средах.

Грамположительные палочки 2,6×0,4 - 5,2×0,7 мкм, располагаются поодиночке, парами и

короткими цепочками. Перетрих. Центально-расположенные овальные споры 0,4-0,7 мкм в диаметре, форма клеток при спорообразовании не изменяется. Колонии белые или светло-серые, от гомогенных до зернистых. Край приподнятый. Факультативный анаэроб. Растет в широком диапазоне значений pH (4,0-9,0), лучше в нейтральном, хорошо развивается и в кислой среде. Температура роста от 15 до 45°C и выше, с оптимумом 28-30°C. Споры термостойки. Штамм не токсичен и не патогенен для человека и животных.

Рост на синтетических средах хороший.

Рост на МПА: колонии круглые, поверхность складчатая, край лопастной или волнистый. Цвет колонии белый или светло-серый, колонии непрозрачные, пигмент в среду не выделяется. Структура колоний от гомогенной до зернистой, консистенция тестообразная.

Физиолого-биохимические признаки штамма

Использует следующие углеводы: глюкозу, декстрозу, мальтозу, фруктозу с образованием кислот, а также арабинозу, галактозу, ксилозу, лактозу, сахарозу, маннит с подщелачиванием среды.

Крахмал гидролизует, аммиак образует, индол и сероводород не образует. Желатину разжижает. Нитраты восстанавливает до нитритов. Дает положительную реакцию на каталазу. Вызывает подщелачивание и протеолиз молока.

Растет на синтетических средах, используя в качестве источника азота нитраты, нитриты, аммонийные соли, не требует внесения в среду витаминов или других факторов роста. Хорошо растет на белковых формах азота и пептоне. Может расти на безазотистых средах, фиксируя молекулярный азот атмосферы.

Штамм синтезирует целлюлолитические ферменты: эндо-1,4 β-глюканазу - 7-8 ед/г, целлобиазу - 36-38 ед/г.

Активность целлюлоз определяют по образованию редуцирующих сахаров под действием ферментов на целлюлозосодержащие субстраты модифицированным методом Шомоди-Нельсона (Клесов и др., 1980).

Культуру выращивают и хранят на косяках с 0,7% соломенного агара. Температура хранения +5°C, пересев через 3 месяца. Для культивирования штамма используют среды МПА или Гетчинсона. Состав среды Гетчинсона (г): K₂HPO₄-1,0; CaCl₂-0,1; MgSO₄-0,3; NaNO₃-2,5; NaCl-0,1; FeCl₃-0,01; глюкоза-10; дрож. экстракт- 1,0; вода водопр.-1 л. Температура 28-30°C, время культивирования 24 ч.

Сущность изобретения поясняется следующим конкретным примером.

Пример 1. Проведенные модельные опыты показывают возможность регуляции кислотно-щелочного баланса почвы за счет внесения ферментированных отходов рисового производства. Жидкую культуру бактерий *Bacillus cytaseus* ИМиВ В-52 для инокуляции выращивают в колбах со средой Гетчинсона с 2% рисовой соломы до концентрации 1×10⁸ клеток/мл. Обработку отходов проводят из расчета 10³ клеток на 1 г рисовой

соломы или шелухи. В сосуды помещают инокулированную бактериями солому или шелуху с влажностью 65% и плотно утрамбовывают. Через 25-30 дней анаэробной ферментации получают ферментированные отходы.

В таблице 1 представлены данные о влиянии инокуляции целлюлолитическими бактериями на биохимические показатели ферментированной в анаэробных условиях рисовой соломы. В качестве контроля использовали рисовую солому без инокуляции целлюлолитическими бактериями, в качестве прототипа использовали штамм *Cellulomonas effusa* 60CS. После 30 дней инкубации в анаэробных условиях деградация целлюлозы увеличивалась по сравнению с обработкой штаммом прототипом 60CS на 13,4%, а гемицеллюлозы на 24%. Показано, что количество молочной уксусной кислот возрастает по сравнению со штаммом прототипом при одновременном снижении концентрации масляной кислоты.

Пример 2.

Изучение влияния ферментированных отходов риса на процессы транзитного выноса токсичных солей из пахотного горизонта проводили на территории Караултюбинского опытно-производственного хозяйства Кызылординской области на сильнозасоленной такыровидной почве (сумма ионов солей составляет 24,3 г/л). Рисовую солому и шелуху ферментируют как в примере 1. Далее проводят весеннюю запашку отходов в количестве 2 т/га. В качестве контроля брали вариант опыта без внесения соломы. 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^- возрастала относительно контроля в 1,5 раза, относительно варианта, где была внесена не ферментированная солома - 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 свидетельствуют о положительном сдвиге значения pH почвы в нейтральную сторону.

Внесение ферментированной соломы риса положительно сказывается на почвенном плодородии. Прирост гумуса в почве к контролю составляет при использовании ферментированной рисовой шелухи (4,87%) и рисовой соломы (4,09%).00

Пример 3.

Применение ферментированных отходов риса в полевых условиях оказывает положительное влияние на урожайность риса. Внесение ферментированных отходов рисового производства проводили как в примере 2. В таблице 4 представлены результаты положительного влияния ферментированных отходов на урожайность риса. Показано, что высокая урожайность риса формируется за счет повышения кустистости растений, озерненности метелок и увеличения массы зерна. Отмечено улучшение качества урожая за счет снижения количества пустых и неполноценных зерен риса.

Таким образом, внесение ферментированных отходов рисового производства, полученных с помощью целлюлолитических бактерий *Bacillus cytaseus* ИМиВ В-52 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, снижает pH почвы, повышает плодородие почв и положительно влияет на урожайность риса.

Фигура 1

Влияние обработки бактериями на биохимические показатели ферментированной рисовой соломы

Показатель	pH	Целлюлоза, Гемицеллюлозы		Органические кислоты, %				
		%	%	свободные			связанные	
				молочная	уксусная	масляная	уксусная	масляная
Контроль	5,6	38,2	27,7	0,32	0,86	0,36	0,62	0,41
Рисовая солома + штамм 60CS (прототип)	5,0	26,9	17,4	1,4	0,56	0,03	0,25	0,12
Рисовая солома + штамм ИМиВ В- 52	4,8	23,3	13,2	1,5	0,58	0,01	0,23	0,10

Фигура 2

Минерализация почвенных фильтратов при внесении под рис соломы, ферментированной со штаммом *Bacillus cytaseus* ИМиВ В-52 (данные на 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+}	$\text{Na}^+ + \text{K}^+$ по разности
Контроль	2,429	46,0	27,8	28,0	54,0	28,0	35,0

Варианты опыта	Сумма солей, %	Анионы (М. экв)			Катионы (М. экв)		
		Щелочность общая в HCO_3^-	Cl^-	SO_4^{2-}	Ca^{2+}	Mg^{2+}	$\text{Na}^+ + \text{K}^+$ по разности
Солома	3,502	41,0	34,7	28,0	82,0	15,4	34,0
Солома + штамм ИМиВ В-52	5,082	70,0	27,8	18,00	36,4	11,0	46,0

Фигура 3

Влияние ферментированных отходов риса на содержание гумуса в почве

Варианты опыта	Содержание гумуса, %			Прирост к контролю, %
	исходное	фаза восковой спелости риса	после уборки риса	
Контроль	1,170	1,182	1,194	1,02
Ферментированная солома риса	1,170	1,220	1,270	4,09
Ферментированная шелуха риса	1,170	1,230	1,294	4,87

Фигура 4

Влияние ферментированных отходов на урожайность риса сорта «Маржан»

Вариант	Всхожесть семян, %	Густота всходов, шт/м ²	Кустиность (число стеблей на одно растение)	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 ИМиВ В-52	65	83	1,4	117,2	32,2	46,5

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Биологический способ мелиорации засоленных почв под культуру риса, включающий внесение и заправку в пахотный горизонт ферментированных отходов рисопроизводства, *отличающийся* тем, что для ускорения процесса рассоления почвы,

увеличения выживаемости растений и повышения урожайности риса для ферментации отходов риса используют штамм целлюлолитических бактерий *Bacillus cytaseus* ИМиВ В-52 в дозе 10^3 клеток на 1 г рисовой соломы или шелухи.