

### МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ УДОБРЕНИЙ

Т.А. Карепина, к.б.н., Н.А. Лисицина, Э.А. Муравин, д.б.н., РГАУ-МСХА, В.А. Литвинский, ВНИИА

*Изучено состояние микробного сообщества тяжелой дерново-подзолистой почвы, типичной для Нечерноземья, при учете длительного последствия – на протяжении 19 ротаций четырехпольного севооборота с клеверным паром, применением органической и минеральной системы удобрения, а также периодического известкования.*

*Выявлены вполне определенные закономерности изменения численности и активности изучавшихся физиологических групп микроорганизмов, обусловленные изменением агрохимических свойств почвы под влиянием агрохимических факторов.*

*Ключевые слова:* микробиологическое сообщество, длительный полевой опыт, ДАОС.

Полевой опыт является наиболее репрезентативным методом тестирования различных идей и концепций на пути их внедрения в производство. Наиболее ценные результаты научных исследований получают в длительных стационарах. Их значимость возрастает по мере приближения опытного участка к устойчивому экофитоценоотическому равновесию. В условиях стационара аккумулируется во времени действие, взаимодействие и последствие агротехники и стрессовых природных условий и изучаемых факторов. Это позволяет решать проблемы земледелия и экологии в специфических для конкретной климатической зоны условиях. Влияние многих факторов биотопа, приемов агротехники на плодородие почвы и продуктивность растений становится очевидным лишь по истечении десятков лет. Поэтому длительные многофакторные опыты незаменимы также для целей образования в качестве демонстрационного материала и «живых учебных пособий» [1].

Длительные полевые опыты с удобрениями и другими средствами химизации Геосети ВНИИА занимают важное место в системе комплексного почвенно-агрохимического и агроэкологического мониторинга плодородия почв земель сельскохозяйственного назначения. По результатам исследований на базе полевых опытов Геосети формируется надежный банк данных для оценки и прогнозирования почвенного плодородия под влиянием многолетнего воздействия природных и агрогенных факторов. В программу мониторинга входит наблюдение за изменением водно-физических свойств, содержания и состава органического вещества, кислотно-основных свойств, поглотительной и буферной способности, актуального и потенциального плодородия почвы [1,2,3]. Наряду с этим проводятся микробиологические исследования для оценки изменения видового состава и численности почвенных микроорганизмов и их общей биологической активности, в том числе определяющих направленность и интенсивность трансформации соединений углерода и азота и, следовательно, гумусового состояния и питательного режима почв. Изменение агрохимических свойств почвы (под влиянием длительного воздействия агрогенных факторов системы земледелия и технологии возделывания сельскохозяйственных культур, применения органических и минеральных удобрений, приемов химической мелиорации) может в значительной степени сказаться на состоянии микробного сообщества почвы, его биоразнообразии, количестве и активности микроорганизмов [4].

Цель наших исследований – изучение состояния микробного сообщества дерново-подзолистой почвы на третий и четвертый годы учёта последствия удобрений после их длительного применения и периодического известкования.

**Методика.** Уникальными объектами для проведения исследований подобной направленности являются длительные полевые опыты с удобрениями, заложенные в 1924–1931 годах по инициативе Д.Н. Прянишникова на Долгопрудной агрохимической опытной станции. Наши исследования выполнялись на одном из этих опытов – полевом опыте №2 с четырехпольным севооборотом – клеверный пар, озимые (рожь, пшеница), пропашная культура (свекла, картофель, подсолнечник), овёс с подсевом клевера, в котором с 1931 г. и на протяжении 76 лет изучали сравнительную эффективность навоза, минеральных удобрений и периодического известкования, а в последующие годы – последствия этих факторов.

Почва опытного поля сильноокислая –  $pH_{KCl} = 3,9$ , с содержанием Сорг – 1,06%, величиной Нг и S, соответственно, 4,1 и 8,0 мгэкв/100 г почвы, количество подвижного фосфора по Кирсанову и обменного калия по Масловой – 30 и 80 мг/кг почвы соответственно.

При органической системе удобрения традиционный подстильный навоз КРС в течение первых одиннадцати ротаций применяли из расчета 9 т/га севооборотной площади. При этом он вносился равными долями под озимые зерновые, картофель и овес – по 12 т/га под каждую культуру (36 т/га за ротацию севооборота). С 12-й ротации в 1975 г. доза навоза была увеличена до 15 т/га севооборотной площади (60 т/га за ротацию севооборота) – под озимую зерновую и пропашную культуры по 24 т/га и под овес с подсевом клевера 12 т/га.

При минеральной системе удобрения  $N_{aa}$ ,  $P_{гс}$ ,  $K_x$  и мел вносили в дозах эквивалентных содержанию азота, фосфора, калия и кальция в навозе. С 1947 г. исследования проводили на двух фонах – без известкования и при периодическом известковании (в 1947 и 1981 гг. дозами по 1,0 Нг и в 1970 г. по 0,5 Нг.). Полевой опыт развернут во времени и в пространстве – на четырех смежных полях. Площадь опытных делянок после первого известкования – 75 м<sup>2</sup>. За время проведения опыта происходила неоднократная смена районированных сортов возделываемых сельскохозяйственных культур. В последние две ротации использовали следующие сорта: клевер луговой – Трио, озимая пшеница – Московская 39, подсолнечник – Бузулук, овес яровой – Комес.

После завершения девятнадцати ротаций севооборота на всех полях было прекращено внесение удобрений в соответствии со схемой опыта, и в последующие годы изучали только их последствие.

Весной 2009 г. (на третий год учёта последствия до посева подсолнечника) и 2010 г. (на четвертый год до посева покровной культуры – овса) с соблюдением общепринятых требований были отобраны представительные почвенные образцы для проведения микробиологических исследований. Образцы отбирали с делянок двух несмежных повторений одного из полей опыта. Программа исследований включала в себя учет численности микроорганизмов, участвующих в трансформации основных групп углерод- и азотсодержащих соединений. Определяли численность микроорганизмов, использующих органические формы азота (на среде мясоептонный агар- МПА); аэробные целлюлозолитические микроорганизмы (на среде Гетчинсона); микроскопические грибы (на среде сусло-агар- СА) и аэробные свободноживущие азотфиксаторы (учитывали на среде Эшби). Подсчет численности колониеобразующих единиц при выращивании на твердых средах осуществляли визуально. Учет численности микроорганизмов проводили (по общепринятой методике) посевом на

питательные пластины в сочетании с методом последовательного разведения. Активность целлюлозоразрушающих микроорганизмов, как аэробных, так и анаэробных, определяли по степени разложения кружков фильтровальной бумаги [5].

**Результаты и их обсуждение.** Обобщение результатов опыта за весь период его проведения показало, что при длительном возделывании сельскохозяйственных культур без применения удобрений и известкования средняя продуктивность севооборота за 19 ротаций составила 1,3 т з.е. в составе только основной продукции. Проявилась тенденция к дальнейшему подкислению почвы, а содержание органического вещества после значительного (примерно на одну треть ниже исходного уровня) в первые тридцать пять лет затем поддерживалась на постоянном минимальном уровне. При этом в составе органического вещества почвы после 19 ротаций севооборота установлена низкая доля легкоразлагаемых и менее термостойких фракций [6,7]

Изучавшиеся в опыте органическая и минеральная системы удобрения по влиянию на среднюю продуктивность севооборота за первые 19 ротаций и при учете последствия удобрений в 20-й ротации оказались равноценны - 2,3-2,4 т з.е./га в среднем за 19 ротаций севооборота и 2,1-2,3 т з.е./га при учете последствия удобрений в двадцатой ротации [6].

В течение первых девяти ротаций сочетание клеверного пара с внесением удобрений из расчета 9 т навоза на 1 га севооборотной площади обеспечивало сохранение содержания органического вещества в пахотном слое почвы на исходном уровне, после чего к концу одиннадцатой ротации оно снизилось примерно на 10 относительных процентов. Затем, после увеличения доз навоза и минеральных удобрений (с 1975 г. до 15 т навоза на 1 га севооборотной площади) в обоих системах удобрения прослеживалось постепенное увеличение содержания в почве органического вещества. После 19 ротаций севооборота при органической системе удобрения содержание углерода достигло практически исходного (до закладки опыта) уровня, а при минеральной системе удобрения оно оказалось примерно на 14% ниже. При этом в составе органического вещества почвы значительно возросли количество и доля  $S_{\text{лов}}$ , особенно при длительном систематическом внесении навоза. При органической и минеральной системах удобрения увеличилась термостойкость органического вещества, в его составе возросло общее содержание азота и расширилось соотношение  $C : N$  по сравнению с почвой вариантов без удобрений [6,7,8].

Проводившееся известкование повышало плодородие почвы и эффективность удобрений, особенно минеральных. При этом продолжительность положительного действия на среднюю продуктивность севооборота при полной дозе известки составила 3, а половинной – 2 ротации.

Однако, на протяжении и более длительного периода (в том числе при учете последствия удобрений в двадцатой ротации севооборота) прослеживалось продолжительное действие известкования на продуктивность клевера и озимой пшеницы.

Агрохимический анализ почвы после полных девятнадцати ротаций севооборота выявил существенное изменение гумусового состояния, кислотнo-основных свойств и показателей актуального плодородия почвы под влиянием изучавшихся в опыте агрогенных факторов. Под влиянием известкования и навоза при органической системе удобрения проявилось снижение почвенной кислотности и, соответственно, возрастала степень насыщенности основаниями, а при минеральной системе удобрения – подкисление за счет использования физиологически кислых форм азотно-калийных удобрений. При длительном систематическом применении как навоза, так и минеральных удобрений, особенно в период после увеличения их доз, прослеживается возрастание содержания подвижного фосфора и обменного калия в почве.

За годы учета последствия удобрений в двадцатой ротации севооборота существенных изменений в контролируемых показателях агрохимических свойств почвы не установлено. При этом в вариантах с периодическим известкованием в почве поддерживались небольшая обменная кислотность и низкое содержание подвижного алюминия, независимо от применения удобрений.

Микробиологические исследования, осуществлявшиеся на третий и четвертый год учета последствия, показали следующие результаты. (табл.).

Весной 2009 г., (на третий год учета последствия) при минеральной системе удобрения в периодически известковывавшейся дерново-подзолистой почве численность аммонифицирующих бактерий оказалась значительно выше по сравнению со всеми другими вариантами опыта, в том числе с вариантами с органической системой удобрения. В последнем случае напомним о более высоком содержании органического вещества в почве за счет поступления значительно большего количества свежего органического вещества в составе навоза и пожнивно-корневых остатков.

**Численность различных физиологических групп микроорганизмов в дерново-подзолистой почве, КОЕ/г абс.сухой почвы**

Вариант опыта	МПА	СА	Гетчинсона
<i>Третий год (2009 г.) учета последствия удобрений</i>			
Контроль	$3,7 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^4$
Известь	$1,2 \cdot 10^6$	$6,7 \cdot 10^5$	$7,0 \cdot 10^5$
Навоз	$5,1 \cdot 10^5$	$4,2 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^4$
Навоз + известь	$7,0 \cdot 10^5$	$2,9 \cdot 10^4$	$6,2 \cdot 10^4$
НПКСа	$6,4 \cdot 10^6$	$4,4 \cdot 10^4$	$9,7 \cdot 10^4$
НПКСа + известь	$1,3 \cdot 10^7$	$5,1 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^4$
<i>Четвертый год (2010 г.) учета последствия удобрений</i>			
Контроль	4,1·105	4,4·104	7,5·103
Известь	1,4·105	1,2·103	2,0·103
Навоз	4,3·105	5,5·104	3,5·105
Навоз + известь	4,1·105	9,1·103	5,6·103
НПКСа	5,7·105	1,2·104	4,2·103
НПКСа + известь	4,0·105	5,2·104	3,5·103

Тем не менее при изучавшихся системах удобрения практически не установлено существенных вариаций в количестве аэробных целлюлозолитических микроорганизмов. В варианте без применения удобрений при периодическом известковании наблюдалась тенденция к снижению численности этой группы микроорганизмов. Следует отметить, что в почве всех вариантов опыта в структуре аэробных целлюлозолитических микроорганизмов доминировали микромикеты рода *Penicillium*. В то же время, определяемая нами активность разлагающих целлюлозу бактерий была выше в систематически удобрявшейся почве. Для почвы контрольного варианта характерна высокая доля микроскопических грибов (более 40%) от общей численности микроорганизмов, против низкой (менее 1%) в ранее систематически удобрявшейся почве, независимо от известкования.

Весной 2010 г. на четвертый год учета последствия удобрений проведенные микробиологические исследования не выявили по вариантам опыта, за редким исключением, резких различий в численности изучавшихся физиологических групп почвенных микроорганизмов, несмотря на существенные различия в содержании и составе органического вещества, кислотнo-основных свойств и актуальном плодородии почвы после длительного применения удобрений и периодического известкования (последнее известкование проведено 31 год назад).

Тем не менее, полученные результаты показали вполне определенную связь между выявленными физиологическими группами микроорганизмов и изменениями агрохимических свойств почвы под действием изучавшихся в данном опыте агрогенных факторов.

Стабилизация численности микроорганизмов связана с процессом восстановления почвы до её исходного состояния.

Однако, как и в ранее проведенных экспериментах, установлены вполне определенные общие закономерности состояния микробного сообщества, обусловленные длительным возделыванием сельскохозяйственных культур и изменением агрохимических свойств почвы под влиянием изучавшихся систем удобрения [4].

Численность микроорганизмов, использующих органические формы азота, была одного порядка, с незначительными колебаниями во всех вариантах опыта, с очевидным доминированием бактерий рода *Bacillus*, которые составляли от 60 до

75% общей численности микроорганизмов, что указывает на низкое биоразнообразие почвенных бактерий.

Нейтрализующее последствие известкования прослеживается на протяжении многих лет и как следствие влияет на количество микроскопических грибов в почве, которое на порядок снижалось в вариантах, где известь вносили без применения удобрений и в сочетании с органическими удобрениями. Различия же в качественном составе грибной компоненты микробного сообщества выражены незначительно, во всех вариантах доминирует род *Penicillium*, редко встречались также единичные представители родов *Mucor* и *Fusarium*.

В структуре микроорганизмов, разрушающих целлюлозу, преобладали микромицеты с преимущественным развитием также рода *Penicillium*. При учете последствия систематического внесения навоза было установлено увеличение численности данной группы микроорганизмов (на  $10^2$ ), по сравнению с другими вариантами опыта.

Аэробные свободноживущие азотфиксирующие бактерии (*Azotobacter chroococcum*) не были выявлены ни в одном опытном варианте в оба года проведения исследований, очевидно, вследствие неблагоприятных условий для их развития. Свободноживущие азотфиксаторы во всех вариантах были представлены анаэробными бактериями рода *Clostridium*.

**Выводы.** Под влиянием длительного применения органических и минеральных удобрений произошли существенные изменения агрохимических свойств почвы, что в свою очередь проявилось в изменении микробного сообщества дерново-подзолистой почвы. Выявленный характер вариаций (увеличение или уменьшение) видового состава, численности и активности изучавшихся физиологических групп почвенных микроорганизмов на третий и четвертый годы учета последствия удобрений после их 76-летнего применения и периодического известкования не может однозначно рассматриваться как положительное или как негативное явление [4]. Действие известкования, длительного применения навоза и минеральных удобрений может, как правило, благоприятно

сказаться на общей биологической активности и жизнедеятельности почвенной микрофлоры. С другой стороны, негативное действие длительного возделывания ограниченного набора сельскохозяйственных культур в севообороте без применения удобрений и при минеральной системе удобрения за счет увеличения представителей грибов рода *Penicillium* и бактерий рода *Bacillus* может привести к проявлению микробного токсикоза вследствие увеличения численности и активности токсинообразующих микроорганизмов в почве [4].

#### Литература

1. Длительному полевому опыту ТСХА 90 лет: итоги научных исследований. - М.: Изд-во МСХА, 2002. - С.5-7.
2. Минеев В.Г., Шевцова Л.К. Влияние длительного применения удобрений на гумус почвы и урожай культур // Агрохимия. - 1978. - № 5. - С. 25-34.
3. Сычев В.Г. О совершенствовании организационной и методологической работы Географической сети с опытом с удобрениями // Бюллетень Географической сети опытов с удобрениями. Вып.1. - М.: ВНИИА, 2006. - С. 4-16.
4. Микроорганизмы и охрана почв /Под. ред. Д.Г. Звягинцева.- М.: Изд-во МГУ, 1989.- С.71-83.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии /Под. ред. Д.Г. Звягинцева.- М.: Изд-во МГУ, 1991.- 302 с.
6. Продуктивность севооборота с клеверным паром и агрохимические свойства дерново-подзолистой почвы в длительном (с 1931 г.) опыте Д.Н. Прянишникова № 2 на ДАОС/ Литвинский В.А., Муравин Э.А., Черников В.А., Грицевич Ю.Г., Игнатов В.Г., Хлыстовский А.Д. // Агрохимия. - 2010. - № 8. - С. 15-30.
7. Кончик В.А., Литвинский В.А., Муравин Э.А., Черников В.А. Содержание и состав органического вещества дерново-подзолистой почвы после длительного (1931-2006 гг.) применения удобрений // Плодородие. - 2010. - № 5.
8. Литвинский В.А., Муравин Э.А., Черников В.А. Изучение свойств дерново-подзолистой почвы и химического состава растений в длительном полевом опыте // Агрохимический вестник. - 2010. - № 3. - С. 30-33.
9. Ананьева Н.Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв / Отв. ред. Д.Г.Звягинцев. - М.: Наука, 2003.- 120 с.

#### Microbial community of soddy-podzolic soil after long-term application of fertilizers

T.A. Karepina, N.A. Lisitsina, E.A. Muravin,<sup>1</sup> V.A. Litvinsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Russian State Agricultural University – Moscow Agricultural Academy, ul. Timiryazeva 49, Moscow, 12550 Russia

<sup>2</sup>Pryanishnikov All-Russian Research Institute of Agrochemistry, Russian Academy of Agricultural Sciences, ul. Pryanishnikova 31a, Moscow, 127550 Russia, E-mail: vl.litvinskiy@gmail.com

The microbial community of heavy soddy-podzolic soil typical for the Nonchernozemic zone was studied under the aftereffect of long-term (during 19 cycles of a four-course crop rotation with clover fallow) application of mineral and organic fertilizers and periodic liming. Clear tendencies in changes of the abundance and activity of physiological groups of microorganisms were revealed, which depend on the agrochemical parameters of soil affected by the studied agrochemical factors.

Keywords: microbiological community, long term field experiment