

УДК 579.6

**БИОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ДЕГРАДИРОВАННЫХ ПОЧВ****А.К. Саданов, И.Э. Смирнова, Э.Р. Файзулина, Л.Г. Татаркина***Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан*

В настоящее время, во всем мире наблюдается устойчивая тенденция к деградации сельскохозяйственных почв и ежегодно утрачивается до 12 млн. га сельхозугодий. Это связано как с усилением антропогенной нагрузки на почвы, так и с природными причинами, основными из которых являются эрозия и засоление [1]. Интенсивное земледелие без учета агроэкологического потенциала почв и несоблюдение научно-обоснованных систем ведения сельского хозяйства приводят к истощению плодородия и деградации почв. В этой связи, основной проблемой современного земледелия, является борьба с деградацией почв. Поэтому, на первый план выходят задачи восстановления и повышения плодородия сельскохозяйственных почв.

Существуют разные приемы мелиорации или восстановления деградированных почв, но на сегодняшний день наиболее перспективным решением этой проблемы является использование биологического или органического земледелия, при котором решающим фактором становится поддержание почвы в биологически активном состоянии, способствующем ее самовосстановлению. [2]. Биологическое земледелие исключает применение пестицидов, гербицидов, химических удобрений и различных регуляторов роста растений, что позволяет получать экологически чистую продукцию, не нанося вред окружающей среде, и повышать плодородие почв [3].

Одним из направлений биологического земледелия является применение биопрепаратов для восстановления плодородия почв [4]. Наиболее перспективным является применение ассоциаций агрономически-ценных или эффективных микроорганизмов (ЭМ-ассоциации), обладающих комплексным стимулирующим действием на развитие растений, почвенное плодородие и способствующих поддержанию экологического равновесия в агроценозах. Как правило, в состав ЭМ-ассоциации входят почвенные микроорганизмы, такие как азотфиксирующие, фосфатмобилизующие, целлюлолитические и силикатные бактерии, которые составляют основу микробиоценоза здоровой плодородной почвы [5, 6]. При внесении ЭМ-ассоциаций в истощенную почву происходит повышение активности почвенных процессов, значительно усиливается деструкция и мобилизация питательных соединений, повышается доступность биогенных веществ почвы для аборигенных микроорганизмов [7]. Под влиянием ЭМ-ассоциаций структура микробных комплексов в почве меняется в положительную сторону: увеличивается численность микроорганизмов, их биологическая активность, усиливаются процессы их жизнедеятельности, все это способствует нормализации микрофлоры и восстановлению почвенного плодородия [8].

Одним из основных показателей экологического состояния почв и индикатором ее плодородия является численность и состав почвенной микрофлоры. Для оценки состояния микробиоценоза почв применимы экологические подходы, среди которых ведущее место занимают характеристика таксономического и функционального разнообразия микроорганизмов почвы [9, 10].

С этой точки зрения, крайне важно иметь представление о качественном и количественном составе микроорганизмов, входящих в состав почвенной микрофлоры, так как это позволит не только оценить состояние почвы, но и разработать способы ее нормализации. Другим не менее важным индикатором биологической активности почв являются почвенные ферменты, которые отражают интенсивность основных биохимических процессов мобилизации соединений азота, фосфора, углерода почвы протекающих с помощью микроорганизмов и определяющих ее плодородие [11].

**Цель работы** – изучение возможности повышения плодородия деградированных почв путем интродукции ЭМ-ассоциации, влияющей на ее биологическую активность.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Объектом исследования служила ранее созданная нами ЭМ-ассоциация, в состав которой входят азотфиксирующие, фосфатмобилизующие и целлюлолитические бактерии (соотношение партнеров ассоциации – 1:1:1). Бактерии, входящие в состав ЭМ-ассоциации, были выделены в 2017–2018 годах из ризосферной почвы здоровых растений сахарной свеклы в Жамбылской области Казахстана – основном регионе производства сахарной свеклы в республике. Культивирование бактерий ЭМ-ассоциации проводили на жидких питательных средах: целлюлолитические бактерии на среде Гетчинсона, фосфатмобилизующие – на среде Муромцева и азотфиксирующие – на среде Эшби.

Для изучения влияния ЭМ-ассоциации на биологическую активность почв были проведены модельные опыты в лабораторных условиях. В опытах использовали деградированную почву, собранную в Жамбылской области Казахстана. По своему типу почва была отнесена к серозему обыкновенному. Почву собрали с поля, где сахарную свеклу выращивали без ротации культур и внесения минеральных удобрений в течение 7 лет. По четырех бальной шкале деградации сельскохозяйственных почв, эта почва была отнесена к почвам с третьей степенью деградации (снижение продуктивности основных агрокультур на 50–75 %, снижение качества получаемой продукции в 3–10 раз, ограничение сельскохозяйственного использования почв) [12]. В сосуды почвой (3000 г.) емкостью на 5000 мл вносили 150 мл клеточной суспензии с титром  $10^8$  кл/мл. В качестве контроля использовали почву без внесения ЭМ-ассоциации. Длительность опытов составляла 30 суток. Изучение микрофлоры почв проводили по общепринятым методикам: определяли общее микробное число (ОМЧ) и численность основных таксономических групп: бактерий, актиномицетов, дрожжей и грибов [13].

Активность микробных ферментов почвы (каталаза, дегидрогеназа, уреазы), а также интенсивность почвенного дыхания исследовали в динамике, проводя отбор проб через 10, 20 и 30 суток после внесения ЭМ-ассоциации.

Для определения дегидрогеназной активности 1 г почвы помещали в пробирку, добавляли 0,1 г  $\text{CaCO}_3$ , 1 мл 0,1 М раствора глюкозы и 1 мл 1 % раствора трифенилтетразолия хлористого (ТТХ). Образовавшийся формазан экстрагировали 50 мл этанола и фильтровали. Дегидрогеназную активность выражали в единицах оптической плотности. Оптическую плотность определяли на цифровом фотоэлектроколориметре AP-101 («Arel», Япония) при длине волны 460 нм [14].

Активность уреазы определяли методом определения аммиака, образуемого при распаде мочевины, и выражали в мг  $\text{NH}_2$  в грамме почвы за сутки [15].

Для определения каталазной активности измельченную почву (1 г) вносили в сосуд емкостью 100 мл, добавляли 0,5 г  $\text{CaCO}_3$ . Осторожно помещали на дно маленький стаканчик с 5 мл 3 % раствора перекиси водорода. Стаканчик плотно закрывали пробкой с трубкой, соединенной с бюреткой и сообщающейся с грушей. Бюретку и грушу заполняли водой. Сосуд с перекисью опрокидывали и взбалтывали в течение 1 минуты. Каталазную активность выражали в мл  $\text{O}_2$ , выделившегося за одну минуту на грамм почвы [15].

Дыхательную активность почвы определяли весовым методом Изермейера и выражали в г поглощенного  $\text{CO}_2$  [11].

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ «Statistica 10.0» [16].

### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

В результате проведенной работы было установлено, что в деградированной почве общее количество микроорганизмов (по ОМЧ) было невысоким и составляло всего  $10^5$  КОЕ/г почвы. Этот показатель численности микроорганизмов является очень низким для данного типа почвы (серозем обыкновенный) [17]. Численность бактерий в деградированной почве составляла  $10^3$  КОЕ/г почвы, актиномицетов –  $10^2$  КОЕ/г почвы, мицелиальных грибов –  $2,1 \times 10^5$  КОЕ/г почвы. Дрожжевые организмы присутствовали в незначительном количестве, и были представлены единичными колониями (рисунок).

Полученные показатели численности микроорганизмов свидетельствуют о существенном обеднении почвенной микрофлоры, а низкая численность бактерий на фоне высокой численности мицелиальных грибов указывает на крайне не благополучное экологическое состояние почвы.

Внесение ЭМ-ассоциации значительно активизировало микрофлору деградированной почвы. Через 10 суток после внесения ЭМ-ассоциаций отмечали увеличение как общей численности микроорганизмов (по ОМЧ), так и таких таксономических групп микроорганизмов как бактерии, актиномицеты и дрожжи. После 30 суток опыта численность микроорганизмов (по ОМЧ) в почве существенно возросла (на четыре порядка по сравнению с исходным содержанием). Так, если в исходной почве численность микроорганизмов составляла  $10^3$  КОЕ/г почвы, то через 30 суток после внесения ЭМ-ассоциации она составляла  $10^7$  КОЕ/г почвы. Содержание бактерий также увеличилось на четыре порядка, численность актиномицетов – на два порядка. Численность дрожжей, которые присутствовали в деградированных почвах в незначительном количестве, возросла до  $10^4$  КОЕ/г почвы. В то же время, отмечено снижение численности мицелиальных грибов на два порядка, что указывает на нормализацию почвенной микрофлоры (рисунок).

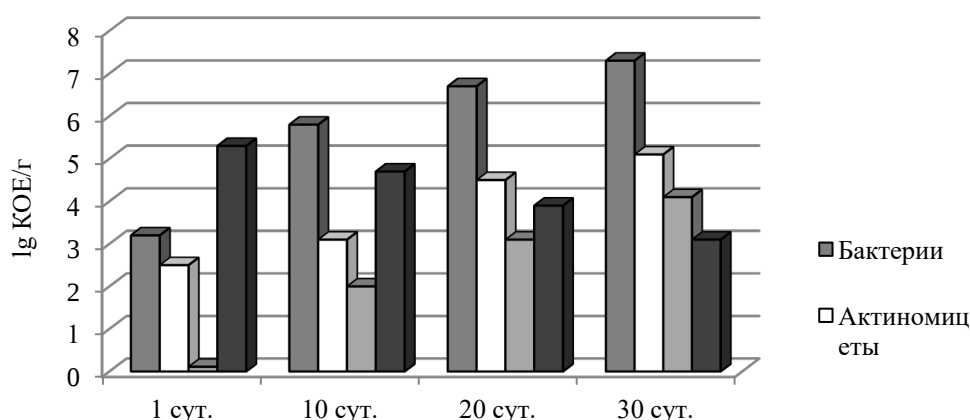


Рисунок – Динамика изменения количественного и качественного состава микрофлоры деградированных почв после внесения ЭМ-ассоциации

В целом, полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии интродукции ЭМ-ассоциации на аборигенную микрофлору деградированных почв, так как происходит существенно повышение ее численности и изменение структуры микробоценоза почвы, которая приближается по соотношению таксономических групп микроорганизмов к структуре «здоровой» микрофлоры почв.

Определение активности почвенных ферментов крайне важно для оценки состояния почвы, так как позволять судить о степени доступности для микробной мобилизации соединений азота, фосфора, серы и других. Можно сказать, что именно ферментативная активность почв определяет интенсивность и направленность биохимических процессов, от которых зависит плодородие почв [17].

Исследование ферментативной активности деградированной почвы показало, что исследуемая почва характеризовалась крайне низкой активностью почвенных ферментов (таблица).

Таблица – Динамика изменения ферментативной активности и почвенного дыхания при внесении ЭМ-ассоциаций в почву

| Варианты опыта | Активность почвенных ферментов |                                    |                                    | Активность дыхания, г CO <sub>2</sub> /м <sup>2</sup> /ч |
|----------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------------|
|                | Дегидрогеназа, ед. ОП          | Каталаза, мл O <sub>2</sub> /г/мин | Уреаза, мг NH <sub>2</sub> /г/сут. |                                                          |
| 1 сутки        |                                |                                    |                                    |                                                          |
| Исходная почва | 0,11 ± 0,01                    | 2,1 ± 0,1                          | 0,14 ± 0,02                        | 0,10 ± 0,01                                              |
| 10 суток       |                                |                                    |                                    |                                                          |
| Исходная почва | 0,12 ± 0,01                    | 2,3 ± 0,1                          | 0,16 ± 0,02                        | 0,11 ± 0,01                                              |
| Ассоциация     | 0,41 ± 0,09                    | 2,8 ± 0,2                          | 0,38 ± 0,2                         | 0,20 ± 0,02                                              |
| 20 суток       |                                |                                    |                                    |                                                          |
| Исходная почва | 0,11 ± 0,01                    | 2,0 ± 0,1                          | 0,14 ± 0,01                        | 0,12 ± 0,01                                              |
| Ассоциация     | 0,65 ± 0,4                     | 4,9 ± 0,2                          | 0,49 ± 0,1                         | 0,38 ± 0,03                                              |
| 30 суток       |                                |                                    |                                    |                                                          |
| Исходная почва | 0,13 ± 0,002                   | 2,2 ± 0,1                          | 0,13 ± 0,02                        | 0,10 ± 0,01                                              |
| Ассоциация     | 0,96 ± 0,4                     | 9,1 ± 0,3                          | 0,73 ± 0,2                         | 0,62 ± 0,02                                              |

Примечание:  $p \leq 0,05$

Внесение в почву ЭМ-ассоциаций значительно активизирует почвенные процессы. Так, через 10 суток после внесения ассоциаций в почву активность дегидрогеназы возросла в 3,4 раза, через 20 суток в 6,0 раз, а через 30 суток в 7,4 раза. Изучение динамики изменения таких почвенных ферментов как каталаза и уреаза показало, что активность каталазы значительно возросла и через 30 суток превышала таковую в исходной почве в 4,0 раза, а уреазы в 5,6 раза. Также, из данных таблицы следует, что при внесении ассоциаций значительно активизируется почвенное дыхание, которое через 30 суток возросло в 6,2 раз по сравнению с исходной почвой.

Таким образом, установлено, что внесение ЭМ-ассоциации в деградированную почву положительно влияет на ее микробную активность: значительно повышается общая численность и численность отдельных таксономических групп микрофлоры, происходит нормализация структуры микробоценоза. Кроме того, интродукция ЭМ-ассоциаций оказывает существенное влияние на активацию почвенных ферментов и значительно повышает интенсивность дыхания почв.

В целом, можно сказать, что интродукция ЭМ-ассоциации в деградированную почву приводит к повышению биологической активности почвы, что способствует восстановлению ее плодородия. Применение ЭМ-ассоциации можно рекомендовать как биологический способ восстановления плодородия деградированных почв.

*Работа выполнена в рамках грантового проекта МОН РК № AP05131526 «Разработка ЭМ-ассоциаций и использование их в комплексной технологии восстановления плодородия деградированных почв юго-востока Казахстана», 2018–2020 годов.*

### ЛИТЕРАТУРА

1. Почвы находятся под угрозой, но деградацию можно остановить <http://www.fao.org/news/story/ru/item/357227/icode/> (опубл. 25.07.2018).
2. Хасанов А.Н., Хабиров И.К., Асылбаев И.Г., Рафиков Б.В. Биологические методы восстановления плодородия деградированных почв южной лесостепи Республики Башкортостан // Вестник Оренбургского Гос. Ун-та. 2017. № 11(211). С. 118–124.
3. Oluwasusi J.O. Vegetable farmers' attitude towards organic agriculture practices in selected states of South West Nigeria // J. Agri. Exten. Rural Develop. 2014. Vol. 6(7). P. 223–230.
4. Ye Xiao, Zhigang Huang, Xianguo Lu. Changes of soil labile organic carbon fractions and their relation to soil microbial characteristics in four typical wetlands of Sanjiang Plain, Northeast China // Ecol. Engin. -2015. Vol.82. P. 381–389. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2015.05.015.
5. Kravchenko I., Kizilova A., Titova L., Iutinskaya G. Effect of microbial fertilizers on rhizospheric bacterial diversity and yield response of soybean plants // Agr. Sci. Develop. 2013. Vol.2(12). P. 120–125.
6. Маджугина А.А., Горелкина Г.А., Троценко И.А., Кныш А.И. Биотехнологическое восстановление земель сельскохозяйственного назначения // Вестник Алтайского Гос. Агр. Ун-та. 2015. № 12(134). С. 49–51.
7. Dotaniya M.L., Meena V. Rhizosphere effect on nutrient availability in soil and its uptake by plants // Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. B Biol. Sci. 2015. Vol. 85(1). P. 1–12. DOI 10.1007/s40011-013-0297-0.
8. Смирнова И.Э., Саданов А.К., Нурмуханбетова А.М., Султанова А.Ж. Влияние ассоциации агрономически ценных микроорганизмов на микрофлору деградированных почв // Междун. ж. прикл. фонд. исслед. 2017. № 1. С. 92–96.
9. Хархун Е.В., Полякова А.В., Внуков В.В., Ким Д.А. Состояние микробоценоза почвы после применения биопрепаратов на основе *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens* (*Pseudomonas aureofaciens*) // Фунд. исслед. 2012. № 11(1). С. 56–60.
10. Andrews M., Cripps M.G., Edwards G.R. The potential of beneficial microorganisms in agricultural system // Ann. Appl. Biol. 2012. Vol. 160. P. 1–5.
11. Хазиев Ф.Х. Ферментативная активность почв. М.: Наука, 2005. 134 с.
12. Каштанов А., Щербаков А.П., Черкасов Г.Н. Методическое пособие и нормативные материалы для разработки адаптивно-ландшафтных систем земледелия. Курск: Прогресс, 2001. 259 с.
13. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. М.: МГУ, 1995. 224 с.
14. Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. Микробиология. М.: Дрофа, 2005. 445 с.
15. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: МГУ, 1991. 304 с.
16. Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA. М.: Горячая линия-Телеком, 2013. 288 с.
17. Pershina E.V., Ivanova E.A., Nagieva A.G., Zhiengaliev A.T., Chirak E.L., Andronov E.E., Sergaliev N. Kh. A Comparative analysis of microbiomes in natural and anthropogenically disturbed soils of Northwestern Kazakhstan // J Eurasian Soil Sci. 2016. Vol. 49(6). P. 673–684.
18. Минеев В.Г. Агрохимия. 2004. М.: МГУ. 720 с.