
НАУЧНЫЕ ТРУДЫ ВАСХНИЛ

АГРОНОМИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ



ВСЕСОЮЗНАЯ ОРДЕНА ЛЕНИНА АКАДЕМИЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК ИМЕНИ В. И. ЛЕНИНА

АГРОНОМИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Под редакцией академика ВАСХНИЛ
Г. С. МУРОМЦЕВА



Ленинград «КОЛОС» Ленинградское отделение 1976

В монографии рассмотрена роль микроорганизмов в улучшении плодородия почв, увеличении урожая и повышении его качества, показано использование микроорганизмов для защиты растений от вредителей. Большое значение придается проблеме вовлечения в биологический круговорот атмосферного азота (использованию для этой цели клубеньковых бактерий и исследованиям анаэробных азотфиксаторов). Рассматривается характер взаимоотношений между растениями и микроорганизмами. Приводятся данные, характеризующие влияние гербицидов на почвенную микрофлору.

Глава I написана канд. биол. наук Т. В. Тарвис, д-ром с.-х. наук Н. А. Сапожниковым, канд. биол. наук В. В. Сидоровой; глава II — канд. биол. наук А. И. Чундеровой; глава III — д-ром биол. наук Л. М. Доросинским; глава IV — д-ром биол. наук В. Т. Емцевым; глава V — д-ром биол. наук Ю. М. Возняковской; глава VI — академиком Е. Н. Мишустинным; глава VII — канд. биол. наук Ю. В. Кругловым.

Книга рассчитана на специалистов сельского хозяйства.

А $\frac{40307-305}{035(01)-76}$ 89-76

ВВЕДЕНИЕ

По приблизительным подсчетам на нашей планете почвенные микроорганизмы фиксируют ежегодно от 10 до 100 млн. т азота атмосферы, а промышленность производит в виде минеральных удобрений около 30 млн. т этого важнейшего питательного элемента. Предполагается, что к 1980 г. количество минеральных удобрений возрастет до 60—70 млн. т. Таким образом, масштабы «природного» и промышленного производства азота сблизятся, и есть все основания считать, что через 10—15 лет производство минерального азота «обгонит» природную азотфиксацию в глобальном масштабе. Если учесть, что показатель микробной азотфиксации включает весь почвенный покров суши, а удобрения применяются только на окультуренных почвах, то становится ясно, что уже сейчас доля «технического» азота в земледелии не уступает доле биологического.

Большое значение приобрел фактор ежегодного отчуждения из почвы огромных количеств азота, фосфора и калия с урожаями, которые в будущем достигнут 100 ц зерна с 1 га. Такие урожаи не могут быть получены только за счет полезной жизнедеятельности микроорганизмов без применения высоких доз удобрений. Так, на смену естественному плодородию почв приходит искусственное, создаваемое человеком.

В свете изложенного перед почвенной микробиологией встают новые задачи, возникают новые направления*.

Относительное снижение положительной роли микроорганизмов в корневом питании культурных растений. Традиционно основной задачей почвенных микробиоло-

* Нижесказанное относится к почвам, характеризующимся высоким уровнем искусственного плодородия.

гов было изучение роли микроорганизмов в корневом питании растений. Для условий естественного плодородия почв эта роль действительно является ключевой. Однако в подавляющем большинстве случаев получение достаточно высоких урожаев за счет естественного плодородия почв невозможно. Без интенсивного применения минеральных удобрений ни сегодня, ни, тем более, завтра человечеству не обойтись. Это неизбежно снижает эффект микробной мобилизации запасных веществ почвы и азота воздуха.

Между тем существующие способы агротехники, направленные на повышение естественного плодородия почв, вобрали в себя приемы, способствующие усилению полезной жизнедеятельности почвенных микроорганизмов. Однако нет никаких оснований считать, что оптимальные физико-химические условия (влажность, аэрация, рН и др.) для микрофлоры почвы и корневой системы растения совпадают. Во всяком случае этот вопрос требует серьезного изучения. Таким образом, в условиях интенсивного земледелия традиционно сложившиеся методы агротехники нуждаются в критическом исследовании с позиций почвенной микробиологии. Рыхление почвы, например, резко усиливает жизнедеятельность аэробных микроорганизмов и высвобождение питательных элементов из органического вещества (конечно, рыхление преследует и другие важные цели). При интенсивном использовании минеральных удобрений надобность в активном рыхлении почвы как средстве ускорения минерализации органического вещества отпадает. Из этого следует, что распространение так называемых нулевых и минимальных обработок почвы — прогрессивный процесс не только с позиций физики, но и с позиций микробиологии почв.

Однако было бы недопустимой расточительностью отказаться от даровой фиксации азота микроорганизмами. Там, где это выгодно, следует всячески стимулировать указанный процесс (например, за счет интенсификации культуры бобовых и предпосевной обработки их семян азотфиксирующими клубеньковыми бактериями). Не следует забывать, что применение больших доз азотных удобрений подавляет азотфиксирующую активность почвенных микробов. В связи с этим самое серьезное внимание уделяется проблеме соотношения так называемого технического и биологического азота.

Поглощение микроорганизмами питательных элементов минеральных удобрений. В пахотном слое средне-окультуренного пшеничного поля биомасса микробов приближается к таковой корней, а азота в ней содержится больше, чем в корнях и надземной массе пшеницы (при урожае зерна примерно 20 ц с 1 га) вместе взятых.

Если растения-автотрофы в отличие от микробов-гетеротрофов не нуждаются в органическом углероде, то азот, фосфор и калий необходимы и тем и другим. Способностью «питаться» свободным атмосферным азотом обладают далеко не все почвенные микробы, да и те с легкостью переходят на питание уже «готовым» азотом удобрений. Опыты с тяжелым изотопом азота ^{15}N показали, что в хорошо окультуренной почве с богатой и активной микрофлорой микроорганизмы «отнимают» у растений 25—30% азота минеральных удобрений. К сожалению, вопрос почти не исследован относительно фосфора.

Изучение судьбы питательных элементов, переведенных микроорганизмами из доступной для растений минеральной формы в недоступную органическую, — задача большой практической важности. В связи с чрезмерной подвижностью минерального азота в почве, легкостью его вымывания и значительными масштабами потерь в результате денитрификации частичное закрепление азота удобрений в форме микробного белка, по-видимому, не следует рассматривать как абсолютно отрицательное явление. Опытами с ^{15}N установлено, что часть азота минеральных удобрений, поглощенного микроорганизмами, довольно скоро высвобождается и может рассматриваться как запас. Другая часть, которая при определенных условиях закрепляется надолго, пополняет запасы почвенного гумуса. Образование гумуса — процесс в целом, безусловно, положительный. И все-таки минеральные удобрения предназначены для растений, а не для микроорганизмов. Поэтому и оценивать эти явления следует с большой осторожностью и только после всестороннего анализа. Напомним, что по последним данным, коэффициент усвоения растениями азота минеральных удобрений не превышает 60%, а фосфора — 20%, и задача повышения этих коэффициентов продолжает оставаться одной из самых актуальных.

Распространение почвенных (корневых) инфекций и меры борьбы с ними. Химизация земледелия, в частности широкое внедрение пестицидов, создала возможности

для бессменного возделывания ценных культур. Это, однако, повлекло за собой развитие нежелательного почвенно-микробиологического процесса — накопления фитопатогенных микроорганизмов, которые проникают из почвы в растения через корни (вилт хлопчатника, корневые гнили). У хлопчатника, например, в условиях полной обеспеченности питательными элементами и водой, фактором, определяющим урожай, оказалась степень развития вилтовой инфекции. Селекционерам приходится тратить много сил на создание вилтоустойчивых сортов. Изыскиваются агрономические и агротехнические приемы, в частности разрабатываются специальные севообороты, препятствующие размножению паразитического гриба в почве.

Здесь мы видим, как в условиях интенсивного земледелия проблемой номер один становится почвенно-микробиологический фактор.

Разработка агротехнических мер борьбы с корневыми инфекциями, усиливающимися в условиях интенсивного земледелия, — актуальная задача почвенной микробиологии.

Загрязнение окружающей среды. Самоочищение почв и водоемов — процесс в основном микробиологический. Поэтому исследование путей его интенсификации является одной из важнейших задач почвенной микробиологии.

В настоящее время микробам все труднее становится справляться с переработкой массы веществ, поступающих во внешнюю среду. В прошлом эти поступления носили естественный характер, и «микроскопические санитары» успешно делали свое дело, будучи неотъемлемым звеном круговорота веществ в природе. Бурная интенсификация промышленного и сельскохозяйственного производства сопровождается все возрастающим поступлением во внешнюю среду громадного количества самых разнообразных веществ, созданных человеком.

На окисление поступающего органического вещества требуется масса кислорода, и многие реки и водоемы становятся безжизненными — в них гибнет рыба, а вода становится непригодной для водопоя скота.

Основными источниками загрязнения окружающей среды являются отходы промышленности, составляющие по валу, пожалуй, самую большую часть загрязнителей; городские бытовые стоки, содержащие среди прочих со-

единений много фосфорорганических веществ — основы распространенных моющих средств; ядохимикаты и минеральные удобрения; отходы крупных животноводческих ферм.

Остановимся на загрязнении окружающей среды в ходе сельскохозяйственного производства.

Хотя ядохимикаты и составляют по валу очень не большую часть загрязнителей, их негативная роль непропорционально велика. Объясняется это тем, что, во-первых, такие вещества биологически активны (токсины) и, во-вторых, в основе их лежат неприродные структуры, с трудом поддающиеся ферментативному разложению микроорганизмами.

Сквозь природные биофильтры (почву и водоемы) до сих пор «пропускались» почти все отслужившие свой век органические соединения. Лишь некоторые из них (например, лигнин) разрушить биологическим путем не так-то легко. Их молекулы неподатливы, и такие вещества имеют тенденцию, накапливаясь, образовывать в некоторых сферах окружающей среды «завалы» органического вещества. В эти «завалы» входит и ископаемое топливо — уголь, нефть, во все возрастающих масштабах потребляемое человеком.

Сейчас «завалы» начинают пополняться стойкими синтетическими веществами, в том числе пестицидами. Причем опасность последних заключается в том, что в отличие от нефти или лигнина они биологически высоко активны.

Можно назвать несколько путей решения проблемы. Первый — создание нестойких, легко разрушаемых микробами пестицидов. Исследования показали, что это вполне возможно. Нередко очень небольшое изменение молекулы ядохимиката превращает ее из устойчивой в легко разрушаемую микробными ферментами. Второй — создание внешних условий, способствующих ускоренному разрушению вещества в почве.

Воздействие химических загрязнителей на микрофлору почв и водоемов не так заметно. Однако, учитывая важнейшую роль микроорганизмов в круговороте веществ на нашей планете, этому вопросу также следует уделять серьезное внимание.

Еще один важный фактор загрязнения окружающей среды — массовое применение минеральных удобрений. Особую тревогу внушают нитраты, в том числе и те, что

образуются микроорганизмами в процессе нитрификации. Именно нитраты, а не аммонийные формы азота, потому что аммиачный азот довольно прочно закрепляется в почве благодаря своим физико-химическим свойствам. Нитраты же легко подвижны и быстро вымываются в грунтовые воды и водоемы. Кроме того, будучи сами по себе сравнительно безопасными, они легко превращаются некоторыми микробами в нитриты (первая фаза денитрификации). Значительные источники нитратов — отходы крупных животноводческих ферм; содержащиеся в них азотистые вещества переводятся микробами в нитриты.

Небезопасными могут быть и другие минеральные удобрения. Даже фосфаты, которые прочно закрепляются в почве, могут обильно «удобрять» водоемы, попадая в них со смытой в процессе водной эрозии почвой.

Еще один основной компонент минеральных удобрений — калий сам по себе безопасен. Однако выпускается он промышленностью в основном в форме хлористого калия, и остающийся не используемый хлор может накапливаться в грунтовых водах и водоемах, что весьма нежелательно.

Следует подчеркнуть, что опасными минеральные удобрения могут стать только в случае неумелого или халатного с ними обращения, грубых нарушений агротехники. Так, кучи минеральных удобрений под открытым небом являются источником загрязнения грунтовых вод; водная эрозия приводит к попаданию со смытой почвой в воду большого количества минеральных удобрений и ядохимикатов.

Серьезный источник загрязнения окружающей среды возник в связи с переходом животноводства на промышленную основу. Крупные животноводческие комплексы, насчитывающие тысячи голов крупного рогатого скота и десятки тысяч свиней, дают громадное количество жидкого навоза.

Намечается несколько путей использования жидкого навоза. Самый простой и реальный — применение его в качестве удобрения. При этом мы используем мощный природный фильтр — почву с ее бесчисленным множеством микроорганизмов. Однако и здесь есть свои трудности. Транспортировка жидкого навоза на более или менее значительные расстояния нерентабельна, а вблизи крупного комплекса почвы с избытком унавоживаются за несколько лет.

Другой путь — использование микробиологической технологии переработки жидкого навоза в горючий газ — метан. При этом масштабы производства метана могут быть довольно велики, а неиспользованный остаток — хорошее органическое удобрение.

Еще один путь утилизации навоза — переработка его в кормовые дрожжи, что вполне реально.

Однако темпы производства и применения минеральных удобрений настолько выше органических, что в сумме тех и других доля органических быстро падает. Это неизбежный процесс. Существует реальная возможность замены органических удобрений минеральными, если рассматривать их как удобрения в узком смысле слова — как источник основных питательных элементов для растений. Для сохранения же и улучшения структуры почвы органическое вещество остается незаменимым. Причем в настоящее время в связи с распространением ветровой и водной эрозии почв именно эта функция органического вещества играет особенно большую роль.

В условиях применения высоких доз минеральных удобрений может оказаться более важным сохранить органическое вещество почвы для улучшения ее водного и воздушного режима, чем использовать это вещество как источник питания растений. Таков еще один аргумент в пользу пересмотра сложившейся веками агротехники, предусматривавшей максимальную мобилизацию питательных элементов самой почвы — ее органического вещества.

Итак, переход от естественного к искусственному плодородию почв сопровождается относительным снижением роли органического вещества как источника питательных элементов и повышением его роли как почвенного структурообразователя. Недаром современные системы земледелия все чаще предусматривают запарку соломы, а то и зеленой массы растений промежуточной культуры севооборота.

Следует обратить внимание еще на одно обстоятельство. В связи с гетеротрофным типом питания подавляющего большинства почвенных микроорганизмов изменение содержания органического вещества в почве — эффективное средство регулирования жизнедеятельности почвенных микроорганизмов. Естественно предположить, что обогащение почвы органическим веществом (запарка навоза, компостов, зеленой массы растений или соло-

мы и т. п.), резко активизируя жизнедеятельность микроорганизмов, будет способствовать очищению почвы от загрязнения и патогенной микрофлоры. Например, установлено, что при запашке сидеральных культур заметно ускоряется разложение в почве гербицидов, усиливается отмирание возбудителя вертициллезного вилта хлопчатника.

В условиях интенсификации земледелия возникают новые «показания» к внесению в почву органического вещества — ухудшение структуры почвы, загрязнение ее токсическими химикатами, накопление в ней фитопатогенных микроорганизмов.

Следует еще раз подчеркнуть, что химизация земледелия — процесс, безусловно, прогрессивный и совершенно неизбежный. Вопрос состоит в том, как проводить ее, чтобы сохранить полезные и не допустить ее вредные последствия. Здесь одно из решающих слов должно принадлежать почвенным микробиологам.

Глава I. КОРНЕВОЕ ПИТАНИЕ РАСТЕНИЙ И ПОЧВЕННО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

РОЛЬ ПОЧВЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ В КОРНЕВОМ ПИТАНИИ РАСТЕНИЙ

Значительна и многогранна роль почвенной микрофлоры в корневом питании. С одной стороны, в результате жизнедеятельности многих почвенных микроорганизмов труднорастворимые и малодоступные для питания растений соединения постепенно переходят в усвояемые формы, но в то же время часть их поглощается микроорганизмами и проходит сложный путь трансформации.

Процесс биологической трансформации наиболее детально изучен в отношении азота почвы. Органические соединения азота практически не могут быть непосредственно использованы растениями, и только в результате деятельности аммонифицирующих и нитрифицирующих бактерий они подвергаются минерализации и переходят в доступные для растений аммиак и нитраты. Эти превращения, как установлено в настоящее время, могут происходить и в ходе чисто химических процессов (без участия микроорганизмов). Однако такой путь трансформации почвенного азота имеет несравненно меньшее значение, чем биологическая минерализация.

В условиях интенсивной химизации земледелия нашей страны постоянно увеличивается общее количество азота, вносимого с минеральными удобрениями. В 1980 г. оно составит около 65% от выноса азота с урожаями; к 2000-му году с удобрениями в почву будет поступать даже несколько больше азота, чем его содержится в урожаях, которые к этому времени достигнут весьма высокого уровня. Казалось бы, в этих условиях почвенная микрофлора будет играть второстепенную роль в обеспечении растений азотом.

Однако многочисленными опытами, проведенными в лаборатории трансформации азота Всесоюзного института сельскохозяйственной микробиологии и в ряде дру-

гих научных учреждений СССР и за рубежом [1, 14, 46, 58, 66], показано, что с повышением уровня химизации количество почвенного азота, мобилизованного микроорганизмами и поступающего в растения, не только не уменьшается, а наоборот, большей частью возрастает (рис. I.1). В качестве примера можно привести результаты микрополевых опытов с дерново-подзолистыми поч-

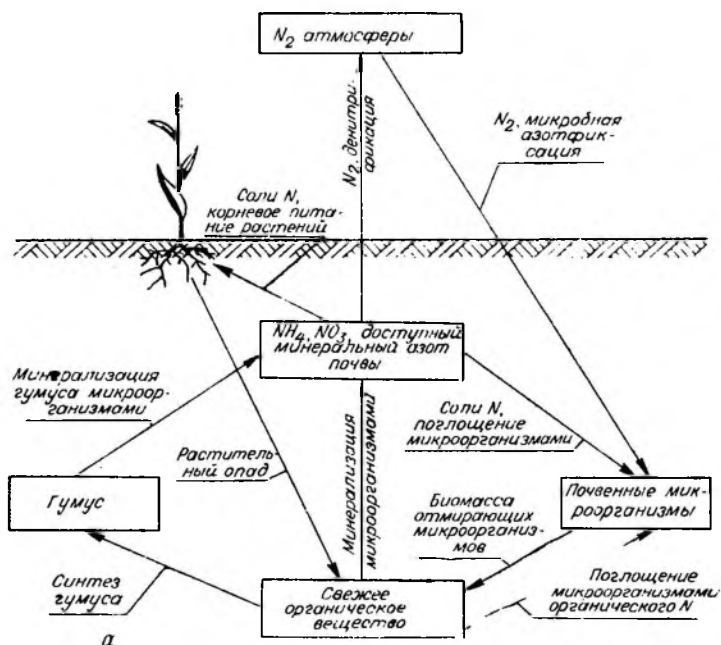


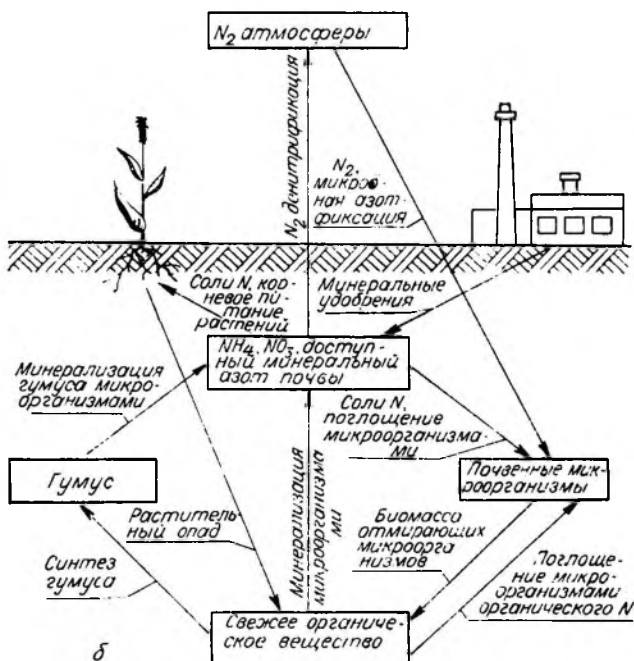
Рис. I.1. Роль почвенных микроорганизмов
а — в условиях естественного плодородия;

вами северо-западной зоны (табл. I.1); из азотных удобрений применяли сульфат аммония, меченный ^{15}N ; культура — ячмень.

В этих опытах удобрение вносили из расчета 40 мг азота на 1 кг почвы, что в пересчете на 1 га составляет 120 кг. Несмотря на такую высокую дозу, доля почвенного азота в общем потреблении его растениями остается весьма высокой, а ведь органические соединения почвы

могут быть использованы растениями только после их минерализации, которая осуществляется с помощью почвенных микроорганизмов. Почвенные микроорганизмы играют существенную роль и при повышении дозы вносимого азотного удобрения (табл. 1.2).

Особенно велика доля почвенного азота, используемого растениями, на высокоплодородных почвах с повы-



в азотном питании растений:

б — в условиях искусственного плодородия

шенным содержанием органического вещества и высокой микробиологической активностью. При анализе приводимых в таблицах данных необходимо учитывать, что в понятие «почвенный азот» входит не только азот природных органических соединений почвы, но и вновь включившийся в органическое вещество почвы остаточный (неиспользованный растениями) азот ранее внесенных минеральных и органических удобрений. Насколько значительным

Таблица 1.1

Использование растениями ячменя азота удобрения и почвы

Уровень плодородия дерново-подзолистых почв	Урожай зерна, г/сосуд		Вынос азота, мг/сосуд		Доля почвенного азота в общем выносе, %	Количество опытов
	РК	НРК	из удобрения	из почвы		
Низкий	6,0	14,2	124	357	74	6
Средний	10,5	21,4	185	330	64	8
Высокий	16,7	25,5	150	754	83	10

Таблица 1.2

Использование растениями почвенного азота при возрастающих дозах азотного удобрения

(по данным микрополевых опытов с сульфатом аммония, меченным ^{15}N)

Уровень плодородия почв	Удобрение	Вынос азота урожаем, мг/сосуд		Доля почвенного азота в общем выносе, %	Количество опытов
		из удобрения	из почвы		
Низкий	РК	—	221	—	3
	РК+N ₁	73	241	76	
	РК+N ₂	156	271	64	
	РК+N ₃	232	317	58	
Средний	РК	—	208	—	5
	РК+N ₁	82	241	73	
	РК+N ₂	187	271	59	
Высокий	РК	—	551	—	8
	РК+N ₁	94	576	86	
	РК+N ₂	145	659	82	
	РК+N ₃	207	934	82	

может быть его количество, показывают результаты лизиметрических опытов с удобрениями, азот которых был мечен ^{15}N (табл. I.3 и I.4). Как видно из этих данных, неиспользованный растениями азот удобрений (примерно 60—70% от внесенного количества) частично терялся, преимущественно в газообразной форме, частично вошел в состав органических соединений почвы. Третий путь превращения неиспользованного азота (необменная фиксация аммония и вымывание с дренажными водами ам-

Таблица 1.3

Баланс азота сульфата аммония, меченного ^{15}N

Почва, культура	Азот удобрения, % от внесенного			Автор
	использо- вано рас- тениями	осталось в почве	потери (преимуще- ственно га- зообраз- ные)	
Лизиметры				
Дерново-подзолистая легкосуглинистая, ячмень	46,1	33,1	20,8	Н. А. Сапожников, 1971
Дерново-подзолистая тяжело-суглинистая, ячмень	34,2	43,6	22,2	В. Б. Замятина, 1971
Подзолистая супесчаная, овес	38,4	44,4	17,2	То же
Микрополевые опыты				
Подзолистая: яровая пшеница	33,0	48,9	18,1	П. М. Смирнов, 1970
яровая пшеница*	31,3	27,9	39,3	То же
картофель	39,1	23,8	36,1	»

* Вместо $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ вносился $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$.

Таблица 1.4

Баланс азота навоза, меченного ^{15}N
(опыты Т. К. Ливановой в лизиметрах)

Год опыта	Меченый азот навоза, мг/сосуд		Коэффициент использования азота навоза, %
	внесено с навозом	использовано растением	
1-й	1280	167	12,9
2-й	—	43	3,3
Всего за 2 года	1280	210	16,2

миака и нитратов) в условиях проведенных опытов играл второстепенную роль.

Значительная часть неиспользованного растениями азота навоза и зеленых удобрений также остается в поч-

ве и включается в общий биологический цикл превращения органического вещества и азота.

Менее изучена роль почвенной микрофлоры в мобилизации других питательных веществ: фосфора, калия, кальция, серы, магния и микроэлементов. В отличие от азота значительная часть этих элементов входит в состав минеральных соединений почв или обменно поглощена коллоидами почвы. Переход их в почвенный раствор, из которого они могут быть использованы растениями, связан преимущественно с химическими и физико-химическими процессами. Однако выделяющаяся в результате жизнедеятельности почвенных микроорганизмов углекислота способствует как установлено многочисленными исследованиями, мобилизации труднорастворимых фосфатов. К сожалению, количественная сторона этих процессов в различных почвах изучена весьма слабо. Несомненно, что в аналогичном направлении могут действовать не только углекислота, но и другие продукты метаболизма почвенных микроорганизмов.

Существенную роль играет почвенная микрофлора также при мобилизации питательных веществ, содержащихся в органических соединениях, хотя, по нашему мнению, биологическая мобилизация, например, органических фосфатов уступает по своему значению процессам аммонификации и нитрификации.

Таковы в общих чертах основные факты прямого влияния жизнедеятельности почвенных микроорганизмов на мобилизацию питательных веществ в почве.

Почвенная микрофлора, кроме прямого, оказывает косвенное влияние на корневое питание растений. Оно заключается, в частности, в разложении и потреблении корневых выделений вегетирующих растений, воздействии на обмен веществ растения физиологически активными метаболитами, а также участии в синтезе гумусовых веществ и в формировании оптимальной почвенной структуры, т. е. факторов, способствующих поддержанию в почве наиболее благоприятного для культурных растений физического и физико-химического режимов.

Однако многие микроорганизмы в ряде случаев контактируют с растениями за содержащиеся в почве питательные вещества. Ярким примером в этом отношении являются целлюлозоразлагающие бактерии, развитие которых резко усиливается при обогащении почвы целлюлозой. При поступлении, например, в почву соломы эти

микроорганизмы могут поглощать и закреплять в форме органического вещества 45% [57] и даже 80—90% [47] азота внесенных удобрений. Более подробно микробиологическая иммобилизация азота рассмотрена в последующих разделах.

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО АЗОТА ПОЧВЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Основными процессами в круговороте азота являются минерализация азотсодержащих органических соединений и иммобилизация минерального азота. В процессе минерализации азот органических соединений переходит в минеральный, доступный растениям. Процесс иммобилизации, напротив, трансформирует подвижные, растворимые в воде вещества (преимущественно минеральные) в труднорастворимые и нерастворимые, недоступные для растений.

Минерализация органических соединений азота складывается из процессов аммонификации и нитрификации. Процесс аммонификации можно охарактеризовать как разложение микроорганизмами органических азотсодержащих веществ, сопровождающееся выделением аммиака вследствие неравномерного потребления микроорганизмами азота и углерода разлагаемого ими субстрата, преимущественного использования белков и их дериватов в качестве источников углеродного питания [64].

Аммонифицирующая микрофлора почвы — самая многочисленная и разнообразная по своему составу физиологическая группа почвенных микроорганизмов. В аммонификации азотсодержащих органических соединений могут участвовать аэробные и анаэробные бактерии, плесневые грибы и актиномицеты [2, 19, 34, 39]. Эта обширная группа микроорганизмов представлена полифагами, которые способны в большинстве своем потреблять самые разнообразные вещества и часто предпочитают в качестве энергетического материала сахара белкам [41]. Многие аммонификаторы хорошо растут на средах с аммонийным азотом.

Интенсивность разложения в почве различных органических азотсодержащих соединений зависит, в первую очередь, от их устойчивости к микробному воздействию. Неодинаково, например, разлагаются белки различных микроорганизмов [9]. Растительные белки минерализу-

ются намного медленнее, чем белки животного происхождения. Простые органические азотсодержащие вещества подвержены более интенсивной аммонификации, чем сложные. В полевом опыте А. В. Рыбалкиной и Е. В. Кононенко [43] в перегнойно-торфяной почве максимальное накопление аммиака было отмечено уже на вторые сутки опыта и достигло по азоту величины, равной 50% от внесенной дозы мочевины. В то же время распад гуминовой кислоты в благоприятных условиях лабораторного опыта длится месяцами [29]. Это обусловлено тем, что основная часть азота в гумусовых веществах находится в ароматическом ядре, где он связан чрезвычайно прочно, а относительно мобильный азот аминокислот периферических цепей составляет лишь небольшую часть азота гумуса.

Количество аммиака, освобождающегося в результате аммонификации, определяется не только запасом органического азота, доступностью его для микроорганизмов, но и содержанием в разлагаемом субстрате углерода и азота. Так, при отношении в нем C : N более широким, чем 20 : 1, аммиак не выделяется. Не высвобождается аммиак также при наличии в почве безазотистых соединений, которые могут служить микрофлоре источником углерода и энергии. Существенное влияние на аммонификацию оказывают водно-воздушный и тепловой режимы, а также физико-химические условия в почве.

Большое влияние, в частности, температурных условий связано с жизнедеятельностью микроорганизмов, выработкой ферментов, а также с непосредственным влиянием температурного фактора на скорость ферментативных реакций. Доказано, что каждое повышение температуры на 10°C ускоряет биохимические реакции в 2—3 раза. Пределом такого повышения является температура, вызывающая денатурацию белка [22, 39].

Большинство почвенных бактерий, плесневых грибов и актиномицетов относят к мезофилам [35]. Их крайние температурные точки развития находятся в пределах 3—45°C, при оптимуме в 20—40°. Следует указать на относительно низкую минимальную температуру развития микроорганизмов, способных осваивать азотсодержащие и безазотистые органические вещества. По имеющимся в литературе сведениям, слабое развитие многих аммонифицирующих бактерий, плесневых грибов и почвенных дрожжей наблюдали при температурах до —5 и даже

—8°C. Развитие целлюлозоразлагающих бактерий приостанавливается при 0°, бактерий-нитрификаторов — при +2, +3°C [15, 40, 61, 62]. По мнению многих исследователей [40, 65, 69], нитрифицирующие бактерии более чувствительны к понижению температуры, чем аммонификаторы.

Неодинакова реакция разных групп почвенных микроорганизмов и на содержание в почве влаги. Для интенсивного течения трансформации азота наиболее благоприятна влажность почвы, равная 60% от полной влагоемкости [68]. Минимум влажности для многих почвенных микроорганизмов не превышает полуторной-двойной максимальной гигроскопичности почвы [13, 33]. При этом высокой ксерофильностью отличаются плесневые грибы и актиномицеты, которые хорошо развиваются при влажности почвы, равной 12,5—20,0% от полной влагоемкости. По наблюдениям Д. М. Новогрудского [33], они могут осуществлять аммонификационный процесс при влажности почвы, не превышающей максимальную гигроскопическую влажность. Напротив, бактериальная флора, особенно аэробные целлюлозоразлагающие и нитрифицирующие бактерии, очень чутко реагирует на ухудшение водного режима почвы (табл. 1.5).

Таблица 1.5

Влияние влажности на развитие микрофлоры каштановой почвы к концу 3-й нед опыта, тыс. на 1 г почвы (лабораторный опыт)

Слой почвы, см	Влажность, %	Плесневые грибы	Бактерии		
			аммонифицирующие	денитрифицирующие	аэробные целлюлозоразлагающие
0—20	13	7,4	300	1400	0,03
	26	10,4	3400	8100	14,80
20—35	13	12,5	1500	2800	0,03
	26	14,2	3400	8200	15,00

Низкая влажность почвы в засушливых районах сдерживает темпы разрушения растительных остатков, замедляет процессы образования [12] и разложения гумусовых веществ [16].

Не только в районах недостаточного увлажнения [52, 61], но и в северо-западных районах страны по мере пе-

ресыхания верхних почвенных слоев горизонт наибольшей активности микробиологических процессов смещается глубже. Так, при заделке соломистого навоза на глубину 8—10 см в легкосуглинистую подзолистую почву потери сухого вещества навоза (показатель интенсивности процессов его минерализации) в избыточно увлажненном 1962 году за 75 дней составили 22%, а в засушливом 1963 году — 29,6%. В то же время при заделке удобрения в слой 18—20 см расходование микроорганизмами органического вещества навоза составило соответственно 18,8 и 28,9%. При пересыхании верхних слоев почвы отмечено также большее накопление минерального азота при глубокой заделке навоза, чем при мелкой. В засушливом 1963 году в I и II дскадах августа в очагах мелко внесения навоза в подзолистую легкосуглинистую почву содержалось по 280 и 332 мг NO_3 на каждые 100 г разлагающегося удобрения, а в слое 18—20 см — соответственно 337 и 384 мг [55].

Как указывалось выше, среди аммонификаторов имеются как аэробы, так и анаэробы — факультативные и облигатные. Однако аммонификация в аэробных условиях проходит энергичнее и характеризуется полным окислением промежуточных продуктов гидролиза. При этом от сложной белковой молекулы остаются вода, углекислота, аммиак, сульфаты, а от нуклеопротеидов — еще и фосфорная кислота. При недостаточном количестве кислорода в среде, кроме NH_3 и CO_2 , накапливаются восстановленные соединения: сероводород, меркаптаны, органические кислоты, углеводороды, амины, индол и скатол; многие из них токсичны.

Высокая аэрофильность свойственна плесневым грибам и аэробным целлюлозоразлагающим бактериям. Потребность в кислороде у нитрифицирующих бактерий в 20 раз выше, чем у гетеротрофов [72].

Зависимость микрофлоры от распределения гумуса и органических остатков по почвенному профилю, а также неодинаковая реакция различных групп почвенных микроорганизмов на условия, складывающиеся в почве, отчетливо выявляются при сравнении микрофлоры целинной и старопашотной почвы (табл. I.6). При вспашке улучшается водно-воздушный режим почвы, перераспределяются растительные остатки, глубже распределяются корни растений, увеличивается заселенность почвы микроорганизмами, углубляется ее микробиологический про-

Микрофлора целинной и старепахотной каштановой почвы
(Красный Кут Саратовской области)

Микроорганизмы	Слой почвы, см	Содержание микроорганизмов, тыс. в 1 г сухой почвы	
		целина	старепахотная почва (черный пар)
Плесневые грибы	0—10	23,0	15,4
	10—20	8,3	11,8
	20—35	3,8	11,3
	35—50	3,2	5,5
Гнилостные бактерии (на МПА)	0—10	7800	12500
	10—20	4700	8300
	20—35	2050	8200
	35—50	1330	2040
Бациллы	0—10	492	975
	10—20	258	986
	20—35	91	585
	35—50	75	127
Маслянокислые бактерии	0—10	285	84
	10—20	29	—
	20—35	29	84
	35—50	29	84
Денитрифицирующие бактерии	0—10	285	300
	10—20	29	3000
	20—35	Менее 10	300
	35—50	» 10	75
Анаэробные фиксаторы азота	0—10	2,9	15,6
	10—20	6,9	84,0
	20—35	6,9	7,2
	35—50	5,7	7,2
Аэробные целлюлозоразлагающие бактерии	0—10	2,3	10,2
	10—20	0,9	5,4
	20—35	0	5,0
	35—50	0	0,05
Нитрифицирующие бактерии	0—10	0,5	4,4
	10—20	0,3	3,0
	20—35	Менее 0,06	2,1
	35—50	0	0,3

филь. О происходящем при этом усилении минерализационных процессов свидетельствует относительное снижение численности грибов и возбудителей маслянокислого брожения в старепахотной почве, усиление развития бацилл, нитрифицирующих и аэробных целлюлозоразлагающих бактерий.

Наиболее типичным для подзолистых и дерново-подзолистых почв является переувлажнение. Особенно зна-

чительно оно на почвах тяжелого механического состава с уплотненным подпахотным горизонтом, а также на торфяно-болотных почвах. Переувлажненность почвы сопровождается ухудшением в ней аэрации.

При недостаточной аэрации снижается численность и активность микрофлоры, трансформирующей азот. Так, при естественном уплотнении подзолисто-глеевой тяжелосуглинистой почвы в ней уменьшается количество плесневых грибов, гнилостных и нитрифицирующих бактерий (табл. 1.7). Значительные изменения претерпевают про-

Таблица 1.7

Влияние рыхления подзолисто-глеевой тяжелосуглинистой почвы на развитие микрофлоры

Вариант обработки	Количество микроорганизмов, тыс. в 1 г почвы					
	аммонифицирующих бактерий		плесневых грибов		нитрифицирующих бактерий	
	24/VII	14/VIII	24/VII	14/VIII	24/VII	14/VIII
Без обработки (плотная почва)	4800	2600	90	10	1,0	1,4
Рыхление, см:						
на 10	5000	8200	190	550	4,3	6,3
» 20	14000	6800	340	190	7,8	14,0

цессы минерализации органических удобрений. Так, в 1962 г., когда выпало особенно много осадков, нитраты в прослойке разлагающегося навоза, внесенного в дерново-карбонатную тяжелосуглинистую почву, появились лишь во II декаде августа. В это время на каждые 100 г разлагающегося навоза, заделанного на глубину 18—20 см, приходилось по 101 мг NH_4 и 70 мг NO_3 при обычной вспашке и по 28 мг аммиака и 111 мг нитратов по фону вспашки с подпахотным рыхлением [54].

Аммонификация, как свидетельствует лабораторный опыт, проведенный И. П. Гречиным [10] при постоянно контролируемом водно-воздушном режиме, возможна в анаэробных условиях, но для жизнедеятельности нитрифицирующих бактерий необходима достаточная обеспеченность кислородом воздуха (табл. 1.8).

На нитрификацию оказывает отрицательное влияние даже временное пребывание почвы в анаэробных услови-

Таблица 1.8

Влияние водно-воздушного режима подзолистей почвы на микрофлору, разлагающую навоз, и ее биохимическую активность

Показатель	V возд.	Дни опыта				
	V воды	1-й	7-й	14-й	30-й	40-й
Содержание микро- организмов, млн. в 1 г сухого навоза:						
плесневых грибов	1,3	1,7	3,8	2,9	2,0	2,2
	0,4	1,7	0,7	0,8	0,5	0,9
гнилостных бак- терий (на МПА)	1,3	20600	20800	21000	21100	29500
	0,4	20600	9100	6000	1100	800
бактерий, ис- пользующих ми- неральный азот	1,3	13500	9300	8500	7300	5400
	0,4	13500	4300	4300	600	500
денитрифициру- ющих бактерий	1,3	8	120	110	115	Не бы- ло в анали- зе
	0,4	8	18	20	16	
нитрифицирую- щих бактерий	1,3	0,005	0,005	0,384	0,455	
	0,4	> 0,005	> 0,005	> 0,005	> 0,005	
аэробных цел- люлозоразлага- ющих бактерий	1,3	0,06	5,8	16,4	14,7	19,8
	0,4	0,06	0,04	0,05	0,26	0,27
Содержание погло- щенного аммиака, мг на 100 г сухого навоза	1,3	204	321	184	20	25
	0,4	204	359	207	224	330
Выделение CO ₂ , мг за 24 ч	1,3	1,31	17,20	19,9	20,6	30,3
	0,4	1,31	5,4	4,2	11,4	9,7
Активность протео- литических фермен- тов, мг аминного азота на 1 г сухо- го навоза за 24 ч	1,3	2,10	5,04	7,64	6,85	6,67
	0,4	2,10	3,63	4,77	4,95	4,47

ях и оно выражено тем сильнее, чем продолжительнее был период предварительного анаэробнозиса [10]. В еще более резкой форме отрицательная реакция микрофлоры на ухудшение аэрации выражена в очагах почвы с высоким содержанием органического азота, например в зонах разложения навоза. Так, при уменьшении отношения между объемами пор, занятых воздухом, и объемом, заполненным водой до 0,4—0,5, подавлены не только нитрифицирующие и требовательные к аэрации целлюлозоразлагающие бактерии (табл. 1.8), но и бактерии-аммонификаторы; одной из причин депрессии можно считать накоп-

ление в среде аммиака и других восстановленных соединений азота [54].

Дренаж и первичная вспашка способствуют развитию микрофлоры в торфяно-болотной почве. Они улучшают режим температуры, влажности и, главное, аэрации, благоприятный для активной минерализации органических остатков и накопления нитратов, которые почти полностью отсутствуют в почве целины [6].

Усиление нитрификации под влиянием агрономелиоративных мероприятий отмечено также в переувлажненных минеральных почвах [37].

Нитрификация — типичный хемосинтетический процесс, при котором ассимиляция CO_2 осуществляется за счет энергии, освобождающейся при окислении аммиака в нитрит (I фаза нитрификации) и нитрита в нитрат (II фаза). Нитрификации подвергается не только поглощенный и находящийся в почвенном растворе аммоний, но и аммиак внесенных в почву минеральных и органических удобрений. В благоприятных условиях этот процесс проходит довольно быстро (табл. 1.9).

Таблица 1.9

Скорость нитрификации сульфата аммония (меченного ^{15}N)
в условиях микрополевых опытов без растений
(опыты Е. И. Нестеровой)

Почва	Степень окультуренности	рН солевой вытяжки	Нитрифицировалось, % от количества аммония, внесенного в почву	
			на 15-й день	на 30-й день
Среднеподзолистая супесчаная	Слабая	6,8	11,5	24,9
То же	»	—	24,6	29,2
Подзолистая супесчаная	Повышенная	6,8	71,5	92,8
Слабоподзолистая легкосуглинистая	Высокая	5,8	56,8	71,0
Слабоподзолистая среднесуглинистая	»	5,2	78,9	96,0

На слабокислых хорошо аэрируемых с высокой биологической активностью почвах уже на 15-й день нитрифицируется больше половины внесенного в почву аммония.

Медленнее идет нитрификация на слабокультуренных почвах [45]. Как недостаток влаги, так и ее избыток (в последнем случае ухудшается аэрация корнеобитаемого слоя почвы) отрицательно влияют на нитрификацию (табл. I.10 и I.11).

Таблица I.10

Влияние влажности на энергию нитратонакопления в каштановой почве, мг NO_3 на 1 кг сухой почвы за 3 нед

Слой почвы, см	Содержание NO_3		Прибавка	Содержание NO_3		Прибавка
	при влажности 13%	в исходной почве		при влажности 26%	в исходной почве	
0—20	27,1	9,5	17,6	48,3	9,5	38,8
20—35	20,2	8,7	11,5	35,0	8,7	26,3

Данные табл. I.11 показывают, что избыточное увлажнение подавляет нитрификацию. Но и после его снятия (в июле, в варианте «Временное избыточное») сохраняется его остаточное отрицательное влияние. Нитраты в этом варианте по сравнению с контролем почти не накапливаются. Кроме того, при избыточном увлажнении в почве содержится довольно значительное количество аммиачного азота (особенно в сосудах с сульфатом аммония). В условиях избыточного увлажнения, несмотря на наличие значительных количеств аммиачного азота, резко уменьшается поступление в растение азота как из почвы, так и из внесенных удобрений (табл. I.12).

Основной причиной недостаточного снабжения азотом растений на переувлажненных почвах является не столько торможение нитрификации, сколько общее ухудшение условий произрастания культурных растений (недостаток кислорода для дыхания корней, накопление токсических веществ, образующихся в результате некоторых микробиологических и химических процессов, протекающих в плохо аэрируемых почвах).

В отличие от аммонификаторов нитрифицирующие бактерии, так же как азотфиксирующие, чутко реагируют на изменения реакции среды. Слабощелочная реакция наиболее благоприятна для нитрифицирующих бактерий [23, 44].

Влияние постоянного и временного избыточного увлажнения
на нитрификацию в подзолисто-глеевой почве [4]

Таблица I.11

Вариант увлажнения	Удобрение	Содержание азота, мг на 100 г почвы							
		нитратного				аммиачного			
		6/VI	19/VI	11/VII	7/VIII	6/VI	19/VI	11/VII	7/VIII
Нормальное	PK	8,6	6,5	6,0	4,8	0,4	0,4	0,8	2,1
	PK+N	15,2	20,8	23,2	20,2	1,6	0,6	0,5	0,7
Постоянное избыточное	PK	1,0	Нет	Нет	Нет	1,9	2,2	2,8	5,1
	PK+N	1,7	»	»	»	7,3	6,8	6,3	6,0
Временное избыточное	PK	1,5	Нет	Нет	0,3	1,8	2,0	0,8	0,7
	PK+N	2,6	0,3	4,4	5,8	6,3	6,2	4,4	5,8

Примечание. В варианте «Временное избыточное» 6 и 19/VI наблюдалось избыточное, 11/VII и 7/VIII — нормальное увлажнение.

Влияние избыточного увлажнения на вынос азота растением ячменя, мг/сосуд
(вегетационный опыт Н. А. Ивановой, 1972)

Таблица I.12

Увлажнение	Удобрение	Кущение		Трубкавание		Колошение		Полная спелость	
		из удобрения	из почвы	из удобрения	из почвы	из удобрения	из почвы	из удобрения	из почвы
Нормальное	PK	—	14	—	78	—	104	—	137
	NPK	5	10	87	95	100	106	142	236
Избыточное (в период кущения)	PK	—	11	—	18	—	42	—	98
	NPK	4	9	51	43	64	68	69	139

Нитрификационный процесс в почве происходит достаточно энергично при рН 5,0—8,5. Гетерогенность почвенной среды и наличие в ней зон с более благоприятной кислотностью является, очевидно, одной из причин, обуславливающих возможность жизнедеятельности нитрифицирующих бактерий при рН 5,0 и даже 4,5, что нередко встречается в дерново-подзолистых почвах [38, 65].

Следует подчеркнуть, что в кислых почвах при хорошей аэрации значительно возрастает роль плесневых грибов в освоении азотсодержащих и безазотистых органических веществ, в то время как в почвах с кислотностью (рН), близкой к нейтральной, а также в почвах с затрудненной аэрацией в этих процессах повышается значение бактерий [39].

Известкование кислых почв значительно снижает численность плесневых грибов, в том числе патогенных и оказывающих токсическое влияние на растения [24, 25, 60]. Отмечают усиление развития актиномицетов, аэробных целлюлозоразлагающих и нитрифицирующих бактерий, а также азотфиксаторов [27, 39, 51], что, несомненно, стимулирует процессы минерализации.

ИММОБИЛИЗАЦИЯ МИНЕРАЛЬНОГО АЗОТА УДОБРЕНИЙ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Сущностью иммобилизации минерального азота является трансформация аммиака и нитратов в азот органических соединений микробных клеток и их метаболитов.

Иммобилизацию минерального азота осуществляют все микроорганизмы, способные усваивать аммиачный, нитритный и нитратный азот. Наибольшее значение при этом имеет гетеротрофная микрофлора. Особенно большая роль в иммобилизационных процессах принадлежит плесневым грибам, целлюлозоразлагающим бактериям, а также неспороносной микрофлоре, обильно населяющей не только ризосферу, но и почву вдали от корней [8, 39].

Свежие растительные и животные остатки, отмершая микробная биомасса, корневой опад и, особенно, легкодоступные микроорганизмам корневые выделения стимулируют процессы трансформации азота в большей мере, чем гумус, особенно его трудногидролизуемые и негидролизуемые фракции. Азотсодержащие органические соединения, богатые азотом, благоприятствуют нетто-минерали-

зации, т. е. преобладанию минерализационных процессов над процессами иммобилизации, а органические соединения с широким отношением $C:N$, наоборот, значительно усиливают биологическое поглощение минерального азота, причем закрепление аммиака в форме органического вещества идет энергичнее, чем закрепление нитратов [18, 45].

Интенсивность процессов трансформации азота и их направленность определяются содержанием и качественным составом энергетического материала и источниками углеродного питания для микроорганизмов, а также водно-воздушно-тепловым режимом и физико-химическими условиями почвы.

Для процессов иммобилизации очень характерны быстрые первоначальные темпы накопления органического азота. Максимум иммобилизации может быть достигнут в первые 4—6 нед [71], а в некоторых случаях даже на 2—6-й день разложения растительных остатков [73]. По данным П. М. Смирнова [45], Д. А. Коренькова [17], под посевами наибольшая интенсивность закрепления азота в органическом веществе имеет место в первые 3—5 нед вегетации растений. В наших опытах с подзолистыми почвами максимум иммобилизации азота сульфата аммония при внесении сахарозы был зафиксирован на вторые сутки, несколько позже начинал преобладать противоположный процесс — реминерализация биологически поглощенного азота (табл. I.13). Процессы иммобилизации азота при внесении соломы или целлюлозы проходили менее энергично. В этом случае максимум закрепления минерального азота отмечен позже, на 30—60-й день (табл. I.14).

Поглощение микрофлорой аммиака и нитратов сопровождается увеличением численности микроорганизмов и аккумуляцией в почве микробной биомассы (табл. I.15).

Иммобилизации подвергаются значительные количества азота минеральных удобрений. Так, в полевых условиях при потреблении растениями 30—40% азота удобрений иммобилизованный азот в почве может составить 30 и даже 50% от внесенного количества. В вегетационных опытах при использовании растениями около 60% азота удобрений в органическом веществе почвы оказывается закрепленным около 20% внесенного азота [45, 56]. Особенно резко возрастает поглощение минерального азота

Таблица 1.13

**Динамика минерального азота в подзолистых почвах
при внесении сахарозы и сульфата аммония
(лабораторный опыт)**

Почва	Содержание минерального азота, мг на 100 г почвы, по часам опыта									
	по РК+сахароза+сульфат аммония									до РК через 378 ч
	1-й	24-й	40-й	48-й	60-й	72-й	96-й	240-й	378-й	
Подзолистая супесчаная слабо-окультуренная	16,0	14,6	3,2	3,2	3,2	4,3	4,8	4,4	6,0	5,2
Слабоподзолистая легкосуглинистая хорошо окультуренная	14,3	14,8	2,6	6,1	5,7	4,6	4,9	9,1	8,8	6,3

Таблица 1.14

**Динамика минерального азота в подзолистой почве
без растений при разложении соломы**

Почва	Вариант опыта	Содержание минерального азота, мг на 1 кг сухой почвы, по дням опыта				
		11-й	30-й	60-й	80-й	100-й
Супесчаная слабоокультуренная	РК	16	41	30	28	29
	РК+N	109	88	106	120	103
	РК+N+ +солома	—	52	41	46	48
Легкосуглинистая хорошо окультуренная	РК	33	47	47	40	48
	РК+N	99	126	123	129	138
	РК+N+ +солома	—	45	34	46	58

микроорганизмами при обогащении почвы растительными остатками с высоким содержанием клетчатки (соломой, опилками и т. д.). Так, в опытах Ф. В. Турчина [57] при компостировании овсяной соломы с почвой в течение 6 мес в органическую форму перешло около 45% внесенного нитратного азота. П. М. Смирнов и Д. Вуйчик-Войтковяк [47] в аналогичном случае наблюдали иммобилизацию даже 80—90% азота удобрений.

Поглощение микроорганизмами минерального азота является одной из наиболее важных сторон конкуренции

Динамика микрофлоры, иммобилизующей азот удобрений, в подзолистых почвах
(опыт в сосудах без растений)

Почва	Микроорганизмы	Вариант опыта	Содержание микроорганизмов, тыс. в 1 г сухой почвы, по дням опыта				
			16-й	41-й	51-й	81-й	402-й
Супесчаная слабокультуренная	Плесневые грибы	РК	41	65	56	52	68
		РК+N+целлюлоза	50	80	60	66	71
		РК+N+сахароза	6770	5770	4190	2450	1390
	Гниlostные бактерии	РК	1240	1500	1240	1000	820
		РК+N+целлюлоза	71500	41400	41800	17200	8300
		РК+N+сахароза	60400	36400	32800	22000	12900
	Аэробные целлюлозоразлагающие бактерии	РК	0,5	0,9	0,8	0,6	0,3
		РК+N+целлюлоза	26,0	150,0	250,0	105,0	357,0
		РК+N+сахароза	5,0	3,7	2,4	3,0	0,6
Легкосуглинистая хорошо окультуренная	Плесневые грибы	РК	69	56	57	50	56
		РК+N+целлюлоза	54	45	44	82	53
		РК+N+сахароза	99	65	56	100	39
	Гниlostные бактерии	РК	23400	17620	11780	13000	17700
		РК+N+целлюлоза	44000	32400	17200	25800	17800
		РК+N+сахароза	80900	85000	44400	43400	57800
	Аэробные целлюлозоразлагающие бактерии	РК	5,0	7,5	4,2	8,0	6,0
		РК+N+целлюлоза	1500,0	5690,0	—	89,0	169,5
		РК+N+сахароза	23,0	21,9	58,4	40,9	8,4

между ними и высшими растениями за питательные вещества. Особенно резко такая конкуренция проявляется при создании условий, наиболее благоприятных для роста и развития одного из конкурентов (табл. I.16). Например,

Таблица I.16

Влияние внесенных в почву углеводов на вынос азота растениями, мг/сосуд

Вариант опыта	Слабоокультуренная супесчаная почва		Хорошо окультуренная легкосуглинистая почва	
	из удобрений	из почвы	из удобрений	из почвы
РК+N	225	239	244	294
РК+N+целлюлоза	48	136	51	158
РК+N+сахароза	67	153	48	224

при внесении в почву легкоразлагающихся углеводов — важного энергетического материала для ряда почвенных микроорганизмов — значительно усиливается использование ими минерального азота (и других элементов питания).

Как видно из табл. I.16, под влиянием внесенных углеводов резко сократился вынос растениями не только азота удобрений, но и азота почвы. Микробиологические анализы, проведенные в этих опытах, показали, что при внесении в почву целлюлозы и сахарозы численность ряда микроорганизмов — потребителей азота (плесневые грибы, аэробные целлюлозоразлагающие бактерии и др.) увеличилась в десятки и сотни раз.

Необходимо отметить, что конкуренция между растениями и микроорганизмами значительно ослабевает при внесении в почву больших доз азотных минеральных удобрений. Следовательно, если в почву поступает большое количество легкоразлагающихся углеводов, то доза азотных минеральных удобрений должна быть существенно увеличена.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСТЕНИЯМИ БИОЛОГИЧЕСКИ ПОГЛОЩЕННОГО АЗОТА

Минеральный азот, иммобилизованный микроорганизмами, как показывают опыты с использованием микробной биомассы, меченой ^{15}N [53], менее доступен для ра-

стений, чем азот удобрений (табл. I.17). Исследования, проведенные П. М. Смирновым [45, 46, 48], показывают, что степень минерализации и доступность для растений иммобилизованного азота удобрений в 5—6 раз превышают эти показатели для азота органического вещества почвы. Нами получены аналогичные результаты. Так, на слабоокультуренной почве из 400 мг подвергшихся иммобилизации азота минеральных удобрений растения использовали 64,6 мг (16,2%), а из 3480 мг органического азота почвы — 92,3 мг (2,6%).

На второй год минерализация иммобилизованного в почве азота удобрений в первой, особенно важной для питания растений, половине лета происходит слабо. На слабую минерализацию иммобилизованного азота в последствии указывают многие исследователи [5, 18, 49, 50]. Повторное внесение минеральных удобрений почти удваивает использование растениями азота удобрений, закрепившегося в почве в органической форме [50].

В связи с тем, что процессы иммобилизации значительно сокращают потери минерального азота, им и азоту, иммобилизованному микроорганизмами, отводится исследователями все большая роль в азотном балансе почвы [50]. Не случайно в орошаемом земледелии и в странах с теплым влажным климатом временную иммобилизацию минерального азота рассматривают как средство сокращения потерь нитратов от вымывания и денитрификации [31, 70].

Сведения, имеющиеся в литературе, и наши наблюдения показывают, что наиболее доступным для растений компонентом иммобилизованного в почве азота можно считать «плазменный» азот, т. е. закрепившийся в клетках микроорганизмов, особенно в неспоронных формах. Наибольшие возможности для его аккумуляции и использования растениями имеются, очевидно, в ризосфере. Здесь микробная биомасса составляет 0,18—0,27%, тогда как в почве, удаленной от корней, всего 0,03—0,06% [20]. Показательны в этом отношении опыты И. П. Русиновой с мечеными азотными удобрениями, в которых определяли содержание в почве минерального азота удобрений и соответственно вынос растениями меченого азота по фазам роста [42]. Результаты их приведены частично в табл. I.18.

Уже в начальный период вегетации растений значительная часть внесенного в почву минерального удобрения

Вынос овсом азота удобрения, поглощенного микроорганизмами, мг/сосуд
(опыты с биомассой, меченной ^{15}N)

Почва	Вариант опыта	1971 г., 1-й урожай			1972* г., 2-й урожай			1972** г., 2-й урожай		
		общий	из удоб- рения	из почвы	общий	из удоб- рения	из почвы	общий	из удоб- рения	из почвы
Супесчаная слабо- окультуренная	РК	200,0	—	200,0	112,4	—	112,4	233,1	—	233,1
	НПК	466,0	192,2	274,8	164,5	14,3	150,2	287,6	22,3	265,3
	РК+биомасса <i>Trichoderma lig-</i> <i>pogon</i>	372,0	167,8	204,2	165,8	23,0	142,8	295,6	32,1	263,5
	НПК+солома	253,5	71,8	181,7	135,9	16,0	119,9	258,0	25,0	233,0
Легкосуглинистая хорошо окуль- туренная	РК	288,0	—	288,0	134,6	—	134,6	253,3	—	253,3
	НПК	603,0	236,0	367,0	125,3	6,4	118,9	234,8	9,3	225,5
	РК+биомасса <i>Trichoderma lig-</i> <i>pogon</i>	258,5	102,0	156,5	177,9	16,3	161,6	283,9	22,8	261,1
	НПК+солома	268,0	65,4	202,6	170,9	15,9	155,0	329,8	25,1	304,7

* Весной вносилось РК.

** Весной вносилось ^{15}N +РК.

Таблица 1.18

**Использование растениями свежепоглощенного почвенными
микроорганизмами азота, мг/сосуд
(опыты И. П. Русиновой)**

Растение	Доза азота	Фаза, в начале которой определяли содержание в почве меченого азота минерального удобрения	Содержание азота удобрений в почве в минеральной форме	Вынос азота	
				за период от фазы 7—8-го листа и кушения до уборки	общий
Кукуруза	1500 $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$	7—8-й лист	118	572	831
	1500 $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	7—8-й лист	87	349	600
Яровая пшеница	600	Кущение	136	171	273

ния, меченого ^{15}N , оказывается поглощенной почвенными микроорганизмами. Однако этот свежепоглощенный азот в результате минерализации переходит в дальнейшем в доступную для растений форму. Действительно, под кукурузой к фазе 7—8-го листа в почве в минеральной форме ($\text{NH}_4 + \text{NO}_3$) осталось всего 118 мг меченого азота удобрения, а растениями за весь период до уборки было вынесено 572 мг (табл. 1.18). Вывод напрашивается сам собой — растения смогли взять такое количество за счет минерализации свежепоглощенного микроорганизмами азота.

Использование растениями иммобилизованного микроорганизмами азота значительно ослабевает в результате трансформации «плазменного» азота и микробных метаболитов с вхождением их в состав гумусовых веществ.

Накопленный в литературе экспериментальный материал не оставляет сомнений в том, что микрофлоре почвы принадлежит ведущая роль в разложении почвенного гумуса. С этими процессами в той или иной мере связаны разные группы почвенных микроорганизмов.

Роль отдельных видов микроорганизмов и различных их комплексов в разложении почвенного перегноя, очевидно, далеко не равноценна. По мнению Е. Н. Мишустина и его сотрудников [28], одна группа микроорганизмов использует лишь периферические группировки гуминовой кислоты. Разложение ее ядра является результатом дея-

тельности второй группы — истинных возбудителей процессов распада перегноя. Третья группа способна развиваться в смешанных культурах, ассимилируя только промежуточные продукты распада гуминовой кислоты.

Большой интерес представляют наблюдения Е. Н. Мишустина и его сотрудников [28, 30, 32, 36], установивших, что бактерии рода *Pseudomonas* наиболее интенсивно по сравнению с другими разлагают гуминовые соединения, используя их как источник углерода и азота. Плесневые грибы, микобактерии и актиномицеты значительно уступают им в этом отношении.

Процессы разложения гуматов интенсифицируются при дополнительном снабжении микрофлоры минеральным азотом и легкоразлагающимся безазотистым органическим веществом. Вероятной причиной этого Е. Н. Мишустин и Д. И. Никитин [29] считают ускоренное накопление микробной биомассы и комплекса ферментов, участвующих в указанном процессе. Если принять во внимание, что ризосфера, в частности прикорневой слой почвы, обильно заселена бактериями рода *Pseudomonas* [8, 21], а ризосфера хорошо развитых удобренных растений выделяется повышенной плотностью микробного населения [58], то рассмотренные выше исследования по разложению гумуса в какой-то мере проливают свет на причины, обуславливающие усиление мобилизации почвенного азота при снабжении растений азотными удобрениями.

Как уже указывалось, микробиологические процессы иногда приводят к непроизводительным потерям азота. Так, потери аммиака возможны при усилении аммонификационного процесса при внесении больших количеств органического азотсодержащего вещества, когда ослабевает поглощение $N-NH_4$ почвой. Потери аммиака возрастают на фоне высокой температуры, затрудненной аэрации, при неглубокой заделке органических удобрений и, особенно, при оставлении их на поверхности почвы. Но наиболее велики потери нитратов, совершенно неадсорбируемых почвой. Они не только могут быть вымыты из почвы, но и теряются вследствие денитрификации — «окисления органического вещества при сопряженном восстановлении азота нитратов до свободного азота» [41].

Бактерии-денитрификаторы — группа неспорозных микроорганизмов, обильно населяющих почву и ризосферу растений и использующих разнообразный энергетический материал — от углеводов до смол и битумов [41].

В анаэробных условиях, а также при повышенном содержании органического вещества денитрифицирующие бактерии восстанавливают нитраты до N_2O и N_2 . Этот газообразный азот почва теряет. Восстанавливать нитраты могут также микроорганизмы, способные окислять неорганические вещества, например тионовые бактерии и т. д.

Газообразные потери могут быть следствием химического взаимодействия между азотистой кислотой и аминокислотами или аммонийными солями, аминами и амидами, а также результатом восстановления ее при взаимодействии с органическим веществом почвы, содержащим фенольные группы, и ионами тяжелых металлов.

В ризосфере складываются условия, благоприятствующие денитрификации: там имеется легкодоступный микроорганизмам энергетический материал в виде корневых выделений и воздух обеднен кислородом вследствие поглощения его функционирующими корнями [26, 74].

Если процесс денитрификации ведет к безвозвратным потерям азота, то иммобилизация минерального азота микроорганизмами — к трансформации аммиачного и нитратного азота с включением в состав органических соединений. Исследования с применением тяжелого изотопа ^{15}N выявили тесную обратную связь между этими процессами [18, 45, 56]. Установлено также, что применение ингибиторов нитрификации снижает газообразные потери азота и в то же время способствует повышению запасов органического азота в почве [45].

ОПЫТЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ^{15}N В СТЕРИЛЬНЫХ ПОЧВАХ КАК ОДИН ИЗ МЕТОДОВ ИЗУЧЕНИЯ АЗОТНОГО РЕЖИМА

Стерилизация почв позволяет изучать некоторые новые аспекты участия почвенной микрофлоры в корневом питании растений. Нами проведено несколько опытов с применением ^{15}N в стерильных почвах.

Хорошо окультуренную дерново-подзолистую почву стерилизовали с помощью гамма-облучения. Лучевой метод стерилизации был выбран потому, что в почвах, содержащих более 1% гумуса, после автоклавирования образуется ряд токсических соединений, создающих неблагоприятный фон для проведения исследований.

Общая гамма-лучевая доза 4 млн. рентген. Испытывали два типа стерилизации — дробное облучение (мощ-

ность лучевого потока 200 Р/мин) и непрерывное облучение (мощность 800 Р/мин). Нормы фосфорно-калийных удобрений обычные (по 0,1 г K_2O и P_2O_5 на 1 кг почвы). В парующую почву лабораторного опыта вносили по 0,1 г азота, в почву вегетационного опыта под кукурузу — по 0,15 г азота на 1 кг почвы.

Помимо вариантов «Стерильный», «Нестерильный» было заложено по 3 варианта с инокуляцией стерильной почвы аммонифицирующими бактериями (смыв с чашек с МПА) и аэробными целлюлозоразлагающими бактериями (смыв с чашек со средой Виноградского для целлюлозоразлагающих бактерий), а также комплексом спонтанной микрофлоры (внесение нестерильной почвы из расчета 50 г на 1 кг стерильной почвы).

В условиях лабораторного опыта с применением дробной стерилизации вели наблюдения в течение 220 сут за жизнедеятельностью микрофлоры почвы, изучали ее биологическую активность и динамику минерального азота.

Было установлено, что почти полная стерильность почвы сохраняется в течение 30 сут. Далее постепенно нарастает численность аммонифицирующих бактерий. Однако их значительно меньше, чем в нестерильной почве (табл. I.19). В течение первых трех сроков исследований

Т а б л и ц а I.19

Влияние стерилизации и инокуляции на численность аммонифицирующих бактерий, млн./г

Вариант с $(NH_4)_2SO_4$	Количество аммонифицирующих бактерий через			
	1 сут	8 сут	30 сут	50 сут
Стерильный	Не обнаружено		0,12	0,82
Инокуляция:				
аммонифицирующими	70	42	90	10
аммонифицирующими + аэробными целлюлозоразлагающими	30	33	30	7,0
спонтанной микрофлорой	20	24	15	2,1
Нестерильный	9	8,5	7,0	3,4

значительное количество аммонифицирующих бактерий отмечено в инокулированной почве.

Денитрифицирующие, аэробные целлюлозоразлагающие и нитрифицирующие бактерии не были обнаружены

в стерилизованной почве в течение всего срока исследований (табл. 1.20). Значительное количество нитрифицирующих бактерий отмечено лишь в нестерильной почве и в варианте с инокуляцией субстрата спонтанной микрофлорой.

Т а б л и ц а 1.20

Влияние стерилизации и инокуляции на численность нитрифицирующих бактерий, тыс./г

Вариант с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Количество нитрифицирующих бактерий через			
	1 сут	30 сут	50 сут	160 сут
Стерильный	Не обнаружено			
Инокуляция:	Не обнаружено			
аммонифицирующими	Не обнаружено			
аммонифицирующими + аз-	Не обнаружено	4,4	12	4,6
робными целлюлозоразла-				
гающими				
спонтанной микрофлорой	0,3	75	11,5	3,7
Нестерильный	20	20	13,0	2,0

Установлено, что дробная лучевая стерилизация не влияет на активность окислительно-восстановительного фермента почвы — каталазы. Однако уреазная активность при этом несколько подавлена (рис. 1.2).

Как показало изучение динамики подвижных минеральных азотных соединений, количество аммиака было наибольшим в вариантах, где зафиксировано усиленное развитие аммонифицирующих и отсутствие или относительно слабое развитие нитрифицирующих бактерий (рис. 1.3). Количество питратного азота в этих почвенных образцах незначительно (рис. 1.4).

Таким образом, дробная стерилизация подавляет процесс нитрификации и способствует накоплению в почве значительных количеств (до 20 мг на 100 г почвы) аммиака. Внесение комплекса спонтанной микрофлоры восстанавливает жизнедеятельность нитрифицирующих бактерий и нитрификационную способность почв.

Изучение соотношений $^{14}\text{N} : ^{15}\text{N}$ в почве позволило установить заметный эффект дополнительной минерализации почвенного азота при внесении $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в нестерильном варианте (табл. 1.21).

Параллельно проводили исследования в условиях вегетационного опыта. Использовали методику Н. М. Лазарева, Л. М. Доросинского [11] в модификации Е. Х. Ремпе и В. В. Бернарда [3].

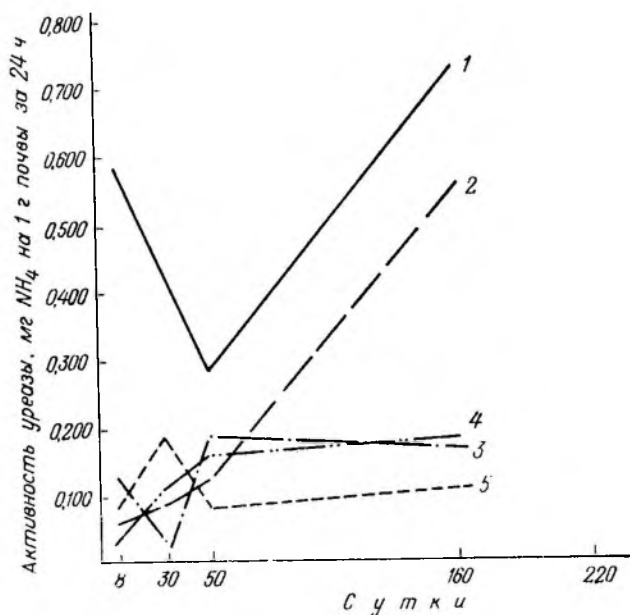


Рис. 1.2. Влияние стерилизации на активность уреазы: 1 — стерильный; 2 — с инокуляцией комплексом спонтанной микрофлоры; 3 — с инокуляцией аммонифицирующими+целлюлозоразлагающими микроорганизмами; 4 — с инокуляцией аммонифицирующими бактериями; 5 — нестерильный

Микробиологический анализ, проведенный при снятии опыта (48 дней), показал, что непрерывная стерилизация дает наибольший эффект сохранения стерильности. Количество аммонифицирующих, аэробных целлюлозоразлагающих и нитрифицирующих бактерий значительно больше в инокулированных вариантах, чем в нестерильной почве.

В этих же вариантах зафиксирована значительная величина «экстра»-азота (табл. 1.22).

Дополнительное использование почвенного азота (в результате применения НРК) было наибольшим в нестерильной почве, хотя и в стерильной сохранилась значительная величина «экстра»-азота.

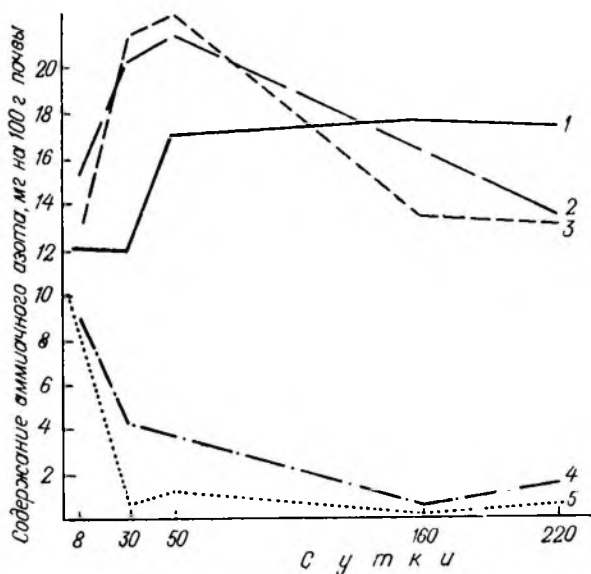


Рис. 1.3. Накопление в стерильной и нестерильной почве аммиачного азота:

1 — стерильный; 2 — с инокуляцией аммонифицирующими бактериями; 3 — с инокуляцией аммонифицирующими + целлюлозоразлагающими микроорганизмами; 4 — с инокуляцией комплексом спонтанной микрофлоры; 5 — нестерильный

При математической обработке данных урожая вегетационного опыта установлена достоверность различий между основными вариантами. Следует отметить увеличение урожая по фону РК при дробной стерилизации (на 50% по сравнению с нестерильным вариантом).

Таким образом, биологические процессы являются определяющими в трансформации азота в почве. Их направленность и интенсивность зависят не только от состава микрофлоры, численности тех или иных групп микроорганизмов, но и от условий, которые создаются в результате природных процессов почвообразования и воздействия на почву человека.

Таблица 1,21

**Влияние стерилизации на содержание в почве
минерального азота, мг на 100 г почвы
(лабораторный опыт, продолжительность 220 сут)**

Вариант	Сумма аммиачного и нитратного азота			«Экстра»- азот
	всего	из удоб- рения	из почвы	
Стерильный	13,00	—	13,00	—
Инокуляция:	17,82	5,95	11,87	—1,13
аммонифицирующими	12,00	—	12,0	—
аммонифицирующими + аэ- робными целлюлозоразла- гающими	18,10	5,96	12,14	0,14
спонтанной микрофлорой	13,10	—	13,10	—
	19,97	5,72	14,25	1,15
	10,95	—	10,55	—
	16,66	4,01	12,65	1,70
Нестерильный	9,55	—	9,55	—
	18,44	5,87	12,57	3,02

Примечание. Числитель — в почву внесены РК; знаменатель — NPK.

Таблица 1.22

**Вынос азота урожаями по фону стерилизации почвы и последующей
ее инокуляции, мг на 100 г почвы**

Вариант	Общий	В том числе		«Экстра»- азот	Средний урожай, г/сосуд
		из удоб- рения	из почвы		
Стерильный	103,9*	—	103,9	—	15,2
Инокуляция:	241,8	89,5	152,3	48,4	20,6
аммонифицирующими	102,5	—	102,5	—	14,6
аммонифицирующими + аэ- робными целлюлозоразла- гающими	236,0	86,2	149,8	47,3	18,7
спонтанной микрофлорой	91,2	—	91,2	—	13,5
	240,0	63,0	177,0	85,8	19,9
	105,1	—	105,1	—	13,5
	250,0	82,8	167,2	62,1	19,2
Нестерильный	59,4	—	59,4	—	9,4
	215,6	81,7	133,9	74,5	18,4
Стерилизация непрерывная	69,9	—	69,9	—	8,9
	194,9	76,0	118,0	48,1	14,9

Примечание. Числитель — в почву внесены РК; знаменатель — NPK.

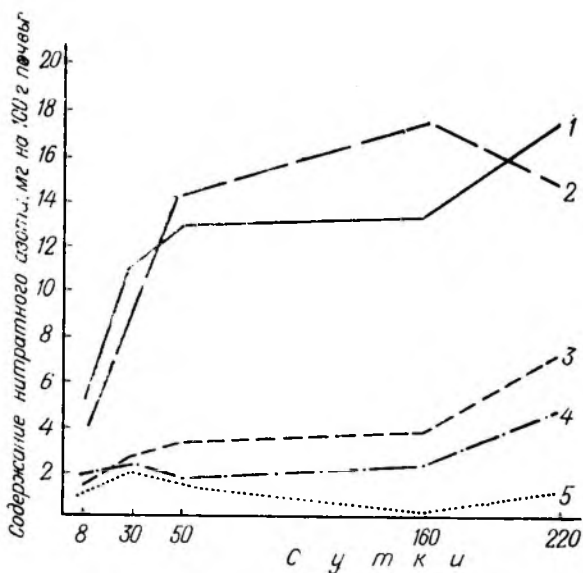


Рис. 1.4. Стерилизация почвы и содержание в ней нитратов:

1 — нестерильный; 2 — с инокуляцией комплексом спонтанной микрофлоры; 3 — с инокуляцией аммонифицирующими+целлюлозоразлагающими микроорганизмами; 4 — с инокуляцией аммонифицирующими бактериями; 5 — стерильный

Для улучшения азотного питания растений во всех почвенно-климатических зонах помимо применения соответствующих удобрений особенно важно сознательное регулирование процессов синтеза \rightleftharpoons разложения органического вещества, минерализации \rightleftharpoons иммобилизации азота путем улучшения водно-воздушно-теплового режима и физико-химических свойств почвы (устранение главным образом кислотности, щелочности и засоленности) в корнеобитаемом слое, увеличение мощности которого также является резервом положительного воздействия на условия корневого питания полевых культур.

Указатель литературы

1. Андреева Е. А., Щеглова Г. М. Азотные удобрения, их использование растениями и потери из почвы (по данным вегетационных опытов с N^{15}). — «Материалы III делегатского съезда почвоведов», М., 1968, с. 3—15.

2. Беккер З. Э. Физиология грибов и их практическое использование. М., Изд-во МГУ, 1963. 268 с.
3. Бернард В. В., Ремпе Е. Х., Воронкова Е. А. К вопросу о роли корневой микрофлоры в питании растений. — «Агробиология», 1956, № 6, с. 16—21.
4. Берестень Н. П. Влияние переувлажнения и биологической активности дерново-подзолистых почв на использование растениями азота и фосфора. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. с.-х. наук, Л., 1969. 24 с. (ЛСХИ).
5. Бобрицкая М. А., Дожшина Т. В., Андреева Е. А. Превращения азотных удобрений в дерново-подзолистой почве. — «Агрохимия», 1965, № 7, с. 37—41.
6. Вавуло Ф. П. Микрофлора основных типов почв БССР и их плодородие. Минск, «Урожай», 1972. 232 с.
7. Востров И. С. Изменение микробиологических показателей и биологической активности почвы при обработке ее по методу Т. С. Мальцева. — «Труды Ин-та микробиологии АН СССР», 1960, вып. 7, с. 205—213.
8. Возняковская Ю. М. Микрофлора растений и урожай. Л., «Колос», 1969. 240 с.
9. Вигоров Л. И. Минерализация белковых веществ почвенных бактерий. — «Микробиология», 1955, т. 24, вып. 4, с. 422—428.
10. Гречин И. П. Влияние аэробных и анаэробных условий на изменение свойств дерново-подзолистой почвы. — «Изв. ТСХА», 1960, вып. 3, с. 85—87.
11. Доросинский Л. М. К вопросу о роли микроорганизмов в корневом питании растений. — В кн.: Роль микроорганизмов в питании растений. М., «Колос», 1953, с. 19—21.
12. Духанин К. С. К вопросу о скорости разложения корневых и пожнивных остатков трав и травосмесей на почвах засушливого Юго-Востока. — «Почвоведение», 1940, № 11, с. 49—54.
13. Еникеева М. Г. Влажность почвы и действие микроорганизмов. — «Труды Ин-та микробиологии АН СССР», 1952, вып. 2, с. 130—138.
14. Замятина В. Б. Применение ^{15}N в агрохимических исследованиях. — В кн.: Удобрения и основные условия их эффективного применения. М., «Колос», 1970, с. 254—280.
15. Каарли Л. О развитии почвенных микроорганизмов в условиях низких температур. — «Учен. зап. Тартуского гос. ун-та», 1966, вып. 185, с. 348—356.
16. Кононова М. М. Современные представления об органическом веществе почвы. — «Труды конференции по вопросам почвенной микробиологии, связанным с внедрением в сельское хозяйство комплекса Докучаева—Костычева—Вильямса», 1953, М., Изд-во АН СССР, с. 38—53.
17. Кореньков Д. А. Минеральные удобрения и их рациональное применение. Изд. 2-е доп. М., Россельхозиздат, 1973. 176 с.
18. Корицкая И. А. Превращение азотных удобрений в почве и коэффициент их использования яровой пшеницей в полевом опыте с применением удобрений, меченных N^{15} . — «Агрохимия», 1968, № 2, с. 52—61.
19. Красильников Н. А. Лучистые грибки и родственные им организмы. М — Л., Изд-во АН СССР, 1938. 329 с.
20. Красильников Н. А. Микрофлора разлагающихся корней и ее специфика. — «Почвоведение», 1945, № 2, с. 131—139.

21. Краси́льников Н. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. М. — Л., Изд-во АН СССР, 1958. 463 с.
22. Крето́вич В. Л. Введение в энзимологию. М., «Наука», 1967, 351 с.
23. Лис Г. Биохимия автотрофных бактерий. М., ИЛ, 1958, 126 с.
24. Мазилкин И. А. Влияние углекислого кальция на микробиологические процессы в солонцевато-осолоделых почвах. — «ДАН СССР», 1954, т. 95, № 2, с. 341—344.
25. Мирчинк Т. Г. О грибах, обуславливающих токсичность дерново-подзолистых почв разной степени окультуренности. — «Микробиология», 1957, т. 24, вып. 1, с. 78—86.
26. Мишустин Е. Н. и др. Процесс денитрификации и потери азота из почвы. — «Изв. ТСХА», 1965, № 3, с. 109—116.
27. Мишустин Е. Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия. М., «Наука», 1972, 343 с.
28. Мишустин Е. Н. и др. Микроорганизмы, разлагающие гуминовую кислоту почвы. — «Докл. советск. почвоведов к VII Международному конгрессу в США», 1960, с. 161—168.
29. Мишустин Е. Н., Никитин Д. И. Атакуемость гуминовых кислот почвенной микрофлорой. — «Микробиология», 1961, т. 30, вып. 5, с. 841—848.
30. Мры́ша Г. Н. Доступность различных фракций гуминовых соединений для почвенных микроорганизмов. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1967, с. 136—140.
31. Набиев Г. Н. К вопросу о непроизводительной потере нитратов и возможности превращения их в органическую форму. — В кн.: Почвенная и сельскохозяйственная микробиология. Ташкент, Изд-во АН УзССР, 1963, с. 90—95.
32. Никитин Д. И. Разложение почвенных гуминовых кислот микроорганизмами. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1960, № 4, с. 618—662.
33. Новогрудский Д. М. Микробиологические процессы в почвах полупустынь. Почвенные микроорганизмы, гигроскопическая почвенная влага. — «Микробиология», 1946, т. 15, вып. 3, с. 178—186.
34. Новогрудский Д. М. Микробиологические процессы в почвах полупустынь. Категории почвенной влаги и нитрификация. — «Почвоведение», 1947, № 1, с. 27—31.
35. Новогрудский Д. М. Почвенная микробиология. Алма-Ата. Изд-во АН КазССР, 1956. 402 с.
36. Очилова М. Микроорганизмы, разлагающие гуминовую кислоту почвы, и факторы, активирующие их действие. — В кн.: Почвенная и сельскохозяйственная микробиология. Ташкент, Изд-во АН УзССР, 1963, с. 95—100.
37. Подлипенко Ф. А. Система агрономического обслуживания почвы на переувлажненных минеральных землях. — В кн.: Опыт мелиорации в Северо-Западной зоне. Сельхозиздат, 1962, с. 174—191.
38. Пейве Я. В. Биохимия почв. М., 1961, Сельхозгиз, 422 с.
39. Пошон Ж., Баржак Г. де. Почвенная микробиология. М., ИЛ, 1960, 560 с.
40. Рахно П. Х. Сезонная количественная динамика почвенных бактерий и факторы, обуславливающие ее. Таллин, Изд-во АН ЭССР, 1964. 234 с.

41. Работнова И. Л. Общая микробиология. М., «Высшая школа», 1966. 271 с.
42. Русинова И. П. Использование временно закрепленного в почве азота удобрений растениями с различным потреблением в онтогенезе.—Тезисы докладов Всесоюзного научно-метод. совещания по применению стабильного изотопа азота ^{15}N в исследованиях по агрохимии, почвоведению, сельскохозяйственной микробиологии и физиологии растений, Ташкент, 1974, с. 73—74.
43. Рыбалкина А. В., Кононенко Е. В. Микрофлора и азотный режим некоторых перегнойно-торфяных почв.— В кн.: Микроорганизмы и органическое вещество почвы. М., Изд-во АН СССР, 1961, с. 5—97.
44. Сапожников Н. А. Некоторые новые пути в развитии учения Д. Н. Прянишникова об азоте в земледелии СССР.— «Агрохимия», 1973, № 2, с. 3—12.
45. Сапожников Н. А. Азот в земледелии Нечерноземной полосы. Л., «Колос», 1973, 304 с.
46. Смирнов П. М. Превращение азотных удобрений в почве и их использование растениями. Автореф. дис. на соиск. учен. степени д-ра с.-х. наук. М., 1970. 43 с.
47. Смирнов П. М., Вуйчик-Войтковая Д. Превращение соединений азота и углерода в почве при внесении в нее соломы совместно с азотными удобрениями.— «Докл. ТСХА», 1965, вып. 109, с. 25—32.
48. Смирнов П. М. Об изменении структуры азотного баланса в земледелии СССР.— «Докл. ТСХА», 1969, вып. 149, с. 39—44.
49. Смирнов П. М., Шилова Е. И., Хон Н. И. Иммобилизация азота удобрений в полевых опытах на различных почвах.— «Изв. ТСХА», 1972, вып. 2, с. 85—91.
50. Смирнов П. М., Суков А. А. Доступность растениям и превращение в почве иммобилизованного азота удобрений в последствии.— «Агрохимия», 1970, № 12, с. 3—15.
51. Сорокина Т. А. Влияние удобрений на микрофлору почвы и ризосферы растений.— В кн.: Использование микроорганизмов в сельском хозяйстве. М.—Л., Сельхозиздат, 1962, с. 114—128.
52. Тарвис Т. В. Влияние приемов основной обработки на микрофлору каштановой почвы Заволжья. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Таллин, 1962. 27 с. (АН ЭССР).
53. Тарвис Т. В. О мобилизации в почве азота, поглощенного микроорганизмами.— В кн.: Вопросы численности, биомассы и продуктивности почвенных микроорганизмов. Л., «Колос», 1972, с. 177—192.
54. Тарвис Т. В., Бей-Биенко Н. В. Микробиологические и биохимические процессы разложения навоза в подзолистых почвах.— В кн.: Д. Н. Прянишников и вопросы химизации земледелия. М., «Колос», 1967, с. 490—498.
55. Тарвис Т. В., Бей-Биенко Н. В. О микробиологических и биохимических процессах при разложении навоза в подзолистых почвах.— В кн.: Использование микроорганизмов для повышения урожая сельскохозяйственных культур. Л., «Колос», 1966, с. 5—14.
56. Турчин Ф. В. и др. Превращение азота в почве по данным исследований с применением азота N^{15} .— «Докл. советск. поч-

- воведов к VII Международному конгрессу в США», 1960, с. 197—201.
57. Турчин Ф. В. и др. Превращение азотных удобрений в почве и их использование растениями. — В кн.: Плодородие и мелiorация почв СССР. [Докл. к VIII Международному конгрессу почвоведов]. М., Изд-во АН СССР, 1964, с. 65—74.
 58. Турчин Ф. В. Азотное питание растений и применение азотных удобрений. Избр. труды. М., «Колос», 1972. 336 с.
 59. Федоров М. В., Пантош Д. Зависимость между ростом растения и количеством бактерий на поверхности его корней. — «Микробиология», 1958, т. 27, вып. 6, с. 714—719.
 60. Хренова Г. С. Использование почвенных микробов-антагонистов в борьбе с корневой гнилью клевера. — В кн.: Пути укрепления кормовой базы. Свердловск, 1954, с. 151—154.
 61. Чистяков Ф. М. и др. Влияние низких температур на развитие бактерий и дрожжей. — «Микробиология», 1938, т. 7, № 7, с. 565—598.
 62. Чистяков Ф. М. и др. Влияние низких температур на развитие плесневых грибов. — «Микробиология», 1938, т. 7, № 7, 565 с.
 63. Чулаков Ш. А. Влияние различных способов обработки почв на динамику микробиологических процессов. — «Труды Ин-та микробиологии АН СССР», 1960, вып. 7, с. 249—259.
 64. Шапошников В. Н. Техническая микробиология. М., «Советская наука», 1947. 411 с.
65. Alexander M. Nitrification. — In: Soil nitrogen, ed. by W. V. Bartholomew, F. E. Clark. USA, 1965, p. 307-343.
 66. Broadbent F. E. Variables affecting A values as a measure of soil nitrogen availability. — «Soil Sci.», 1970, vol. 110, p. 19-23.
 67. Broadbent F. E. Effect of fertilizer nitrogen on the release of soil nitrogen. — «Soil Sci. Soc. Amer. Proc.», 1965, No. 6, vol. 29, p. 692-696.
 68. Greaves J. E., Carter E. Influence of moisture in the bacterial activities in soil. — «Soil Sci.», 1920, vol. 10, p. 361-387.
 69. Harmsen G. W., Kolenbrander G. Y. Soil inorganic nitrogen. — In: Soil nitrogen, ed. by W. V. Bartholomew, F. E. Clark. USA, 1965, p. 43-92.
 70. Harmsen G. W., Schreven D. A. Mineralization of organic nitrogen in soil. — Advance Argon., 1955, vol. 7, p. 299-398.
 71. Kuo M. N., Bartholomew W. V. On the genesis of organic nitrogen in decomposed plant residues. — In: The use of isotopes in soil organic matter studies. Pergamon Press, 1966, p. 329-335.
 72. Lees H. The biochemistry of the nitrifying organisms. The ammonia oxidizing systems of Nitrosomonas. — Biochem. J., 1952, vol. 52, p. 134-139.
 73. Stojanovic B. Y., Broadbent F. E. Immobilization and mineralization rates of nitrogen during decomposition of plant residues in soil. — «Soil Sci. Soc. Amer. Proc.», 1956, No. 2, vol. 20, p. 213-218.
 74. Woldendorp J. W. The quantitative influence of the rhizosphere on nitrification. — «Plant and Soil», 1962, vol. 17, p. 267-270.

Глава II. БИОХИМИЧЕСКАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРОФЛОРЫ И ПЛОДОРОДИЕ ПОЧВЫ

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВЫ

Важным фактором почвообразовательного процесса является биохимическая деятельность микроорганизмов. Она не только обеспечивает непрерывный круговорот в природе элементов-органогенов, но и определяет направленность почвообразовательных процессов, обуславливающих уровень их плодородия. На протяжении многих десятилетий предпринимались попытки раскрыть сущность и особенности биохимических процессов в почвах разных типов. Однако только современные успехи биологии и биохимии позволили приблизиться к решению этой проблемы.

Одним из новых направлений в изучении биологии и биохимии является почвенная энзимология. Пятидесятые годы XX в. можно считать периодом рождения этой области исследования почв. Тогда появились первые работы по почвенным энзимам [23, 48]. Именно эти работы привлекли широкое внимание исследователей разных стран к почвенным ферментам и послужили развитию нового направления почвенных исследований.

Однако первые сведения о каталитической активности почв появились задолго до этих работ. Так, И. И. Скуиндж [56] в своем историческом обзоре по почвенной энзимологии указывает на работу А. Ф. Вудса о пероксидазе почв, опубликованную в 1899 г., В. Ф. Купревич и Т. А. Щербакова [24] — на работы Либиха (в 1844 г.), К. А. Козлов [16] цитирует работу И. И. Ливанова о «ферментации» в почвах, опубликованную в 1799 г.

Среди работ по ферментативной активности почв, появившихся уже в первой половине XX в., следует отметить работы И. Кёнига [53] по каталазе, Дж. П. Конрада [46] по почвенной уреазе, Х. Т. Роджерса [54] по фосфатазам и О. С. Ротины [55] по фосфатазам и уреазе.

Но наиболее широкий резонанс вызвали работы В. Ф. Купревича и Э. Гоффмана. Они послужили началом развития почвенной энзимологии. Именно в это время в почвоведении и в почвенной микробиологии возникла необходимость в разработке методов для характеристики происходящих в почве сложных и многообразных биохимических процессов. Разрабатываются и широко используются методы определения «дыхания почвы» [26, 44], биологической активности почвы по разложению целлюлозы [6], метод «аппликаций» на льняной ткани [3] и на фотобумаге [30] и т. д. И хотя интенсивное развитие этого направления почвенных исследований насчитывает всего два десятилетия, их результаты достаточно обнадеживают. Главным в них является то, что активность почвенных ферментов часто в большей степени, чем другие показатели биологической активности, коррелирует с уровнем плодородия отдельных типов почв.

По вопросу о том, кто продуцирует ферменты почвы, мнение всех исследователей едино — все населяющие ее организмы. Очень незначительная их часть усваивает пищу путем переваривания ее внутри организма. Основное население почвы воздействует на пищу экзогенными ферментами. После отмирания организмов в почву попадают и их эндогенные ферменты.

Основными продуцентами ферментов в почве являются высшие растения (опад, корни) и микроорганизмы. Современные исследования показывают, что биомасса растений, попадающая в почву, может достигать 11 т на 1 га [21], а биомасса микроорганизмов — 0,6—5 т на 1 га [1].

Как показали исследования И. Киш [52], К. А. Козлова и Е. М. Ньюевой [18], различные представители почвенной фауны — дождевые черви, муравьи и т. д. — также обогащают почву ферментами.

До сих пор остается дискуссионным вопрос о том, кто является основным продуцентом почвенных ферментов — микроорганизмы или корни высших растений. Одни авторы [24] считают, что главная масса почвенных ферментов поступает из высших растений. В качестве доказательства они приводят очень высокую активность ферментов почвы залежей и целины, лесных подстилок и торфов, а также снижение активности ферментов по профилю почв параллельно с уменьшением массы корней расте-

ний. Другие авторы [15, 16, 27, 35, 50] считают главными продуцентами почвенных ферментов микроорганизмы. В подтверждение этого приводятся данные о тесной связи активности ферментов с численностью микроорганизмов [14, 27, 45], результаты исследований с применением инокуляции стерильных почв микроорганизмами, а также данные по индуцированному накоплению в почве ферментов при внесении в нее соответствующих специфических субстратов [47, 52, 57].

Невозможность разделить ферменты почвы по их происхождению на данном этапе развития науки затрудняет решение этого спора.

В настоящее время в почве обнаружено около 25 ферментов. Однако наибольшее внимание исследователей, работающих в различных почвенно-климатических зонах, привлекают 8: гидролитические — протеаза, уреаза, фосфатаза, инвертаза; окислительно-восстановительные — каталаза, дегидрогеназа, полифенолоксидаза, пероксидаза. Их активность характеризует интенсивность различных агрономически значимых процессов: процесс минерализации органических соединений азота (протеаза, уреаза) и фосфора (фосфатаза); процессы превращения соединений углерода — углеводов (инвертаза) и ароматических веществ (полифенолоксидаза, пероксидаза); реакции выделения кислорода (каталаза) и переноса водорода (дегидрогеназа). Таким образом, эти ферменты связаны с наиболее важными биохимическими процессами почвы: корневым питанием растений, плодородием почвы, превращением гумусовых веществ и окислительно-восстановительным режимом почвы.

Широкое использование классического сравнительно-географического метода при изучении самых различных сторон почвообразовательного процесса выдвинуло отечественное почвоведение на первое место в этой области мировой науки. Несомненно, такой метод может быть применен и в новой области исследований — почвенной энзимологии. Только сравнение уровня ферментативной активности в различных типах почв позволит выявить все своеобразие протекающих в них биохимических процессов, изучить особенности превращения органических веществ, а в итоге понять, чем определяется данный тип почвообразовательного процесса.

Наши исследования дерново-подзолистых, дерново-карбонатных почв, черноземов и сероземов (табл. II.1)

Активность гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов в почвах разных типов

Тип почвы	Происхождение	Гумус, %	Инвертаза, мг глюкозы	Протеаза, мг аминокислотного азота	Уреаза, мг NH ₃	Нуклеаза, мг Р ₂ О ₅	Глицерофос- фатаза, мг Р ₂ О ₅	Фитаза, Р ₂ О ₅	Сумма, мг Р ₂ О ₅	Каталаза, мл О ₂	Дегидроге- наза, мг ТФФ	Полифено- локсидаза, мг пурпур- галлина	Пероксида- за, мг пур- пураллина
Дерново-под- золистые	Ленинград	2,2	7,8	0,58	0,45	1,86	0,70	0,30	2,86	3,7	0,03	0,21	1,14
	»	1,9	9,8	0,67	0,42	2,29	0,62	0,30	3,21	3,9	0,03	0,36	1,57
	Архангельск	2,8	49,0	0,26	0,26	1,47	0,78	0,21	2,46	3,5	0,05	0,54	2,10
Дерново-карбо- натные	Псков	2,9	28,4	1,00	0,65	3,12	0,72	0,33	4,17	10,5	0,05	0,90	0,84
	Ленинград	2,4	20,8	0,95	1,46	1,12	0,72	0,28	2,12	25,3	0,08	1,05	0,66
	»	2,6	28,6	0,88	1,05	0,44	0,61	0,26	1,31	12,1	0,56	0,67	0,92
Черноземы	Луганск	4,9	16,7	0,17	0,10	0,23	0,58	0,08	0,71	49,6	0,53	4,50	1,80
	Пенза	6,9	23,6	0,13	0,10	0,61	4,32	0,08	5,01	22,7	0,38	1,91	0,57
	Башкирия	6,9	31,1	0,18	0,12	0,50	1,28	0,09	1,87	34,2	0,77	4,89	1,95
	Кокчетав	5,8	74,5	0,13	0,90	0,43	0,89	0,12	1,44	25,9	0,35	1,68	0,96
Сероземы	Фергана	2,2	5,3	0,88	1,23	0,07	0,08	0,12	0,37	24,1	0,06	4,50	1,53
	Ташкент	0,7	2,0	0,56	0,18	0,06	0,14	0,10	0,30	10,7	0,16	5,13	2,07
	Киргизия	0,9	7,5	0,31	0,30	0,18	0,51	0,28	0,97	8,2	0,17	5,25	1,38

показали, что изменение активности инвертазы в различных типах почвы соответствует сложившимся представлениям об уровнях их биологической активности [28]. Активность инвертазы наиболее низка в дерново-подзолистых почвах, выше в дерново-карбонатных и очень высока в черноземах; в сероземах она также очень низка. Активность инвертазы снижается параллельно уменьшению содержания гумуса в почвах — от чернозема до серозема и дерново-подзолистых почв. Наличие связи между активностью инвертазы и количеством гумуса в почве отмечается многими исследователями как для почв разных типов, так и внутри одного типа почв [5, 24, 49].

Величина коэффициента корреляции активности инвертазы с содержанием гумуса, по данным работающих в этой области исследователей, колеблется от 0,38 до 1. Такая большая величина указанного коэффициента в сложных многофакторных условиях почвенной среды свидетельствует, вероятно, о наличии функциональной связи между активностью инвертазы и гумусом почвы.

Действительно, при кислотном гидролизе гуминовых кислот различного происхождения наряду с соединениями ароматической природы и протеинами образуется 11—18% углеводов [9], превращение которых, несомненно, связано с активностью инвертазы и других карбогидраз.

Такая закономерность отмечена в исследуемых типах почв для активности гидролитических процессов, связанных с минерализацией органических соединений азота и фосфора.

Уровень активности протеазы и уреазы в дерново-подзолистых почвах близок к таковому в черноземах, а чаще даже превышает его. Это означает, что темпы минерализации соединений, содержащих органический азот в дерново-подзолистых почвах, несмотря на их низкую биологическую активность, по другим показателям достаточно высоки. Наивысшая активность уреазы и протеазы зафиксирована для сероземов, высокие темпы минерализации органического вещества в которых хорошо известны [20].

Очень убедительным подтверждением несоответствия численности микроорганизмов и активности процессов минерализации в дерново-подзолистых почвах и черноземах являются результаты исследований Е. С. Василенко и А. В. Рыбалкиной [4]. Они установили, что, несмотря

на более высокую численность микроорганизмов в черноземе, скорость минерализации органического вещества, меченного ^{15}N , и накопление $^{15}\text{NO}_3$ и $^{15}\text{NH}_3$ были значительно ниже, чем в дерново-подзолистой почве.

Сопоставление активности фосфатаз показывает, что их качественный состав неодинаков в разных почвах: в дерново-подзолистых почвах наиболее активны нуклеаза и фитаза, в черноземах — глицерофосфатаза; активность нуклеазы и фитазы находится на низком уровне. Дерново-карбонатные почвы занимают промежуточное положение между этими двумя типами, что и понятно: дерново-карбонатные почвы находятся в сходных с дерново-подзолистыми почвами климатических условиях, а карбонатная материнская порода обуславливает сходство биохимических процессов дерново-карбонатных почв с таковыми в черноземах. Очень низка активность всех фосфатаз в сероземах.

Исследования Д. М. Хейфеца [41] показали, что качественный состав фосфорорганических соединений различных почв неодинаков: в одних почвах преобладают соединения типа нуклеиновых кислот, в других — типа фитина. Определение активности фосфатаз подтверждает различия в качественном составе органофосфатов разных почв и свидетельствует о возможности использовать энзиматические тесты для характеристики фосфорного фонда почв.

Определение суммарной активности исследуемых фосфатаз по каждому образцу показывает, что темпы минерализации органических соединений фосфора в дерново-подзолистых почвах, как и темпы минерализации органических веществ, содержащих азот, достаточно высоки.

Наши данные согласуются с результатами исследований В. А. Ковды [22]. Методом баланса органического вещества в почвах путем учета растительного опада и содержания гумуса В. А. Ковда показал, что в черноземах интенсивность минерализации органических веществ наименьшая — гумифицируется до 30% от попадающей в почву органики; в подзолах — только 12,6%. Наивысшие темпы минерализации характерны для сероземов, в этих почвах гумифицируется всего 6,6% органических веществ.

Определение активности гидролитических ферментов в почвах позволяет выявить, за счет каких именно процессов и соединений происходит интенсивная минерали-

зация органического вещества в разных типах почв (в сероземах очень высоки темпы минерализации азотсодержащих веществ, а в дерново-подзолистых — интенсивная минерализация органических соединений азота и фосфора; в черноземах же эти процессы заторможены).

Активность каталазы по мере роста плодородия почв от дерново-подзолистых к черноземам возрастает. В сероземах активность каталазы составляет 8,2—10,7, в сероземно-луговой (Фергана), более плодородной и с большим содержанием гумуса, почве — 24,1 мл O_2 .

Приведенные данные согласуются с данными ряда авторов о том, что активность каталазы тесно связана с содержанием гумуса и отражает уровень плодородия почв разных типов [2].

Сопоставление показателей активности полифенолоксидазы в разных почвах свидетельствует о наличии связи активности этого фермента с уровнем естественного плодородия почвы и количеством гумуса. Так, в дерново-подзолистых почвах активность полифенолоксидазы очень низка, значительно выше она в дерново-карбонатных почвах и очень высока в черноземах и сероземах.

Иная закономерность в исследованном ряду почв отмечена для пероксидазы: в дерново-подзолистых почвах и сероземах активность пероксидазы высока, несколько ниже в дерново-карбонатных почвах и черноземах.

Кроме перечисленных оксидоредуктаз, определяли активность микробных дегидрогеназ. Как показывает сопоставление полученных данных, этот тип превращения органических веществ (дегидрирование) почти отсутствует в дерново-подзолистых почвах и очень интенсивно происходит в черноземах. По-видимому, не случайно почвенные энзимологи Украины — основного района черноземов — уделяют такое большое внимание изучению активности дегидрогеназы [10, 36, 37]. Вероятно, значительная часть превращений органического вещества в черноземах, а следовательно и энергии, осуществляется в процессах дегидрирования и других окислительно-восстановительных процессах (с участием каталазы и полифенолоксидазы).

На основании материала табл. II.1 можно сделать вывод, что в северных дерново-подзолистых почвах высока активность минерализации органических веществ, осуществляемой протеазой, уреазой, фосфатазой, и сравнительно низка активность окислительно-восстановитель-

ных процессов, вызываемых каталазой, полифенолоксидазой, дегидрогеназой. Данные по активности указанных ферментов в образце дерново-подзолистой почвы из еще более северного района — Архангельской области — ярко иллюстрируют установленную закономерность.

В черноземах центральных и южных районов страны активность ферментов, осуществляющих минерализацию органических веществ, сравнительно невелика, а окислительно-восстановительных очень высока. Соотношение этих двух групп процессов, возможно, и определяет уровень накопления в почве органического вещества и ее плодородия.

Подсчеты энергии, необходимой для активации различных ферментных реакций, проведенные К. А. Козловым [17], показали, что дегидрирование органических веществ является энергетически более экономичным процессом, чем, например, процесс минерализации органофосфатов. Возможно, именно поэтому в черноземах накапливаются большие запасы энергии, что и создает их плодородие.

В связи с этим становится обоснованной попытка К. А. Козлова [17] предложить «единый энзиматический показатель» в качестве критерия плодородия почв Сибири, определяемый как отношение активности гидролитических ферментов к активности окислительно-восстановительных.

Однако наши данные, полученные на образцах почв европейской части страны, свидетельствуют о противоположной закономерности — плодородие почв нарастает параллельно росту активности оксидоредуктаз. Поэтому «единый энзиматический показатель» плодородия почв европейской части СССР мог бы быть определен как отношение активности окислительно-восстановительных ферментов (каталаза, полифенолоксидаза, дегидрогеназа, а также активность инвертазы) к активности гидролитических ферментов (протеаза, уреаза, фосфатаза, а также активность пероксидазы).

Особое место сероземов в исследуемом нами ряду почв делает возможным предположить существование в других почвенно-климатических зонах страны иных закономерностей в изменении активности ферментов. Для окончательных выводов по этому вопросу почвенная энзимология не располагает еще достаточными данными, но именно такого рода исследования в наибольшей сте-

нии приближат нас к познанию особенностей биохимии почвообразовательных процессов в разных типах почв.

Изучение оптимумов pH показало, что в кислой и слабокислой зоне лежат оптимумы таких ферментов, как фосфатаза, инвертаза и пероксидаза, в нейтральной и слабощелочной — протеаза, уреазы, полифенолоксидаза, дегидрогеназа. Для ряда ферментов (инвертаза, фосфатаза, протеаза) выявлена довольно четкая тенденция к сдвигу оптимума pH в сторону значения pH самой почвы. Так, pH-оптимум инвертазы дерново-карбонатной почвы, чернозема и серозема равен 5,2—5,4, а инвертазы дерново-подзолистых почв 3,6—4,4. Это указывает на определенные различия качественного состава ферментов в почвах разных экологических типов. Для других ферментов оптимумы pH довольно близки и не зависят от типа почвы и ее природной кислотности.

Температурные оптимумы большей части почвенных ферментов находятся в пределах 50—60°C, что характерно также для всех других ферментов. Однако температурные оптимумы ферментов северных почв (Архангельск, Ленинград, Псков) часто несколько ниже, чем температурные оптимумы ферментов почв Украины и Узбекистана. Так, температурный оптимум фосфатазы дерново-подзолистой почвы из Архангельской области равен 30°C, а чернозема Украины и серозема Узбекистана — 60°C.

Таким образом, изучение оптимумов pH и температуры позволило выявить качественные различия в активности ферментов разных типов почв и определенное экологическое соответствие свойств фермента типу почв — их агрохимическим свойствам и климатическим факторам. Благодаря этому обеспечивается достаточно высокий уровень биохимических процессов в различных типах почв.

Исследования показали, что для большинства разновидностей дерново-подзолистых почв северо-западной зоны (Ленинградской и Новгородской областей) существует общая закономерность — в пахотном горизонте освоенных почв активность всех ферментов более высока, чем на соответствующей глубине в почвах под лесом (табл. II.2). Однако активность ферментов самого верхнего горизонта лесных почв, находящегося непосредственно под лесной подстилкой, очень высока, особенно инвертазы. Это, несомненно, связано с поступлением в

Изменение активности ферментов в дерново-подзолистых почвах по мере роста их окультуренности

Степень окультуренности	Горизонт	Глубина, см	Гумус, %	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг P_2O_5	Протеаза, мг аминного азота	Уреаза, мг NH_3	Каталаза, мл O_2	Дегидрогеназа, мг ТФФ	Полифенолоксидаза, мг пурпургаллина	Пероксидаза, мг пурпургаллина	К. %
<i>Ленинградская область (супесчаная почва, 1966 г.)</i>												
Почва под лесом	A ₀ A ₁	0—7	4,2	124,5	3,03	1,61	63,72	7,0	0,005	0,96	13,80	—
	A ₁ A ₂	7—17	2,0	27,3	0,75	0,52	0,21	5,2	0,011	0,21	3,20	6
	A ₂	17—22	0,5	3,8	0,05	0,42	0,05	1,6	0,145	0,15	3,12	—
Слабоокультуренная	A _{пах}	0—22	2,4	16,2	0,62	0,52	0,28	1,6	0,08	0,18	1,68	11
Хорошо окультуренная	A _{пах}	0—24	2,0	11,8	0,52	0,47	0,23	2,7	0,37	0,33	0,39	85
Высокоокультуренная	A _{пах}	0—30	6,3	16,4	0,45	0,59	0,32	6,6	0,47	0,57	0,42	135
<i>Новгородская область (тяжелосуглинистая почва, 1968 г.)</i>												
Почва под лесом	A ₀	0—6	3,8	68,1	0,22	0,36	0,67	26,7	0,41	0,27	1,83	—
	A ₁	6—17	2,8	41,7	0,14	0,23	0,20	14,9	0,27	0,18	1,44	12
	A ₂ B	17—26	1,5	4,0	0,11	0,02	0	3,1	0,005	0	0,21	—
Слабоокультуренная	A _{пах}	0—27	2,0	17,2	0,39	0,22	0,36	9,9	0,12	0,42	1,20	35
Среднеокультуренная	A _{пах}	0—22	2,0	22,6	0,42	0,36	0,67	17,0	0,32	0,48	1,68	29
Хорошо окультуренная	A _{пах}	0—31	2,2	13,2	0,46	0,56	0,72	8,3	0,17	0,81	0,42	192
Высокоокультуренная	A _{пах}	0—33	5,0	14,6	0,39	0,80	0,78	9,7	0,35	2,34	0,57	410

указанный слой ферментов растительного происхождения из лесной подстилки.

По мере повышения степени окультуренности почв активность всех ферментов, кроме пероксидазы, возрастает. Однако при анализе почв по всем областям северо-западной зоны отмеченная закономерность проявляется недостаточно четко. Закономерное увеличение активности этих ферментов по мере повышения плодородия происходит почти во всех рядах почв ($n=39$):

	$r \pm m_r$
Инвертаза	$0,34 \pm 0,14$
Фосфатаза	$0,21 \pm 0,15$
Протеаза	$0,66 \pm 0,09$
Уреаза	$0,60 \pm 0,10$
Каталаза	$0,20 \pm 0,15$
Дегидрогеназа	$0,51 \pm 0,12$
Полифенолоксидаза	$0,71 \pm 0,08$
Пероксидаза	$0,40 \pm 0,13$
Содержание гумуса	$0,67 \pm 0,09$
Кислотность почвы (рН)	$0,76 \pm 0,07$
Содержание P_2O_5	$0,64 \pm 0,10$
Содержание K_2O	$0,55 \pm 0,11$

Довольно тесно с уровнем окультуренности подзолистых почв связана активность ферментов азотного режима $r=0,60-0,66$. С повышением плодородия также возрастает активность дегидрогеназы; статистическая обработка всех данных показывает, что уровень ее связи с плодородием подзолистых почв достаточно высок ($r=0,51$).

Связь активности инвертазы с окультуренностью почв выражена значительно слабее, еще менее выражена эта закономерность для фосфатазы. Иногда активность фосфатазы в хорошо и высокоокультуренных почвах даже ниже, чем в слабоокультуренных. Вероятно, снижение темпов минерализации органических соединений, содержащих фосфор, происходит вследствие высокого содержания подвижных фосфатов в этих почвах. Активность каталазы также не отражает уровня плодородия подзолистых почв ($r=0,20$). Активность полифенолоксидазы и уровень плодородия дерново-подзолистых почв имеют тесную положительную связь ($r=0,71$), для пероксидазы — связь обратная ($r=-0,40$). В последние годы появляется все больше работ, свидетельствующих о том, что в процессах синтеза гумусовых веществ принимают участие ферменты типа полифенолоксидаз, а в процессах минерализации большую роль играют реакции, осу-

ществляемые пероксидазой [34, 39, 45]. Сопоставление этих данных с результатами наших исследований позволяет предположить существование связи первого фермента с синтезом гумуса, второго — с его минерализацией. Оба процесса происходят одновременно, и, следовательно, темпы накопления гумуса будут определяться соотношением активности указанных ферментов.

Для характеристики динамики накопления гумуса в почвах в разное время были предложены самые различные показатели [38]. Мы попытались охарактеризовать интенсивность накопления гумуса с помощью показателей активности ферментов — через отношение активности полифенолоксидазы к активности пероксидазы, выраженное в процентах и условно названное коэффициентом накопления гумуса (K).

Для исследованных нами дерново-подзолистых почв разной степени окультуренности высчитали коэффициент накопления гумуса. Согласно полученным данным, эта величина для неосвоенных почв из-под леса в горизонте 5—15 см составляет всего 6—27%, для слабо- и среднеокультуренных почв — 11—39%, наконец, для хорошо и высокоокультуренных почв соответственно 85—238 и 135—410%.

В слабоокультуренной пашне проявление активности ферментов в основном ограничивается пахотным горизонтом 0—20 см, в высокоокультуренных огородных почвах достаточно высокая активность всех ферментов зафиксирована даже на глубине 50—60 см.

Для всех гидролитических ферментов, а также для де-гидрогеназы и полифенолоксидазы, т. е. ферментов, непосредственно связанных с превращением органических веществ в почве, характерно совершенно одинаковое распределение активности по профилю: высокая активность в верхнем горизонте и резко скачкообразное падение — в нижележащих горизонтах. Такое изменение активности ферментов совпадает с распределением по профилю гумуса и микрофлоры в подзолистых почвах, и в этом, несомненно, проявляется связь активности ферментов с общей биогенностью почвы, а также с содержанием в ней органического вещества. Несколько иначе изменяется по профилю активность каталазы и пероксидазы — для них характерно более постепенное снижение вглубь по профилю и даже некоторое повышение активности в отдельных нижележащих горизонтах (BC и C). Такое повыше-

ние на глубине, где почти отсутствует гумус и крайне низка численность микроорганизмов, свидетельствует о педобологической природе этих реакций в нижних горизонтах дерново-подзолистых почв.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АГРОТЕХНИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ

Известкование. Влияние известкования на активность почвенных ферментов исследовали в опыте, поставленном по единой схеме на трех разновидностях подзолистых почв, в котором на протяжении двух вегетационных периодов изучали воздействие разных доз извести (табл. II.3, на примере одной почвенной разности; известкование проведено 17 мая 1971 г.).

Исследования показывают, что повышение активности таких ферментов, как уреазы и протеазы, происходит уже через 1 мес после известкования, причем, чем больше доза извести, тем выше активность ферментов. Характер изменения активности этих ферментов на всех трех почвах совершенно одинаков и обусловлен, несомненно, быстрым сдвигом реакции почвы до слабокислых и нейтральных значений pH, которые более благоприятны для проявления активности уреазы и протеазы.

Активность полифенолоксидазы при внесении извести повышается, а инвертазы, фосфатазы и пероксидазы — снижается. Менее четко прослеживается влияние известкования на активность каталазы и дегидрогеназы; по-видимому, в данном случае ограничивающим фактором является не только кислотность почвы.

Наблюдения, проведенные в 1972 г., подтвердили результаты, полученные в предыдущем году, и показали стабильность воздействия извести на ферментативную активность. Наиболее значительные и глубокие изменения в ферментативной активности кислых дерново-подзолистых почв произошли при самой высокой дозе извести.

Изучали стабильность воздействия извести на ферментативную активность в течение более длительного времени в многолетнем полевом опыте. Известкование (в дозе по 1 г. к.) проводили дважды на протяжении двух ротаций севооборота (табл. II.4).

Как показывают данные таблицы, характер изменения активности ферментов под влиянием известкования, от-

Влияние известкования на

Вариант опыта	pH KCl 13/IX 1971 г.	1971 г.		
		14/IV	17/VI	13/IX
Пр о				
Контроль	4,1	0,76	1,10	0,82
Известкование:				
1 доза	4,5	0,76	1,18	0,84
2 дозы	4,8	0,76	1,18	0,84
3 »	5,6	0,77	1,12	0,90
И н в е р				
Контроль	4,1	24,4	20,1	22,0
Известкование.				
1 доза	4,5	27,4	21,9	21,9
2 дозы	4,8	27,2	17,6	19,0
3 »	5,6	27,7	14,8	19,2
Д е г и д р о				
Контроль	4,1	0,24	0,18	0,20
Известкование:				
1 доза	4,5	0,26	0,18	0,21
2 дозы	4,8	0,19	0,18	0,24
3 »	5,6	0,24	0,36	0,22
П о л и ф е н о				
Контроль	4,1	0,56	0,38	0,33
Известкование:				
1 доза	4,5	0,62	0,32	0,36
2 дозы	4,8	0,63	0,33	0,48
3 »	5,6	0,65	1,31	0,97

Примечание. Почва дерново-подзолистая, глеевая

меченный нами в предыдущем опыте сразу после внесения извести, сохранился и в конце ротации севооборота. Активность протеазы, уреазы, дегидрогеназы и полифенолоксидазы повышена, а фосфатазы понижена по сравнению с контролем. Исключением из ранее установленной закономерности является повышение активности инвертазы. По-видимому, это связано с нарастанием биологической активности и плодородия почвы в результате двукратного известкования.

Минеральные удобрения. В нескольких полевых опытах изучалось влияние различных минеральных удобрений

Таблица 11.3

активность почвенных ферментов

1972 г.		1971 г.			1972 г.	
16/V	31/VIII	14/V	17/VI	13/IX	16/V	31/VIII
<i>г е а з а</i>		<i>У р е а з а</i>				
1,30	0,42	0,24	0,31	0,18	0,60	0,42
1,40	0,43	0,34	0,42	0,18	0,62	0,49
1,75	0,47	0,31	0,38	0,21	0,77	0,50
1,45	0,51	0,38	0,44	0,27	1,05	0,70
<i>г а з а</i>		<i>Ф о с ф а т а з а</i>				
26,6	30,9	0,23	0,39	0,29	0,48	0,43
22,8	28,4	0,20	0,15	0,24	0,43	0,48
21,4	25,6	0,22	0,31	0,20	0,40	0,45
17,5	20,3	0,20	0,12	0,22	0,36	0,40
<i>г е н а з а</i>		<i>К а т а л а з а</i>				
0,31	0,22	8,6	—	7,8	5,9	12,8
0,18	0,08	10,1	—	8,2	4,9	11,4
0,08	0,11	9,2	—	7,9	5,3	10,2
0,06	0,04	9,5	—	8,0	5,6	9,8
<i>л о к с и д а з а</i>		<i>П е р о к с и д а з а</i>				
0,46	0,49	2,54	1,02	1,18	1,87	2,30
0,48	0,50	2,30	1,12	1,30	1,49	2,02
0,52	0,57	2,24	0,99	0,92	1,16	2,06
1,38	2,24	2,52	0,88	0,69	0,72	1,04

желосуглинистая, гумуса 3,4%, исходный рН_{KCl} 4.2.

Таблица 11.4

Влияние известкования на активность ферментов в почве
в конце 2-й ротации севооборота (1971 г.)

Вариант опыта	рН _{KCl}	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг P ₂ O ₅	Протеаза, мг аминок- го азота	Уреаза, мг NH ₃	Каталаза, мл O ₂	Дегидроге- наза, мг ТФФ	Полифенолок- сидаза, мг пур- пураллина	Пероксидаза, мг пурпураллина
Контроль	4,3	9,4	0,29	0,29	0,18	4,4	0,016	0,48	1,74
Известкование	5,6	10,8	0,23	0,40	0,21	3,4	0,026	0,57	1,74

ний — их парных сочетаний (РК, НК, НР) и полного минерального удобрения (НРК). Анализ имеющихся данных показывает, что на дерново-подзолистых почвах сразу после внесения удобрений активность большей части ферментов снижается. По-видимому, это происходит вследствие уменьшения количества ферментов, выделяемых корнями растений и микроорганизмами, в связи с наличием в почве необходимого количества легкодоступных элементов питания, а также в результате инактивации молекул ферментов высокими концентрациями анионов [7]. Спустя 1,5—2 мес активность ферментов восстанавливается и даже несколько превышает контроль. Вероятно, когда действие НРК в зоне корней ослабевает, тогда хорошо развитая на фоне удобрения корневая система и микрофлора начинают усиленно продуцировать ферменты. Наименее благоприятно влияет на активность биохимических процессов в почве внесение фосфора и калия (без азота).

Органические удобрения. Изучение влияния на активность почвенных ферментов органических удобрений (навоза и его сочетаний с минеральными удобрениями) проводилось в нескольких полевых опытах. Исследования показали, что внесение навоза по сравнению с минеральными удобрениями чаще приводит к повышению активности гидролитических ферментов. Это обусловлено наличием большого количества различных органических веществ и высокой численностью микроорганизмов в навозе. Результаты аналогичных опытов Псковской и Новгородской опытных станций подтверждают стимулирующее действие навоза на активность гидролитических ферментов. Под влиянием навоза изменяется также активность окислительно-восстановительных ферментов: активность каталазы, дегидрогеназы и полифенолоксидазы повышается, а пероксидазы снижается. В результате отношение активность полифенолоксидазы : активность пероксидазы увеличивается, что свидетельствует об усилении при внесении навоза биохимических процессов, участвующих в синтезе гумуса.

Известно, что известкование, внесение органических и минеральных удобрений дают наибольший агрономический эффект при сочетании в виде научно обоснованной системы удобрения в севообороте.

В Северо-Западном НИИ сельского хозяйства в многолетнем полевом опыте на протяжении двух ротаций се-

вооборота исследовалось несколько вариантов систем удобрения для дерново-подзолистой слабокультуренной почвы (гумус 1,7%, рН 4,5). Изучали изменение ферментативной активности почвы в конце 1-й и 2-й ротаций севооборота (табл. II.5). Полученные данные показывают, что уже в конце 1-й ротации севооборота наиболее значительные изменения произошли в активности ферментов азотного режима почвы — протеазы и уреазы, и это, несомненно, является важным фактором повышения плодородия почвы. Активность инвертазы, фосфатазы и каталазы также повысилась. Определение активности пероксидазы позволило установить, что уже в конце 1-й ротации севооборота под влиянием системы удобрения значительно снизилась активность фермента, связанного с процессами минерализации гумусовых веществ.

Сопоставление данных по различным вариантам удобрений показывает, что наиболее значительное воздействие на почву оказывает полное удобрение — внесение органических и минеральных удобрений по известкованному фону. Из парных сочетаний компонентов системы определенные преимущества имеет вариант с известью.

Исследования в конце 2-й ротации показали стабильное последствие извести, внесенной в 1-й ротации в 4-м и 9-м вариантах. Активность протеазы, уреазы, инвертазы в варианте с полным удобрением и по последствию извести (в 9-м варианте) заметно выше, чем в контроле. Активность фосфатазы несколько снижается в связи с увеличением содержания подвижного фосфора в почве этих вариантов.

Под влиянием системы удобрения в севообороте повысилась активность каталазы и дегидрогеназы. Соответствующие изменения произошли в активности полифенолоксидазы и пероксидазы — повышение активности первой и снижение второй. Коэффициент накопления гумуса в почве варианта с полным удобрением повышается; эта закономерность нашла подтверждение в увеличении содержания гумуса в почве данного варианта.

Таким образом, исследования подтвердили, что на кислых почвах наиболее значительное и стабильное воздействие на почвенные процессы оказывает известь, влияние навоза несколько слабее. Несомненно также и то, что сочетание всех видов удобрений более глубоко и продолжительно влияет на биологию почвы и ее плодородие.

Влияние системы удобрения в севообороте на активность почвенных ферментов

№ варианта	Дозы удобрений за ротацию на 1 га	Гумус, %	pH KCl	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг P_2O_5	Протеаза, мл аминного азота	Уреаза, мг NH_3	Каталаза, мл O_2	Дегидрогеназа, мг ТФФ	Полифенолоксидаза, мг пурпургаллина	Пероксидаза, мг пурпургаллина	K, %
<i>Конец 1-й ротации (1965 г.)</i>												
1	Контроль	—	4,2	6,0	0,44	0,28	0,17	2,4	—	—	100*	—
4	Известь по 1,5 г.к. + +навоз (70 т) + $N_{230}P_{390}K_{390}$	—	6,1	6,6	0,68	0,50	0,22	3,0	—	—	61	—
9	Известь по 1,5 г.к. + + $N_{230}P_{390}K_{390}$	—	5,9	6,3	0,68	0,42	0,18	2,8	—	—	74	—
10	Навоз (70 т) + $N_{230}P_{390}K_{390}$	—	4,4	6,6	0,70	0,32	0,12	2,7	—	—	52	—
<i>Конец 2-й ротации (1971 г.)</i>												
1	Контроль	1,72	4,3	14,1	0,44	0,89	0,26	4,6	0,046	0,57	2,13	27
4	Навоз (20 т) + $N_{180}P_{200}K_{200}$	2,16	5,6	16,6	0,36	0,98	0,41	5,9	0,074	0,93	1,93	48
9	$N_{180}P_{200}K_{200}$	1,78	5,1	16,3	0,43	0,92	0,28	6,4	0,067	0,78	2,10	14
10	Навоз (20 т) + $N_{180}P_{200}K_{200}$	1,97	4,4	17,2	0,60	0,90	0,26	7,2	0,080	0,58	3,42	17

* В анализах 1965 г. активность пероксидазы дана в % к контролю.

Под влиянием системы удобрения в этом опыте продуктивность севооборота возросла в 2 раза [42].

Влияние севооборота и бессменного посева. В комплексе агротехнических мероприятий, направленных на повышение плодородия почв, важное место принадлежит научно обоснованному чередованию культур в севообороте. Окультуривающее воздействие севооборота на почву особенно наглядно выявляется при сопоставлении его с бессменными посевами [11, 32].

Наши исследования проводились в многолетнем полевом опыте, включающем 6-польный севооборот (многолетние травы 1-го года пользования, озимая рожь, картофель, горох, кукуруза, яровая пшеница с подсевом трав) и бессменные посевы соответствующих культур. Определение активности почвенных ферментов показало, что при бессменном посеве возделываемые растения оказывают специфическое действие на активность отдельных ферментов (табл. II.6). Так, гидролиз веществ углеводного характера наиболее активно проходит под зерновыми культурами; неодинакова под разными растениями активность ферментов, разлагающих органические соединения азота и фосфора. Это свидетельствует о наличии неравномерного и несколько одностороннего влияния разных растений на минерализацию органических веществ в почве.

Аналогичные данные получены и в севообороте, но абсолютные значения показателей выше, чем под бессменными посевами. Кроме того, в севообороте различия между культурами по активности ферментов в почве менее резки. Это хорошо иллюстрируется данными по степени варьирования уровня активности каждого фермента под влиянием растений (табл. II.7).

Амплитуда изменения активности почвенных ферментов в почве при бессменном посеве значительно выше, чем в полях севооборота, т. е. ежегодное чередование культур с разным воздействием на почву приводит к некоторому выравниванию напряженности биохимических процессов; бессменный посев, наоборот, способствует накоплению, усилению одностороннего влияния растений на почву. Удобрения сглаживают различия в активности биохимических процессов в почве разных полей.

Средние данные по активности ферментов в почве в конце 1-й и 2-й ротаций показывают, что активность всех гидролитических процессов в почве севооборота выше,

Влияние севооборота и бессменной культуры на активность ферментов
(гумуса 1,6%, рН_{KCl} 5,1)

Культура	Инвертаза, мг глюкозы			Фосфатаза, мг P ₂ O ₅			Протеаза, мг аминного азота			Каталаза, мл O ₂		Пероксидаза, мл 0,01 н. раствора йода		Разло- жение гума- тов, % к сте- риль- ной среде	
	1963 г.	1964 г.	1965 г.	1963 г.	1964 г.	1965 г.	1963 г.	1964 г.	1965 г.	1964 г.	1965 г.	1964 г.	1965 г.	1964 г.	1965 г.
<i>Бессменный посев</i>															
Пар	6,5	7,6	4,2	0,56	0,53	0,33	0,58	0,52	0,30	1,1	1,5	10,6	9,8	53	34
Овес	16,8	13,0	9,0	0,28	0,60	0,44	0,52	0,64	0,44	1,2	1,3	9,4	5,4	60	34
Пшеница яровая	15,0	23,8	10,8	0,38	0,64	0,50	0,78	0,69	0,52	1,6	1,4	8,7	6,3	38	27
Картофель	7,9	13,4	4,9	0,42	0,80	0,40	0,41	0,84	0,28	1,6	1,6	10,2	14,7	68	50
Кукуруза	8,7	15,2	6,6	0,48	0,80	0,46	0,62	0,91	0,38	1,8	2,1	12,3	13,6	60	49
<i>Севооборот</i>															
Почва без расте- ний	—	11,0	7,9	—	0,68	0,33	—	0,66	0,39	1,4	1,0	9,3	6,6	43	6
Овес	20,7	15,4	11,1	0,36	0,64	0,47	0,72	0,80	0,50	1,2	1,1	9,1	5,1	43	19
Пшеница	16,0	21,6	12,5	0,54	0,65	0,54	1,12	0,82	0,48	1,3	1,2	8,4	6,3	29	25
Картофель	11,3	15,2	9,2	0,46	0,84	0,53	0,72	1,00	0,42	1,8	1,6	8,9	10,3	60	43
Кукуруза	10,2	17,2	7,1	0,54	0,84	0,54	0,72	0,80	0,46	1,2	1,2	10,4	12,5	55	43

Таблица 11.7

Превышение максимальной активности фермента
над минимальной, %
(средние данные)

Фермент	Неудобренный фон		Удобренный фон	
	Севооборот	Бессменный посев	Севооборот	Бессменный посев
Инвертаза	34	331	38	141
Фосфатаза	13	171	24	23
Протеаза	17	55	19	42
Уреаза	27	106	18	106

чем при бессменном посеве (табл. 11.8). Для активности оксидоредуктаз выявлена иная закономерность: активность каталазы, дегидрогеназы, пероксидазы в почве при бессменном посеве выше, и лишь активность полифенол-оксидазы больше в почве севооборота. В связи с этим коэффициент накопления гумуса в почве полей севооборота выше.

Данное положение нашло себе подтверждение и при определении скорости минерализации гумусовых веществ по методу Е. Н. Мишустина, Д. И. Никитина [29]. Результаты наших исследований (см. табл. 11.7) показали, что разложение гумусовых веществ протекает более активно в почве бессменных посевов, особенно в пару и под пропашными культурами. Определение содержания гумуса в почве этого опыта полностью подтвердило выявленные нами закономерности в активности биохимических процессов: содержание гумуса в почве полей севооборота в конце 2-й ротации составляло 1,97—2,19%, а при бессменном посеве — 1,45—1,90% [19].

Ферментативная активность почвы под клевером и последствие его в севообороте. Важным компонентом в севообороте являются поля многолетних трав, особенно клевера, который является ведущей бобовой культурой в земледелии Нечерноземной зоны. Влияние клевера на активность ферментов азотного режима дерново-подзолистой почвы и другие биохимические процессы исследовались нами в многолетнем опыте при сопоставлении с ячменем на протяжении шести лет (1967—1972): Почва дерново-подзолистая легкосуглинистая среднеокультуренная, гумуса содержит 1,6%, рН_{KCl} 4,6. Опыт постав-

Таблица II.8

Активность гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов в конце ротаций севооборота

Вариант опыта	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг P_2O_5	Протеаза, мг азотного азота	Уреаза, мг NH_3	Каталаза, мл O_2	Дегидрогеназа, мг ТДФ	Полифенолоксидаза, мг пурпургаллина	Пероксидаза, мг пурпургаллина	К, %
<i>1-я ротация севооборота (1964 г.)</i>									
Севооборот	15,3	0,695	0,798	0,469	5,2	—	—	—	—
Бессеменный посев	12,9	0,661	0,728	0,448	6,2	—	—	—	—
<i>2-я ротация севооборота (1970 г.)</i>									
Севооборот	11,1	0,546	0,386	0,342	2,9	0,10	0,42	1,53	28
Бессеменный посев	10,3	0,527	0,368	0,281	4,9	0,17	0,36	1,67	22

лен после известкования почвы (по 1,5 г. к.) по фону фосфорно-калийных удобрений.

За три года вегетации клевера в его корнях и пожнивных остатках накопилось около 200 кг азота на 1 га [25]. Как известно, ежегодно около 20% корней клевера отмирает и азот этой части поступает в почву [40]. Однако количественных изменений в содержании различных форм азота в почве нам обнаружить не удалось (табл. II.9). В то же время активность биохимических процессов, связанных с минерализацией органических соединений азота, заметно повысилась как по сравнению с исходной почвой, так и при сопоставлении с почвой из под ячменя: активность протеазы увеличилась на 10—15, аспарагиназы — на 50, активность уреазы — на 40—70%; значительно интенсифицировался процесс нитрификации. Статистическая обработка данных, полученных по всем 4 повторностям опыта, показывает достоверность выявленных изменений азотного режима почвы.

После распахивания клевера изучали его последствие в севообороте

Таблица 11.9

Влияние клевера 3-го года жизни на азотный режим дерново-подзолистой почвы (1969 г.)

Фон	Культура	Агрохимические показатели, мг на 100 г почвы				Биохимические показатели			
		Общий азот	Легкогидролизуемый азот	Аммиак	Нитраты	Протеаза, мг аминокислотного азота	Аспарагиназа, мг NH ₃	Уреаза, мг NH ₃	Нитрифицирующая способность, мг NO ₃ на 100 г почвы
Исходные образцы (1967 г.)		90—108	6,3—7,8	5—12	0,7—5,6	0,40—0,41	0,02—0,03	0,23—0,24	7,8—12,0
РК	Ячмень	89—98	5,6—6,4	8,2—8,9	3,5	0,66	0,10	0,26	8,8
	Клевер	92—105	7,1—8,2	6,7—9,1	3,8	0,72	0,17	0,36	13,2
	Клевер—семена обработаны нитрагином	92—105	7,1—8,2	6,7—9,1	3,8	0,73	0,17	0,38	12,8
N ₂₀ РК	Ячмень	—	—	—	—	0,67	0,11	0,27	8,7
	Клевер	—	—	—	—	0,70	0,19	0,42	12,1
	Клевер — семена обработаны нитрагином	—	—	—	—	0,74	0,19	0,44	12,0
	Р, %	—	—	—	—	2,1	5,7	8,5	6,5
НСР _{0,95}						0,06	0,04	0,14	3,2

(табл. II.10). Результаты исследований показывают, что в почве под последующими за клевером культурами ускоряется весь цикл превращения азота — от минерализации белков до нитрификации аммиака. Повышенная активность ферментов азотного режима почвы сохраняется даже под овсом — третьей культурой после распахивания клевера; это свидетельствует о длительном положительном влиянии клевера на азотный режим дерново-подзолистой почвы.

В почве после запахивания пожнивных и корневых остатков клевера интенсифицировались и другие гидролитические процессы, характеризующие минерализацию веществ углеводного характера (инвертаза) и органических соединений фосфора (фосфатаза). Активность ферментов из группы оксидоредуктаз (каталазы и дегидрогеназы) также повысилась. Интересны результаты определения активности двух других оксидоредуктаз — полифенолоксидазы и пероксидазы: активность первой под влиянием клевера возрастает, второй — несколько снижается, в результате соотношение их активности повышается в пользу полифенолоксидазы, участвующей в процессах синтеза гумуса. Эти данные подтверждаются обширными материалами об увеличении содержания гумуса в почве после возделывания клевера [11, 12]. Таким образом, клевер оказывает разностороннее влияние на плодородие дерново-подзолистой почвы.

Влияние избыточного увлажнения дерново-подзолистых почв на их ферментативную активность. Физико-химические и микробиологические процессы в переувлажненных дерново-подзолистых и дерново-глеевых почвах исследованы достаточно хорошо [8, 33]. Они свидетельствуют о значительном снижении биологической активности почв и ухудшении условий корневого питания растений.

Особенности ферментативной активности почвы в этих условиях почти не изучены.

Наши исследования проводились в 1965—1967 гг. в условиях вегетационных опытов, позволяющих строго контролировать заданные режимы влажности почвы; опыты были заложены на нескольких разновидностях дерново-глеевых и глееватых почв. Как показали наши исследования, активность всех гидролитических ферментов, кроме уреазы, при избыточном увлажнении почвы снижается; это свидетельствует о замедлении темпов ми-

Таблица II.10

Активность почвенных ферментов после запахивания клевера

Предшественик				Протеаза, мг аминого азота	Аспарагиназа, мг NH_3	Уреаза, мг NH_3	Нитрификаци- онная способ- ность, мг NO_3 на 100 г	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг P_2O_5	Каталаза, мг O_2	Дегидрогеназа, мг ТФФ	Полифенолок- сидаза, мг пур- пураллина	Пероксидаза, мг пурпургал- лина	К, %
<i>1-й год, картофель (1970 г.)</i>														
Ячмень				0,39	0,028	0,25	9,7	7,6	0,40	3,3	0,046	0,88	0,82	110
Клевер				0,42	0,062	0,30	11,5	8,4	0,54	4,2	0,058	1,37	0,83	170
Клевер — семена обработаны нитра- гином				0,42	0,073	0,29	11,5	9,8	0,60	4,9	0,054	1,35	0,58	230
<i>2-й год, яровая пшеница (1971 г.)</i>														
Ячмень				0,62	—	0,29	3,2	14,9	0,30	1,8	0,059	0,91	1,40	65
Клевер				0,65	—	0,31	4,0	17,8	0,31	1,8	0,130	1,19	1,48	80
Клевер — семена обработаны нитра- гином				0,65	—	0,34	5,2	20,8	0,44	2,0	0,127	1,05	1,38	76
<i>3-й год, овес (1972 г.)</i>														
Ячмень				0,37	—	0,19	4,7	9,8	0,34	4,4	0,048	1,23	1,17	105
Клевер				0,41	—	0,23	4,7	9,8	0,26	5,3	0,050	1,46	0,70	208
Клевер — семена обработаны нитра- гином				0,46	—	0,26	5,2	10,8	0,38	5,0	0,056	1,65	0,97	170

нерализации органических веществ в данных условиях (табл. II.11).

Активность окислительного фермента — каталазы уменьшается, что означает ухудшение окислительно-вос-

Влияние избыточного увлажнения
(почва подзолисто-глееватая легко

Дата анализа	Влажность почвы, % от полной влагоемкости	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг P_2O_5	Протеаза, мг аминного азота
6/VI	60	18,5	1,02	0,63
	100	17,3	0,99	0,64
11/VII	60	16,0	0,82	0,63
	100	15,7	0,65	0,45
7/VIII	60	13,9	0,80	0,63
	100	9,2	0,35	0,58

Примечание. 6/VI — анализ спустя 3 сут после затопления;

становительного режима в почве. Активность дегидрогеназы, наоборот, уже через 3 дня после затопления начинает возрастать и в конце вегетационного периода в несколько раз превышает уровень активности в контроле. Это свидетельствует о бурном развитии в условиях недостатка кислорода восстановительных процессов превращения органических веществ в почве. Соотношение между активностью полифенолоксидазы и пероксидазы при избыточном увлажнении почвы заметно повышается, следовательно, процессы минерализации гумуса заторможены.

Таким образом, изучение активности ферментов показывает, что при переувлажнении темпы всех исследуемых нами процессов (кроме активности уреазы) заметно нарушаются. Причем наиболее значительно изменяется активность оксидоредуктаз, что подчеркивает значение этих ферментов для характеристики водно-воздушного режима почвы. Характер изменения гидролитических ферментов и соотношения активности полифенолоксидазы и пероксидазы хорошо согласуются с данными о замедленных темпах минерализации органических ве-

ществ и о повышенном содержании гумуса в почвах временного и постоянного избыточного увлажнения.

Влияние гербицидов на ферментативную активность почвы. В течение 1963—1971 гг. в полевых опытах иссле-

Таблица II.11

почвы на активность ферментов

суглинистая, гумуса 2,1%, рН_{КС1} 5,3; 1967 г.)

Уреаза, мг NH ₂	Каталаза, мл O ₂	Дегидрогена- за, мг ТФФ	Полифе- ноокси- даза, мг пурпур- галлина	Пероксидаза, мг пурпур- галлина	К, %
0,32	5,8	0,066	0,84	3,15	26
0,38	4,8	0,076	0,75	2,84	26
0,35	5,7	0,036	0,34	2,78	12
0,39	4,5	0,177	0,87	3,15	28
0,23	5,7	0,081	0,38	2,36	16
0,28	4,6	0,460	0,74	2,49	30

II/VII — то же через месяц; 7/VIII — то же через 2 мес.

довали влияние гербицидов на активность ферментов — показателя функционального состояния населяющих почву организмов. Обстоятельный анализ экспериментального материала по влиянию разового применения гербицидов на микробиологические и биохимические процессы, проведенный нами ранее [13, 43], показал высокую устойчивость почвенной микрофлоры и ферментов к применяемым в настоящее время препаратам. Более подробно остановимся на результатах многолетнего полевого опыта с систематическим применением гербицидов в севообороте, завершеного в 1971 г.

Опыт заложен в 1964 г. в 8-польном севообороте. Изучалось несколько вариантов ротации гербицидов. Применялись обычные дозы препаратов.

Как показывают результаты микробиологического и биохимического анализа почвы, ежегодное в течение восьми лет применение гербицидов (табл. II.12) не привело к снижению численности основных групп почвенной микрофлоры. Существенных изменений не произошло также в активности оксидоредуктаз, не наблюдали депрессии и в активности процесса нитрификации. Более

значительны нарушения в темпах гидролитических процессов. Активность протеазы значительно подавлена в нескольких вариантах опыта (6—9); в двух вариантах

Влияние систематического применения гербицидов на активность почвенных ферментов

№ варианта	Бактерии, тыс. на 1 г	Грибы, тыс. на 1 г	Актиномикеты, тыс. на 1 г	Инвертаза, мг глюкозы	Фосфатаза, мг P_2O_5	Протеаза, мг аммонийного азота
1	894	5,5	2540	22,4	0,76	0,52
2	855	4,6	2550	21,9	0,61	0,51
3	689	5,1	2440	19,6	0,45	0,56
4	520	4,5	2690	17,4	0,56	0,54
5	929	3,6	1690	20,3	0,60	0,50
6	886	4,2	2300	21,3	0,58	0,47
7	843	4,2	2090	21,9	0,54	0,46
8	651	7,4	1860	21,1	0,52	0,44
9	668	6,2	2820	22,2	0,47	0,46
НСР _{0,95}	621	1,9	1000	2,4	0,17	0,05
P, %	24	12	12	3,3	8,7	3,0

(3—4) оказалась пониженной активностью инвертазы. Наиболее серьезные отклонения от контроля выявлены для фосфатазы — во всех вариантах с применением гербицидов произошло статистически достоверное снижение ее активности. Причиной этого может быть и токсический эффект гербицидов, и уничтожение сорняков, являющихся также продуцентами ферментов в почве.

Результаты исследований свидетельствуют о более высокой точности биохимического анализа почвы по сравнению с микробиологическим. Так, ошибка определения активности ферментов составляет всего 2,8—9,2%, в то время как ошибка определения численности микроорганизмов достигает 12—24% от средней арифметической.

Высокая чувствительность и точность анализов активности ферментов очень важны для выявления и оценки степени воздействия гербицидов на важнейшие для жизни и плодородия почвы биохимические процессы.

Наши исследования показали, что при систематическом (в течение восьми лет) применении гербицидов в

биохимических процессах почвы происходят некоторые нарушения, чего не показали микробиологические анализы.

Таблица II.12

цидов на численность микрофлоры
ментов (гумуса 2,4%, рН_{KCl} 5,3)

Уреаза, мг NH ₃	Каталаза, мл O ₂	Дегидро- геназа, мг ТФФ	Полифенол- оксидаза, мг пурпур- галлина	Пероксидаза, мг пурпур- галлина	Нитрифика- ционная способность, мг NO ₃ на 100 г
0,37	4,2	0,047	0,26	1,54	5,8
0,35	4,4	0,044	0,28	1,34	5,1
0,34	4,9	0,050	0,27	1,49	4,3
0,34	4,8	0,044	0,31	1,47	5,6
0,34	4,8	0,048	0,32	1,95	5,6
0,35	4,2	0,062	0,32	1,66	5,6
0,36	4,2	0,062	0,27	1,96	5,2
0,35	4,8	0,063	0,30	1,70	4,4
0,37	4,8	0,066	0,27	1,64	4,7
0,04	0,8	0,013	0,08	0,47	1,6
2,8	4,2	5,8	7,4	7,6	9,2

КОРРЕЛЯТИВНАЯ СВЯЗЬ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ С ОСНОВНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВ

Итак, активность почвенных ферментов является чувствительным индикатором изменения плодородия почв, их биологической активности, физико-химических условий и характеризует интенсивность, а также соотношение отдельных биохимических процессов в почве под влиянием окультуривания и отдельных агротехнических мероприятий.

Однако в ряде случаев результаты не согласуются с выведенными общими закономерностями. В этих случаях необходимы дополнительные исследования, так как почва является настолько сложной средой, что изменение одного фактора часто сопровождается изменением нескольких других.

Применение методов математического анализа массового экспериментального материала позволяет выявить существующие закономерности и связи между отдельными показателями на фоне широкого варьирования всех свойств почвы.

Основными показателями плодородия почв являются гумус, уровень рН и содержание подвижного фосфора; именно эти свойства учитываются в первую очередь при бонитировке почв [3].

Нами проведен анализ коррелятивной связи активности ферментов с указанными свойствами, а также с содержанием K_2O , нитрификационной способностью почвы и численностью ее микрофлоры.

Графики, характеризующие форму связи большей части исследуемых показателей, оказались сигмоидальными кривыми. Теснота криволинейной связи измерялась корреляционным отношением; для определения характера связи (положительной или отрицательной) вычислялся коэффициент корреляции.

Анализ показал, что все ферменты, кроме пероксидазы, имеют положительную связь с гумусом и нитрификационной способностью. Для большей части изучаемых ферментов установлена положительная, а для инвертазы, фосфатазы и пероксидазы отрицательная связь от уровня рН. Зависимость активности ферментов от содержания в почве подвижного фосфора и калия является переменной с оптимумом при 20—25 мг P_2O_5 и 25—30 мг K_2O ; дальнейшее повышение их количества в почве приводит к снижению активности ферментов (табл. II.13).

Наиболее тесно активность ферментов дерново-подзолистых почв связана с такими показателями как гумус, уровень рН и нитрификационная способность; значительно слабее — с количеством фосфора в почве и еще мень-

Степень связи активности ферментов
и микрофлорой

Фермент	Гумус	рН	P_2O_5
Инвертаза	$0,85 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,09$	$0,25 \pm 0,11$
Фосфатаза	$0,45 \pm 0,11$	$0,18 \pm 0,12$	$0,33 \pm 0,10$
Протеаза	$0,69 \pm 0,07$	$0,72 \pm 0,03$	$0,52 \pm 0,09$
Уреаза	$0,73 \pm 0,07$	$0,78 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,10$
Каталаза	$0,41 \pm 0,05$	$0,42 \pm 0,08$	$0,36 \pm 0,10$
Дегидрогеназа	$0,66 \pm 0,04$	$0,65 \pm 0,06$	$0,49 \pm 0,08$
Полифенолоксидаза	$0,92 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,02$	$0,58 \pm 0,08$
Пероксидаза	$0,83 \pm 0,06$	$0,56 \pm 0,08$	$0,30 \pm 0,10$

ше — с содержанием калия, что полностью совпадает с порядком учета этих показателей при бонитировке почв.

Уровень значимости отдельных агрохимических показателей для разных ферментов неодинаков. Активность инвертазы наиболее тесно связана с содержанием гумуса, активность ферментов азотного режима почвы — с гумусом и уровнем pH. Для активности оксидоредуктаз (полифенолоксидазы, пероксидазы, дегидрогеназы) имеют наибольшее значение содержание гумуса и уровень pH почвы. Активность каталазы и фосфатазы в наименьшей степени по сравнению с другими ферментами связана с агрохимическими свойствами; однако и в этом случае наибольшее значение имеет содержание гумуса.

Анализ множественной корреляции активности ферментов со всеми агрохимическими показателями в выборке с одного поля озимой ржи ($n=77$) показал, что наиболее значимым фактором, вошедшим во все уравнения регрессии, является содержание гумуса; данные по содержанию фосфора, калия и величине pH вошли лишь в отдельные уравнения. Следует отметить довольно высокие значения коэффициентов множественной корреляции — от 0,51 до 0,68; лишь для пероксидазы $R=0,35$. В уравнение регрессии для множественной корреляции коэффициента накопления гумуса со свойствами почвы в качестве наиболее значимого фактора также вошло содержание гумуса ($R=0,52$), что является подтверждением возможности использования соотношения активности полифенолоксидазы и пероксидазы для характеристики

Таблица 11.13

с агрохимическими свойствами почвы
(корреляционное отношение)

К ₂ O	Нитрификационная способность	Бактерии	Актиномицеты	Грибы
0,16±0,12	0,67±0,03	0,35±0,03	0,26±0,04	0,54±0,07
0,34±0,10	0,32±0,09	0,22±0,05	0,30±0,04	0,44±0,04
0,35±0,10	0,73±0,05	0,44±0,03	0,22±0,04	0,25±0,04
0,28±0,11	0,64±0,06	0,28±0,04	0,30±0,04	0,24±0,05
0,33±0,10	0,42±0,06	0,25±0,06	0,46±0,05	0,26±0,06
0,59±0,07	0,40±0,05	0,65±0,06	0,57±0,09	0,39±0,11
0,21±0,11	0,54±0,08	0,80±0,04	0,71±0,06	0,33±0,11
0,33±0,10	0,40±0,06	0,48±0,10	0,49±0,10	0,45±0,10

процессов накопления гумусовых веществ. Это тем более убедительно, что указанное соотношение получено на примере выборки из-под озимой ржи с очень узким варьированием в содержании гумуса (1,3—2,8%).

Определение коэффициента корреляционной зависимости активности ферментов от численности микроорганизмов показало, что для всех ферментов, кроме пероксидазы, существует прямая связь с количеством бактерий и актиномицетов и обратная — с количеством грибов. По-видимому, такой характер связи активности ферментов с микрофлорой отражает не только их непосредственную связь с численностью продуцентов ферментов, но и изменение плодородия подзолистых почв, так как известно, что по мере повышения плодородия почв этого типа численность бактерий и актиномицетов возрастает, а количество грибов снижается.

Как показывает величина корреляционного отношения, теснота связи активности ферментов с численностью микроорганизмов варьирует в довольно широких пределах (от 0,80 до 0,22), но во всех случаях эта величина статистически достоверна. Для дегидрогеназы, полифенолоксидазы установлена наиболее высокая положительная связь; для протеазы — существенная связь с количеством бактерий, а для каталазы — с актиномицетами.

Изучение зависимости урожая сельскохозяйственных культур от агрохимических свойств почвы и активности ферментов на примере двух выборок — по озимой ржи ($n=77$) и картофелю ($n=88$) — и анализ парных и множественных корреляций показали, что коэффициенты корреляции урожая сельскохозяйственных культур с агрохимическими свойствами почвы равны 0,17—0,44, причем наиболее высокий и достоверный коэффициент получен для гумуса и рН. Для парной корреляции урожая с активностью ферментов уровень связи также не высок, всего 0,19—0,46. Наиболее высока и достоверна связь урожая с активностью протеазы, уреазы и дегидрогеназы.

Вычисление уравнений множественной корреляции позволило установить, что из агрохимических показателей наибольшее положительное значение для урожая имеют содержание гумуса и уровень рН, а из биохимических — активность протеазы, уреазы и дегидрогеназы. Величина коэффициента множественной корреляции урожая с активностью ферментов выше ($R=0,44$), чем с агрохимическими показателями ($R=0,29$). Полифенол-

оксидаза, имеющая высокую положительную связь с основными факторами плодородия дерново-подзолистых почв (гумус и рН) и степенью их окультуренности, в перечень ферментов, тесно связанных с урожаем, не вошла, по-видимому, вследствие особенностей анализируемых выборок, представленных образцами с узким варьированием содержания гумуса (1,3—2,8%).

На почвах других типов исследователи отмечают очень высокую корреляцию активности инвертазы с урожаем различных культур [7]. Наши данные показывают, что активность инвертазы в дерново-подзолистых почвах не может иметь высокую степень связи с урожаем и плодородием, поскольку повышение плодородия почв указанного типа непременно сопровождается повышением уровня рН, что снижает активность инвертазы. В этой связи понятна причина более существенной корреляции плодородия дерново-подзолистых почв с протеазой, уреазой, дегидрогеназой и полифенолоксидазой, активность которых возрастает параллельно с повышением содержания гумуса и уровня рН. Таким образом, вероятно, что для различных типов почв возможны и разные индикаторы почвенного плодородия.

Указатель литературы

1. Аристовская Т. В. Теоретические аспекты проблемы численности, биомассы и продуктивности почвенных микроорганизмов. — В кн.: Вопросы численности, биомассы и продуктивности почвенных микроорганизмов. Л., «Наука», 1972.
2. Барановская А. В. Об активности каталазы в некоторых почвах лесной и степной зоны. — «Почвоведение», 1954, № 11, с. 41—49.
3. Благovidов Н. Л. Качественная оценка земель. М., Изд-во МСХ СССР, 1960.
4. Василенко Е. С., Рыбалкина А. В. Микробиологические процессы при минерализации азотсодержащих веществ в мощном черноземе и дерново-подзолистой почве. — «Докл. III съезда почвоведов», 1968, с. 46—49.
5. Виземюллер В. О. О коррелятивной зависимости между биологической активностью и качеством гумуса в почвах при длительном применении удобрений. — «Биол. науки», 1968, № 5, с. 139—144.
6. Востров И. С., Петрова А. Н. Определение биологической активности почвы различными методами. — «Микробиология», 1961, т. 30, вып. 4, с. 665—672.
7. Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. — Дис. на соиск. учен. степени д-ра биол. наук. Ереван, 1970.
8. Гречин И. П. Воздушный режим и дерново-подзолистые почвы. — «Докл. ТСХА», 1963, № 84, с. 5—18.

9. Драгунов С. С., Желоховцева Н. Н., Стрелкова Е. И. Сравнительное исследование почвенных и торфяных гуминовых кислот. — «Почвоведение», 1948, № 7, с. 409—414.
10. Дубовенко Е. К., Уласевич Э. И. Изучение активности некоторых ферментов в прикорневой почве сельскохозяйственных растений. — «Докл. симпозиума по ферментам почвы», Минск, 1968, с. 320—326.
11. Егоров В. Е. Из результатов полувекового полевого опыта ТХСА с удобрениями, севооборотом и монокультурами. — «Изв. ТСХА», 1963, № 6, с. 30—57.
12. Захаров С. С., Александрович П. К. Влияние культур полевого севооборота и монокультуры на некоторые элементы плодородия дерново-подзолистых почв. — «Труды БСХА», 1968, т. 57, с. 52—61.
13. Зубец Т. П. Влияние гербицидов на микрофлору и активность ферментов в дерново-подзолистых почвах. — Дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Л., 1969.
14. Кацнельсон Р. С., Ершов В. В. Исследование микрофлоры целинных и окультуренных почв Карельской АССР. — «Микробиология», 1958, т. 27, вып. 1, с. 82—88.
15. Козлов К. А. Изучение биологической активности почв Восточной Сибири. — «Почвоведение», 1962, № 4, с. 40—49.
16. Козлов К. А. Биологическая активность почвы. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1966, № 5, с. 719—733.
17. Козлов К. А. О едином показателе энзиматической активности почв. — В кн.: Микробиологические и биохимические исследования почв. «Урожай», 1971, с. 92—97.
18. Козлов К. А., Нючева Е. М. К вопросу о возможных источниках обогащения почвы ферментами. — «Изв. СО АН СССР», 1965, вып. 3, с. 131—134.
19. Конасов Ю. А. и др. Разработка научных основ севооборотов в Северо-Западной зоне. [Отчет о результатах научных исследований по проблеме «Разработка научных основ севооборотов в интенсивном земледелии»]. М., 1970, с. 70—86.
20. Кононова М. М. Органическое вещество почвы, его природа, свойства и методы изучения. М., Изд-во АН СССР, 1963.
21. Кононова М. М. Процессы превращения органического вещества и их связь с плодородием почвы. — «Почвоведение», 1968, № 8, с. 17—26.
22. Кононова М. М., Мишустин Е. Н., Штина Э. А. Микроорганизмы и трансформация органического вещества почвы. — «Почвоведение», 1972, № 3, с. 95—105.
23. Купревич В. Ф. Внеклеточные ферменты корней высших растений. — «ДАН СССР», 1949, т. 68, № 5, с. 953—956.
24. Купревич В. Ф., Щербакова Т. А. Почвенная энзимология. Минск, «Наука и техника», 1966.
25. Мавричев П. И. Биологическая фиксация атмосферного азота клевером на дерново-подзолистой почве Северо-Западной зоны. Дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Л., 1970.
26. Макаров Б. Н. Упрощенный метод определения дыхания почвы и биологической активности почвы. — «Почвоведение», 1957, № 9, с. 119—122.
27. Маштаков С. М., Кулаковская Т. Н., Гольдина С. М. Активность ферментов и интенсивность дыхания как

- показатели биологической активности почвы. — «ДАН СССР», 1954, т. 98, № 1, с. 141—144.
28. Мишустин Е. Н. Географический фактор и распространение почвенных микроорганизмов. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1958, № 6, с. 661—676.
 29. Мишустин Е. Н., Никитин Д. И. Атакуемость гуминовых кислот почвенной микрофлорой. — «Микробиология», 1961, т. 30, вып. 5, с. 841—849.
 30. Мишустин Е. Н., Никитин Д. И., Востров И. С. Прямой метод определения суммарной протеазной активности почв. — «Докл. симпозиума по ферментам почвы», Минск, 1968, с. 144—150.
 31. Мишустин Е. Н., Петрова А. Н. Определение биологической активности почвы. — «Микробиология», 1963, т. 32, вып. 3, с. 479—484.
 32. Мишустин Е. Н., Теппер Е. З. Влияние длительного севооборота, монокультур и удобрений на состав почвенной микрофлоры. — «Изв. ТСХА», 1963, № 6, с. 85—93.
 33. Непомилуев В. Ф., Козырев М. А. Микрофлора дерново-подзолистых почв временного избыточного увлажнения. — «Изв. ТСХА», 1968, № 2, с. 109—118.
 34. Никитин Д. И. Разложение почвенных гуминовых кислот микроорганизмами. — «Изв. АН СССР», 1960, № 4, с. 618—626.
 35. Петерсон Н. В. Источники обогащения почвы ферментами. — Микробиологический журнал АН УССР, 1961, т. 28, № 6, с. 5—11.
 36. Петерсон Н. В. Модификация метода определения дегидрогеназной активности в почве. — Микробиологический журнал АН УССР, 1965, т. 27, № 4, с. 22—27.
 37. Петерсон Н. В. Дегидрогеназная активность в почве как проявление активности ее микрофлоры. — «Микробиология», 1967, т. 36, вып. 3, с. 518—525.
 38. Пошон Ж., Баржак Г. де. Почвенная микробиология. М., ИЛ, 1960.
 39. Сеги И., Гуяш Ф. Разложение гумуса и синтез фенолоксидазы некоторыми почвенными микроорганизмами. — В кн.: Комплексные биоминеральные удобрения. Киев, «Урожай», 1970, с. 51—59.
 40. Станков Н. З. Корневая система полевых культур. М., «Колос», 1964.
 41. Хейфец Д. М. Методика определения содержания минеральных и органических соединений фосфора в некоторых почвах Советского Союза. — «Почвоведение», 1948, № 2, с. 100—113.
 42. Чубаров А. П. Разработка систем удобрений в полевых севооборотах. — Научный отчет СЗНИИСХ за 1971 г. Т. 6, 1971, Лениздат, с. 86—141.
 43. Чундерова А. И., Зубец Т. П. Влияние гербицидов на нитрифицирующие бактерии дерново-подзолистых почв. — «Микробиология», 1970, т. 39, вып. 5, с. 887—892.
 44. Штатнов В. И. К методике определения биологической активности почвы. — «Докл. ВАСХНИЛ», 1952, № 6, с. 27—34.

45. Ambroz Z. Sledování activity pudnich enzymu v závislosti na
v
cinnosti microorganismu. — «Rost. výroba», 1956, t. 29, No. 12.
p. 1269—1282.
46. Conrad J. P. Hydrolysis of Urea in soils by thermolabile cata-
lysis. — «Soil. Sci.», 1940, vol. 49, No. 4, p. 253-263.
47. Drobni k J. The hydrolysis of starch by the enzymatic complex
of soils. — «Folia biol.», 1955, No. 1, p. 138-146.
48. Hofmann E. Enzymreaktionen und ihre Bedeutung für die Bes-
timmung der Bodenfruchtbarkeit. — Z. Pflanzenernähr. Dung. Bo-
den, 1952, Bd. 56, H. 1—3, S. 68—75.
49. Hofmann E., Braunlich K. Der Sacharasegehalt der Boden
unter dem Einfluss verschiedemen Faktoren der Bodenfruchtbar-
keit. — Z. Pflanz. Dung. Boden. 1955, Bd. 70, H. 2, S. 114—123.
50. Hofmann E., Hoffmann G. Über Herkunft, Bestimmung und
Bedeutung der Enzyme im Boden. — Z. Pflanz. Dung. Boden. 1955,
Bd. 70, H. 1, S. 9—16.
51. Jackman R. H., Black C. A. Phytase activity in soils. —
«Soil Sci.», 1952, No. 73, p. 117-125.
52. Kiss I. Talajenzimek. Bucarest, 1958.
53. König J., Hasenbaumer J., Copenraht E. Einige neue
Eigenschaften der Ackerbodens (Cit. Kiss I., 1958).
54. Rogers H. T. Dephosphorilation of organic phosphorus compo-
unds by soil catalysts. — «Soil Sci.», 1942, vol. 54, No. 6, p. 439-
445.
55. Rotini O. T. La transformatione enzimatica dell, urea nel ter-
reno. — «Ann. Labor. Ferm.», 1935, No. 3, p. 143-154.
56. Skujins J. J. Enzymes in soil. — «Soil biochemistry», 1967,
vol. 1, p. 189-247, London—New York.
57. Sörensen S. Microbiol decomposition of xylan. — «Acta Agr.
Scand. Suppl.», 1957, No. 1, p. 74-78.

Глава III. БИОЛОГИЧЕСКИЙ АЗОТ И ЕГО РОЛЬ В ЗЕМЛЕДЕЛИИ

ЗНАЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ СВЯЗАННОГО АЗОТА

Хорошо известно, что наши почвы богаты азотом, однако основной запас его находится в недоступной для растений органической форме. Перевод его в минеральную форму происходит, главным образом, под влиянием жизнедеятельности почвенной микрофлоры, поэтому большое значение имеет система агротехники, создающая условия для развития и активной деятельности микрофлоры, особенно тех ее сообществ, которые участвуют в процессах минерализации органических соединений азота. Однако в связи со сравнительно медленными темпами этого процесса, частичным вымыванием подвижных форм азота и его биологическим закреплением количество ежегодно освобождаемого из органических соединений в результате микробиологических процессов доступного растениям азота невелико и не может удовлетворить потребности в нем сельскохозяйственных культур.

Заметным дополнительным источником азота являются органические удобрения (навоз, торф, компосты), а также вносимые в почву азотные минеральные удобрения. Но они не могут в ближайшие годы целиком восполнить дефицит азота. В значительной мере эту задачу можно решить биологическим путем за счет азота, накапливаемого в почве микроорганизмами, связывающими молекулярный азот воздуха. Роль данного процесса в природе трудно переоценить. Значение его определяется прежде всего громадным количеством вовлекаемого в биологический круговорот азота воздуха. Количество азота, ежегодно связываемого клубеньковыми бактериями, составляет 2 млн. т, что соответствует 9,5 млн. т сульфата аммония. Из указанного количества связанного атмосферного азота примерно 1575,5 тыс. т выносятся

с урожаем и 484,5 тыс. т остается в почве. Примерно 1,5 млн. т атмосферного азота усваивается так называемыми свободноживущими азотфиксаторами.

Биологическое связывание азота является наиболее экономичным процессом. По существу, азот, получаемый в результате жизнедеятельности азотфиксирующих микроорганизмов, является даровым.

Способностью фиксировать молекулярный азот обладают многие микроорганизмы. Работы последних лет значительно расширили наши представления о группе микробов-азотфиксаторов. Их оказалось значительно больше, чем предполагали раньше. Сейчас доказано, что к этой группе, помимо клубеньковых бактерий, азотобактера и анаэробного азотфиксатора рода *Clostridium*, должен быть причислен еще ряд микроорганизмов: микобактерии [67], некоторые термофильные бактерии [58], многие грибы, пурпурные бактерии, сине-зеленые водоросли [72]. В работе Ю. М. Возняковской [4] сведены данные авторов, выявивших многих представителей почвенной микрофлоры, которые способны в той или иной мере фиксировать элементарный азот. Несомненно, что совершенствование методов исследования позволит в дальнейшем выделить еще ряд микроорганизмов, обладающих этим важным свойством.

Все микробы-азотфиксаторы делятся на две группы. Первая тесно связана с бобовыми растениями, на корнях которых образует клубеньки. Это — клубеньковые бактерии. Они усваивают атмосферный азот в симбиозе с бобовым растением-хозяином. Вне растения в естественных условиях почвы клубеньковые бактерии не фиксируют атмосферный азот, равно как без клубеньков лишены такой способности бобовые растения.

Вторая группа — так называемые свободноживущие в почве азотфиксаторы (азотобактер, различные виды *Clostridium*, некоторые грибы и др.).

При сравнении роли свободноживущих азотфиксаторов и клубеньковых бактерий в азотном балансе наших почв преимущество бесспорно оказывается на стороне последних.

Каковы же размеры фиксации азота клубеньковыми бактериями в совместной культуре с бобовыми растениями? В настоящее время известен ряд методов, позволяющих ответить на этот вопрос. К таким методам относятся: 1) метод баланса; 2) метод инокуляции; 3) метод

сравнения с небобовой культурой; 4) метод восстановления ацетилена в этилен; 5) изотопный метод с ^{15}N [18, 19, 60, 61, 76]. Два последних являются наиболее точными.

В вегетационных опытах с использованием ^{15}N [16] были определены размеры фиксации азота у различных видов бобовых культур [9, 10]. Использовали сосуды с песком (по 8 кг песка на сосуд), повторность опыта 8-кратная. Общий фон удобрений — смесь Прянишникова; азот в форме NH_4NO_3 , меченный как по группе $^{15}\text{NH}_4$, так и по группе $^{15}\text{NO}_3$, вносили в двух дозировках: 0,2 нормы (16,8 мг/кг) и 1,0 норма (84 мг/кг). Семена бобовых растений перед посевом (за исключением контрольных вариантов) инокулировали активной культурой клубеньковых бактерий. В связи с тем, что исследования размеров азотфиксации всех изучаемых бобовых культур проводили по одной методике, наиболее подробные данные приведены для люцерны (табл. III.1).

Как видно из таблицы, контрольные растения также имели на корнях клубеньки. Однако в данном случае важно было выяснить размеры фиксации атмосферного азота инокулированной люцерной. Интересно отметить, что клубеньковые бактерии, вызвавшие образование клубеньков на корнях контрольных растений, были менее активны, чем искусственно внесенные. Это видно по абсолютным цифрам фиксированного азота (контроль 1137,7 мг, инокуляция 1701,1 мг).

Повышенная доза минерального азота угнетает процесс азотфиксации (количество фиксированного азота при полной норме снижается с 95,3 до 67,1%).

Сведенный баланс общего азота (табл. III.2) показывает, что наибольшее количество его накапливается при малых дозах внесенного минерального азота (1675,7 кг), при полной норме — приблизительно вдвое меньше (853,8 мг).

Потенциальная способность к азотфиксации у бобовых культур при инокуляции их активными штаммами клубеньковых бактерий очень высока (табл. III.3). Следует подчеркнуть, что размеры биологической фиксации существенно меняются в зависимости от типа почвы, на которой выращивают растения, от содержания в ней подвижного азота, обеспеченности фосфором, влажности и температуры почвы, количества и активности клубеньковых бактерий и других факторов.

Фиксация атмосферного азота люцерной, мг
(за 2 укоса)

Вариант	Зеленая масса				Корни		Фиксировано из воздуха	
	I укос		II укос		общий азот	¹⁵ N	мг	%
	общий азот	¹⁵ N	общий азот	¹⁵ N				
0,2 нормы ¹⁵ N:								
контроль	265,0	42,2	460,5	2,0	490,8	28,1	1137,7	93,5
инокуляция	602,0	50,1	500,6	2,0	682,0	25,2	1701,1	95,3
1,0 нормы ¹⁵ N:								
контроль	400,5	304,4	479,7	32,8	619,8	146,5	1101,1	67,3
инокуляция	517,2	304,7	394,5	29,7	589,3	153,7	1006,8	67,1

Таблица III.2

Баланс общего азота при выращивании люцерны, мг/сосуд
(среднее из трех повторностей)

Вариант	Содержалось				Найдено				Баланс азота
	в исходном песке	в минеральном удобрении	в семенах	всего	в зеленой массе	в корнях	в песке	всего	
0,2 нормы ¹⁵ N:									
контроль	136,0	134,4	6,2	276,6	725,5	490,8	223,7	1440,0	1163,4
инокуляция	136,0	134,4	6,2	276,6	1102,6	682,0	167,7	1952,3	1675,7
1,0 нормы ¹⁵ N:									
контроль	136,0	672,0	6,2	814,2	880,2	619,8	168,0	1668,0	853,8
инокуляция	136,0	672,0	6,2	814,2	911,7	589,3	172,2	1673,2	859,0

Таблица III.3

Размеры симбиотической фиксации азота бобовыми культурами в зависимости от содержания минерального азота в субстрате

Минеральный азот	Культура	% азота, фиксированного растениями из воздуха
0,2 нормы (16,8 мг/кг)	Люцерна	95,3
	Клевер	94,7
	Горох	89,1
	Люпин	85,8
	Соя	65,3
1,0 норма (84 мг/кг)	Люцерна	67,1
	Клевер	67,2
	Горох	66,7
	Люпин	25,8
	Соя	25,6

В целях определения роли биологического азота в земледелии для различных групп бобовых культур приняты следующие средние цифры биологической фиксации атмосферного азота: для люпинов на песчаных почвах 80%, для других однолетних бобовых—60% и для многолетних бобовых трав—70% от общего содержания азота в растениях.

По данным Д. Н. Прянишникова [53], клевер может фиксировать 150—160 кг азота на 1 га, люпин — 160 кг, люцерна — 300 кг.

Ж. Пошон и Г. де Баржак [52] приводят данные по количеству азота (в килограммах), фиксируемого за год на 1 га различными бобовыми культурами в полевых условиях (по Эрдману):

Люцерна	217	Бобы	100
Клевер (различные сорта)	105—200	Вика	89
		Фасоль	44
Люпин	169	Чечевица	115
Соя	65	Пастбище + бобовые	
Горох	80	травы	118

В работе Е. Н. Мишустина [40] приведены размеры фиксации молекулярного азота бобовыми культурами (табл. III.4).

Выше указывалось на немаловажную роль в биологической фиксации азота свободноживущих азотфиксато-

Примерные величины накопления азота разными бобовыми культурами за 1 год, кг на 1 га

Культура	Всего связывается азота растением	Убыль (—) или прибыль (+) азота в почве после уборки урожая
Люцерна (за 3 года пользования)	300 (до 500—600)	Около +100 (до 150—200)
Клевер (за 2 года пользования)	150 (до 250—300)	+75—100 (до 125—150)
Люпин	До 150	+30
Зерновые бобовые	50—60	от —5 до +40

ров. Их распространение и активность зависят от многих факторов: от источника энергии, его количества и доступности, от уровня доступного кислорода и кислородного напряжения в газовой фазе, от влажности почвы, ее рН, количества в ней связанного азота и т. д.

Некоторые авторы [39] считают, что все свободноживущие азотфиксаторы не могут дать за год более 7—10 кг азота на 1 га. Однако эти цифры нельзя считать абсолютными. С ростом культуры земледелия, повышением урожайности сельскохозяйственных культур, естественно, возрастает и поступление в пахотный слой почвы энергетического материала, наличием которого, в первую очередь, определяется активность несимбиотической фиксации атмосферного азота. Из анаэробных азотфиксаторов в наших почвах очень распространены *Clostridium*. По данным С. Н. Захаровой [18], при благоприятных условиях температуры, влажности, давления кислорода количество азота, накопленного *Clostridium* на 1 га за месяц, достигало 15 кг.

На заметную роль несимбиотической азотфиксации в почвах Украины указывают и другие исследователи [15, 19, 37]. Наиболее интенсивно биологическая фиксация азота, по данным Н. Н. Мальцевой, происходила в слабо выщелоченном черноземе и в темно-каштановой слабосолонцеватой почве, где увеличение количества азота соответственно составляло за месяц 5—22 кг и 2,8—14 кг на 1 га пахотного слоя.

Определенная роль в фиксации атмосферного азота принадлежит сине-зеленым водорослям, особенно в рисовниках [42].

Весь приведенный выше материал свидетельствует о большом значении биологически связанного азота как дополнительного источника этого важного элемента питания растений.

КЛУБЕНЬКОВЫЕ БАКТЕРИИ И ИХ СВОЙСТВА

Как указывалось выше, из всех микробов-азотфиксаторов наиболее энергичными являются клубеньковые бактерии. Они представляют собой короткие (около $2 \times 1,5$ мкм) палочки, в молодом возрасте подвижные; аэробы. Пристального внимания заслуживает другая их форма, так называемые бактериоды. Это довольно крупные, часто раздутые колбообразные, грушевидные или ветвистые, изогнутые клетки.

Проникая в корневые волоски бобовых растений и вызывая образование на корнях клубеньков, палочковидные формы, быстро размножаясь, переходят в форму бактериодов. Сейчас уже точно установлено, что именно бактериоды обладают способностью связывать атмосферный азот.

Клубеньковые бактерии фиксируют атмосферный азот в совместной культуре с бобовым растением, при этом следует иметь в виду, что процесс азотфиксации осуществляется при участии определенной группы клубеньковых бактерий с определенным видом бобового растения. Так, клубеньковые бактерии клевера вызывают образование клубеньков на корнях клевера, но не образуют клубеньков на корнях гороха и наоборот.

По признаку специфичности клубеньковые бактерии делятся на ряд групп, из которых практическое значение имеют следующие [11].

1. Группа гороха — бактерии *Rhizobium leguminosarum*. В эту группу входят также клубеньковые бактерии вики, кормовых бобов, чечевицы и чины.

2. Группа фасоли — *Rhizobium phaseoli*.

3. Группа сои — *Rhizobium japonicum*.

4. Группа люпина — *Rhizobium lupini*; сюда же входят и бактерии сераделлы.

5. Группа вигны — *Rhizobium vigna*; к этой группе относятся и бактерии маша, арахиса и некоторые другие.

6. Группа нута — *Rhizobium cicer*.

7. Группа клевера — *Rhizobium trifolii*.

8. Группа люцерны — *Rhizobium meliloti*; в эту же группу входят бактерии донника и пажитника.

9. Группа эспарцета — *Rhizobium simplex*.

10. Группа лядвенца — *Rhizobium lotus*.

11. Группа акации (желтой) — *Rhizobium robinii*.

В основу указанной классификации положен ряд морфолого-культуральных признаков и главным образом перекрестная заражаемость растений, клубеньковые бактерии которых входят в ту или иную группу. Предложены и другие классификации [22, 82, 83, 98]. Однако все они, как и наша, не лишены недостатков, ибо критерий перекрестной заражаемости не всегда надежен.

Распространение и основные свойства клубеньковых бактерий. Клубеньковые бактерии довольно широко распространены в различных почвах. Тип почвы, ее свойства могут ограничивать или, наоборот, стимулировать размножение клубеньковых бактерий, способствовать их распространению. В окультуренных почвах с нейтральной реакцией почвенного раствора клубеньковых бактерий значительно больше, чем в кислых, неокультуренных. Клубеньковые бактерии могут существовать и в почве, на которой в течение ряда лет не высевались бобовые растения [42]. В. К. Шильникова [68] обнаружила различные виды клубеньковых бактерий в почвах, где бобовые не выращивались в течение 50 лет. Об этом же говорят данные Х. Енсена [84]. Он обнаружил клубеньковые бактерии люцерны в почвах Дании, на которых люцерна не высевалась 10—50 лет.

Наличие в почве отдельных групп клубеньковых бактерий тесно связано с культивированием различных видов бобовых растений. Так, в дерново-подзолистых почвах северо-западной зоны СССР нет клубеньковых бактерий сои, люпина — культур, которые не выращивают в этих районах, но много клубеньковых бактерий издавна возделываемых здесь гороха, клевера, вики. Среди указанных бактерий отмечены как более, так и менее вирулентные виды.

По способности усваивать молекулярный азот и снабжать им растения клубеньковые бактерии делят на активные и неактивные. Правда, и вирулентность, и активность могут меняться в зависимости от ряда факторов: природы самого штамма, вида и сортовой специфичности растения-хозяина, почвенных условий и т. д. Вместе с тем имеется немало факторов, свидетельствующих о

консервативности указанных свойств. Активность штаммов клубеньковых бактерий влияет на урожай растения и содержание в нем азота (табл. III.5; III.6).

Таблица III.5

Урожай люпина, инокулированного активным и неактивным штаммами клубеньковых бактерий
(среднее на сосуд)

Минеральный азот	Вариант опыта	Количество сырой зеленой массы, г	Бобы при уборке урожая		Масса клубеньков, г
			количество	масса, г	
0,1 нормы по Прянишникову (8,4 мг/кг)	Без бактерий	44	5	3,5	—
	Штамм:				
	неактивный, 400	44	6	5,7	3,00
1,0 норма по Прянишникову (84 мг/кг)	активный, 359а	215	37	101,0	2,90
	Без бактерий	207	23	48	—
	Штамм:				
	неактивный, 400	184	21	47	3,00
	активный, 359а	227	36	87	1,65

Таблица III.6

Содержание общего азота в клубеньках и надземной части растения

Минеральный азот	Исследуемый материал	Содержание азота, % к сухому веществу
0,1 нормы по Прянишникову	Клубеньки:	
	активные	6,3
1,0 норма » »	неактивные	3,2
	активные	5,7
0,1 нормы » »	неактивные	3,1
	Растения:	
	контроль	1,8
	инокуляция штаммом:	
	активным	3,3
	неактивным	1,7

Наконец, следует указать еще на одно важное свойство клубеньковых бактерий — конкурентную способность, или «агрессивность». В почве могут находиться

различные штаммы одного и того же вида клубеньковых бактерий, но проникают в корневой волосок и вызывают образование клубенька наиболее конкурентоспособные. Конкурентоспособность клубеньковых бактерий наряду с активностью и вирулентностью имеет большое значение при отборе бактерий с целью практического их использования в производстве нитрагина.

На значение конкурентоспособности при отборе клубеньковых бактерий указывает ряд авторов [21, 24, 86].

Г. Хам, В. Кардуэлл и Х. Джонсон [83] провели большую работу по определению эффекта от инокуляции сои стандартным препаратом нитрагина на почвах, в которых содержалось большое количество *Rh. japonicum*. Эти авторы показали, что в подавляющем большинстве случаев клубеньки были образованы не бактериями из нитрагина, а местными спонтанными штаммами бактерий сои. Следовательно, последние оказались более конкурентоспособны.

В интересной работе В. П. Израильского и А. С. Рыжковой [21] с помощью серологического метода проведено сравнение конкурентной способности различных штаммов клубеньковых бактерий клевера. Штамм *C_B-16* обладал высокой активностью и высокой конкурентной способностью.

Активный штамм 27 характеризовался слабой конкурентной способностью. Поэтому большинство клубеньков было образовано на корнях клевера штаммом *C_B-16* (рисунок).

Таким образом, урожай бобовых растений и содержание в них азота зависят не только от активности клубеньковых бактерий, но и от их конкурентной способности. Неактивные клубеньковые бактерии с высокой конкурентной способностью отрицательно влияют на рост и развитие бобовых растений.

Наряду с активными штаммами в почвах довольно широко распространены неактивные и малоактивные клубеньковые бактерии. Так, А. Д. Калниньш [27] из разных видов клевера, произраставшего на различных почвах Латвии, выделил несколько сот штаммов клубеньковых бактерий и установил, что из их числа неактивные и малоактивные составляли: у красного клевера 20, у белого 39,5, у горного 28,6, у шведского 23,5%. По данным Х. Г. Торнтонна, неактивные штаммы клубеньковых бактерий широко распространены в почвах Англии:

из 463 выделенных и испытанных им штаммов 37% было неактивных. Аналогичные сведения приводят и другие исследователи [80, 87, 99 и др.].

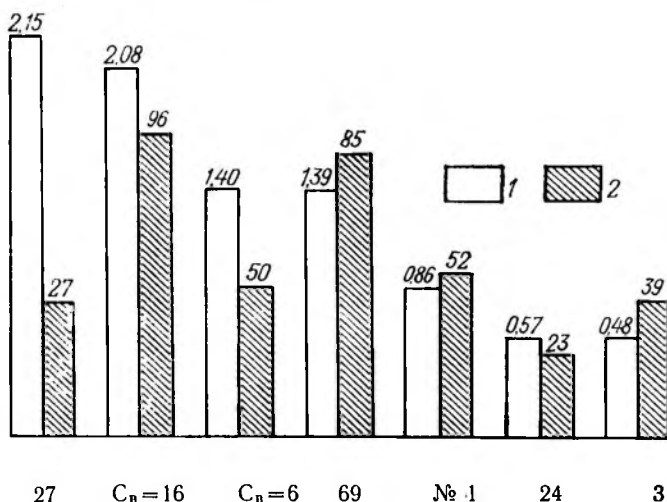


Рис. III. Характеристика различных штаммов клубеньковых бактерий по активности и конкурентной способности:
1 — активность (урожай зеленой массы, г); 2 — конкурентоспособность (среднее, %)

В связи с наличием в почве большого количества неактивных и малоактивных культур клубеньковых бактерий, а также тем обстоятельством, что в некоторых почвах мало клубеньковых бактерий или отсутствуют клубеньковые бактерии, соответствующие высеваемому виду растений (посев сои на Украине, люпина — в северо-западной зоне), в почву вносят нитрагин — активные культуры клубеньковых бактерий.

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О МЕХАНИЗМЕ И ХИМИЗМЕ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ФИКСАЦИИ АЗОТА

Как известно, клубеньковые бактерии в обычных условиях на искусственных питательных средах не фиксируют атмосферный азот.

На основании проведенных исследований некоторые авторы пришли к заключению, что непосредственным агентом фиксации азота является растение, точнее бакте-

роидная ткань клубенька, роль же клубеньковых бактерий, по их мнению, сводится только к индуцированию образования бактериоидной ткани [64, 65]. На доминирующую роль в этом процессе растительной мембраны, обволакивающей бактериоиды клубеньковых бактерий, указывал и Ф. Бергерсен [2]. Однако последующими исследованиями этого автора, проведенными совместно с Г. Тарнером [74], было точно установлено, что вся азотфиксирующая и водородвыделяющая активность сосредоточена в бактериоидах, т. е. процесс симбиотической фиксации азота локализован в клубеньковых бактериях. Эти авторы из кашицы клубеньков сои получили 3 фракции: мембранную, бактериоидную и растворимую. Фиксацию азота измеряли при инкубации кашицы и ее фракций в смеси газов, содержащих 4—6% O_2 и около 20% $^{15}N_2$ высокого обогащения, при температуре 23°C с встряхиванием (табл. III.7)

Т а б л и ц а III.7

**Фиксация азота различными фракциями кашицы
из клубеньков сои**

Вариант опыта	Содержание, мг/сосуд		¹⁵ N ₂ избыт- ка, ат. %	Фиксиро- ванный азот, мкг
	про- теина	небел- ково- го азота		
<i>Опыт I</i>				
Растворимая фракция	24,5	1,67	0	0
Бактериоиды + мембранная фракция	45,5	1,29	1,001	12,3
Бактериоиды + мембранная фракция + +растворимая фракция	70,0	2,96	0,393	11,6
Исходная кашлица	73,0	3,16	0,384	12,1
<i>Опыт II</i>				
Мембранная фракция	7,0	0,27	0,062	0,2
Бактериоидная фракция	53,4	1,28	0,935	11,9
Бактериоидная + мембранная фракции	60,4	1,50	0,786	11,7
Исходная кашлица	95,8	3,18	0,330	10,5

Ни мембранная, ни растворимая фракции не фиксировали азот. Фиксацию осуществляли только бактериоидная фракция и исходная кашлица. На роль бактериоидов как непосредственных агентов усвоения атмосферного азота указывает В. Стюарт [94].

Убедительные данные, свидетельствующие об активной роли клубеньковых бактерий (бактероидов) в фиксации молекулярного азота, приводят Я. В. Пейве с соавторами [47]. Определяя активность специфических дегидрогеназ (ферментов, ответственных за отщепление водорода от субстрата и его активирование для последующего восстановления молекулярного азота) во фракции растительной ткани клубенька и фракции клубеньковых бактерий, они показали, что почти вся дегидрогеназная активность сосредоточена в бактериоидах клубенька. Доказательства активной и непосредственной роли клубеньковых бактерий в фиксации молекулярного азота приведены и в работах других авторов [6, 14, 75].

Последние работы убедительно показывают, что непосредственно фиксируют азот клубеньковые бактерии в форме бактериоидов. Растение поставляет энергетический материал для указанного очень сложного и требующего больших затрат энергии процесса. Таким образом, процесс азотфиксации осуществляется азотфиксирующей системой, в которой и бактерии, и растение играют одинаково важную роль. Без любого из этих двух компонентов данной системы биологическое связывание атмосферного азота невозможно.

Что касается химизма азотфиксации, то высказанное еще в 1893 г. С. Н. Виноградским [5] положение о том, что биологическая фиксация азота — восстановительный процесс, первым устойчивым продуктом которого является аммиак, получило свое бесспорное подтверждение в последующих работах советских и зарубежных ученых [34, 48, 66, 75]. Однако до сих пор не установлено, какие промежуточные продукты образуются в ходе восстановления азота до аммиака. Есть работы, в которых показано, что сначала молекулярный азот восстанавливается до гидразина, а затем до аммиака [70].

Общезвестно, что молекула азота отличается большой химической инертностью (два атома связаны между собой прочной тройной связью) и трудно вступает в химическую реакцию с другими элементами и веществами. Энергия тройной связи в молекуле азота составляет 225 ккал/моль. Чтобы активировать молекулу, необходимо разорвать эту связь. При биологической фиксации азота разрыв осуществляется благодаря предварительному активированию молекулы азота мощным комплексом выделяемых бактериями ферментов. Таким азотфик-

сирующим ферментным комплексом является нитрогеназа, в состав которой входят молибден и негеминное железо. При инокуляции растений активными штаммами клубеньковых бактерий нитрогеназа катализирует восстановление молекулярного азота. Нитрогеназа, полученная из экстракта неактивных клубеньков, не обладает такой способностью [1].

Для фиксации атмосферного азота необходимо активировать не только молекулу азота, но и молекулу водорода. Этот процесс идет при участии дегидрогеназ, которые отщепляют водород от субстрата, фермент гидрогеназа активирует его. Предполагают, что обе фазы осуществляются одним ферментом — дегидрогеназой.

В активных клубеньках обязательно присутствует сложный хромопротеид — леоглобин. Проведенные исследования показали, что сам по себе он не участвует в фиксации молекулярного азота. Есть основания считать, что он является своеобразным экраном, регулирующим доступ кислорода к бактериям. Для активной фиксации азота бактериоиды нуждаются в кислороде, но в очень малых концентрациях (2—6%). В активных клубеньках леоглобина довольно много (до 4% на сухую массу клубенька). Он окрашивает клубеньки в розово-красный цвет. В неактивных клубеньках леоглобин отсутствует.

Донатором энергии для осуществления процесса биологической фиксации азота являются растения (митохондрии, находящиеся в большом количестве в растительных клетках ткани клубенька). В результате процесса фотосинтеза образуются углеродсодержащие вещества, которые благодаря происходящим реакциям являются поставщиками энергии (АТФ). Определенное значение имеет и дополнительная энергия, образующаяся от сопряженно протекающих биохимических процессов.

Для фиксации атмосферного азота необходимы микроэлементы. При отсутствии в почве молибдена атмосферный азот не усваивается. Я. В. Пейве [48] показал, что молибден активирует дегидрогеназы. При этом он взаимодействует с другими металлами-микроэлементами: медью, кобальтом, железом. Железо и кобальт входят в металлопорфириновые комплексы, играющие существенную роль в процессе активирования молекулы азота [50].

После образования аммиака происходит процесс амминирования и переамминирования кетокислот. Эти со-

единения играют очень важную роль в фиксации молекулярного азота. Они, во-первых, участвуют в синтезе АТФ и, во-вторых, реагируя с аммиаком, образуют аминокислоты, косвенно регулируя уровень аммиака, накопление которого ингибирует процесс азотфиксации [28, 29].

Имеющиеся данные [7, 57] показывают, что активные клубеньки содержат повышенные количества кетокислот, таких как щавелевоуксусная, кетоглутаровая, пировиноградная и др. За счет аминокислот происходит синтез полипептидов и белка.

Таким образом, изучение механизма и химизма симбиотической фиксации азота значительно продвинулось вперед. Однако ряд вопросов этой сложной проблемы все еще остается невыясненным. Сейчас исследования в данной области ведутся в широких масштабах как у нас, так и за рубежом. Важность подобных работ трудно переоценить. Вскрыв механизм этого сложнейшего процесса, человек сумеет воспроизвести его чисто каталитическим путем. В результате открываются широкие возможности для обогащения почвы азотом. Академик А. Н. Бах в 1950 г. писал, что «... Подобно тому как теоретическое изучение механизма полета птиц привело к построению летательного аппарата, более тяжелого, чем воздух, мы надеемся путем теоретического изучения сопряженного действия биологических окислительно-восстановительных катализаторов, обуславливающих связывание атмосферного азота бактериями, выявить наиболее благоприятные условия для технического синтеза аммиака» [3].

ПРОИЗВОДСТВО И ПРИМЕНЕНИЕ НИТРАГИНА

Нитрагин применяют во всех развитых странах мира. Несмотря на высокий уровень химизации сельского хозяйства, в США, где в громадных масштабах используют минеральные, в частности азотные удобрения, производству и применению нитрагина уделяется большое внимание.

Нитрагин применяют в ряде стран Латинской Америки. В Уругвае и Аргентине часть нитрагина производится на местах, часть импортируют из США.

Большое внимание уделяют исследованию клубеньковых бактерий и практическому их использованию в сельском хозяйстве Австралии [8, 91]. Здесь готовят торфя-

ной нитрагин на стерильном и нестерильном субстрате. Лучшие результаты (по количеству бактерий и их выживаемости) получают на стерильном торфе. Если торф помещают в бутылки, то его стерилизуют в автоклавах, если в полиэтиленовые пакеты, то в специальных установках гамма-лучами в дозе $5 \cdot 10^6$ рад. Как и в США, нитрагин готовят на смеси нескольких штаммов.

Во Франции нитрагин используют главным образом при посеве люцерны, занимающей 20—25% всех посевных площадей. Группа французских ученых работает над вопросами инокуляции клубеньковыми бактериями новой для Франции культуры — сои. Нитрагин применяют в Швеции, Нидерландах, Чехословакии, Венгрии, Польше, Болгарии, Румынии и др.

В большинстве стран наполнителем для клубеньковых бактерий служит специально подготовленный торф, который предварительно стерилизуют.

Наиболее распространен торфяной нитрагин: клубеньковые бактерии выращиваются глубинным способом в больших ферментерах, объемом в 8—9 тыс. л. Культура из таких ферментеров (в каждом из них выращивается свой штамм) после окончания выращивания объединяется и затем смешивается с сильно измельченным торфом. В отдельных странах (Швеция, Польша) готовят почвенный нитрагин.

У нас до последнего времени изготавливали почвенный нитрагин. Процесс производства его громоздок, требует завоза на предприятие-изготовитель большого количества хорошо окультуренной плодородной земли, громадного количества молочных бутылок, в которые насыпают почву. Такой способ не позволяет механизировать и автоматизировать отдельные операции производства препарата. Все это тормозит выпуск нитрагина в нужных количествах.

В настоящее время усилия отечественных ученых направлены на разработку более совершенной технологии изготовления торфяного и сухого нитрагинов. Ведутся исследования по выявлению наилучшего субстрата, определению условий быстрого и энергичного размножения клубеньковых бактерий в питательных средах и сохранению их в препарате. Успешное решение этих проблем позволит увеличить производство нитрагина и удовлетворить потребности в нем сельского хозяйства.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НИТРАГИНА

Многолетняя практика использования нитрагина как в СССР, так и за рубежом свидетельствует об эффективности этого приема.

Научные учреждения Географической сети по испытанию эффективности бактериальных препаратов, имеющиеся в различных почвенно-климатических зонах страны, проводят испытание нитрагина в течение ряда лет (табл. III.8 и III.9).

Таблица III.8

**Влияние нитрагина, внесенного под бобовые культуры,
на их урожайность в опытах за 1967—1969 гг., ц с 1 га**
(по штамму, давшему максимальную прибавку)

Культура	Опытов			Средний урожай в контроле с до- стоверными при- бавками	Средняя до- стовер- ная при- бавка от нитрагина
	всего	с достовер- ными прибав- ками			
		коли- чество	%		
Горох:					
зеленая масса	12	12	100	175,5	21,4
зерно	32	16	50	20,1	2,9
Люпин:					
зеленая масса	7	5	71,4	386,8	72,7
зерно	10	7	70,0	12,5	2,3
Соя:					
зеленая масса	7	7	100	189,3	45,6
зерно	6	6	100	18,7	4,2
Вика:					
зеленая масса	4	4	100	140,0	17,2
зерно	4	2	50	10,2	1,0
Люцерна (сено)	11	11	100	95,2	17,7
Клевер (сено)	21	17	80	56,0	6,5

Как видно из табл. III.9, за 4 года научными учреждениями Географической сети было проведено 123 опыта, из них в 91 была получена достоверная прибавка урожая. Абсолютные прибавки урожая довольно значительны: для зернобобовых культур в среднем 1,3—3,6 ц с 1 га, для бобовых трав (люцерны и клевера) 6,0—6,5 ц сена с 1 га.

Имеющиеся данные по действию нитрагина на бобовые культуры, высеваемые на почвах Нечерноземной зоны, свидетельствуют о том, что применение этого препа-

Влияние нитрагина, внесенного под бобовые культуры,
на их урожайность в опытах Географической сети
за 1970, 1971, 1973 и 1974 гг., ц с 1 га

Культура	Опытов			Средний за 4 года уро- жай в конт- роле	Средняя достовер- ная при- бавка от нитрагина
	всего	с достовер- ными прибав- ками			
		коли- чество	%		
Горох:					
зерно	39	26	66,6	20,7	3,6
зеленая масса	4	4	100	170	29,1
Люпин:					
зерно	12	6	50	9,7	1,3
зеленая масса	4	4	100	107,4	110,9
Соя (сено)	25	21	84	17	3,6
Люцерна:					
сено	14	11	79	60,7	6,5
зеленая масса	9	9	100	314	130
Клевер (сено)	16	10	62	67,9	6,8

рата может существенно увеличить продуктивность бобовых культур, таких как клевер, люпин, люцерна, и улучшить их качество, повысить содержание белка в урожае.

В работе Е. П. Трепачева [62] указывается, что, по обобщенным за 8 лет данным научно-исследовательских учреждений (Географической сети опытов), нитрагин дает большой эффект при внесении под давно возделываемые бобовые культуры. Прибавки зерна гороха составили 3,5 ц, вики — 1,6 ц, фасоли — 3,2 ц и зеленой массы люпина — 51,3 ц с 1 га.

По данным Г. Н. Блинкова и И. П. Козловой, проводящих опыты в Томской области, нитрагинизация повышает урожай клевера и содержание в нем белка (табл. III.10).

Об эффективности нитрагинизации говорят данные научных учреждений Болгарии, Венгрии, Польши, США и др. По сообщению Е. Н. Мишустина [41], статистическая обработка материалов полевых опытов, проведенных во Франции в 6-кратной повторности, показывает, что примерно в 70% случаев нитрагин повышает урожайность. Эффект, как отмечает Е. Н. Мишустин, зависит, по-видимому, от типа почвы и частоты возврата бобового растения в севообороте.

Влияние нитрагинизации на урожайность клевера

Место проведения опыта	Сорт	Вариант опыта	Урожай сена		Белок	
			ц с 1 га	%	% на сухую массу	ц с 1 га
Совхоз «Заварзино», Центральная ферма, почва серая лесная	Томский	Контроль	46,5	100	12,70	5,38
		Нитрагин	53,4	115	16,25	7,89
		$P_{60}K_{60}$	56,8	122	14,49	7,37
		$P_{60}K_{60}$ + нитрагин	59,1	127	16,98	8,90
Агробиостанция Томского педагогического ин-та, почва темно-серая лесная	Нарымский	$P_{60}K_{60}$	70,2	100	13,14	8,38
		$P_{60}K_{60}$ + нитрагин	82,8	117	15,06	11,22
То же	Томский	$P_{60}K_{60}$	67,9	100	12,58	7,65
		$P_{60}K_{60}$ + нитрагин	80,4	118	14,79	10,70

Следует указать, что в ряде случаев применение нитрагина бывает неэффективным. На почвах, богатых доступным азотом, бобовые растения не нуждаются в его дополнительном получении и, естественно, в большинстве таких почв применение нитрагина, равно как и минерального азота, нецелесообразно (табл. III.11). Данные таблицы показывают, что там, где эффективен минеральный азот, эффективен и нитрагин. Кроме того, на плодородных почвах, где давно возделываются бобовые культуры, в большом количестве имеются активные и конкурентоспособные спонтанные клубеньковые бактерии. Они нередко берут верх над бактериями, вносимыми с нитрагином. Естественно, в этом случае нитрагин неэффективен, что подтверждается опытами по сравнению эффективности нитрагина, внесенного под сою, в новых и старых районах ее возделывания (табл. III.12, III.13). Данные таблицы показывают, что прибавка урожая зерна от применения нитрагина под сою в новых для нее районах весьма существенна.

Во Франции, где сою только вводят в культуру, прибавка зерна в 1967—1968 гг. по отношению к неинкулированному контролю составила 70%, а в 1969—1970 гг. после улучшения качества препарата — 400% [94].

Таблица III.11

**Влияние нитрагина и минерального азота на урожайность
бобовых культур в опытах Географической сети
за 1970 и 1971 гг., ц с 1 га**

Место проведения опыта	Культура	Доза ми- нерально- го азота, кг на 1 га	Урожай в контро- ле	Прибавка урожая		Достовер- ность прибавки
				от нит- рагина	от мине- раль- ного азота	
Сумская опытная стан- ция	Горох	20	19,5	2,7	1,6	1,5
Томский педагогический ин-т	»	60	17,5	3,0	4,0	1,1
Горьковская опытная станция	»	22	27,1	1,0	—1,4	2,7
АзНИХИ	Люцерна	60	261	40	22	16,2
СоюзНИХИ	»	100	72,2	13	9,3	8,9
Латвийский НИИЗ	Клевер	35	259,3	43,4	53,4	3,8
Литовский НИИЗ:						
Дотнува	»	45	142,5	8,4	9,7	11,5
Румокай	»	15	150,0	16,3	15,0	8,8
ВНИИ сои	Соя	30	20,5	0,9	0,3	1,7
Томский педагогический ин-т	»	40	19,5	3,4	2,0	1,0
Литовский НИИЗ	Люпин	60	285	20	—5	27
Белорусский НИИ почвоведения	»	20	344	58	40	36,5
Якутский НИИЗ	Горох	60	22,3	—0,5	—1,1	1,6
НИИСХ ЦЧП им. В. В. Докучаева	»	45	29,2	—0,3	0,4	2,8

Цифры, приведенные в табл. III.12 и III.13, весьма показательны, но из этого не следует, что во всех случаях на старопахотных землях на давно возделываемых культурах нитрагин не даст эффекта. Такой вывод противоречит всей практике применения нитрагина. Если для производства подобран высокоактивный, вирулентный и конкурентоспособный штамм, то нитрагин окажет положительное действие на урожай (табл. III.14).

Как видно из данных табл. III.14, штамм 74 имеет несомненное преимущество перед спонтанными клубеньковыми бактериями (контроль) и может быть использован для производства нитрагина. Аналогичные результаты получены также с клубеньковыми бактериями гороха, сои и люпина. Таким образом, совершенно очевидно, что для повышения эффективности нитрагина необходи-

Таблица III.12

**Эффективность внесения нитрагина под сою в новых районах
ее возделывания, ц с 1 га**

Учреждение	Год	Урожай зерна в контро- ле	Прибав- ка от нитра- гина
Киевская опытная станция животноводства	1967	16,8	1,9
	1964	16,3	4,5
Украинский НИИ орошаемого земледелия	1964	20,1	4,9
	1967	18,2	6,8
	1968	24,6	2,3
	1969	21,2	3,6
	1970	26,9	3,9
	1971	19,7	3,8
Казахский НИИ земледелия	1968	21,4	7,2
	1969	15,2	9,9
	1971	21,3	13,0

Примечание. Опыты точные, прибавка математически достоверна во всех опытах.

Таблица III.13

**Эффективность внесения нитрагина под сою
в районах давнего ее возделывания, ц с 1 га**

Учреждение	Год	Урожай зерна в конт- роле	Прибав- ка* от нитра- гина
Дальневосточный НИИСХ	1968	12,8	2,0
	1969	7,4	0,2
	1970	17,4	2,5
ВНИИ сои	1969	10,2	0
	1970	24,7	0,2
	1971	20,5	0,9
Амурская сельскохозяйственная опытная станция	1964	17,6	0,3

* Прибавка недостоверна.

мо, чтобы клубеньковые бактерии, составляющие его основу, были активнее, вирулентнее и конкурентоспособнее спонтанных клубеньковых бактерий. Сейчас микробиологическая промышленность, выпускающая нитрагин, снабжается, как говорят селекционеры, дикими штамма-

Влияние различных штаммов клубеньковых бактерий на урожай зеленой массы кормовых бобов [32]

Вариант опыта	Зеленая масса, в среднем	
	г/сосуд	%
Контроль	324	100
Штамм:		
73	341	105
74	369	111
76	353	109

ми, отобранными из природных источников или из коллекционных культур. Чтобы получить производственные штаммы *Rhizobium* с новыми свойствами или хотя бы признаками, значительно отличающимися от аналогичных признаков у исходных форм, необходимо использовать аналитическую и экспериментальную селекцию. Это уже область генетики. Такие исследования особенно важны по клубеньковым бактериям, ибо неодинаковая активность их в большинстве случаев является результатом генетической несовместимости клубеньковых бактерий и растения-хозяина.

Работы по селекции клубеньковых бактерий уже начаты в Институте микробиологии АН СССР, ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии и др. Можно надеяться, что в скором времени для производства нитрагина будут получены новые производственные культуры.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ СВЯЗАННОГО АЗОТА НА КАЧЕСТВО УРОЖАЯ И ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ БОБОВЫХ КУЛЬТУР

При нитрагинизации в значительной степени улучшается качество урожая.

Несмотря на рост урожаев и общего количества растительных продуктов, существует довольно заметный дефицит растительного белка. В нашей стране ежегодно дефицит белка составляет 5—6 млн. т. Большая роль в восполнении этого дефицита принадлежит бобовым культурам, которые богаты полноценным белком.

Исследования у нас и за рубежом показывают, что биологически связанный азот способствует увеличению количества белка в растениях в большей степени, чем минеральный.

В наших опытах [11, 13] процентное содержание белкового азота и белка в инокулированных растениях было значительно выше, чем в неинокулированных, использующих для своего питания минеральный азот (табл. III.15).

Таблица III.15

Содержание белкового азота и белка в бобах инокулированной и неинокулированной сои при различных дозировках минерального азота

Вариант	Норма азота по Прянишникову, мг/кг	Урожай бобов, г/сосуд	Содержание, %	
			белкового азота	белка
Контроль	0,2 (16,8)	5,1	2,39	14,9
Инокуляция		10,3	4,07	25,4
Контроль	0,5 (42)	5,9	2,59	16,1
Инокуляция		10,7	3,73	23,3
Контроль	1,0 (84)	7,0	2,55	15,9
Инокуляция		10,1	3,41	21,3
Контроль	1,5 (126)	7,4	2,81	17,5
Инокуляция		7,6	2,97	18,5

Как видно из табл. III.15, урожай бобов инокулированных растений сои существенно не изменялся от дозирования минерального азота. Однако содержание белка в бобах было наибольшим при малой дозе минерального азота. Бобы инокулированных растений сои в варианте с малой дозой минерального азота содержали 25,4% белка, при увеличении дозы минерального азота до 1,5 нормы количество белка в них уменьшилось до 18,5%.

Опыты, проводимые в течение ряда лет научными учреждениями Географической сети, показали такое же действие нитрагина на содержание белка в урожае сои, гороха, люпина, люцерны и клевера (табл. III.16).

В опытах Киевской опытной станции животноводства процент белка в абсолютно сухом веществе сои, не обработанной нитрагином, равнялся 33,0%, а при нитрагинизации составил 40,7%.

Таблица III.16

**Влияние нитрагина на содержание протеина
в урожае бобовых культур**

Культура	% белка на сухое вещество		Сбор протеина, кг с 1 га	
	Контроль	Нитрагин	Контроль	Нитрагин
Соя (зерно)	30,4	37,5	374	548
	29,9	33,6	356	541
	34,1	38,9	689	1233
Горох (зерно)	20,1	21,8	537	687
	21,7	25,0	551	735
	22,8	24,7	365	436
Люпин (зеленая масса)	17,2	19,8	716	1020
	15,2	18,5	287	1032
	8,8	17,5	254	590
Люцерна (сено)	18,7	21,6	1070	2166
	18,8	19,7	797	1084
	9,5	15,6	669	1507
Клевер (сено)	15,6	16,3	623	711
	11,1	14,8	1321	1865
	15,1	15,8	1388	1700

В опытах Ш. Боннье [76] при бактеризации семян сои сбор сухого вещества увеличился в 2,72 раза, а содержание азота — в 1,62 раза по сравнению с контролем.

Интересные данные (табл. III.17) по изменению количества белка в сене клевера получены различными опытными станциями США [92].

Сено восьми различных бобовых культур, инокулированных клубеньковыми бактериями, сравнивали по со-

Таблица III.17

**Содержание белка в сене клевера при инокуляции семян
клубеньковыми бактериями**

Опытные станции штатов	Белок, %		Прибавка от инокуляции	
	Без инокуляции	С инокуляцией	%	кг белка на 1 т сена
Онтарио	15,6	17,8	2,2	20
Иллинойс	12,3	16,8	4,5	41
Миннесота	19,7	21,6	1,9	17
Небраска	9,1	15,1	6,0	54
Висконсин	23,8	26,8	3,0	27

держанию белка с сеном восьми различных небобовых трав; получили соответственно в 1 т 137,9 и 67,8 кг белка [81].

Приведенные материалы позволяют говорить о некоторой общей закономерности действия симбиотически связанного азота на бобовые растения — он больше, чем минеральный азот, способствует накоплению в растениях общего азота и белка.

Инокуляция бобовых растений активными культурами клубеньковых бактерий сопровождается накоплением в них витаминов. Об этом свидетельствуют работы многих исследователей [23, 55, 71, 78], что в еще большей степени доказывает важное значение приема бактеризации семян бобовых клубеньковыми бактериями, т. е. их нитрагинизации.

Симбиотически связанный азот, бесспорно, играет очень важную роль в уменьшении общего дефицита азота в земледелии, способствуя получению высоких урожаев бобовых культур, а также благодаря накоплению в почве растительных остатков бобовых, богатых азотом. Так, в растительных остатках небобовых культур содержится всего около 1% азота, в пожнивных остатках и корнях бобовых 1,5—3% азота. Кроме того, при разложении растительных остатков бобовых в почве накапливаются усвояемые формы азота (аммиачный и нитратный азот).

Количество корней и пожнивных остатков после выращивания бобовых, особенно, если растения инокулированы активными клубеньковыми бактериями, может быть весьма значительным. По данным нашего опыта, масса корней инокулированного люпина в пахотном слое почвы составляла 33,3 ц, у контрольных растений она была равна всего 20,8 ц с 1 га.

Особенно большое количество корневых и пожнивных остатков содержится в почве после многолетних бобовых. Как указывают Ц. Миллар и Л. Турк [88] на основании данных многих опытных учреждений Америки, на долю корней однолетних бобовых растений приходится 5—20% азота всего растения, на долю корней многолетних бобовых трав 24—35%.

По данным Б. Н. Макарова и Э. Я. Френкеля [36], масса корней клеверо-тимофеечной смеси перед первым укосом составляла 38 ц, а ко второму укосу она достигала уже 75 ц с 1 га.

В многолетних опытах Долгопрудной агрохимической станции изучали пласт трав (клеверище и клеверо-тимофеечный пласт) как источник азота для последующих культур севооборота. В среднем при урожае в сумме за 2 года около 70 ц сена клевера эффективность клеверища была равноценна эффективности внесения 40 кг минерального азота на 1 га. В годы высоких урожаев (140 ц за 2 года) эта цифра увеличилась до 80 кг минерального азота на 1 га. Клеверо-тимофеечный пласт во всех случаях давал значительно более низкие результаты, чем чистые посевы клевера при практически одинаковом урожае сена.

Интересные данные по балансу азота при выращивании ячменя и клевера на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве (гумус 1,6%) приводит П. И. Мавричев [35]. Методом сравнения с небобовой культурой (ячмень) ему удалось показать, что наибольшее количество азота остается в почве вместе с растительными остатками инокулированного клевера. Баланс азота при этом составил +91,8 кг с 1 га. После выращивания ячменя был зафиксирован отрицательный баланс азота в почве (табл. III.18).

Таблица III.18

Баланс азота в почве при выращивании ячменя и клевера
(полевой опыт)

Культура	Внесено азота с удобрениями и семенами, кг на 1 га	Использовано растениями из почвы, удобрений и семян, кг с 1 га	Осталось с растительными остатками в почве, кг на 1 га	Баланс азота в почве, кг на 1 га	Фиксировано азота из воздуха, %
Ячмень	16,0	80,0	11,8	-52,2	—
Клевер	1,2	80,0	138,9	+60,1	74,6
Клевер, инокулированный клубеньковыми бактериями	1,2	80,0	170,6	+91,8	79,3

Для более полного представления роли симбиотически связанного азота в обогащении им почвы нами был поставлен вегетационный опыт в песчаной культуре с использованием меченого азота. Семена бобовых культур инокулировали активными культурами клубеньковых бактерий (табл. III.19).

Таблица III.19

Содержание общего, минерального и биологически связанного азота в корнях бобовых растений

Вариант опыта	Культура	Количество азота в корнях, % от общего азота всего растения		
		общего	биологически связанного	минерального
0,2 нормы ^{15}N + инокуляция	Люцерна	38,2	36,8	1,4
	Клевер	21,5	20,4	1,1
	Люпин	16,7	15,3	1,4
	Горох	6,6	5,7	0,9
1,0 норма ^{15}N + инокуляция	Люцерна	39,2	29,0	10,2
	Клевер	22,7	17,7	4,9
	Люпин	17,8	8,8	8,9
	Горох	7,2	4,4	2,8

Данные табл. III.19 показывают, что наибольшее количество азота содержится в корнях люцерны и клевера, наименьшее — в корнях гороха. Следует особо подчеркнуть, что корни бобовых (даже при повышенных количествах минерального азота в песке) содержат в основном азот биологического происхождения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что улучшить азотный баланс песчаных почв, бедных азотом, можно за счет биологического азота, содержащегося в корнях и пожнивных остатках бобовых растений.

По неопубликованным данным А. В. Петербургского и В. Н. Кудеярова, количество биологически связанного азота, накопленного за счет корневых и пожнивных остатков, составило, исходя из имеющихся площадей бобовых культур в СССР, в 1969 г. — 195 тыс. т, а в 1980 г. достигнет 359 тыс. т. Эти цифры, однако, занижены. Авторы считают, что в корневых и пожнивных остатках многолетних бобовых трав содержится 30% азота от общего его количества в урожае. Между тем, по данным ряда исследователей [59], количество биологически связанного азота в корнях и пожнивных остатках значительно больше и равно 50—60%, следовательно, после культивирования бобовых в почве остаются гораздо более значительные количества азота.

Однолетние бобовые накапливают в корнях меньше азота, чем многолетние. Основное его количество сосредото-

точивается в надземных органах. Поэтому и влияние однолетних бобовых растений на азотный баланс почвы, а следовательно, и на урожай последующих культур будет зависеть от количества азота, возвращенного на поля в форме навоза. Однако, оценивая роль однолетних бобовых культур как предшественников, не следует забывать о неоднозначности их влияния. Нами было показано, что в то время как корни гороха содержали всего 6% азота от общего его количества в растении, в корнях люпина его количество было равно 17—18%. По данным В. Н. Михновского и др. [38], в корневых остатках кормовых бобов количество азота на 1 га достигало 29—35 ц, а у гороха и вики — всего 11 ц. Таким образом, роль однолетних бобовых в накоплении азота в почве и влияние их на урожай последующей культуры определяются видом растения.

Степень обогащения почвы азотом при посевах различных видов однолетних и многолетних бобовых зависит также и от почвенных условий, в частности от содержания в почве питательных веществ, особенно усвояемого фосфора, микроэлементов (молибдена, бора), от кислотности почвенного раствора и др. На роль почвенных условий в увеличении содержания азота в почве при выращивании бобовых культур обращают внимание многие исследователи. По данным Е. П. Трепачева [62], при благоприятных погодных условиях урожай озимой пшеницы в варианте с бобовым предшественником был на 15—20 ц больше, чем в варианте со злаковым (при урожае 18,9 ц с 1 га), и на 4—10 ц с 1 га при посеве после картофеля (при урожае 31,9 ц с 1 га). Увеличение урожая второй культуры — ячменя — также было максимальным — 2,8—5,1 ц с 1 га. На менее окультуренной почве при неблагоприятных погодных условиях и более низком урожае бобовых прибавки зерна озимой пшеницы и ячменя были на 3—5 ц с 1 га выше по бобовым предшественникам, чем по злаковым.

УСЛОВИЯ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ АКТИВНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ АЗОТФИКСИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ: БОБОВОЕ РАСТЕНИЕ — КЛУБЕНЬКОВЫЕ БАКТЕРИИ

Ценность бобовых культур, как это видно из предыдущего материала, определяется их симбиотическими взаимоотношениями с клубеньковыми бактериями. В свя-

зи с этим необходимо рассмотреть основные условия, благоприятствующие или, наоборот, препятствующие симбиозу этих двух компонентов азотфиксирующей системы.

Влияние минерального азота. Для своевременного более обильного образования клубеньков и более раннего начала биологической фиксации азота необходимо, чтобы в почве содержалось небольшое количество минерального азота (15—20 кг на 1 га). Это связано с тем, что в первоначальный период развития бобовых до образования клубеньков и размножения в них клубеньковых бактерий, до начала их активной деятельности в азоте нуждаются как растения, так и клубеньковые бактерии, получающие необходимый им азот у растения-хозяина. Небольшие количества минерального азота позволяют растению избежать азотного голодания в начале развития и стимулируют процесс образования клубеньков.

После образования клубеньков и активной азотфиксирующей деятельности клубеньковых бактерий растения (как это было показано в первом разделе главы) используют значительные количества биологически связанного азота. Однако только этот источник азота не может обеспечить получение максимально высокого урожая. А. Д. Калниньш [25] считает, что бобовые растения способны использовать больше азота, чем получают его от клубеньковых бактерий. В опытах Х. Аллоса и В. Бартоломью [72] с использованием меченого азота было установлено, что симбиотически связанный азот не удовлетворял полностью потребность растений в этом элементе питания. Клубеньковые бактерии давали растениям лишь 50—75% количества азота (в зависимости от вида растений), которое необходимо для получения максимального урожая. По потреблению минерального азота на первом месте была соя, затем люцерна, клевер и т. д. Об этом же говорит ряд опытов, проведенных научными учреждениями Географической сети. Получение наиболее высокого урожая обеспечивалось правильным сочетанием минерального и биологического азота (табл. III.20). Для различных видов бобовых культур оптимальные дозы минерального азота были разные. Как видно из приведенной таблицы, для получения наиболее высокого урожая люпина достаточно при нитрагнизации его семян внести в почву 20—30 кг азота на 1 га, для сои требуется уже 60—80 кг.

Эффективность нитрагинизации бобовых культур в сочетании с различными дозами минерального азота
(по данным полевых опытов научных учреждений Географической сети опытов, 1975 г.)

Учреждение	Культура	Без нитрагина				С нитрагином				Точность и достоверность	
		Конт. роль	Доза азота, кг			Конт. роль	Доза азота, кг				
			20-30	60-80	90		20-30	60-80	90		
										Р	НСР _{0,05}
Белорусский НИИ почвоведения Калининский СХИ БСХ академия	Люпин: зеленая масса зерно Люпин (зеленая масса)	543	600	678	406	722	759	683	588	5,9	108,8
		17,2	18,0	16,3	15,9	19,4	20,4	19,2	17,1	2,3	1,2
		486,5	506	504	486	519	531	503	499	1,9	27,6
Всероссийский НИИ соевых культур НИИ гидротехники и мелиорации	Соя (зерно) » »	311,4	334,7	373,7	397,6	370,6	421,8	437,2	406,0	1,8	21,3
		17,0	18,2	21,8	22,8	17,6	19,9	22,5	22,5	2,8	
		11,3	—	—	23,1	15,1	—	—	24,8		

Следует подчеркнуть, что минеральные азотные удобрения, вносимые под бобовые культуры в больших дозах, играют отрицательную роль.

При высокой концентрации минерального азота в почве резко уменьшается количество клубеньков на корнях растений, в оставшихся клубеньках уменьшается объем бактероидной ткани, в клетках которой осуществляют азотфиксирующую деятельность бактерии.

Наконец, подавляется синтез бактериями нитрогеназы — комплекса ферментов, ответственных за активирование молекулярного азота. В результате количество биологического азота, усваиваемого растением, сводится к минимуму.

По данным П. И. Мавричева [35], применение минерального азота в дозе 20 кг на 1 га повысило эффективность нитрагина, а увеличение дозы азота (40 и 80 кг) на фоне инокуляции оказало отрицательное действие на урожай клевера (табл. III.21) и содержание в нем азота. При малых дозах минерального азота в урожае клеверного сена содержалось 293,4 кг азота, при внесении 40 и

Влияние нитрагина и минерального азота
на урожайность клевера (СЗНИИСХ)

Вариант	Доза азота	1967 г.		1968 г.*		1969 г.		Сумма	
		ц с га	±	ц с га	±	ц с га	±	ц с га	±
Контроль	0	12,1	—	19,3	—	30,3	—	91,7	—
	20	12,6	0,5	18,8	—0,5	32,4	2,1	93,8	2,1
	40	12,7	0,6	52,1	2,8	32,3	2,5	97,6	5,9
	80	13,9	1,8	53,1	3,8	33,4	3,1	100,4	8,7
Нитрагин	0	12,5	0,4	56,5	7,2	39,1	8,8	108,1	16,4
	20	15,6	3,5	60,5	11,2	39,7	9,4	115,8	24,1
	40	13,3	1,2	58,8	9,5	35,1	4,8	107,2	15,5
	80	14,2	2,1	54,3	5,0	35,6	5,3	104,1	12,4
НСР _{0,95}	2,9			4,1		3,7			
P, %	6,0			2,6		3,6			

* Урожай сена за 2 укоса.

80 кг — соответственно 261,3 и 253,6 кг на 1 га.

На подавление симбиотической фиксации азота инокулированной люцерной на почве, богатой им, указывает П. Натман [89]. Он отмечает, что на почве, богатой азотом (0,68%), ни инокуляция люцерны активной культурой клубеньковых бактерий, ни внесение минеральных азотных удобрений не оказывали заметного влияния на урожай. Объясняя причины отсутствия разницы в урожае инокулированной и неинокулированной люцерны, автор пишет, что большое количество использованного азота неинокулированной люцерной обусловлено тем, что почва была богата азотом, который тормозил симбиотическую фиксацию.

При сочетании нитрагинизации бобовых культур с внесением в почву оптимальных невысоких доз минерального азота содержание белка в урожае значительно выше, чем при внесении под эти культуры большого количества минеральных азотных удобрений. В опытах Е. И. Ратнера и С. А. Самойловой [56] при подкормках сои минеральным азотом количество белка в бобах было меньшим, чем без подкормок.

В наших опытах, проведенных совместно с Л. М. Афанасьевой, урожай бобов инокулированной сои существенно не изменялся при внесении повышенных доз минерального азота, однако, заметно снижалось содержание белка в бобах: с 25,5% при малых дозах минерального азота (16,8 мг/кг) до 18,5% при увеличении дозы до 126 мг/кг. Аналогичные данные получены и для других бобовых культур (люпина, люцерны и т. д.).

Следовательно, чтобы создать наилучшие условия для симбиоза клубеньковых бактерий с растением-хозяином, надо сочетать прием нитрагинизации с внесением в почву оптимальных (невысоких) доз минерального азота.

Влияние фосфора. Обеспеченность почвы усвояемым фосфором — важнейший фактор хорошего произрастания бобовых растений, развития клубеньковых бактерий и высокой активности последних. При достаточном содержании в почве усвояемого фосфора усиливается развитие корневой системы растений, увеличивается количество корневых волосков, что способствует обильному образованию клубеньков. С другой стороны, клубеньковые бактерии, как и другие азотфиксаторы, могут развиваться только при достаточной обеспеченности их фосфором, который необходим им как для начальных этапов фиксации азота, так и для биосинтеза плазмы. В настоящее время трудно разграничить значение фосфора как элемента, необходимого для образования фосфорорганических соединений с высоким запасом энергии (аденозиндифосфат — АДФ и аденозинтрифосфат — АТФ), от его значения как элемента, входящего в состав нуклеиновых кислот, жизненно важных компонентов клетки. По данным А. Ключёва и Ван-Ниля [30], сопряжение процесса фосфорилирования с переносом водорода приводит к образованию вещества, способного благодаря своей богатой энергии (макроэргической) фосфатной связи вступать в реакции, в которых нефосфорилированное соединение участвовать не может. Наоборот, отщепление от фосфорилированных органических соединений фосфатной группы приводит к резкому уменьшению свободной энергии.

Как известно, процесс фиксации молекулярного азота требует огромного количества энергии для превращения свободного атмосферного азота в восстановленные азотсодержащие компоненты клетки. Эта энергия получается

благодаря образованию соединений с макроэргической фосфатной связью. Все сказанное выше свидетельствует о важной роли фосфора в процессе фиксации элементарного азота. Косвенным доказательством этого является высокое содержание фосфора в клубеньках (в 2,5 раза больше, чем в корнях), т. е. там, где и осуществляется процесс связывания молекулярного азота.

В отдельных работах указывается, что клубеньковые бактерии способны переводить фосфор из труднодоступных его форм в усвояемые и таким образом способствуют улучшению фосфорного питания бобовых. По данным В. П. Зарембы и С. М. Малинской [20], благодаря высокой фосфатазной активности клубеньковых бактерий люпина за счет мобилизации фосфора из почвы улучшается не только азотное, но и фосфорное питание растений. Подкормка минеральным азотом инокулированной сои способствовала лучшему усвоению растениями труднодоступных форм фосфора [56]. В клубеньках усиливалась метаболизация фосфора, в результате чего увеличилось количество энергии в виде макроэргического фосфора нуклеозидполифосфатов и, как следствие этого, активизировался процесс азотфиксации. Степень усвоения труднодоступных источников фосфора зависит, конечно, и от вида бобового растения. В опытах Е. П. Трепачева [62] инокуляция люпина клубеньковыми бактериями не влекла за собой усиления мобилизации растениями фосфора из почвы. По-видимому, корневые выделения люпина, имеющие кислую реакцию, способствовали переводу труднорастворимых соединений фосфора в подвижные его формы. Более широкие и всесторонние исследования в этом направлении помогут дать правильный ответ на вопрос об отношении различных видов инокулированных бобовых культур к мобилизации фосфора из труднодоступных его соединений. Пока что большой опубликованный материал показывает, что оптимальные симбиотические взаимоотношения между *Rhizobium* и бобовыми растениями складываются при обеспечении растений необходимым количеством доступного фосфора.

Об этом свидетельствуют и наши исследования, проведенные совместно с Л. М. Афанасьевой. В опытах с инокулированной соей при снабжении растений монофосфатом в них было определено P_2O_5 149,1 мг/сосуд, в варианте с фитином 92,2 мг, а с трехкальциевым фосфатом только 50,4 мг/сосуд. В соответствии с этими показа-

телями были и цифры усвоенного растениями атмосферного азота: 197,9, 63,4 и 18,3 мг/сосуд соответственно.

Результаты исследований многих авторов свидетельствуют о том, что снабжение растений не только фосфором, но и калием улучшает развитие растений и повышает урожай.

Влияние микроэлементов. Микроэлементы играют весьма существенную роль в процессе симбиотической фиксации азота. Некоторые из них (молибден, железо и кобальт) непосредственно участвуют в этом процессе.

Молибден входит в состав ферментов — дегидрогеназ, катализирующих образование активного водорода, необходимого для восстановления атмосферного азота. Молибден является также частью ферментного комплекса (нитрогеназы), с которым связывают процесс активирования молекулярного азота. Наконец, молибден, участвуя в фиксации азота во взаимодействии с другими металлами-микроэлементами — железом, медью и кобальтом [49], способствует увеличению содержания белков, хлорофилла и витаминов в тканях растений.

Для нормального протекания процесса симбиотической фиксации азота очень важно, чтобы синтезируемые аминокислоты, входящие в состав белка и содержащие фиксированный молекулярный азот, как можно скорее поступали из корневой системы в надземные части растений. В противном случае процесс фиксации азота будет заторможен.

Исследованиями Я. В. Пейве и Г. Я. Жизневской [51] показано, что молибден и железо ускоряют синтез аминокислот и включение их в состав белков. Таким образом, создаются более благоприятные условия для фиксации атмосферного азота. Этими исследованиями выявлен еще один аспект действия перечисленных микроэлементов в азотном метаболизме бобовых растений.

Было показано [56], что при достаточном количестве молибдена в подзолистых почвах в значительной мере могут быть преодолены такие неблагоприятные для растений факторы, как кислая реакция почвенного раствора и повышенное содержание алюминия.

Бор у принадлежит существенная роль в формировании клубеньков. Недостаток его в почве тормозит образование клубеньков и проводящих пучков в них, следствием чего является плохое развитие бактериоидной ткани. В водных культурах вообще при отсутствии бора невоз-

можно нормальное развитие бобовых [50]. В среде с бором хорошо развиваются бактериодная ткань, сосудистый пучок и меристематические клетки, наполненные крахмалом, который является энергетическим материалом для дыхания клубеньковых бактерий, фиксирующих атмосферный азот.

Железо играет важную биохимическую роль в процессе фиксации азота. Оно входит в состав ферментов — дегидрогеназ, в состав биологически важного соединения — леоглобина, с концентрацией которого в клубеньках связан уровень азотфиксации.

Кобальт [50], входя в состав кобамидных энзимов, активирует процессы биосинтеза белка в клубеньках и тем самым участвует в биосинтезе нитрогеназы.

Влияние кислотности и влажности почвы. Кислотность почвы, ее pH, является важнейшим фактором, определяющим не только наличие и количество клубеньковых бактерий, но и активность процесса симбиотической азотфиксации. В окультуренных почвах с нейтральной реакцией почвенного раствора клубеньковых бактерий значительно больше и активность бактерий в них обычно значительно выше, чем в кислых, неокультуренных. То, что кислые почвы являются неблагоприятной средой для существования большинства групп *Rhizobium*, доказано многочисленными исследователями [11, 26, 33, 42, 43, 54 и др.].

В опытах А. Д. Калниньша [27] известкование кислой, дерново-подзолистой почвы по фону минеральных удобрений увеличило численность *Rhizobium trifolii* по сравнению с контролем в 50 раз. Высокий титр *Rh. meliloti* (100 тыс./г) Ненсен [84] обнаружил в почве, где много лет возделывали люцерну (pH 6,0). В почвах с более низким значением pH количество клубеньковых бактерий не превышало 1 тыс./г. Высокая кислотность почвы не только отрицательно сказывается на *Rhizobium*, но и непосредственно влияет на растение, изменяя нормальную структуру корневых волосков. Они утолщаются, что препятствует проникновению сюда бактерий [43, 44, 69].

Среди различных групп клубеньковых бактерий есть более и менее чувствительные к кислой реакции среды. Однако кислотность, как экологический фактор, существенно влияет на активность спонтанных клубеньковых бактерий. И. М. Лазарева [33] выделила клубеньковые бактерии клевера из клубеньков растений с трех участков

кислой, дерново-подзолистой почвы (рН 4,8—5,0). На I участке в почву была внесена известь и органо-минеральная смесь, на II участке — известь и минеральные удобрения и на III — навоз и минеральные удобрения. Наиболее активными оказались клубеньковые бактерии с I участка и совершенно неактивными — бактерии с III участка.

По наблюдениям Э. Д. Мульдера с соавторами [43], на корнях клевера красного, выросшего на кислой почве, было много желто-белых клубеньков, образованных спонтанными клубеньковыми бактериями, потерявшими свойство активности. Применение, как указывают авторы, связанного азота способствовало большей устойчивости растений к повышенной кислотности почв, ибо в этих условиях они не зависели от биологически связанного азота.

При изучении влияния рН почвы на *Rhizobium* нельзя не учитывать и роль растения, так как, проникнув в корни растений, бактерии уже испытывают влияние рН тканей корня. По данным Б. Н. Цюрупы, рН экстракта корней бобовых растений оптимален для развития клубеньковых бактерий [42]. Э. Д. Мульдер с соавторами [43] вносили активные клубеньковые бактерии в кислые почвы при посеве бобовых растений и наблюдали нормальное образование клубеньков и активную фиксацию азота. Е. Н. Мишустин [41] считает, что применение нитрагина на кислых почвах достаточно эффективно, так как местные клубеньковые бактерии в этих почвах большей частью неактивны, а вносимые бактерии, находясь в тканях клубенька, активно фиксируют азот.

Таким образом, следует всегда помнить об экологической роли растения, вносящего свои коррективы в действие такого фактора, как кислотность почвы, на вирулентность и активность клубеньковых бактерий.

На распространение клубеньковых бактерий и их взаимоотношения с бобовыми растениями существенно влияет влажность почвы. Клубеньковые бактерии могут существовать и даже размножаться при влажности почвы 15—16%. Однако наилучшие условия для их жизнедеятельности создаются при более высокой влажности.

В вегетационных опытах М. В. Федорова и В. П. Подъяпольской [67] наибольшее количество клубеньков и наивысший урожай фасоли и гороха были зафиксированы при влажности песка 80%.

Обследование распространения клубеньковых бактерий гороха, проведенное Б. А. Кишиневским в Кустанайской области [31], показало, что причиной низкой естественной инокуляции гороха на темно-каштановых почвах была недостаточная их увлажненность.

Полив почв в засушливой зоне создает благоприятные условия для образования клубеньков и эффективной симбиотической азотфиксации. Л. С. Завертайло [17] провел обследование люцерны на поливных и неполивных сероземах Алма-Атинской области. На неполивных почвах в среднем на одном растении насчитывалось до 4 клубеньков; растений без клубеньков было 45%, на поливных почвах соответственно 18—25 клубеньков и только 1% растений без клубеньков. Интересны данные Р. Свеби и Д. Нупан [97]. В 1943—1944 гг. ими была проведена инокуляция фасоли (*Canning beans*) — новой культуры для Австралии, не имеющей там своих специфических клубеньковых бактерий. Инокуляция не дала результатов, клубеньки на растениях не образовались. Эта неудача была обусловлена неблагоприятными погодными условиями: в 1943 г. из-за сильных дождей почва заплывала, вследствие чего создались анаэробные условия; 1944 г. был, напротив, засушливым. В 1945 году, нормальном по влажности, хорошее образование клубеньков наблюдали даже на тех участках, где питрагин вносили в 1943 и 1944 гг. Следовательно, клубеньковые бактерии сохранились в сухой почве, но были авирулентны. В условиях нормальной влажности вирулентность бактерий проявилась в полной мере.

Возможность и степень инокуляции в условиях дефицита влаги в почве неодинаковы для различных бобовых растений. Так, например, у эспарцета даже при очень слабом увлажнении почвы на корнях образуется много клубеньков, а у гороха и донника очень мало или совсем не образуется [31, 41]. Указанные факты говорят о том, что и особенности самих растений (видовая специфичность, большая или меньшая устойчивость к засухе, скорость прорастания семян) могут иметь значение для инокуляции в условиях недостаточной влажности.

Подводя итог сказанному выше, необходимо подчеркнуть большое значение влажности почвы для распространения *Rhizobium*, их численности и вирулентности, что указывает на весьма существенную роль этого фактора при определении роли почвы как экологической среды клубеньковых бактерий.

Указатель литературы

1. Асеева К. Б. и др. Некоторые кинетические характеристики и аминокислотный состав частично очищенной нитрогеназы от бактероидов люпина. [Краткие тезисы докладов на Всесоюзной конференции по механизму биологической фиксации молекулярного азота]. М., 1971, с. 13—14.
2. Бергерсен Ф. Азотфиксация в корневых клубеньках бобовых. [IX Международный конгресс по микробиологии (симпозиумы)]. М., «Организ. комитет конгресса», 1966, с. 69—73.
3. Бах А. П. Собрание трудов по химии и биохимии. М., Изд-во АН СССР, 1950.
4. Возняковская Ю. М. Значение фиксации азота в почве несимбиотическими микроорганизмами. — «Агробиология», 1959, № 1, с. 37—48.
5. Виноградский С. Н. Микробиология почвы. М., Изд-во АН СССР, 1950.
6. Вольпин М. Е., Шур В. Б. Проблемы химической фиксации молекулярного азота. — «Вестник АН СССР», 1965, № 1, с. 51—58.
7. Волоскова М. М. Кето- и альдегидокислоты активных и малоактивных штаммов *Rhizobium*. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Кишинев, 1970, 19 с.
8. Винсент Д. М. Инокуляция семян бобовых растений: задача из области прикладной биологии. [IX Международный конгресс по микробиологии (симпозиумы)]. М., «Организ. комитет конгресса», 1966, с. 56—57.
9. Доросинский Л. М., Афанасьева Л. М. Размеры симбиотической фиксации азота бобовыми культурами и методы ее определения. — «Изв. АН СССР, Сер. биол.», 1972, № 3, с. 355—361.
10. Доросинский Л. М., Лазарева Н. М., Афанасьева Л. М. Размеры биологической фиксации азота люцерной. — «Агрохимия», 1969, № 8, с. 51—63.
11. Доросинский Л. М. Клубеньковые бактерии и нитрагин. Л., «Колос», 1970.
12. Доросинский Л. М., Лазарева Н. М., Емцев В. Т. Роль клубеньковых бактерий в азотном питании бобовых растений. — «Микробиология», 1962, т. 31, № 6, с. 1061—1066.
13. Доросинский Л. М., Афанасьева Л. М., Рубинштейн Г. В. Симбиотическая фиксация атмосферного азота инокулированной соей. — «Агрохимия», 1973, № 8, с. 84—88.
14. Доросинский Л. М. Взаимоотношения клубеньковых бактерий с бобовыми растениями. Автореф. дис. на соиск. учен. степени д-ра биол. наук. Л., 1967. 52 с.
15. Емцев В. Т. Почвенные анаэробы рода *Clostridium*. Автореф. дис. на соиск. учен. степени д-ра биол. наук. М., 1971. 56 с.
16. Жадкова Н. Г. и др. Использование спектрально-изотопного метода в агрохимических исследованиях. — «Агрохимия», 1966, № 1, с. 130—140.
17. Завертайло Л. С. Повышение урожайности люцерны при ее нитрагинизации на орошаемых почвах Алма-Атинской области. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Одесса, 1967. 18 с.

18. Захарова С. Н. Фиксация азота культурами *Clostridium pasteurianum*. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. М., 1971. 16 с.
19. Захарченко И. Г. Роль биологического азота в балансе питательных веществ в почве. — В кн.: Новое в изучении биологической фиксации азота. М., «Наука», 1971, с. 139—145.
20. Заремба В. П., Малинская С. М. Об участии клубеньковых бактерий в фосфорном питании бобовых и небобовых растений. — В кн.: Микроорганизмы в сельском хозяйстве. Изд-во МГУ, 1963, с. 61—66.
21. Израильский В. П., Рыжкова А. С. Применение серологического метода исследования для отбора наиболее конкурентоспособных штаммов клубеньковых бактерий в лабораторных условиях. — «Изв. АН СССР», 1967, № 4, 568—574.
22. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. М., Изд-во АН СССР, 1949.
23. Красильников Н. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. М., Изд-во АН СССР, 1958.
24. Калниньш А. Д. Серологические особенности клубеньковых бактерий клевера. — В кн.: Микроорганизмы и растения. Изд-во АН ЛатвССР, 1964, № 2, с. 3—21.
25. Калниньш А. Д. Эффективность нитрагинизации различных видов клевера активными расами клубеньковых бактерий. — В кн.: Микроорганизмы и растения. Изд-во АН ЛатвССР, 1963, с. 3—12.
26. Калниньш А. Д. Распространение и активность клубеньковых бактерий клевера в почвах Латвийской ССР. — В кн.: Научная сессия по вопросам биологии и сельского хозяйства. Изд-во АН ЛатвССР, 1951, с. 54—67.
27. Калниньш А. Д. Активность и вирулентность клубеньковых бактерий клевера. — «Труды Ин-та микробиологии АН ЛатвССР», 1953, № 2, с. 167—181.
28. Кротович В. Л. и др. Кетокислоты в обмене веществ азотфиксирующих микроорганизмов. [IX Международный микробиологический конгресс (симпозиумы)]. М., «Организ. комитет конгресса», 1966, с. 90—98.
29. Кротович В. Л. Важнейшие проблемы биосинтеза аминокислот и амидов у растений. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1965, № 5, с. 647—665.
30. Ключвер А., Ван-Ниль К. Вклад микробов в биологию. М., ИЛ, 1959.
31. Кишиневский Б. А. Клубеньковые бактерии и их влияние на продуктивность бобовых культур в условиях Кустанайской области. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Л., 1969. 30 с.
32. Лазарева Н. М. Изменение активности клубеньковых бактерий в зависимости от возраста и фазы вегетации бобового растения. — «Труды ВНИИ с.-х. микробиологии», 1951, т. 12, с. 103—112.
33. Лазарева Н. М. Факторы, влияющие на активность клубеньковых бактерий. — В кн.: Бактериальные удобрения. Л.—М., Сельхозиздат, 1961, с. 120—121.
34. Любимов В. И. Биохимия фиксации молекулярного азота. М., «Наука», 1969.

35. Мавричев П. И. Биологическая фиксация атмосферного азота клевером на дерново-подзолистой почве северо-западной зоны. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Таллин, 1970. 23 с.
36. Макаров Б. Н., Френкель Э. Я. Газообмен между почвой и атмосферой на различных угодьях дерново-подзолистых почв и влияние углубления пахотного слоя на этот процесс. — «Труды Почв. ин-та им. В. В. Докучаева», 1956, т. 49, с. 152—180.
37. Мальцева Н. Н. Фиксация молекулярного азота различными типами почв и роль олигонитрофилов в этом процессе. [Краткие тезисы докладов на Всесоюзной конференции по механизму биологической фиксации молекулярного азота]. М., «Наука», 1971, с. 32—33.
38. Михновский В. Н. и др. Азотный баланс в дерново-подзолистой почве под различными сельскохозяйственными культурами. — В кн.: Баланс азота в дерново-подзолистых почвах. М., «Наука», 1966, с. 38—88.
39. Мишустин Е. Н., Петербургский А. В. Технический и биологический азот в земледелии СССР. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1965, № 2, с. 201—220.
40. Мишустин Е. Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия. М., «Наука», 1972.
41. Мишустин Е. Н. Биологический азот в земледелии и перспективы использования азотфиксирующих сине-зеленых водорослей в земледелии. М., «Науч. совет по физиологии и биохимии микроорганизмов АН СССР», 1964, с. 1—47.
42. Мишустин Е. Н., Шильникова В. К. Биологическая фиксация атмосферного азота. М., «Наука», 1968.
43. Мульдер Э. Д. и др. Влияние pH на симбиотическую фиксацию азота некоторыми бобовыми растениями. [IX Международный конгресс по микробиологии (симпозиумы)]. М., «Организ. комитет конгресса», 1966, с. 98—117.
44. Нестерова И. М. Влияние кислотности среды на клубеньковые бактерии клевера в условиях чистой культуры и симбиоза. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. М., 1970. 15 с.
45. Натман П. С. Генетические и физиологические факторы, влияющие на образование клубеньков у клевера и на фиксацию азота. [IX Международный конгресс по микробиологии (симпозиумы)]. М., «Организ. комитет конгресса», 1966, с. 78—90.
46. Никитин Д. И., Васильева Л. В., Лохмачева Р. А. Новые и редкие формы почвенных микроорганизмов. М., «Наука», 1966.
47. Пейве Я. В. Участие микроэлементов в азотном обмене растений и фиксация молекулярного азота в клубеньках бобовых растений. — В кн.: Микроорганизмы и продуктивность растений. Рига, «Зинатне», 1965, с. 11—25.
48. Пейве Я. В. и др. Локализация дегидрогеназ в тканях клубеньков бобовых растений. — «ДАН СССР», 1968, т. 179, № 6, с. 1471—1472.
49. Пейве Я. В. Биохимия микроэлементов и проблемы азотного питания растений. — «Вестник АН СССР», 1965, № 1, с. 42—50.
50. Пейве Я. В. Роль микроэлементов в симбиотической азотфиксации. [Краткие тезисы докладов на Всесоюзной конференции по

- механизму биологической фиксации молекулярного азота]. М., «Наука», 1971, с. 16—17.
51. Пейве Я. В., Жизневская Г. Я. Гемоглобин в клубеньках бобовых культур, микроэлементы и фиксация молекулярного азота. — *Изв. АН СССР. Сер. биол.*, 1966, № 5, с. 644—652.
 52. Пошон Ж., Баржак Г. де. Почвенная микробиология. М., ИЛ, 1960.
 53. Прянишников Д. П. Азот в жизни растений и в земледелии СССР. М., Сельхозгиз, 1945, с. 171—182.
 54. Пярсим Э. Клубеньковые бактерии бобовых растений в Эстонской ССР. Таллин, «Валгус», 1969.
 55. Ратнер Е. И. Молибден и проблема биологического азота в земледелии. — *Изв. АН СССР. Сер. биол.*, 1964, № 2, с. 223—244.
 56. Ратнер Е. И., Самойлова С. А. Минеральный азот и азотфиксация у сои в связи с ростом клубеньков и обменом в них фосфора. — *Агрохимия*, 1971, № 9, с. 3—10.
 57. Романов В. И. Биохимическая характеристика клубеньковых бактерий в связи с их эффективностью. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. М., 1970, с. 30.
 58. Рахно П. Х., Тохвер В. И. О возможности усвоения молекулярного азота при температуре 50° отдельными почвенными бактериями. — *ДАН СССР*, 1957, т. 112, № 1, с. 144—152.
 59. Сапожников Н. А., Корнилов М. Ф. Научные основы системы удобрения в Нечерноземной полосе. Л., «Колос», 1969.
 60. Трепачев Е. П. Агрохимические аспекты проблемы биологического азота в земледелии. Автореф. дис. на соиск. учен. степени д-ра с.-х. наук. М., 1971. 42 с.
 61. Трепачев Е. П., Атрашкова Н. А., Хабарова А. И. О методах определения и размерах фиксации атмосферного азота бобовыми растениями. — В кн.: Биологический азот в земледелии нечерноземной зоны СССР. М., «Колос», 1970, с. 27—75.
 62. Трепачев Е. П. Больше удобрений зернобобовым. — *Зернобобовые культуры*, 1964, № 5, с. 14—16.
 63. Турчин Ф. В. Роль минерального и биологического азота в земледелии СССР. — *Почвоведение*, 1956, № 6, с. 15—29.
 64. Турчин Ф. В. и др. Изучение биологической фиксации атмосферного азота в клубеньках бобовых растений с применением изотопа ^{15}N . — В кн.: Физиология растений, агрохимия, почвоведение. М., «Колос», 1958, с. 148—157.
 65. Турчин Ф. В. Новые данные о механизме фиксации азота (атмосферного) в клубеньках бобовых растений. — *Почвоведение*, 1959, № 10, с. 14—17.
 66. Федоров М. В., Калининская Т. А. Азотфиксирующая активность смешанных культур олигонитрофильных микроорганизмов. — *Микробиология*, 1959, т. 28, с. 343—351.
 67. Федоров М. В., Подъяпольская В. П. Влияние условий выращивания бобовых растений на образование клубеньков и урожай растений. — *ДАН СССР*, т. 77, № 1, с. 121—124.
 68. Шильникова В. К. Анатомия и закономерности развития клубеньковых бактерий в симбиозе с растением и в условиях искусственной питательной среды. Автореф. дис. на соиск. учен. степени д-ра биол. наук. М., 1970. 24 с.
 69. Шильов А. Е. Химическое моделирование биологической фиксации азота. [Краткие тезисы докладов на Всесоюзной конферен-

ции по механизму биологической фиксации молекулярного азота]. М., 1971, с. 3—4.

70. Шемаханова Н. М., Бунько И. П. Витамины группы В в клубеньках некоторых бобовых растений. — В кн.: Биологический азот и его роль в земледелии. М., «Наука», 1967, с. 96—108.
71. Штина Э. А. Распространение азотфиксирующих сине-зеленых водорослей в почвах СССР и их роль в накоплении азота. — В кн.: Новое в изучении биологической фиксации азота. М., «Наука», с. 183—190.
72. Allos H. F., Bartholomew W. Replacement of symbiotic fixation by available nitrogen. — «Soil Sci.», 1959, vol. 87, p. 61-66.
73. Bergersen F. J., Turner G. L. Nitrogen fixation by the bacteroid fraction of breis of soybean root nodules. — «Biochem. et Biophys. Acta», 1967, vol. 141, No. 3, p. 507-517.
74. Burris R. H., Wilson P. W. Biological nitrogen fixation. — «Annual Rev. Biochem.», 1945, vol. 14, p. 685-708.
75. Burris R. H. Measurement of biological N_2 fixation. — «Meeting of IBP on Microbial Production», May, 1969, p. 1-9.
76. Bonnier Ch. Relation entre l'efficacite et specificite des souches de Rhizobium. — «Ann. Inst. Pasteur», 1962, vol. 103, No. 3, p. 403-409.
77. Burton M. O., Lochead A. G. Studies on the production of vitamin B_{12} active substances by microorganisms. — Canad. J. Bot., 1951, vol. 29, No. 4, p. 352-359.
78. Erdman L. W. The future of preinoculated seed. — «Seed World», 1961, vol. 88, No. 5, p. 12-17.
79. Erdman L. W., Means U. M. Strains of Rhizobium effective on Trifolium ambiguum. — Agron. J., 1956, vol. 48, No. 8, p. 341-343.
80. Farmers, bulletin No. 2003. — U. S. Department of Agriculture, 1967, p. 1-10.
81. Fred E. B., Baldwin J. L., McCoy E. Root nodule bacteria and leguminous plants. — Madison, Univ. of Wisconsin, 1932.
82. Gracham P. H. The application of computer techniques to the taxonomy of the root nodule bacteria. — J. Gener. Microbiol., 1964, vol. 35, p. 511-547.
83. Ham G. E., Cardwell V. B., Johnson H. W. Evaluation of Rhizobium japonicum inoculants in soils containing naturalized populations of Rhizobia. — Agron. J., 1971, vol. 63, No. 2, p. 301-303.
84. Jensen H. L. Lucern og Kloverzodknoldbacteriernes forrekomst idanske landbrugsjorde. — «Tidsskr. planteavl.», 1969, vol. 73, No. 1, p. 61-72.
85. Johnson H. W., Means U. M. Serological groups of Rhizobium japonicum recovered from nodules of soybeans (Glycine max) in field soils. — Agron. J., 1963, vol. 55, No. 3, p. 269-271.
86. Jones D. G. Symbiotic variation of Rhizobium trifolii with S. 106 Nomark white clover (Trifolium repens L.). — J. Sci. Food and Agric., 1963, vol. 14, No. 10, p. 740-743.
87. Meiklejohn Jane. New nitrogen fixers from Rhodesian soils. — «9th Intern. Congress Soil Sciens.», Frans, Adelaide, 1968, vol. 2, p. 141-149.

88. Millar C. E., Turk L. M. Fundamentals of Soil Sciens. New York—London, 1954.
89. Nutman P. S. Report for 1969. Part I. — «Harpenden», 1970, p. 30-38.
90. Roughley R. J. The preparation and use of legume seed inoculants. — «Plant and Soil», 1970, vol. 32, No. 3, p. 675-682.
91. Roy C., Dauson G. Potential for increasing protein production by legume inoculation. — «Plant and Soil», 1970, vol. 32, No. 3, p. 655-673.
92. Stewart W. D. P. Biological and ecological aspects of nitrogen fixation by free—living microorganisms. — «Proc. Roy. Soc.», 1969, vol. 172, No. 1029, p. 367-388.
93. Snyk B., Ettlinger L. Recherches sur quelques especes d'Arthrobacter fixatrices d'azote isolees des roches Karstiques alpines. — «Ann. Inst. Pasteur», 1963, vol. 105, No. 2, p. 341-348.
94. Stewart W. D. P. The role of biological agents as providers of combined nitrogen is discussed. — «Sciens», 1967, vol. 158, No. 3807, p. 1426-1432.
95. Tesic^v Z., Todorovic^v M. Upotreba posebnih oblica klasificaciju kvrzičnih bakterija. — «Acta biologica Jugoslavica», 1970, vol. 7, No. 2, p. 263-281.
96. Thornton H. G. Effective and ineffective strains of legume nodule bacteria. — «Nature», 1945, No. 156, p. 645-655.
97. Swaby R. J., Noonan J. B. Nodulation of field (canning) beans. — In: The Agricult. Gazett of New South Wales, 1946, vol. 57, part 10, p. 11-15.

Глава IV. АНАЭРОБНАЯ АЗОТФИКСИРУЮЩАЯ ФЛОРА РАЗЛИЧНЫХ ПОЧВЕННЫХ ТИПОВ

Данные о повсеместном обнаружении анаэробного азотфиксирующего микроорганизма *Clostridium pasteurianum* в почвах различных типов и других субстратах способствовали утверждению в общей и почвенной микробиологии представления о том, что этот микроорганизм является космополитом, распространение которого не лимитируется географическими условиями.

Между тем согласно исследованиям Е. Н. Мишустина [11, 12, 13, 14] отдельные почвенные типы, являясь географически зависимыми образованиями, имеют определенные виды доминантных форм микроорганизмов.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ *CLOSTRIDIUM* В ПОЧВАХ СОВЕТСКОГО СОЮЗА

Изучение распространения *Cl. pasteurianum* и *Cl. butyricum* в различных типах почв широтных почвенных зон СССР показало, что наибольшее количество этих бактерий содержат дерново-подзолистые почвы, наименьшее — каштановые и сероземы, а также красноземы (рис. IV.1). Так, в дерново-подзолистых почвах количество маслянокислых бактерий на 1 г почвы исчисляется сотнями тысяч, миллионами — в каштановых и особенно в сероземах — сотнями и тысячами клеток на 1 г почвы. Выявленная тенденция уменьшения численности маслянокислых бактерий с севера на юг подтверждается при изучении видового состава этих организмов в разных типах почв СССР. *Cl. pasteurianum* и *Cl. butyricum* значительно больше в подзолах Мурманской области и дерново-подзолистых почвах Архангельской, а также Московской областей, чем в черноземах и особенно в кашта-

новых почвах и сероземах. Это относится главным образом к целинным почвам.

Количество ацетонобутиловых бактерий *Cl. acetobutylicum* также увеличивается от севера к югу в целинных, но главным образом в окультуренных почвах. В каштановых почвах и сероземах ацетонобутиловые бактерии преобладают над маслянокислыми. В подзолистых и дерново-подзолистых почвах картина обратная.

Исследование динамики развития маслянокислых и ацетонобутиловых бактерий (апрель — октябрь 1965 г.) в целинной дерново-подзолистой почве (ТСХА, Москва) и в целинном типичном сероземе (Ак-Кавак, Ташкентская область) явилось яркой иллюстрацией выявленной тенденции изменения количества и видового состава анаэробов рода *Clostridium* в зависимости от почвенно-климатических условий (рис. IV.2—5).

Таким образом, изучение влияния широтной зональности почв на анаэробные бактерии рода *Clostridium* показало, что количественный и качественный составы популяций этих организмов определяются почвенно-климатическими условиями данного географического района.

Установленная для широтных зон почв закономерность — уменьшение количества маслянокислых бактерий и их отдельных видов с севера на юг и количественное преобладание ацетонобутиловых в южных почвах — довольно четко прослеживается и в условиях вертикальной зональности (целинные почвы Заилийского Алатау, Западный Тянь-Шань).

В почвах горно-лесной зоны количество маслянокислых бактерий достигает значительных величин и умень-

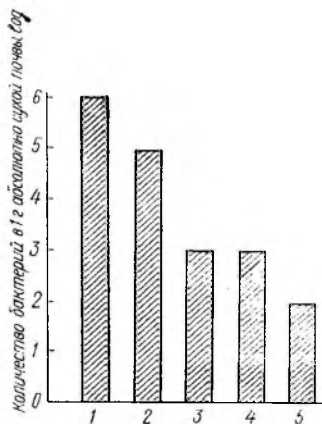


Рис. IV.1. Количество маслянокислых бактерий в различных целинных почвах СССР:

1 — дерново-подзолистая; 2 — чернозем; 3 — каштановая; 4 — серозем; 5 — краснозем

шается по мере перехода от почв высокогорных к почвам подножия. Наименьшее число этих организмов обнаружено в сероземах. Количество ацетонабутиловых бактерий возрастает от высокогорных почв к черноземам и каштановым почвам. Например, количество маслянокислых анаэробов *Cl. pasteurianum* в горно-лесной почве (под ельником) равнялось 500 тыс. клеток, в чернозе-

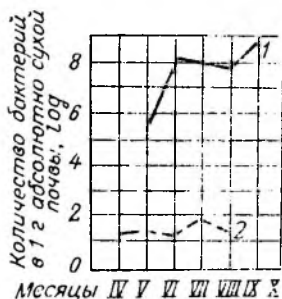


Рис. IV.2. Динамика численности маслянокислых бактерий в целинных почвах:

1—дерново-подзолистая; 2—сероземная

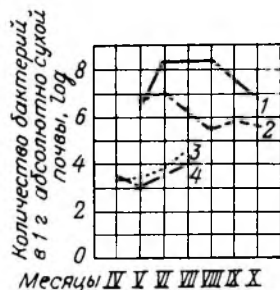


Рис. IV.3. Динамика численности отдельных видов маслянокислых бактерий (1, 4—*Cl. pasteurianum*, 2, 3—*Cl. butyricum*) в целинных почвах:

1, 2—дерново-подзолистая; 3, 4—сероземная

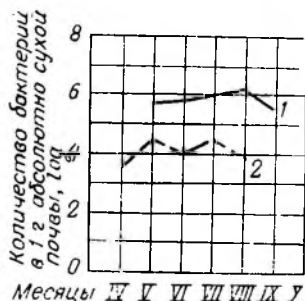


Рис. IV.4. Динамика численности маслянокислых бактерий в окультуренных почвах:

1—дерново-подзолистая; 2—сероземная

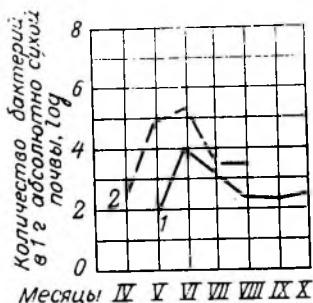


Рис. IV.5. Динамика численности ацетонабутиловых бактерий в окультуренных почвах:

1—дерново-подзолистая; 2—сероземная

ме — 130 тыс., а в сероземе — 0,25 тыс. на 1 г абсолютно сухой почвы; ацетонабутиловых бактерий *Cl. acetobutylicum* в горно-лесной почве (под ельником) 9 тыс., в черноземе — 25 тыс. на 1 г абсолютно сухой почвы.

Таким образом, типы широтных и вертикальных почвенных зон СССР отличаются по количеству и видовому составу анаэробных бактерий рода *Clostridium* [6].

Возможной причиной отмеченных выше тенденций является неодинаковое содержание в различных типах почв подвижных органических соединений. Это подтверждается модельными опытами по изучению смены анаэробной микрофлоры, происходящей при разложении растительных остатков и ряда органических веществ [1]. На первых этапах распада органических веществ размножаются преимущественно маслянокислые бактерии, которые затем сменяются ацетонабутиловыми. Пектинолитические бактерии, по-видимому, занимают промежуточное положение; они накапливаются в значительном количестве после маслянокислых бактерий. Этим, по-видимому, объясняется преобладание маслянокислых бактерий в дерново-подзолистых почвах и наличие незначительных их количеств в каштановых почвах и сероземах. В дерново-подзолистых почвах процесс минерализации заторможен, поэтому здесь интенсивно развиваются маслянокислые бактерии, для которых эти условия наиболее благоприятны. В то же время быстрая смена этапов распада органических веществ в зоне каштановых и сероземных почв делает невозможным существование здесь маслянокислых бактерий. Большая напряженность процессов минерализации органических остатков в южных почвах обеспечивает преобладание ацетонабутиловых бактерий.

Пектинолитические анаэробы в наибольшем количестве обнаруживаются в черноземных и дерново-подзолистых почвах. В каштановых и сероземных почвах их количество уменьшается [3]. Выявленная тенденция характерна и для группы истинных маслянокислых бактерий (*Cl. pasteurianum*, *Cl. butyricum*). Таким образом, общие закономерности эколого-географического распространения пектинолитических анаэробов и маслянокислых бактерий в общих чертах сходны. Зоной оптимального роста маслянокислых азотфиксаторов являются дерново-подзолистые почвы (таежно-лесная зона), а ацетонабутиловых — каштановые почвы и сероземы (почвы сухих степей и предгорно-пустынных степей сухих субтропиков).

ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННО-КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ МОРФОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ CLOSTRIDIUM

Морфологические и культуральные характеристики Clostridium. Многолетние исследования Е. Н. Мишустина, изучавшего эколого-географическую изменчивость почвенных бактерий, показали, что у почвенного микроорганизма *Bacillus mycoides* имеются резко очерченные географические расы, отличающиеся размерами клеток, структурой колоний и рядом физиологических признаков. Им же отмечена изменчивость под влиянием климата у разнообразных бактерий.

Сравнительное изучение морфологических характеристик различных штаммов *Clostridium* показало, что штаммы *Cl. pasteurianum* и *Cl. butyricum*, выделенные из разных типов почв, различаются между собой по размерам и форме клеток и ряду других морфологических признаков. У *Cl. acetobutylicum* и *Cl. butyricum* отмечены незначительные изменения.

Изучение особенностей развития различных культур *Cl. acetobutylicum*, *Cl. butyricum* и *Cl. butylicum* на жидкой картофельно-морковной среде показывает, что скорость роста всех видов анаэробов увеличивается (лаг-фаза укорачивается) по мере перехода от высокогорных почв к почвам предгорий и от дерново-подзолистых почв к чернозему, затем каштановым почвам и серозему. Уменьшение продолжительности лаг-фазы связано, по-видимому, с увеличением биохимической активности этих культур в почвах предгорий Кавказа и южных почвах (каштановых и сероземах).

Физиологические особенности культур Clostridium. Известно [9], что способность бактерий использовать различные источники углерода важна для определения их возможностей развиваться в тех или иных экологических условиях.

Сравнительное исследование потребления углеродсодержащих соединений штаммами *Cl. pasteurianum*, *Cl. acetobutylicum* показало, что штаммы *Cl. pasteurianum*, выделенные из горно-лугового чернозема и лесного бурозема, используют глюкозу, галактозу, мальтозу, рафинозу, декстрин, инулин, глицерин, адонит, лактат кальция (с уксуснокислым натрием) и пировиноградную кислоту. Это характерно для типичных штаммов *Cl. pasteu-*

gianum. В то же время штаммы *Cl. pasteurianum*, выделенные из лесной коричневой и каштановой почв, приобрели способность сбраживать лактозу, крахмал, маннит и потеряли способность сбраживать глицерин. Таким образом, эти бактерии стали близки по своим ферментативным свойствам к *Cl. acetobutylicum*.

Изучение использования отдельными культурами *Clostridium* гуминовых и фульвокислот показало, что в этих культурах нет даже следов летучих кислот и спиртов (метод газовой хроматографии), хотя некоторые из них и вызывают очень слабое брожение сред с указанными соединениями. Это дает нам основание сделать вывод о том, что изученные штаммы *Cl. pasteurianum*, *Cl. acetobutylicum*, *Cl. butyricum*, *Cl. butylicum* не используют гуминовые и фульвокислоты.

Итак, потребность в источниках углерода у анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium*, выделенных из разных типов почв, неодинакова. Причем у маслянокислых бактерий (*Cl. pasteurianum*) изменение потребностей в тех или иных источниках углерода происходит в значительно большей степени, чем у ацетонобутиловых бактерий. Последнее, по-видимому, можно объяснить тем, что развитие маслянокислых бактерий в почве связано с наличием относительно подвижных органических веществ (простые и сложные углеводы и растворимые в воде соединения), которые потребляются этими микроорганизмами в течение короткого промежутка времени. Это обуславливает пластичность их ферментативного аппарата, его легкую адаптацию к использованию новых источников углерода.

Что касается ацетонобутиловых бактерий, то они, по-видимому, связаны с более стабильной частью органических веществ почвы, и поэтому их ферментативный аппарат более устойчив при смене внешних условий.

Изучение штаммов *Clostridium*, выделенных из почв различных вертикальных зон, показывает, что по мере перехода от высокогорных районов к подножию оптимальная, максимальная и минимальная температуры развития бактерий заметно повышаются. Так, температурный оптимум для штаммов *Cl. pasteurianum*, выделенных из горно-луговой почвы и горного чернозема, составлял примерно 23—24°C, из бурозема и лесной коричневой почвы — около 27°C, из полевого чернозема и каштановой почвы — около 27—29°C, а из краснозема примерно

29—31°C. У *Cl. acetobutylicum* температурный оптимум также возрастал по мере перехода от высокогорий к предгорьям. Так, у штаммов из горно-луговой почвы он равнялся 35°C, из краснозема — около 39—41°C.

Интересно отметить, что минимальная, оптимальная и максимальная температурные точки развития штаммов *Cl. pasteurianum* из каштановой почвы и краснозема и штаммов *Cl. acetobutylicum* из горно-луговой почвы близки и равны 15°, 12—15°, 30 и 35°, 42—45° и 40—42°C соответственно.

Существует зависимость между среднегодовой температурой воздуха и кардинальными температурами развития анаэробных азотфиксаторов. Так, штаммы *Clostridium* из горно-луговой почвы (район Цхрацкаро, среднегодовая температура воздуха от -0,3 до +1°C) развивались в интервале 5—37°C при оптимуме 23—24°C, штаммы этого же микроорганизма, выделенные из каштановой почвы (район Марнеули, среднегодовая температура воздуха 11—12°C), — при 15—45°C и оптимуме 30°C. Аналогичную картину наблюдали и со штаммами *Cl. acetobutylicum*. Это свидетельствует о наличии у *Cl. pasteurianum* и *Cl. acetobutylicum* определенной адаптации к климатическим условиям.

Близкие результаты были получены со штаммами *Cl. butyricum* и *Cl. butylicum* из почв широтных почвенных зон.

Таким образом, отношение к температуре как к климатическому фактору изменяется у культур *Clostridium* в зависимости от географических условий.

Границы pH, в пределах которых могут развиваться виды *Clostridium*, различны для микроорганизмов, обитающих в разных типах почв. Штаммы *Cl. pasteurianum* из горно-луговой почвы (pH 5,6) растут при pH 4,5—8,0 (оптимум 6,4), а выделенные из каштановой почвы (pH 7,6) — в диапазоне pH 5,0—9,0 (оптимум 7,0). У *Cl. acetobutylicum* эти различия менее четки.

Изучение изменений в составе продуктов брожения показывает, что штаммы *Cl. pasteurianum*, выделенные из высокогорных почв (горно-луговая, горный чернозем, лесной бурозем), образуют больше масляной кислоты, чем штаммы из предгорных почв — лесной коричневой и каштановой. Количество уксусной кислоты и нейтральных продуктов (бутанола и этанола) у штаммов из предгорных почв выше (табл. IV.1). Особенно хо-

рошо это видно при сопоставлении соотношения летучих кислот (масляной и уксусной) и нейтральных продуктов (бутанола и этанола), образуемых в культурах *Cl. pasteurianum*, выделенных из высокогорной и предгорной почв. Так, у штаммов *Cl. pasteurianum* из горно-луговой почвы процентное соотношение кислоты : спирты было равно 19,2, у штаммов *Cl. pasteurianum*, выделенных из каштановой почвы, — 3,21. Аналогичное соотношение кислот к спиртам было найдено в культурах *Cl. acetobutylicum*. Так, процентное соотношение кислот к спиртам в культуре *Cl. acetobutylicum*, выделенной из горно-луговой почвы, составило 4,1, из горного чернозема — 3,8, из лесного бурозема — 2,7, из лесной коричневой — 2,5 и каштановой почвы — 2,1.

Таким образом, маслянокислый анаэроб *Cl. pasteurianum*, выделенный из каштановой почвы, обладает измененным метаболизмом, близким к таковому ацетобутиловых бактерий.

Что касается культур *Cl. acetobutylicum*, то количество образуемых этим организмом кислот и спиртов изменяется

Таблица IV.1
Продукты сбраживания глюкозы (2,5%) различными штаммами *Clostridium*, %
(средние данные по 3 штаммам)

Почвы	Летучие кислоты		Спирты		Процентное соотношение кислоты спирты	Летучие кислоты		Спирты		Процентное соотношение кислоты спирты
	Масляная	Уксусная	Бутанол	Этанол		Масляная	Уксусная	Бутанол	Этанол	
<i>Cl. pasteurianum</i>										
Горно-луговая	86,86	8,19	2,42	2,54	19,2	55,87	24,48	13,62	6,03	4,1
Чернозем горный	80,29	8,42	4,59	2,71	7,8	55,49	23,67	14,76	6,08	3,8
Бурозем лесной	71,25	16,61	6,96	5,18	7,2	53,10	19,66	19,49	7,75	2,7
Коричневая лесная	61,82	20,02	12,43	5,73	4,5	50,62	21,08	19,71	8,59	2,5
Каштановая	58,42	17,86	16,18	7,53	3,21	45,81	22,31	20,53	11,35	2,12
<i>Cl. acetobutylicum</i>										
						55,87	24,48	13,62	6,03	4,1
						55,49	23,67	14,76	6,08	3,8
						53,10	19,66	19,49	7,75	2,7
						50,62	21,08	19,71	8,59	2,5
						45,81	22,31	20,53	11,35	2,12

в зависимости от типа почвы в меньшей степени, чем у *Cl. pasteurianum*.

Штаммы *Cl. butyricum* из дерново-подзолистой почвы и чернозема образуют несколько больше масляной и уксусной кислот и бутанола, чем выделенные из каштановой и сероземной почв. Штаммы из дерново-подзолистой почвы не образуют этанола; этот продукт сбраживания зафиксирован у штаммов *Cl. butyricum* из чернозема, причем наибольшее количество его дают штаммы, выделенные из серозема. Следовательно, образующееся в культурах *Cl. butyricum* количество масляной и уксусной кислот, а также бутанола уменьшается по мере перехода от северных почв к южным. В культурах из каштановой почвы и серозема было меньше летучих кислот (масляной и уксусной) и больше бутанола (в 2 раза и более), чем в культурах этого организма, выделенных из дерново-подзолистой почвы и серозема. Кроме того, штаммы *Cl. butyricum* из южных почв (каштановой и серозема) начинают продуцировать ацетон, не образуемый культурами из дерново-подзолистой почвы. Этанол в культурах *Cl. butyricum* не обнаружен. Таким образом, необходимо отметить одну общую, характерную для обоих указанных видов *Clostridium* закономерность — уменьшение количества образуемых ими летучих кислот и увеличение содержания нейтральных продуктов в культурах этих организмов при переходе от северных почв к южным [7, 9].

Как известно, многие факторы внешней среды оказывают влияние на характер продуктов брожения *Clostridium*, как-то: источники углерода, азота и их соотношение, pH, температура и многие другие [7, 10, 15, 18].

Изучение влияния различных источников углерода и азота на характер продуктов брожения маслянокислых (*Cl. pasteurianum*) и ацетобутиловых (*Cl. acetobutylicum*)* бактерий показало, что на безазотистой среде эти микроорганизмы дают почти одинаковое соотношение кислот и спиртов — около 6 (табл. IV.2). Однако общая сумма летучих кислот и спиртов гораздо больше у штаммов *Cl. pasteurianum* 015 и 067, чем у *Cl. acetobutylicum*, штамм 115, в продуктах брожения которого бутанол не был обнаружен. Последнее согласуется с данными

* *Cl. pasteurianum*, штамм 015 и *Cl. acetobutylicum*, штамм 115 выделены из горно-луговой, *Cl. pasteurianum*, штамм 057 — из каштановой почвы Грузии.

Таблица IV.2

Влияние различных источников углерода и азота на характер продуктов брожения *Clostridium*, %

Источник углерода и азота	Летучие кислоты		Спирты		Процентное соотношение кислоты спирты
	Масляная	Уксусная	Бутанол	Этанол	

Clostridium pasteurianum, штамм 015
(из горно-луговой почвы)

Глюкоза, 4%	69,11	16,15	6,51	8,13	5,8
Глюкоза, 4% + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5%	69,45	23,15	1,85	5,55	12,5
Аспарагин, 1%	72,96	22,27	1,19	3,58	20,0
Пептон, 1%	71,74	21,94	3,40	2,92	14,7
Маннит, 4% + пептон, 1%	47,68	21,80	16,40	14,22	2,3
Пировиноградная кислота, 2% + пептон, 1%	8,85	22,13	42,47	26,55	0,46

Clostridium pasteurianum, штамм 067
(из каштановой почвы)

Глюкоза, 4%	65,29	17,88	5,69	8,14	6,2
Глюкоза, 4% + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5%	64,51	16,12	4,84	14,51	3,7
Аспарагин, 1%	65,78	16,45	6,58	11,19	4,6
Пептон, 1%	64,19	19,89	8,49	7,43	5,3
Маннит, 4% + пептон, 1%	46,81	23,40	13,83	15,96	2,3
Пировиноградная кислота, 2% + пептон, 1%	27,03	32,43	29,73	10,81	1,5

Clostridium acetobutylicum, штамм 115
(из горно-луговой почвы)

Глюкоза, 4%	66,26	19,28	0	14,46	6,0
Глюкоза, 4% + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5%	60,25	18,07	2,41	19,27	3,6
Аспарагин, 1%	41,67	10,41	17,71	30,21	1,1
Пептон, 1%	52,29	16,34	10,46	20,91	2,2
Маннит, 4% + пептон, 1%	35,93	26,94	14,37	22,76	1,7
Пировиноградная кислота, 2% + пептон, 1%	49,67	37,08	13,25	0	6,3

E. L. Tatum, W. H. Peterson [19] и R. Davies, M. Stephenson [17]. Эти авторы показали, что на солевой среде *Cl. acetobutylicum* не образует бутанола.

Внесение в среду Виноградского с глюкозой различных источников азота: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, аспарагина и пептона неодинаково влияет на характер продуктов брожения различных штаммов *Cl. pasteurianum* и *Cl. acetobutylicum*. Так, *Cl. acetobutylicum*, штамм 115 на среде с аммиачным азотом образует значительно больше нейтральных продуктов и меньше кислот, чем на безазотистой среде; с внесением аспарагина и пептона количество кислот еще больше уменьшается, а количество нейтральных продуктов соответственно увеличивается. При этом резко снижается процентное соотношение кислот и спиртов — на безазотистой среде 6,0; с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 3,6 с пептоном — 2,2, а с аспарагином — 1,1.

Штамм *Cl. pasteurianum* 067 из каштановой почвы, как и *Cl. acetobutylicum* на средах с различными источниками азота, образует больше нейтральных продуктов и меньше кислот (главным образом масляной), чем на безазотистой среде Виноградского.

Совершенно иначе реагирует на внесение соединений азота штамм *Cl. pasteurianum* 015, выделенный из горно-луговой почвы: аммиачный азот усиливал образование кислот, количество спиртов при этом уменьшалось. Особенно большое количество кислот образуется на средах с пептоном и аспарагином. Поэтому в противоположность *Cl. acetobutylicum* и штамму 067 *Cl. pasteurianum*, выделенному из каштановой почвы, соотношение кислот и спиртов у штамма 015 *Cl. pasteurianum* увеличивалось: на безазотистой среде оно было равно 5,8, с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 12,5, с пептоном — 14,7, а с аспарагином — 20,0. Это характерно для типичных маслянокислых бактерий.

Изучение продуктов сбраживания различных источников углерода (глюкоза, маннит, пировиноградная кислота) штаммами *Clostridium* свидетельствует об идентичной реакции *Cl. acetobutylicum*, штамм 115, выделенного из горно-луговой почвы, и *Cl. pasteurianum*, штамм 067 — из каштановой почвы. В отличие от указанных штаммов соотношение продуктов брожения у *Cl. pasteurianum*, штамм 015 из горно-луговой почвы характерно для маслянокислых бактерий, развивающихся на указанных выше источниках углерода [18].

Приведенные данные позволяют в известной степени объяснить различный характер продуктов брожения штаммов, выделенных из основных типов почв Советского Союза.

Известно, что в разных типах почв количественный и качественный состав органических веществ значительно варьирует [8, 16]. Такое варьирование в составе органических веществ сказывается на ферментативных особенностях *Clostridium*, что обуславливает изменение характера продуктов брожения.

Следует указать, что амплитуда изменчивости у *Cl. pasteurianum* значительно шире, чем у *Cl. acetobutylicum*. По-видимому, степень адаптации того или иного вида *Clostridium* к условиям внешней среды обуславливается его ролью в трансформации органических веществ в почве. *Cl. pasteurianum* и *Cl. butyricum* в противоположность *Cl. acetobutylicum* осуществляют трансформацию подвижных органических соединений. Этим и объясняется, по-видимому, широкая амплитуда изменчивости их свойств.

Таким образом, морфолого-физиологическое исследование различных штаммов анаэробных азотфиксирующих бактерий рода *Clostridium* — *Cl. pasteurianum*, *Cl. acetobutylicum*, *Cl. butyricum* и *Cl. butylicum*, выделенных из разных типов почв СССР, показывает, что их свойства изменяются под влиянием почвенно-климатических условий. В результате образуются экологические расы указанных микроорганизмов.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФИКСАЦИИ АЗОТА

Сравнительное изучение азотфиксирующей активности штаммов *Cl. pasteurianum*, *Cl. acetobutylicum*, *Cl. butyricum* и *Cl. butylicum*, выделенных из различных почвенных типов, показывает, что наибольшей азотфиксирующей активностью обладают штаммы *Cl. pasteurianum*, выделенные из горно-луговой почвы (8,68—8,96 мг на 1 г использованной глюкозы). Интенсивность азотфиксации у штаммов *Cl. pasteurianum* из горного чернозема, лесного бурозема и лесной коричневой почвы постепенно снижалась по мере перехода от почв высокогорных к почвам подножия гор; культуры *Cl. pasteurianum* из каштановой почвы фиксировали только 3,55—3,77 мг азота на 1 г глюкозы, т. е. значительно меньше (в 2—3 раза), чем горно-луговые штаммы *Cl. pasteurianum* (табл. IV.3).

Фиксация $^{15}\text{N}_2$ *Cl. pasteurianum* в различных почвах

Почва	Общий азот почвы, %	Вариант опыта	Количество клеток <i>Cl. pasteurianum</i> , млн. на 1 г абсолютно сухой почвы		Избыток обогащения $^{15}\text{N}_2$, атом %	
			до опыта	после опыта	Повторность	Среднее
Дерново-подзолистая	0,208	Исследуемая почва	0,17	0,5	0	0
		То же + <i>Cl. pasteurianum</i> , штамм 201	0,4	50,8	0,20 0,17 0,37	0,24
Чернозем	0,477	Исследуемая почва	0,12	0,3	0	0
		То же + <i>Cl. pasteurianum</i> , штамм 211	0,37	11,8	0,07 0,07 0,07	0,07
Каштановая	0,271	Исследуемая почва	0,05	0,17	0	0
		То же + <i>Cl. pasteurianum</i> , штамм 069	0,5	10,9	0,04 0,2	0,03

Определение фиксации $^{15}\text{N}_2$ культурами *Cl. pasteurianum* в различных типах почв показывает, что в анаэробных условиях наивысший избыток обогащения $^{15}\text{N}_2$ наблюдается в дерново-подзолистой почве — 0,24, тогда как в черноземе и каштановой почве соответственно 0,07 и 0,03 атом %.

На азотфиксирующую активность различных штаммов *Cl. acetobutylicum* тип почвы почти не влияет.

Азотфиксирующая активность штаммов *Cl. butyricum*, выделенных из различных типов почв, уменьшалась с севера на юг. Так, штаммы из дерново-подзолистой почвы обладали наибольшей активностью (8,65—9,61 мг азота на 1 г сброженной глюкозы), из серозема — наименьшей (3,90—4,93 мг). Таким образом, активность азотфиксации у южных рас *Cl. butyricum* (из серозема) снизилась в 2 раза (табл. IV.4).

Изучение активности фиксации молекулярного азота *Clostridium*, выделенных из различных типов почв СССР, показало, что под влиянием географических условий интенсивность этого процесса изменяется, причем в большей степени у *Cl. pasteurianum* и *Cl. butyricum*, чем у *Cl. acetobutylicum* и *Cl. butylicum*. Штаммы *Clostridium*, выделенные из дерново-подзолистой и горно-луговой почв, как правило, обладают большей азотфиксирующей активностью, чем штаммы из каштановой почвы и серозема [5, 6].

Таким образом, наибольшая интенсивность связывания молекулярного азота атмосферы наблюдается в дерново-подзолистой почве, наименьшая — в каштановой. Следовательно, эффективность анаэробной азотфиксации определяется климатическими условиями, свойственными определенному типу почвы.

Изучение географического распространения анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в почвах Советского Союза показало, что маслянокислые бактерии (*Cl. pasteurianum*, *Cl. butyricum*) рода *Clostridium* преобладают в дерново-подзолистых почвах. Существует тенденция уменьшения количества маслянокислых бактерий с севера на юг. Численность ацетонобутиловых бактерий *Cl. acetobutylicum* с севера на юг увеличивается. Последние доминируют в каштановых почвах, сероземах, красноземах.

Та же закономерность в распространении маслянокислых и ацетонобутиловых бактерий имеет место в условиях вертикальной зональности.

Наибольшее количество пектинолитических бактерий обнаружено в черноземах и дерново-подзолистых почвах, в каштановых почвах и сероземах количество их уменьшается. Возможной причиной отмеченных выше отличий в количестве анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium* в различных типах почв является неодинаковое относительное содержание в них подвижных органических соединений *Cl. butylicum*, *Cl. pasteurianum*, *Cl. acetobutylicum*, *Cl. butyricum* образуют экологические расы.

Морфологические и физиологические особенности анаэробных азотфиксаторов изменяются в зависимости от почвенно-климатических условий. Культуры *Cl. pasteurianum* и *Cl. butyricum*, выделенные из различных типов почв, различаются между собой как по размерам и форме клеток, так и по ряду других морфологических призна-

Интенсивность фиксации азота атмосферы культурами

Тип почвы широтных зон СССР	Фиксировано азота, мг				Фиксировано азота, мг							
	Штамм	на 1 г глюкозы			Штамм	на 1 г глюкозы						
		на 100 мл среды	по штам- мам	в сред- нем		на 100 мл среды	по штам- мам	в сред- нем				
<i>Cl. butyricum</i>									<i>Cl. butylicum</i>			
Дерново- подзоли- стые	10	4,09	8,65	9,22	30	1,56	3,84	3,72				
	11	4,25	9,40		32	1,51	3,70					
	12	4,42	9,61		33	1,46	3,64					
Чернозем	13	2,97	6,66	6,97	31	1,46	3,70	3,60				
	14	3,08	7,03		34	1,40	3,54					
	15	3,19	7,21		35	1,40	3,56					
Каштано- вая	16	2,52	6,08	6,12	36	1,29	3,36	3,42				
	17	2,52	5,99		37	1,29	3,38					
	18	2,63	6,29		38	1,34	3,52					
Серозем	19	1,74	4,23	4,20	39	1,18	3,26	3,38				
	20	1,85	4,49		40	1,29	3,58					
	21	1,62	3,90		41	1,18	3,30					

ков. У экологических рас *Cl. acetobutylicum*, *Cl. butylicum* эти различия менее значительны.

Неодинаков характер продуктов сбраживания глюкозы у различных экологических рас *Clostridium*.

У штаммов *Cl. pasteurianum* из коричневой и каштановой почв образуется меньше масляной кислоты и больше уксусной, бутанола и этанола, чем у выделенных из горно-луговой почвы, т. е. по характеру продуктов метаболизма они сходны с *Cl. acetobutylicum*. Такого существенного изменения состава продуктов брожения в зависимости от почвенного типа не обнаруживается у штаммов *Cl. acetobutylicum*. При переходе от дерново-подзолистой почвы к чернозему, каштановой почве и серозему у штаммов *Cl. butyricum*, *Cl. butylicum* уменьшается количество образуемых ими летучих кислот (масляной и уксусной) и увеличивается количество нейтральных продуктов (этанола у *Cl. butyricum* и бутанола у *Cl. butylicum*).

Таблица IV.4

Clostridium, выделенными из различных типов почв

Тип почвы вертикаль- ных зон Грузинской ССР	Штамм	Фиксировано азота, мг			Штамм	Фиксировано азота, мг		
		на 100 мл среды	на 1 г глюкозы			на 100 мл среды	на 1 г глюкозы	
			по штам- мам	в сред- нем			по штам- мам	в сред- нем
		<i>Cl. pasteurianum</i>				<i>Cl. acetobutylicum</i>		
Горно-лу- говая	014	4,36	8,68	7,59	112	1,35	3,31	3,36
	015	4,48	8,96		114	1,40	3,43	
	017	4,42	8,91		115	1,34	3,33	
Чернозем горный	024	3,58	7,58	7,59	123	1,28	3,23	3,19
	026	3,56	7,57		124	1,26	3,13	
	028	3,52	7,61		127	1,24	3,15	
Бурозем лесной	037	2,52	5,69	5,79	135	1,24	3,13	3,04
	038	2,62	5,90		136	1,18	2,99	
	039	2,58	5,78		137	1,18	3,00	
Коричневая лесная	043	1,84	4,42	4,34	141	1,12	2,92	2,92
	045	1,86	4,37		144	1,12	2,94	
	047	1,78	4,24		145	1,06	2,89	
Каштано- вая	065	1,51	3,74	3,67	165	0,96	2,61	2,63
	067	1,50	3,77		167	1,00	2,71	
	069	1,44	3,55		168	0,94	2,58	

Под влиянием почвенно-климатических условий изменяется азотфиксирующая активность *Clostridium*, причем в большей степени у *Cl. pasteurianum*, *Cl. butyricum*, чем у *Cl. butylicum*, *Cl. acetobutylicum*. Штаммы *Clostridium*, выделенные из дерново-подзолистой и горно-луговой почв, как правило, обладают большей (в 2—2,5 раза в случае с *Cl. pasteurianum* и *Cl. butyricum*) азотфиксирующей активностью, чем штаммы, выделенные из каштановой почвы и серозема. По мере перехода от северных почв к южным (или спуска из высокогорных районов к подножию гор) минимальная, оптимальная и максимальная температуры развития штаммов *Clostridium* заметно повышаются.

Границы pH, в пределах которых могут развиваться культуры *Clostridium*, различны для микроорганизмов, обитающих в разных типах почв. Штаммы *Cl. pasteurianum*, выделенные из горно-луговой почвы (pH 5,6), рас-

тут при pH 4,5—8,0 (оптимум 6,4), а выделенные из каштановой почвы (pH 7,6) — в диапазоне pH 5,0—9,0 (оптимум 7,0). Менее четки эти различия у *Cl. acetobutylicum*.

Интенсивность связывания молекулярного азота атмосферы (использован стабильный изотоп $^{15}\text{N}_2$) наибольшая в дерново-подзолистой почве, наименьшая — в каштановой. Это обусловлено различной активностью экологических рас *Cl. pasteurianum*, обитающих в дерново-подзолистой и каштановой почвах.

Указатель литературы

1. Емцев В. Т., Сидоренко О. Д. Смена анаэробной микрофлоры в процессе разложения органических веществ в дерново-подзолистой почве. — «Изв. ТСХА», 1968, вып. 2, с. 119.
2. Емцев В. Т., Развожевская З. С., Дзадзамия Т. Д. Географическое распространение почвенных анаэробных, азотфиксирующих бактерий рода *Clostridium*. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1969, № 5, с. 105.
3. Емцев В. Т., Развожевская З. С. Распространение анаэробных пектинолитических бактерий в различных типах почв. — «Изв. ТСХА», 1970, вып. 2, с. 154.
4. Емцев В. Т., Захарова С. Н. Влияние условий культивирования и состава питательных сред на фиксацию молекулярного азота *Cl. pasteurianum* и *Cl. acetobutylicum*. — «Докл. ТСХА», 1970, вып. 160, с. 174.
5. Емцев В. Т., Дзадзамия Т. Д. Эколого-географическая изменчивость анаэробных азотфиксаторов рода *Clostridium*. — «Изв. ТСХА», 1970, вып. 6, с. 125.
6. Емцев В. Т., Развожевская З. С. Влияние географических факторов на изменчивость анаэробных маслянокислых (*Cl. butyricum*) и бутиловых (*Cl. butylicum*) азотфиксирующих бактерий. — «Изв. ТСХА», 1971, вып. 4, с. 18.
7. Иерусалимский Н. Д. Физиология развития чистых бактериальных культур. Автореф. на соиск. учен. степени д-ра биол. наук. М., 1952.
8. Кононова М. М. Органическое вещество почвы. М., Изд-во АН СССР, 1963.
9. Кудрявцев В. И. К проблеме вида у микроорганизмов. — «Труды Ин-та микробиологии АН СССР», 1951, т. 1, с. 86.
10. Мантейфель А. Я. Обзор литературы по микробиологии маслянокислого брожения. — «Микробиология», 1939, т. 8, вып. 6, с. 761—775.
11. Мишустин Е. Н. Микробные ассоциации почв и подходы к их изучению. — «Микробиология», 1955, т. 24, вып. 4, с. 474—485.
12. Мишустин Е. Н. Географический фактор и распространение почвенных микроорганизмов. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1958, № 6, с. 661—676.
13. Мишустин Е. Н. Почвенные типы и специфика их микрорасселения. — В кн.: Физика, химия, биология и минералогия почв СССР. М.: «Наука», 1964, с. 229—239.

14. Мишустин Е. Н. Географический фактор, почвенные типы и их микробное население. — В кн.: Микрофлора почв северной и средней части СССР. М., «Наука», 1966, с. 3—23.
15. Работнова И. Л. Роль физико-химических условий (рН и rH_2) в жизнедеятельности микроорганизмов. М., Изд-во АН СССР, 1957.
16. Тюрин И. В. Органическое вещество почв и его роль в почвообразовании и плодородии. [Учение о почвенном гумусе]. М., «Сельхозиздат», 1937.
17. Davies R. and Stephenson M. Studies on the acetone — butyl alcohol fermentation. 1. Nutritional and other factors involved in the preparation of active suspensions of *Cl. acetobutylicum* (Weizmann). — *Biochem. J.*, 1941, vol. 35, p. 1320.
18. Lehmb erg Ch. Untersuchungen über die Wirkung von Ascorbinsäure, stoffwechselgiften und anderen Factoren auf den stoffwechsel von *Clostridium butyricum* Prazmowsky. — «*Archiv für Microbiologie*», 1956, Bd. 24, S. 323—346.
19. Tatum E. L., Peterson W. H., Fred E. B. Identification of asparagine as the substance Stimulating the production of butyl alcohol by certain bacteria. — *J. Bact.*, 1935, vol. 29, p. 563-572.

Глава V. ВЗАИМООТНОШЕНИЯ РАСТЕНИЙ С МИКРООРГАНИЗМАМИ РИЗОСФЕРЫ И ФИЛЛОСФЕРЫ

ХАРАКТЕР ВЗАИМООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ РАСТЕНИЯМИ И СОПУТСТВУЮЩИМИ ИМ МИКРООРГАНИЗМАМИ

В природе растения находятся в тесном контакте с микрофлорой. Поверхность надземных и подземных органов растений заселена разнообразными эпифитными микроорганизмами, название которых происходит от греческих слов *επι* — поверхность и *φυτον* — растение. Ризосферные микроорганизмы размножаются в почве, прилегающей к корням. Эти микроорганизмы составляют неотъемлемую часть внешней среды, с которой соприкасаются растения на протяжении всего периода вегетации. «Нормальная» микрофлора растений формировалась вместе с ними в течение длительной эволюции растительного мира. Растения и микроорганизмы зависят друг от друга: зеленые растения — автотрофы, они создают органическое вещество в процессе фотосинтеза и являются основным источником органических соединений на земной поверхности. Микроорганизмы же в подавляющем своем большинстве — гетеротрофы, т. е. питаются за счет готовых органических соединений. Одни из них используют мертвые растительные остатки, другие — выделения корней и надземных органов вегетирующих растений.

Корневые выделения, диффундируя в слой почвы, прилегающий к корням, обогащают его органическими соединениями, за счет которых развивается ризосферная микрофлора.

Микроорганизмы, относящиеся к «нормальной» микрофлоре растений, по условиям своего существования не соприкасаются с внутренними частями растений. Ткани здоровых растений практически стерильны, так как микроорганизмы не способны преодолеть разнообразные факторы иммунитета, которыми обладают живые растения [21]. Если сапрофитные, т. е. не болезнетворные, бактерии, искусственно ввести в стебель растения, то они до-

вольно быстро погибают [128]. Исключение составляют виды, находящиеся в симбиозе с растениями, и фитопатогенные микроорганизмы. К первым относятся (в основном) клубеньковые бактерии и микоризные грибы, которые, проникая в межклетники корня и размножаясь в локализованном пространстве (клубеньках или клетках) коровой паренхимы, выделяют вещества, используемые растениями. Фитопатогенные микроорганизмы питаются тканями живых растений.

Эпифитная и ризосферная микрофлора не только не является паразитарной, но и обладает рядом полезных для растений свойств. Однако беспрепятственное размножение этих микроорганизмов неизбежно влечет за собой угнетение растений. В нормальных условиях произрастания этого не происходит, так как, во-первых, растения выделяют используемые микроорганизмами вещества в ограниченном количестве, во-вторых, в выделениях растений содержатся антибактериальные вещества — фитонциды, которые также ограничивают размножение нормальной микрофлоры. Фитонциды присущи всем растениям [78], причем установлено, что последние выделяют, обычно одновременно, несколько соединений (эфирные масла, углеводороды, глюкозиды, органические кислоты, альдегиды). Некоторые из фитонцидов образуются в результате жизнедеятельности растений [72, 73]. Фитонциды изменяют активность ферментных систем, нарушая жизненные функции микроорганизмов [88].

Замечено, что на поверхности хорошо развитых растений, которые вырабатывают больше бактерицидных веществ, микроорганизмов меньше, чем на поверхности слаборазвитых растений [68, 70].

Таким образом, при нормальном развитии растений между ними и микроорганизмами устанавливается состояние «буферности», обычно характерное для отдельного симбиоза между организмами.

Взаимоотношения между растениями и микроорганизмами сложны и многообразны, что обусловлено разнообразием свойств микроорганизмов, из которых состоят комплексы эпифитной и ризосферной микрофлоры, различным составом продуктов их обмена, составом микробных сообществ, видом растений. Кроме того, взаимоотношения между растениями и микроорганизмами находятся в тесной связи с условиями окружающей среды, с составом корневых выделений и источниками микрофлоры.

Отсутствие достаточно точных методов исследования ризосферы создает трудности для более глубокого и полного понимания взаимоотношений растений с микроорганизмами [118]. Тем не менее многие стороны этих взаимоотношений в настоящее время уже выявлены и изучаются. Трудно переоценить роль микрофлоры в жизни растений. Она минерализует и переводит в доступную для растений форму сложные органические и нерастворимые минеральные соединения почвы и удобрений, участвует в создании и разрушении перегноя и в других процессах, определяющих плодородие почвы (нитрификация, денитрификация и т. д.); микроорганизмы-азотфиксаторы связывают газообразный азот воздуха; микрофлора синтезирует различные физиологически активные вещества, выделяет антибиотики, в том числе антигрибные; питательные вещества по гифам грибов и по цепочкам бактериальных клеток поступают из почвы к корню; микроорганизмы поглощают питательные вещества и временно закрепляют их в своем теле и т. д.

Следует отметить, что разные виды микроорганизмов могут вызывать одинаковые процессы в определенных условиях внешней среды и, наоборот, одни и те же виды могут осуществлять самые разнообразные процессы. Так, вещества, стимулирующие рост растений (витамины, ауксины), синтезируются многими микроорганизмами, и их действие на растения одинаково; процесс аммонификации и денитрификации может осуществляться одним видом, например *Pseudomonas fluorescens*.

Работы по изучению взаимоотношений между растениями и корневыми и ризосферными микроорганизмами обобщены в ряде обзоров [32, 95, 107, 113, 118, 130]. В них рассматривается не только сущность влияния микроорганизмов на растения, но также причины нарушения раздельно-симбиотических взаимоотношений и проявления конкурентных или паразитарных свойств микрофлоры, отрицательно сказывающихся на росте растений.

В настоящее время наиболее точное доказательство положительного влияния микроорганизмов на рост и развитие растений получено в условиях стерильных опытов. Высевали простерилизованные семена овса сорта Орел и выращивали в простерилизованной песчано-каолиновой смеси, пропитанной питательным раствором Гельригеля [53]. В часть сосудов вносили комплекс корневой микрофлоры овса, полученный смывом с корней расте-

ний, росших в почве. В результате наблюдали значительную разницу в развитии растений (табл. V.1).

В этом опыте урожай зерна на сосуд составил в контроле 2,8 г, а в варианте с бактеризацией — 3,5 г.

Таблица V.1

Влияние микроорганизмов на содержание сухого вещества в надземной массе и корневой системе овса (на одно растение в стадии колошения)

(микровегетационный стерильный опыт по В. А. Пронину и В. Ф. Воронковой)

Вариант	Надземная масса			Корневая система		
	г	±	% к контролю	г	±	% к контролю
Контроль (без заражения)	0,82	0,020	100	0,64	0,045	100
Внесена корневая микрофлора	1,27	0,030	142,7	1,22	0,050	190,6

В опыте Е. Х. Ремпе [59] масса зерна проса из одного сосуда в варианте со стерильным субстратом была равна 1,56 г, а в варианте с бактеризацией — 2,98 г. А. А. Тарасенко [75] наблюдала, что рост проростков кукурузы и активность их дыхания при выращивании в стерильных условиях значительно отставали от таковых в нестерильных условиях (сухая масса 10 стерильных проростков составляла 17 мг, а поглощение кислорода проростками за двое суток — 182 мкл O_2 , в нестерильных условиях эти показатели были равны 29 мг и 271 мкл соответственно).

КОРНЕВАЯ И РИЗОСФЕРНАЯ МИКРОФЛОРА И ЕЕ РОЛЬ В ПИТАНИИ РАСТЕНИЙ

Корневые выделения — источник питания для микроорганизмов. Микроорганизмы, размножающиеся на корнях растений, питаются корневыми выделениями. Такая экскреция веществ из корня является одной из нормальных физиологических функций растений. Это было доказано при изучении метаболизма аминокислот в стерильных опытах с изолированными корнями пшеницы [25].

Постоянно протекающий процесс обмена аминокислот между клетками корня и средой регулирует внутриклеточный обмен веществ, таким образом стабилизируются синтетические процессы, протекающие в корне. Избыточное содержание аминокислот в корнях сопровождается подавлением процессов метаболизма.

Количество и состав корневых выделений непостоянны и зависят от возраста растения, условий произрастания и особенно от условий питания.

Состав корневых выделений изучен подробно [4, 22, 32, 92, 93, 124]. В выделениях корней обнаружены ионы калия, кальция, PO_4 . Количество редуцирующих сахаров в корневых выделениях варьирует. Так, у кукурузы, по некоторым данным, оно составляет 8,2—8,4 мг в расчете на 1 м² рабочей поверхности корней [37]. Хроматографический метод позволил детально изучить аминокислотный состав корневых выделений. Например, в выделениях овса выявлено 14 аминокислот (аспарагиновая, серин, глютамин, аланин, метионин, валин, лейцин, фенилаланин, лизин, триптофан, тирозин, треонин, глицин и одна неидентифицированная), у гороха — 22, у подсолнечника — 11 [93, 122].

Корневые выделения 30-дневных растений кукурузы [62] содержали (мкг на 1 растение): лейцин + изолейцин — 21, фенилаланин — 25, валин — следы, метионин — 17, тирозин — 25, аланин — 13, глютаминовая кислота — 37, глицин — 25, серин — 33, аспарагиновая кислота — 40, гистидин + треонин — 23, аспарагин — 107, лизин — 40, цистин + цистеин — 169. Приведенные данные показывают, что почти половину (48%) количества всех аминокислот составляли аспарагин и цистин + цистеин. Корневые выделения этих же растений содержали (мкг на 1 растение): фруктозы — 173, арабинозы — 80, неидентифицированных — 58. Глюкоза, сахара и ксилоза не обнаружены.

Давно было замечено, что в почве численность микроорганизмов около корней растений значительно выше, чем в почве без растений [101]. Имеются данные, что в ризосфере разных растений, выращенных в абсолютно тождественных условиях, численность микроорганизмов превышала таковую в почве без растений у овса в 229 раз, у кукурузы в 88, у пшеницы в 22, у льна в 532, у люпина в 79, у подсолнечника в 43, у томата в 32, у шпината в 22, у лука в 84 раза и т. д. [108]. Аналогич-

ный эффект наблюдали у дикорастущих видов: в ризосфере тимофеевки выявлено в 54 раза больше микроорганизмов, в ризосфере костра в 12,7 раза больше, чем в почве без растений [24]. Однако на поверхности отмытых от почвы корней количество микроорганизмов обычно меньше, чем в слое почвы толщиной в 1—2 мм, прилегающем к корням (табл. V.2).

Таблица V.2

Количество микроорганизмов в корневой зоне томатов и огурцов, тыс. на 1 г почвы

Группа микроорганизмов	Томаты		Огурцы	
	На корнях	В прикорневой почве	На корнях	В прикорневой почве
Аммонифицирующие	25 · 10 ³	104 · 10 ³	140 · 10 ³	1666500
Денитрифицирующие	200	10400	1100	59500
восстанавливающие				
NO ₃ до N ₂				
Растворяющие Са ₃ (PO ₄) ₂	9620	427 · 10 ³	40900	358500
Целлюлозоразлагающие	0	6 · 10 ³	0	1800
аэробные				
Маслянокислые	200	25 · 10 ³	2500	14700
	1	10	11	262
Нитрифицирующие	0	29	0	37

Наряду с веществами, используемыми микроорганизмами, в корневых выделениях растений присутствуют антибактериальные вещества типа фитонцидов. Их концентрация на корнях выше, чем в почве. Это защитная реакция растения, благодаря которой регулируется размножение микрофлоры на его поверхности. Ризосферный эффект (Rhizosphere effect) выражается не только в значительном увеличении количества микроорганизмов в корневой зоне, но также и в изменении их качественного состава. В ризосфере размножаются виды, использующие в качестве источника питания аминокислоты. Так, было установлено, что в ризосфере кормовой свеклы в 14 раз больше бактерий (в том числе нуждающихся в аминокислотах — в 52 раза), чем в почве междурядий [115]. По другим данным, количество бактерий, которым необходимы аминокислоты, составляло в почве 16,6—26,2%, а в ризосфере ячменя, выращиваемого на той же

почве, 53,1%, в ризосфере гороха — 63,9, в ризосфере пшеницы — 60,7% [125].

Канадские микробиологи [96, 125, 126], изучая соотношение «групп питания» микроорганизмов в ризосфере и в почве, удаленной от корней, установили, что выделенные ими культуры (исследовано более 1000 культур) нуждаются в витаминах, аминокислотах, веществах, входящих в состав дрожжевого и почвенного экстрактов, и показали, что в ризосфере встречается больше видов, которым необходимы аминокислоты, и меньше видов, которые нуждаются в витаминах и ростовых факторах, содержащихся в почвенном экстракте.

При массовом скоплении микроорганизмов в ризосфере и на корнях растений между ними возникает конкуренция. Преимущество оказывается на стороне видов, приспособленных к питанию веществами корневых выделений, в частности аминокислотами, а также видов, которые в этих условиях быстро размножаются. Это было доказано специальными опытами [135]. Изучали микроорганизмы, выделенные из почвы (100 культур) и из ризосферы (100 культур), культивируя их на разных средах. Оказалось, что на среде с аминокислотами обильно росло 24% культур, выделенных из почвы, и 69% культур из ризосферы выращиваемого на этой почве гороха.

Активность дыхания у микроорганизмов из ризосферы пшеницы на среде с аланином была выше, чем у микроорганизмов из почвы. Первые поглощали 138 мкл O_2 в 1 ч в расчете на 1 мг сухих клеток, вторые — только 68,5. Культуры, выделенные из почвы междурядий, из ризосферы и с корней пшеницы, при их выращивании на среде с глюкозой поглощали соответственно 141, 247 и 306 мкл O_2 в 1 ч.

Чтобы показать влияние корневых выделений на изменение состава почвенной микрофлоры, выращивали стерильно в песке или в растворе Кнопа лен, клевер, рожь и др. (по 10 растений в сосуде) в течение 16 сут. По истечении этого срока вытяжки из песка или раствор, содержащий корневые выделения, сгущали в вакууме и стерилизовали фильтрацией через фильтры Зейца. Полученный концентрат (от 10 растений) вносили в 10 г неокультуренной почвы и через 5 дней учитывали изменение в составе почвенной микрофлоры. Определяли общее количество микроорганизмов и выделяли 50 колоний для групповой идентификации, учитывали споровые бактерии

Pseudomonas и *Arthrobacter*. Ризосферный эффект проявлялся очень четко: общее количество микроорганизмов увеличивалось с $54 \cdot 10^6$ до $64 \cdot 10^8$. Причем количество споровых бактерий снизилось с 30 до 6%, численность *Arthrobacter*, наоборот, увеличилась с 36% в исходной почве до 60—80% в почве с добавлением корневых выделений. Количество *Pseudomonas* составило 4—8% и сохранилось на этом уровне.

Состав комплексов корневых и ризосферных микроорганизмов. Долгое время для характеристики особенностей ризосферной и корневой микрофлоры пользовались методом группового анализа (учет микроорганизмов, входящих в состав различных физиологических групп), либо методом учета групп с различными питательными потребностями [114, 117]. Группировали бактерии и по морфологическим признакам: колонии — слизистые, пигментные и т. д. [6, 58, 77].

Отсутствие точных критериев характеристики ризосферной и корневой микрофлоры тормозило познание ее сложнейших взаимоотношений с растениями. Это объясняется тем, что в каждую физиологическую группу входит большое количество видов с самыми различными свойствами, в то же время почти каждому виду присущи какие-то определенные функции, особенно четко выявляющиеся в определенных условиях внешней среды. Поэтому роль микрофлоры в жизни растений не может быть детально исследована без изучения видового состава и свойств отдельных микроорганизмов, а также продуктов их жизнедеятельности.

С 1953 г. в литературе начали появляться сообщения о выделении с различных растений отдельных микроорганизмов. Так, на корнях хлопчатника было обнаружено 8 видов [52], картофеля — 20 [49], кок-сагыза 11 [74] видов микроорганизмов.

Однако известно, что на корнях или в ризосфере растения одновременно присутствует ограниченное количество видов микроорганизмов и чтобы получить наиболее полное представление о корневой (и ризосферной) микрофлоре, необходимо выделять культуры с растений различных систематических групп и в разных условиях их произрастания, идентифицировать большое количество культур, изучать соотношение видов. Именно в этом аспекте проводилась работа во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии [11, 14, 83].

Учитывая, что в естественных условиях сопутствующие растениям микроорганизмы используют для питания выделения растений, состав которых, как указывалось выше, в настоящее время изучен довольно хорошо, использовали растительный (капустный) отвар, обогащенный аминокислотами и некоторыми витаминами (среда 19, 17). Исследовали микрофлору кукурузы, пшеницы, овса, гречихи, подсолнечника, табака, свеклы, огурцов, крыжовника, яблони, сливы, вишни. С их корней выделили более 400 культур. Изучение их культуральных, морфологических и физиологических особенностей позволило идентифицировать эти микроорганизмы. Описано 69 видов и 62 их разновидности, в том числе: *Pseudomonas* — 22 вида; *Bacterium* — 6; *Chromobacterium* — 8; *Mycobacterium* — 12; *Mycococcus* — 2; *Micrococcus* — 4; *Pseudobacterium* — 4; *Sarcina* — 2; *Promyobacterium* — 1; *Azotomonas* — 1; *Lactobacterium* — 1; *Vibrio* — 1; *Bacillus* — 2; дрожжеподобных — 3.

Было установлено, что один и тот же вид может обитать на корнях различных растений. Например, *Ps. fluorescens* обнаружен на корнях пшеницы, кукурузы, гречихи, вишни; *Ps. chrysea* — у овса, пшеницы, яблони, сливы; *Bacterium agile* — у овса, гречихи, огурцов, *Chz. chlorinum* — у кукурузы, подсолнечника, свеклы, огурцов, вишни, гороха и т. д.

Количество и соотношение видов бактерий на корнях одного и того же вида растения зависит от фазы развития и от возраста растения, а также от почвенных условий. Это связано с тем, что под влиянием факторов внешней среды изменяется обмен веществ в растениях и в связи с этим — количество, а также состав корневых выделений, которыми питаются микроорганизмы.

При избытке минерального азота корни выделяют аммиак, так как не весь азот расходуется на синтетические процессы [54]; у молодых растений овса (10-суточных) в корневых выделениях обнаружено 7 аминокислот, а в более старых (21-суточных) — 12 [25]; в растениях ячменя перед цветением количество сахаров в корнях резко снизилось (с 8,7 до 1,25%) вследствие усиленного синтеза растениями в этот период белковых веществ и усиления расхода сахаров на синтетические процессы [42].

Яркий пример изменения качественного состава микрофлоры на корнях и в ризосфере ячменя в зависимости

от возраста растений получен при изучении «групп питания». У молодого растения обнаружено 20,2% бактерий, нуждающихся в аминокислотах, и 2,7% хорошо растущих на дрожжевом автолизате, у зрелого растения 1,2 и 8,9% [134] соответственно.

Таким образом, можно считать установленным, что комплексы микроорганизмов на корнях растений и в их ризосфере непостоянны, формируются на данном отрезке времени, в определенную фазу развития растения и характерны для данного вида растения в конкретных условиях его произрастания.

Различия микрофлоры, зависящие исключительно от вида растения, можно наблюдать только в абсолютно тождественных, т. е. искусственных, условиях, например в водных или песчаных культурах.

Микрофлора ризосферы в отличие от корневой микрофлоры находится под влиянием не только растения, но и почвы. Как указывалось выше, в этой зоне меньше сказывается влияние фитонцидов, увеличивается количество споровых бактерий. В ризосфере создаются лучшие условия для развития нитрифицирующих и целлюлозоразлагающих бактерий, увеличивается количество и разнообразие грибов. Так, на корнях клевера, произраставшего на дерново-карбонатно-суглинистой почве, были обнаружены *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Cephalosporium*, *Rhizopus*. В ризосфере преобладали *Fusarium* и *Penicillium*, в небольшом количестве встречались *Verticillium*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Mucor* [35]. В ризосфере широко представлены дрожжевые организмы, которые активно размножаются в период массового роста растений.

Количество дрожжей в ризосфере капусты, свеклы, кукурузы, овса, ржи и озимой пшеницы колебалось в зависимости от срока анализа — в начале июля от 18,5 до 42 тыс. в 1 г, в конце июля — от 141 до 220 тыс. — в 20 — 55 раз больше, чем в почве без растений.

Всего из ризосферы было выделено 96 штаммов. Наиболее распространены на всех растениях *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorula glutinis*, часто встречались в ризосфере разных растений 4 вида *Cryptococcus*, 4 вида *Torulopsis* и 5 видов *Rhodotorula* [5].

Влияние микроорганизмов на поступление веществ в растения. Поступление веществ в корни — сложный процесс, который складывается из комплекса одновременно про-

текающих процессов [67]: 1) пассивное поглощение путем диффузии молекул в «свободное пространство» клетки; 2) физико-химическая адсорбция на пекто-целлюлозных мембранах клеточной оболочки; 3) поглощение путем включения в метаболизм, т. е. в обмен веществ клетки; 4) поглощение при помощи молекул-переносчиков; 5) перенос ионов с поверхности корня в его клетки при помощи специфических ферментов «пермеаз»; 6) поглощение при активном движении цитоплазматической мембраны; 7) поглощение путем пиноцитоза, т. е. захватывание отдельными участками оболочки капель внешнего раствора при ее влячивании (количество микропиноцитозных вакуолей в клетке может достигать нескольких тысяч).

Поглощение питательных веществ — активный физиологический процесс, связанный с жизнедеятельностью корневой системы и надземных органов, т. е. с обменом веществ всего растения [28, 65].

Поступление веществ в корни зависит не только от процессов, происходящих в самом растении, но и от условий окружающей среды — концентрации веществ в почвенном растворе, влажности, реакции среды и т. д. [48]. Большая роль в этом процессе принадлежит микроорганизмам, которые, как указывалось выше, питаются корневыми выделениями. Е. И. Ратнер [56] указывает, что растение, вызывая размножение микроорганизмов около корней, обеспечивает себе мощный дополнительный фактор воздействия на почву.

При скоплении микроорганизмов около корней обеднения прикорневого слоя почвы питательными веществами не происходит. Это объясняется тем, что в зоне корня активно протекает процесс минерализации веществ.

Преобразование нерастворимых соединений почвы и удобрений в доступные для растений питательные вещества осуществляется микроорганизмами различных физиологических групп.

В зоне корневой системы преобладают аммонифицирующие бактерии, которые участвуют в разложении азотистых, органических соединений почвы и удобрений — растительных остатков, гумуса, клеток отмерших микроорганизмов и др. Эти микроорганизмы, выделяющие комплекс протеолитических ферментов — эктопротеаз, широко распространены на корнях и в ризосфере.

Некоторые виды почвенных споровых бактерий являются активными аммонификаторами, однако их численность в ризосфере невелика. Здесь преобладают неспоровые виды бактерий, способные использовать разнообразные азотистые органические соединения.

Значение аммонифицирующих бактерий для растений было доказано следующим образом: кукурузу выращивали в стерильных условиях на среде Прянишникова, в которую в качестве единственного источника азота добавляли пептон. В этих условиях растения были угнетены. После внесения в среду *Ps. fluorescens* (микроорганизм, широко распространенный в корневой зоне растений) условия азотного питания кукурузы улучшились. Сухая масса растения в этом варианте составила 1,33 г, а в варианте без бактерий — 0,45 г [33].

Наряду с азотом одним из важнейших элементов, необходимых растениям, является фосфор. Однако основная его часть (до 50% и более от общего запаса) входит в состав органических соединений, не усваиваемых растениями. Кроме того, он образует слаборастворимые неорганические соединения, которые также не могут использоваться растением.

Было показано, что овес и подсолнечник, почти не усваивавшие трехкальциевый фосфат в стерильных условиях, активно потребляли его в присутствии корневой микрофлоры [100].

Ячмень в нестерильных условиях использовал в 3 раза больше фосфора (^{32}P) из органических соединений лецитина (меченного по фосфору), чем в стерильных [30].

Бактерии, растворяющие фосфаты кальция и минерализующие органофосфаты, в больших количествах встречаются в ризосфере и особенно на корнях растений. В связи с тем, что в почве на некотором удалении от корней насчитывалось 33,7 млн., в ризосфере — 187 млн. и на корнях — 640 млн. (на 1 г сухих корней) бактерий, растворяющих трехкальциевый фосфат, их соотношение в почве, в ризосфере и на корнях составило 1 : 6 : 16 [106]. Количество бактерий — минерализаторов органофосфатов — на корнях пшеницы в дерново-подзолистой почве составляло 14% от общего числа корневых микроорганизмов [50].

Установлено, что способностью освобождать фосфаты из нерастворимых соединений обладают различные виды

почвенных [43, 50, 100] и многие виды корневых микроорганизмов — *Ps. radiobacter*, *Ps. fluorescens*, *Myc. globiforme*, *Bact. agile*, *Bact. liquefaciens*, *Bact. nitrificans* и др. [83].

Таким образом, живущие на корнях и в ризосфере бактерии, разлагая органические и неорганические соединения азота и фосфора, играют важную роль в снабжении растений питательными веществами.

Передвижение растворенных питательных веществ из почвы в зону ризосферы происходит несколькими путями: вместе с током воды, омывающим корень, путем диффузии из почвы к корням по градиенту, т. е. благодаря разности концентраций почвенного раствора около корня и в самой почве. Скорость такой диффузии, установленной для ^{32}P в солончаковой глине, была равна $4 \times 10^{-11} \text{ см}^2/\text{с}$ [91].

Подсчитано, что в объеме почвы, равном 662 мл, длина корней ржи составляла 6,4 м, их поверхность — 503 см², общая длина корневых волосков на этих корнях равнялась 1649,4 м, их поверхность — 7677 см² [129]. Несмотря на столь огромную поглощающую поверхность корневой системы, ее контакт с почвенным слоем невелик. Толщина его равна длине корневого волоска. Подсчеты показали, что используемый растением объем почвы составляет около 1% от общего [91].

Существует мнение, что, кроме перечисленных выше механизмов передвижения веществ к корню как к месту их наибольшего потребления, эти вещества могут также передвигаться по гифам грибов и цепочкам живых бактериальных клеток. Такая возможность была доказана рядом лабораторных опытов. Бактерии или грибы высевались в длинную трубку на голодную питательную среду. Питательные вещества вносили с одного конца трубки. Нормальный рост микроорганизмов наблюдали по всей длине трубки. Это свидетельствует о том, что необходимые микроорганизмам вещества передавались по клеткам бактерий или гифам грибов [82].

В опытах с радиоактивным фосфором он передвигался по гифам грибов *Phycomyces nitens*, *Absidia glauca*, *Cheatomium* от очага внесения на одной половине чашки Петри через канавку, разделяющую питательную среду, на другую половину чашки [116]. Распространение ^{32}P в нестерильной почве было значительно более активным, чем в стерильной [29].

Передача веществ на растение является одной из немаловажных функций ризосферной микрофлоры, однако в основе процесса питания лежит их последующая адсорбция на поверхности корня и поглощение цитоплазматической мембраной. Влияние микроорганизмов на эти процессы несомненно.

Потребление микроорганизмами корневых выделений облегчает поглощение питательных веществ корнями растений. При поглощении корневых выделений микроорганизмами нарушается равновесие между концентрацией веществ в клетках корня и наружным раствором.

Органические соединения, диффундируя из корня и частично адсорбируясь на его поверхности, затрудняют поступление в корень катионов и анионов. У многих растений корневые выделения обладают значительной вязкостью и скапливаются на кончиках корней, образуя подобие чехла [81]. Гелеобразное вещество, из которого состоит такой чехол, представляет собой высокомолекулярный полисахарид, дающий положительную реакцию на гемицеллюлозу и пектин [69]. Удаление слоя органических веществ с поверхности корня усиливает обменные процессы между корневой системой и внешней средой. Это доказано в опытах с кукурузой. Растения выращивали в сменяемых и в бессменных растворах. Оказалось, что в сменяемом растворе за вегетационный период накапливалось 1136 мг органических веществ в виде выделений растений, а в бессменном — 486 мг [23]. В другом опыте в сменяемом растворе корни кукурузы выделили 15,4 мг углерода (в пересчете на 1 м² поверхности корня), а в бессменном — только 7 мг, корни гороха — соответственно 20,1 и 8,6 мг [37].

При удалении органических соединений с корней путем обработки их перманганатом калия наблюдалось резкое (в 4 раза) увеличение поступления фосфора (³²P) в ткань корня [20].

При повторном выращивании кукурузы на стерильной питательной среде с накопившимися в ней корневыми выделениями развитие растений задерживается, а содержание аминокислот и сахаров в среде увеличивается. Микроорганизмы, внесенные в среду, используя органические соединения, улучшили условия корневого питания растений. В этом опыте содержание аминокислот в стерильном варианте составило 750 мкг (в пересчете на

1 растение), сахаров — 7960 мкг, в бактеризованном — соответственно 367 и 3480 мкг. Сухая масса одного растения составила в первом случае 0,38 г, во втором 0,85 г [62].

Влияние микроорганизмов на ионный обмен между корневой системой и окружающей средой доказано экспериментально. Кукурузу выращивали в стерильном питательном растворе и в таком же растворе, но с добавлением культуры корневых микроорганизмов. Через 5 нед растения перенесли на несколько часов в раствор, содержащий радиоактивный фосфор, а затем определили поступление фосфора в листья. Оказалось, что в варианте с микроорганизмами ^{32}P поступает в растение в 2,5 раза быстрее [34].

Размножаясь за счет корневых выделений, микроорганизмы в процессе жизнедеятельности выделяют ряд метаболитов, в состав которых входят физиологически активные вещества, стимулирующие рост растений. Это является также одной из причин лучшего развития растений на нестерильных субстратах. Поглощаемые вещества, вступая в связь с веществами плазмы, включаются в обмен, протекающий в клетках и тканях растений.

Используя методы стерильных культур и радиоактивных изотопов, И. И. Колосов [28] установил, что в растениях кукурузы превращения поглощаемых минеральных соединений азота и фосфора в органические соединения происходят быстрее в присутствии комплекса корневых микроорганизмов, чем в стерильных условиях. Количество органических соединений азота в пасоке, подаваемой 1 г корней в стерильных условиях, составило 1,19 мг, или 32,3% к общему количеству в ней азота, а в присутствии комплекса корневых микроорганизмов — 1,96 мг, или 44,2%.

Была установлена также связь между поглощением веществ корнями и их дыханием [63], которое является одним из основных показателей жизнедеятельности растительных тканей и активизируется в присутствии корневой микрофлоры (табл. V.3).

При изучении сущности действия микрофлоры на процесс обмена веществ в растениях, и в частности на процессы, протекающие в корнях, было установлено, что микроорганизмы, из которых состоят микробные комплексы, обладают разной активностью — наряду с актив-

ными стимуляторами выявляются культуры слабоактивные и неактивные.

Дальнейшие исследования [16, 64] показали, что все активные культуры отличаются повышенной способностью синтезировать витамины. С корней разных растений было выделено 23 штамма типичных корневых бактерий *Proteobacterium*. Все они обладали одинаковыми физиологическими свойствами — разжижали желатину, пептонизировали молоко, гидролизovali крахмал и т. д., но резко различались по способности синтезировать витамины. Одна группа (8 штаммов), которая по морфологическим признакам была отнесена к *Pr. johnsonii*, накапливала в среде значительное количество тиамина, пантотеновой и никотиновой кислоты, пиридоксина, инозита и биотина, другая (15 штаммов), относящаяся к виду *Pr. flavum*, продуцировала лишь небольшое количество инозита, биотина и никотиновой кислоты. Чтобы сравнивать действие метаболитов этих групп микроорганизмов на рост проростков, микроорганизмы выращивали в жидкой питательной среде, в которой накапливались продукты их биосинтеза, в том числе витамины. Полученные культуральные жидкости разводили водой и использовали для замачивания в них семян различных растений. Контролем служили семена, замоченные в воде и в растворе

Таблица V.3
Влияние корневой микрофлоры на активность дыхания корней и содержание питательных веществ в растениях кукурузы (в фазе II листьев) (сводная таблица по Е. Х. Ремпе и О. Г. Калтаговой)

Вариант опыта	Масса 1 расте- ния, г	Поглощение O ₂ корнем, мл/ч на 1 г сухого вещества	Концентрация элементов питания										
			в пасоке, мг на 100 г					в надземной массе, %					
			NH ₄	NO ₃	амино- кислот	общего азота	P ₂ O ₅	в надземной массе, %			в корнях, %		
								N	P	K	N	P	K
Стерильные растения Комплекс корневых бак- терий	14,7	297	6,8	29,6	41	25	44	2,50	1,1	4,27	1,90	1,01	2,48
	16,0	598	2,4	43,7	49	30	67	2,81	1,4	5,08	2,20	1,15	2,92

витаминов в концентрации, соответствующей таковой в культуральной жидкости *Pr. johnsonii*.

О стимулирующей активности культур судили по интенсивности роста проростков, которую определяли весовым методом (табл. V.4).

Результаты, приведенные в таблице, а также имеющиеся в литературе многочисленные данные [11, 27, 60]

Таблица V.4

Влияние микробных метаболитов и витаминов на рост корешков огурцов и проростков пекинской капусты

Вариант замачивания семян	100 корешков огурцов		100 проростков пекинской капусты	
	мг	%	мг	%
<i>Контроль</i>				
Вода (контроль)	170	100	239	100
Раствор витаминов	240	141	307	128
<i>Слабые продуценты витаминов</i>				
Культуральная жидкость штаммов:				
1	176	103	242	101
12	182	107	243	101
14	173	102	242	101
<i>Активные продуценты витаминов</i>				
Культуральная жидкость штаммов:				
25	238	140	315	132
38	231	136	282	118
426	250	247	319	133
P% = 1,6;	2Sd = 4,5		P% = 1,4;	2Sd = 5

свидетельствуют о том, что микробы — активные продуценты витаминов, действуют на ростовые процессы аналогично раствору витаминов.

Несмотря на то, что растения синтезируют витамины, добавочное обеспечение их этими жизненно необходимыми веществами в ряде случаев улучшает рост и развитие. Это объясняется тем, что не всегда синтез витаминов в растениях протекает достаточно энергично. По данным К. Е. Овчарова [46], на этот процесс оказывают большое влияние факторы внешней среды: климат, удобре-

ния, наличие микроэлементов, кислотность почвы и т. д. Особенно нуждаются в дополнительном снабжении витаминами проростки. Возможность передачи витаминов от бактерий растениям была доказана путем культивирования корневого микроорганизма *Ps. fluorescens* на жидкой среде Чапека с тиаминном, меченным ^{35}S , и последующим внесением отмытых от среды бактериальных клеток в раствор Кнопа, на котором выращивали проростки пшеницы. Уже через 10 дней в растениях обнаружили 15—16% тиамина, переданного бактериями [19]. Витамины, синтезируемые ризосферными микроорганизмами, частично выделяются ими в почву и могут оттуда поступать в корни [51].

В настоящее время доказано, что наличие витаминов в почве положительно влияет на рост и развитие растений и что микроорганизмы являются одним из основных поставщиков этих веществ в прикорневой зоне [32]. Установлено также [13, 18, 19], что в ризосфере

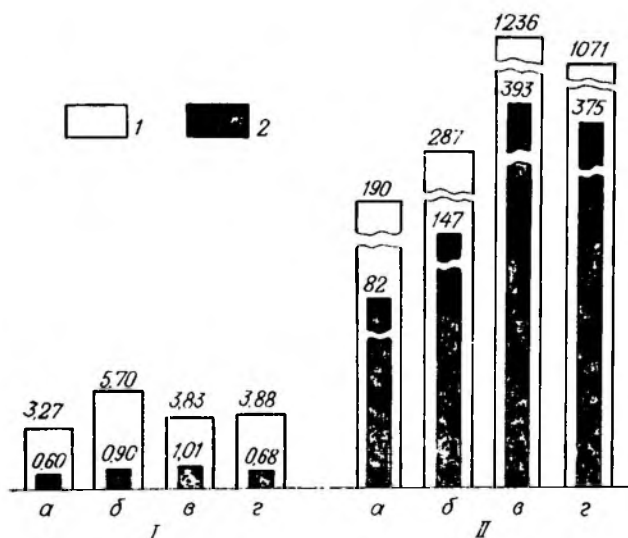


Рис. V.1. Влияние удобрений на размножение микробов—продуцентов витаминов—в прикорневой почве и в почве вне ризосферы пшеницы (вегетационный опыт):

I — почва вне ризосферы; II — прикорневая почва; а — без удобрений; б — NPK; в — навоз; г — NPK+навоз; 1 — общее количество микроорганизмов, млн. в 1 г почвы; 2 — ауксоавтотрофов, млн. в 1 г почвы

растений значительно больше микробов — продуцентов витаминов, чем в почве, удаленной от корней (рис. V.1).

На размножение аукоавтотрофных микроорганизмов в почве и в ризосфере растений влияют вносимые удобрения. Органические удобрения (навоз, компосты) не только сами содержат биологически активные вещества, но и активизируют жизнедеятельность почвенной и ризосферной микрофлоры, которая становится источником накопления витаминов в почве и в ризосфере. Действие минеральных удобрений в этом отношении слабее.

Влияние удобрений на размножение микробов-продуцентов витаминов в зоне корней пшеницы изучали в вегетационном и полевом опытах [1, 13]. В вегетационном опыте почва легкосуглинистая, дерново-подзолистая, среднеокультуренная с рН солевой вытяжки 5,4.

Образцы прикорневой почвы пшеницы брали с разных фонов удобрений, высевали на относительно полноценную по витаминному и аминокислотному составу питательную среду. Для выявления микроорганизмов, синтезирующих тот или иной витамин, проводили исследования методом отпечатков с полноценной среды на среды, из которых был исключен тот или иной витамин, либо весь их комплекс с последующими пересевами выросших культур на этих средах.

Общее количество микроорганизмов в ризосферной почве, обнаруживаемое на полноценной питательной среде в вариантах с внесением удобрений, значительно превосходило их численность в контроле. Особенно возросло их количество (в 5—6 раз) по фону органических удобрений. Абсолютная численность бактерий, синтезирующих витамины группы В, в условиях вегетационного опыта увеличилась в ризосфере молодых растений по фону НРК в 1,5—2 раза, а по фону навоза и смеси удобрений — в 4—5 раз по сравнению с контролем.

Положительное влияние удобрений на размножение микробов — продуцентов витаминов было доказано в полевом опыте бывш. Мироновской селекционно-опытной станции; изучали образцы, взятые из опыта, заложенного в 1929 г. Пшеница сорта Мироновская 808 размещена на трех полях 10-польного севооборота с многолетними травами. Исследовали следующие фоны удобрений: без удобрений (контроль); внесение 20 т навоза на 1 га при перепашке занятых паров под озимую пшеницу; внесение $N_{30}P_{40}K_{40}$ ежегодно под все культуры с изменением

нормы в зависимости от высеваемой культуры. Содержание гумуса в пахотном горизонте составляло 3,85—4% (данные С. В. Сухобрус и А. Я. Степаненко). Результаты опыта приведены в табл. V.5.

Оказалось, что в севообороте па высоком агрофоне (урожай в контроле 25,1 ц с 1 га) внесение минеральных удобрений, так же как и павоза в почву, богатую гумусом, значительно стимулировало размножение ауксоавтотрофных микроорганизмов.

Помимо микроорганизмов — продуцентов витаминов, в составе корневой и ризосферной микрофлоры встречается ряд видов, способных к биосинтезу ауксинов. Ауксины, как и витамины, являются физиологически активными веществами, под действием которых повышается интенсивность дыхания тканей и в связи с этим активизируется обмен веществ. Было показано, например, что процесс дыхания в клетках нижней части стеблей черенков фасоли, не обработанных гетероауксином, происходил менее активно, чем у обработанных [7]. Клетки, обогащенные гетероауксином, становятся как бы центрами притяжения воды и питательных веществ. Установлено, например, что обработка нижних концов черенков ряда древесных пород гетероауксином усиливает передвижение веществ к обработанным участкам, в связи с чем умень-

Количество микроорганизмов—продуцентов витаминов в прикормовой почве пшеницы в условиях полевого опыта с многолетним применением удобрений

шается количество сахаров, P_2O_5 и N в листьях и верхних междоузлиях, а на обработанных участках усиливается процесс корнеобразования [80, 89]. На этом факте основан метод определения гетероауксина в растворе [79]. Метод широко используется для выявления микробов—стимуляторов корнеобразования в корневой и ризосферной микрофлоре (рис. V.2).

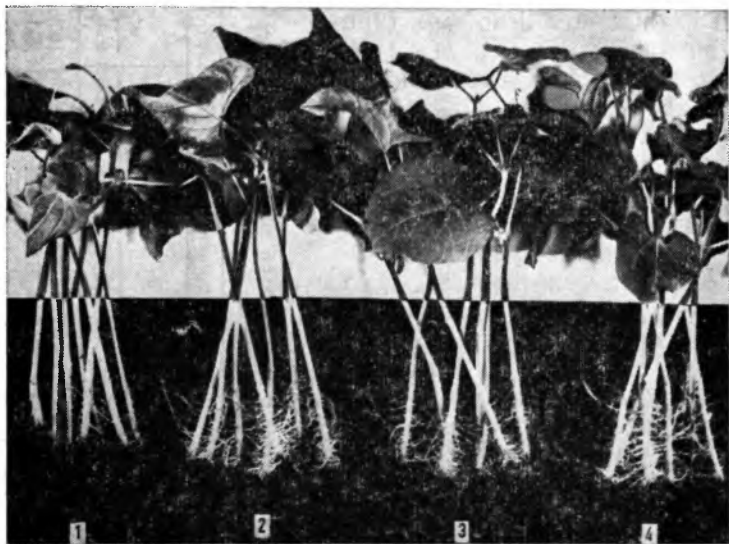


Рис. V.2. Влияние микробов-стимуляторов на количество образовавшихся корней у черенков фасоли:

1 — черенки выдержаны в воде 7 сут; 2—4 — черенки выдержаны 6 ч в разведенных культуральных жидкостях микробов-стимуляторов, а затем 7 сут в воде

Исследование хроматографическим методом метаболитов отобранных микроорганизмов-стимуляторов подтвердило наличие в составе этих метаболитов β -индолилуксусной кислоты [15].

В некоторых случаях под влиянием стимулятора не только увеличивается количество корешков, но и ускоряется их рост в длину. Исследования показали, что такое ускорение роста наблюдается под влиянием культур, которые синтезируют комплекс веществ—ауксины и витамины.

Действие микробных метаболитов на рост корней отмечалось многими исследователями [11, 32, 63, 64 и др.]. В результате быстрого роста корней и связанного с этим усиленного поглощения питательных веществ из почвы повышается урожай.

Таким образом, корневые и ризосферные микроорганизмы в процессе жизнедеятельности минерализуют органические вещества и переводят их в формы, доступные для растений, создают условия для усвоения пищи растением; многие микроорганизмы синтезируют стимуляторы роста, интенсифицирующие процессы обмена веществ в тканях растений; под влиянием микробных метаболитов активизируется рост корневой системы. Все это благоприятно сказывается на урожае.

МИКРОФЛОРА ФИЛЛОСФЕРЫ И ЕЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАСТЕНИЙ

Общие сведения о микрофлоре филлосферы и об условиях ее обитания на растениях. Впервые R. Birgi [94] в 1903 г. обнаружил микроорганизмы на зеленых частях растений. В дальнейшем эта микрофлора интересовала исследователей в связи с тем, что была доказана ее роль в процессах, происходящих при силосовании зеленой массы и хранении зерна. В составе эпифитной микрофлоры обнаружили условных паразитов растений и антагонистов к фитопатогенным грибам. Кроме того, было установлено, что эпифитная микрофлора оказывает влияние на процесс корневого питания и обмен веществ растений.

Источником эпифитной микрофлоры у однолетних растений являются сами растения, их семена, растительные остатки и зимующие почки, а также почва. У многолетних растений микроорганизмы попадают на листья из зимующих почек. При посеве стерильных семян в нестерильную почву и выращивании растений под стеклянным колпаком для изоляции от окружающего воздуха зеленые проростки заселяются микроорганизмами из почвы. Очевидно, эпифитные микроорганизмы составляют значительную часть неспоровой микрофлоры почвы и могут существовать не только за счет выделений растений, но и за счет других источников органического вещества. Например, многие типичные представители эпифитов были обнаружены в комплексах микроорганизмов, участвующих в разложении гуматов [41].

Все растущие части растений очень быстро заселяются микрофлорой, в том числе и в условиях, исключающих ее попадание из воздуха, причем на растениях оказываются не только имеющие жгутики формы, но и неподвижные, такие, как микобактерии, сарцины и дрожжи. Это было установлено следующим образом: дрожжевые организмы *Rhodotorula aurantiaca*, нанесенные на семена (менее 100 тыс. клеток на одно семя), обнаруживались затем в смыве с растения, выросшего из этого семени, и их количество резко возрастало (до нескольких миллионов). Микроорганизмы, попадая на растущие участки стебля или листа и другие части растений, первоначально соприкасающиеся с почвой, передвигаются вместе с растущими тканями. В этом можно убедиться, наблюдая за передвижением меток, нанесенных тушью на проростки (рис. V.3).

У эпифитных микроорганизмов в процессе эволюции выработался ряд особенностей, позволяющих отнести их



Рис. V.3. Передвижение меток по мере роста кормовых бобов (по Л. А. Иванову)

к особой экологической группировке, для которой поверхность растений является нормальной средой обитания. Характерными чертами микрофлоры филлосферы являются следующие: 1) способность жить на поверхности растений, не проникая в их ткани, и питаться летучими и нелетучими выделениями растений; это отличает эпифитные микроорганизмы от фитопатогенных видов, которые проникают в растения и питаются тканями растения-хозяина; 2) повышенная устойчивость по сравнению с неэпифитными

микроорганизмами к фитонцидам растений; 3) олиготрофность, способность использовать малые концентрации питательных веществ; 4) устойчивость к периодическому подсушиванию, обусловленная способностью к слизиобразованию (слизь предохраняет их от гибели); 5) повышенная устойчивость многих видов, особенно пигментных, к ультрафиолетовым лучам.

Подтверждением особой адаптации эпифитов к жизни на растениях является отсутствие на поверхности здоровых растений незпифитных микроорганизмов, за исключением занесенных с пылью или насекомыми, а также повышенная по сравнению с корневыми и особенно почвенными видами устойчивость эпифитов к летучим фитонцидам. Так, при выращивании микроорганизмов на среде с разными концентрациями фитонцидов, полученных из чешуек лука, у почвенных микроорганизмов рост прекращался при значительно более низких концентрациях этих веществ, чем у эпифитных. На этом основан метод разделения эпифитных и почвенных микроорганизмов [84].

Источником питания для микроорганизмов флоры служат выделения надземных органов растения.

По данным многих исследователей, при увлажнении зеленой поверхности растений дождем, росой, туманом или в процессе гуттации через их покровные ткани выщелачиваются органические и неорганические вещества. Н. Tukey [132, 133] методом радиоактивных изотопов показал, что вещества, внесенные в питательный раствор, на котором выращивают растения, обнаруживаются в смывах с этих растений и в испарениях из их надземных органов. Было установлено, что легко вымываются (до 10%) Ca, Mg, K, Sr; Fe, Zn, P и Cl выщелачиваются с трудом (не более 1% от их содержания в листе). Основную часть выделений составляют органические вещества: сахара, аминокислоты, органические кислоты, пектиновые вещества, спирты. Выщелоченные из надземных органов вещества частично поглощаются эпифитной микрофлорой, а попавшие в почву могут вновь адсорбироваться корнями либо использоваться ризосферными микроорганизмами.

Согласно новейшим представлениям, выделительные функции листьев не сводятся лишь к пассивному выщелачиванию веществ. Е. А. Мирославов [39], изучая субмикроскопическую морфологию эпидермиса злаков в связи с выделением водорастворимых веществ, пришел к выводу, что эпидермис листа можно характеризовать как высокоактивную ткань, имеющую черты строения, характерные для секреторных клеток.

Кутикула (или кутикулярная мембрана) покрывает эпидермис. Она на 20—22% состоит из кутина. Это биополимер, состоящий из липидов жирных кислот [90].

Физическая структура поверхности листа шероховатая (рис. V.4). Оказалось, что преобладающие в филлосфере эпифитные дрожжи (*Cryptococcus laurentii*, *Rhodotorula glutinis*) обладают липолитической активностью и, растворяя кутин, используют жирные кислоты, благодаря

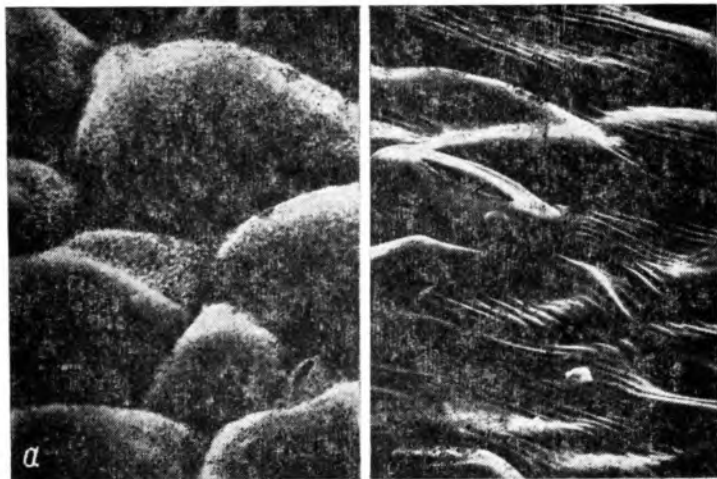


Рис. V.4. Лист клевера (по Р. J. Holloway):

а — верхняя сторона с кристаллическими отложениями поверхностного воска; *б* — нижняя поверхность легкосмачиваемая, без воска

этому кутикула становится более проницаемой для продуктов клеточного метаболизма, и устанавливается постоянное снабжение питательными веществами микроорганизмов филлосферы [27].

Количество и состав микроорганизмов на надземных органах растений. Микроорганизмы на листьях располагаются микроколониями. Это подтверждается как непосредственным наблюдением специально окрашенных препаратов под микроскопом, так и методом последовательных отпечатков на агаре одного и того же листа (рис. V.5).

Для изучения микрофлоры филлосферы сейчас используют следующие методы: высев смывов на питательные среды, отпечатки листьев на агаре, мацерация зеленой массы и высев из соответствующих разведений на

агар, высев на селективные среды. Развитие грибов можно наблюдать непосредственно при выдерживании листьев во влажной камере [98].

Хорошей питательной средой для выделения и учета эпифитной микрофлоры является капустный отвар, обогащенный аминокислотами и некоторыми витаминами (среда 19).

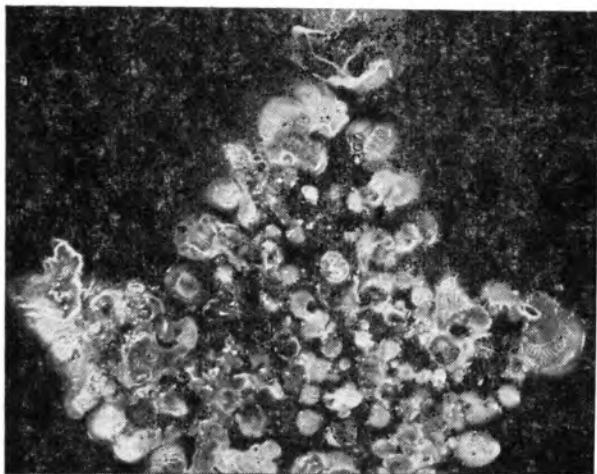


Рис. V.5. Микроорганизмы на поверхности листа черной смородины (отпечаток на агаре; по Г. В. Деловой)

Учет количества микроорганизмов на надземных органах растений с использованием среды 19 показал, что на листьях их меньше, а на цветках и семенах еще меньше, чем на корнях того же растения. Это связано с неодинаковым количеством питательных веществ, содержащихся в выделениях разных органов растений (табл. V.6).

Аналогичные результаты были получены при учете количества микроорганизмов на листьях и корнях деревьев букового леса. Обнаружено (на 1 м² изучаемой поверхности) на листьях 1200, а на корнях — 187 000 млн. бактерий. Из них преобладали флюоресцирующие (37,5%), желтопигментные палочки (31%), стрептококки (14,5%) и лактобациллы (11%) [105].

Количество микроорганизмов на разных частях растений
(высев смыва на среду 19, тыс. на 1 г)

Культура	Корни	Листья	Культура	Цветки	Культура	Семена
Кукуруза	25430	290	Клевер	91	Рожь	12
Гречиха	21470	520	Гвоздика	170	Овес	68
Свекла	44300	34	Жасмин	262	Ячмень	4
Подсолнечник	11800	40	Ромашка	24	Кукуруза	3
Картофель	25800	78	Лютик	193	Овсяница	18
Крыжовник		124	Одуванчик	400		
Яблоня	57750	674	Астра полевая	147		
Среднее	31090	253	Среднее	184	Среднее	21

Более детальные исследования микрофлоры филлосферы растений путем посева на селективные питательные среды и ее сравнение с корневой микрофлорой показали, что соотношение различных физиологических групп и количество микроорганизмов на корнях и листьях неодинаково (табл. V.7): на корнях достигает миллионов, на надземных органах — тысяч. Эти различия варьируют в значительных пределах в зависимости от вида растения и условий внешней среды. Поэтому приведенные в табл. V.7 цифры можно рассматривать как сугубо приближенные, отражающие результат данного анализа, в котором, однако, прослеживается общая закономерность.

Видовой состав микрофлоры поверхности листьев был установлен после идентификации 556 культур, выделенных с проростков (120 культур), листьев (279 культур), семян (38 культур) и цветков (119 культур). Культуры были получены с 53 видов растений, взятых из разных географических точек страны. Для того чтобы выявить, какие микроорганизмы преобладают на растениях, устанавливали соотношение видов на одном и том же растении.

На надземных органах растений обнаружено 18 видов *Pseudomonas*, 1 вид *Azotomonas*, 4 вида *Bacterium*, 8 видов *Flavobacterium*, 12 видов *Mycobacte-*

gium, 2 вида Mycoccus, 1 вид Lactobacillus, 4 вида Microbacterium, 4 вида Micrococcus, 3 вида Sarcina, 1 вид Planosarcina, 2 вида Bacillus, 18 видов дрожжевых организмов и 55 разновидностей бактериальных видов. Все эти микроорганизмы присутствуют на растениях одновременно и потому могут быть выявлены только при исследовании большого количества образцов. Они встречаются на растениях в различных сочетаниях и не обладают специфической приспособленностью к отдельным видам растений. Последнее подтверждается наличием одних и тех же видов на разных растениях, а также способностью эпифитной микрофлоры размножаться на листьях одного и того же вида растений [10].

Дрожжевая флора на поверхности растений изучена довольно подробно [9, 26, 120]. Особенно большое количество дрожжеподобных микроорганизмов обнаруживается на листьях кустарниковых и древесных пород. Одни из них относятся к родам Rhodotorula и Sporobolomyces, имеющим розовые и красно-оранжевые колонии, Cryptococcus — колонии беловатые, другие — к дрожжеподобным организмам из несовершенных грибов порядка Nephthales, к родам Aureobasidium (Pullularia), Hormiscium, Oospora. Кроме бактериальной и дрожжеподобной флоры, на растениях встречаются микроскопические

Таблица V.7

Состав микрофлоры, обнаруженной на корнях и листьях пшеницы и черной смородины, тыс. на 1 г сырой массы

Культура	Анализируемая часть растения	Аммонификаторы на питательной воде	Денитрификаторы на среде Гилья	Маслянокислые на картофельной среде	Clostridium pasteurianum на среде Виноградского	Целлюлозо-разлагающие на среде Гутчинсона	Актиномицеты на крахмало-аммиачной среде
Пшеница	Корни	25000	250	6000	0,250	1,3	10
	Листья	2500	2,5	0,006	0,013	0	0
Черная смородина	Корни	25000	600	2500	6000	6,0	40
	Листья	600	25	0,025	0,060	0,013	0,2

мицелиальные грибы Fungi Imperfecti (табл. V.8).

На поверхности листьев грибы активно растут, образуют споры, располагаются в основном вдоль жилок

Т а б л и ц а V.8

Количество грибов на листьях разных растений
(метод отпечатков на подкисленном картофельном агаре)

Количество грибов	Овес	Бобы	Конопля	Свекла сахарная	Черная смородина
В 1 г зеленой массы	675	1185	1341	1072	1626
На 1 см ² поверхности	8	17	15	16	17

Примечание. Листья взяты в июле, обнаружено преобладание гриба *Cladosporium*.

листа. Обычно преобладают: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Aureobasidium* (*Pullularia*), *Botrytis*. В ряде случаев также встречается большое количество *Fusarium*, *Macrosporium*, *Aspergillus* и др. [87, 66].

Подробное изучение грибной флоры листьев платана [121] показало, что в течение вегетационного периода состав грибов на листьях меняется: вначале, при прорастании почек, преобладает *Aureobasidium*, затем появляются *Cladosporium* и еще позднее *Epicoccus*. На ранней стадии развития *Aureobasidium* обнаруживается на поверхности листьев в виде скопления темных клеток в слизи, затем оболочка гиф превращается в темноокрашенную толстостенную мембрану, образуются овальные многоклеточные споры. В этой стадии гриб очень устойчив к ультрафиолетовому облучению и высыханию. На листьях сахарной свеклы преобладают те же виды грибов [132]. Они же хорошо развиваются на средах, содержащих глюкозу, фруктозу, сахарозу и аминокислоты в количестве, соответствующем таковому в выделениях листьев.

Кроме сапрофитной микофлоры, в ряде случаев на растениях живут грибы-паразиты. Их дальнейшее развитие во многом зависит от наличия бактерий-антагонистов в составе эпифитной микрофлоры.

ПОЛЕЗНЫЕ СВОЙСТВА ЭПИФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИХ РОЛЬ В ЖИЗНИ РАСТЕНИЙ

Значение микрофлоры в жизни растений многообразно — ризосферные микроорганизмы воздействуют на окружающую среду, т. е. почву, посредством выделяемых ими ферментов и, как было показано выше, принимают участие в процессе корневого питания растений.

Эпифитные микроорганизмы, развиваясь на поверхности всех надземных органов растения, выделяют продукты жизнедеятельности, которые могут проникать в ткани. В связи с работами по внекорневым подкормкам был установлен факт поглощения листьями различных веществ, в том числе сложных органических соединений, таких, как витамины [55], антибиотики [31], аминокислоты [57], гиббереллины [85]. Эти работы позволили предположить, что в ткани растений могут поступать физиологически активные вещества, имеющиеся в продуктах обмена эпифитных микроорганизмов. Очень малые количества витаминов и ауксинов действуют как катализаторы ряда жизненно важных процессов. Поэтому вполне вероятно, что они могут существенно влиять на продуктивность растений.

Воздействие микроорганизмов на растение начинается с самых начальных стадий его развития. Высейнные семена набухают, и из них экзосмируется некоторое количество питательных веществ (сахаров, аминокислот). За счет этих веществ на семенах и растущих проростках бурно размножаются микроорганизмы, имеющиеся на сухих семенах и попавшие на них из почвы. По данным А. Rovira [123], на 5 сухих семенах овса было обнаружено 3 тыс. бактерий, через день на этих же, но набухших семенах их насчитывалось уже 58 тыс., а через 3 дня на наклюнувшихся семенах — до 840 тыс.

Некоторые представители микрофлоры, концентрирующейся вокруг прорастающих семян, могут проникать в имеющиеся на этих семенах травмы и угнетать прорастание, другие — выделяют антибиотики и сдерживают размножение фитопатогенных видов, третьи — стимулируют прорастание семян. Около 40% всех микроорганизмов, размножающихся на прорастающих семенах, в той или иной степени являются стимуляторами роста.

Выше на примере корневых микроорганизмов было показано, что сущность стимулирующего действия микрофлоры на растения заключается в обогащении последних физиологически активными веществами, в том числе витаминами и ауксинами, которые активируют процессы обмена веществ в растениях.

Микробы-стимуляторы широко распространены в почве, в ризосфере растений и на надземных органах. Так, из 192 культур бактерий, выделенных из различных почв нашей страны, 40% образовывали гетероауксин и около 50% синтезировали витамин В₁ [32]. Способность к биосинтезу гетероауксина и витаминов группы В обнаружена у 64 штаммов актиномицетов из 95 [3].

Среди эпифитных микроорганизмов, выделенных с надземных органов растений, многие оказались активными продуцентами витаминов и гетероауксина (табл. V.9).

Т а б л и ц а V.9

Эпифитные микроорганизмы, синтезирующие
витамины и гетероауксин

Синтезируемые вещества	Изучено культур				Не синте- зирую- щие дан- ное ве- щество, %
	Всего	Из них продуцентов			
		всего	в том числе активных		
			коли- чество	%	
Тиамин	34	33	13	39	3
Пиридоксин	35	27	14	52	23
Пантотеновая кислота	35	27	12	46	26
Никотиновая кислота	35	26	7	27	26
Биотин	35	25	20	80	28
Витамин В ₁₂	34	16	7	44	53
Гетероауксин	35	18	6	33	51

Наиболее активными культурами, синтезирующими комплекс из 6 витаминов, оказались *Ps. aurantiaca*, *Ps. liquefaciens*, *Promyobacterium johnsonii*, *Mycobacterium phlei*.

По 5 витаминов образовывали 13 культур. В числе культур, активно синтезирующих гетероауксин, следует отметить *Escherichia coli* (-aerogenes), *Fl. aurantia-*

cum, *Mycobacterium rubrum*, *Mycobact. album*, *Aureobasidium pullulans*.

В присутствии триптофана биосинтез гетероауксина усиливается.

Микроорганизмы филлосферы играют важную роль в повышении содержания фитогормонов (индолилуксусной кислоты и гиббереллинов) в растениях. Существует предположение, что большая часть ауксинов, содержащихся в растениях, образуется эпифитными микроорганизмами, которые используют для этой цели выделяемый растениями триптофан. Было показано, что если на поверхность листа нанести эпифитные микроорганизмы с введенным в них триптофаном, меченным ^{14}C , то они превращают последний в ИУК, которую затем можно обнаружить в растениях. Стерильное растение оказалось неспособным переводить ^{14}C -триптофан в ИУК.

Содержание ауксинов в нестерильных растениях гороха, огурцов, кукурузы было в 2—5 раз выше, чем в стерильных. Повторное заражение стерильных растений бактериями вызывало увеличение содержания в них ИУК до уровня нестерильных растений [75, 109, 112].

Наглядное подтверждение стимулирующего влияния продуктов жизнедеятельности микробов — активных продуцентов витаминов и ауксинов — на обмен веществ растений, энергию прорастания семян, рост проростков и

Таблица V.10

Влияние культуральных жидкостей микробов-стимуляторов на обмен веществ и урожай кукурузы

Вариант замачивания семян	Гидролитические ферменты, мг на 10 г сырого вещества		Хлорофилл, мг на 100 г сырого вещества		Урожай, г	
	Протеаза, мг	Аминного азота	В фазе 8—10 листьев	К концу вегетации	Сухая масса 100 проростков	Средняя масса на 1 сосуд ($M \pm m$)
Вода (контроль)	0,0190	115	120	58	28,0	283 \pm 12
Культуральная жидкость штаммов:						
171	0,0497	160	165	73	32,9	328 \pm 11
513	0,0602	168	176	74	32,5	349 \pm 14
650	0,0287	152	90	73	33,8	331 \pm 12

урожай растений получено в последнее время многими авторами [11, 12, 27, 36, 61, 103 и т. д.] (табл. V.10, 11).

Исследованиями, проведенными во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии (Ю. М. Возняковская,

Таблица V.11

Влияние микробных метаболитов и витаминов на энергию прорастания семян огурцов
(20 повторностей)

Вариант замачивания семян	Масса 100 проростков, мг			
	Листья		Корешки	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Вода (контроль)	2000 \pm 63	100	700 \pm 63	100
Раствор витаминов группы В	1970 \pm 81	98	1270 \pm 75	181
Культуральная жидкость штамма 426 в разведении 1 : 200	2300 \pm 11	115	1600 \pm 51	228
Суспензия клеток штамма 426	2400 \pm 62	120	1500 \pm 62	214

З. П. Рыбакова, Н. П. Аврова, Ю. С. Оследкин, У. С. Нуржанов, 1963—1970), было установлено, что действие метаболитов микробов-стимуляторов на семена в большинстве случаев аналогично действию на них чистых витаминов. Причем разные партии семян одного и того же сорта растений неодинаково отзываются на их обогащение стимуляторами, в том числе витаминами. Большое значение для получения положительного эффекта имеют способ применения микробов-стимуляторов и условия выращивания растений. Обработка семян путем бактериализации живыми культурами не позволяет контролировать дозу действующего начала. Между тем слишком малая доза не дает стимулирующего эффекта, а слишком большая — может привести к угнетению растений вследствие избытка микробных метаболитов и конкуренции между растениями и бактериями за питательные вещества.

Использование для обработки семян культуральной жидкости, т. е. питательной среды, в которой в процессе выращивания культуры накопились продукты ее жизнедеятельности, позволяет подобрать оптимальные разведения, дающие наибольший эффект.

Культуральные жидкости, богатые витаминами, рекомендуются как заменители витаминов и используются в растениеводстве, в частности при выращивании овощных культур в условиях закрытого грунта, а также при выращивании зеленых подкормок для животных, т. е. в условиях, где для растений созданы оптимальные условия влажности, температуры и питания. Последнее особенно важно, так как стимуляторы роста активизируют процессы обмена веществ в растительном организме — в результате усиливается использование им питательных веществ.

Иллюстрацией сказанному могут служить следующие опыты, проведенные в Ленинградской области.

Семена огурцов сорта Многоплодный замачивали в культуральной жидкости штамма 426, разведенной в 200 раз. Рассаду огурца в фазе 4—5 настоящих листьев высаживали на площади 700 м² в керамзит в условиях гидропонной теплицы. Керамзит увлажняли питательным раствором Чеснокова и Базыриной. Урожай учитывали по декадам в течение 2 мес и определяли по сумме сборов с 28 стеллажей для каждого варианта. Благодаря предпосевному обогащению семян метаболитами микроорганализма — продуцента витаминов — урожай увеличился по сравнению с контролем в среднем за 2 мес на 530 кг (19%) при урожае в контроле 2909 кг.

Эпифитная микрофлора может иметь немаловажное значение для усиления естественного иммунитета растений и предохранения их от некоторых фитопатогенных микроорганизмов.

В составе эпифитной микрофлоры были обнаружены антагонисты к *Fusarium culmorum* и *F. lini* — возбудителям фузариозного увядания пшеницы и льна: *Ps. fluorescens*, *Ps. liquefaciens*, *Mycobacterium globiforme*, *Bac. mesentericus* и *Bac. megaterium* [44]. *Ergw. herbicola* является антагонистом возбудителя мягкой гнили овощей *Ervinia carotovora* [11].

На опытной станции в Охио (Колумбия) С. Лебенем и Г. Дафтом [110, 111] проведена большая работа по изучению роли эпифитной микрофлоры в защите растений от заболеваний. Ими выделены со здоровых листьев огурцов 230 культур бактерий, из которых 186 проверены на наличие антагонистических свойств в отношении грибов (*Alternaria solani*, *Colletotrichum lagenarium*, *Glosterella cingulata*) и бактерий (*Bac. subtilis*, *Escherichia*—

coli и *Xanthomonas vesicatoria*), 43% оказались антагонистами одного и более тестов, в том числе угнетали рост грибов 34 культуры, рост бактерий — 17, рост грибов и бактерий — 30. Не обладали антагонистическими свойствами 105 культур. Была отобрана одна культура — активный антагонист к грибам. Нанесение ее на листья огурцов в виде суспензии предохраняло сеянцы от заражения антракнозом. Из культуральной жидкости этой культуры был выделен антибиотик, который оказался идентичным кумарину, представляющему собой стабильный антигрибный пептид, ранее выделенный из *Ps. antimycetica*.

По имеющимся наблюдениям, споры грибов *Mycosphaerella ligulicola*, *Botrytis cinerea* плохо прорастают в капле воды, нанесенной на лист. Установлено, что причиной этого является размножение в капле сапрофитных бактерий. Бактерии используют питательные вещества, диффундирующие из спор грибов при их прорастании. Кроме того, если гриб уже лизировал клетки листа, бактерии, получая питательные вещества, выделяющиеся из поврежденных клеток, и усиленно размножаясь, также могут сдерживать рост гриба. Однако если нанести на лист большое количество питательных веществ, то усиленно растущий гриб подавляет бактерии [99].

Способность микрофлоры филлосферы ограничивать рост патогенных грибов при определенном уровне поступления питательных веществ подтверждена опытами с сеянцами листовенницы. На растения наносили дрожжи *Sporobolomyces roseus* в воде и в питательном растворе, затем опрыскивали спорами патогенного гриба *Meria laticis*. В варианте с водой заболеваемость сеянцев снизилась, питательный раствор, наоборот, несколько стимулировал развитие гриба [119].

Сапрофитная микрофлора подавляет инфекцию, если последняя вызвана патогеном, находившимся на растении в стадии «резидента» наряду с другими эпифитами. В этом случае эпифитная микрофлора конкурирует с возбудителем болезни за питательные вещества. Доказательством служит совместное нанесение некоторых возбудителей болезни с сапрофитами; развитие болезни задерживается [97].

Для защиты растений от патогенов, внедряющихся в растения через корневую систему, большое значение, как известно, имеют антагонистическая микрофлора ризосферы и общий фунгистазис почвы.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ВЫРАЩИВАНИЯ НА ВЗАИМООТНОШЕНИЯ РАСТЕНИЙ С МИКРООРГАНИЗМАМИ

Рассмотренные выше взаимоотношения отдельного симбиотрофизма, складывающиеся между растениями и микроорганизмами, наблюдаются только при относительно нормальных условиях произрастания растений.

В неблагоприятных условиях, например при недостатке влаги или питательных веществ, ослаблении процесса фотосинтеза или низких температурах, во взаимоотношениях микрофлоры и растений может проявиться ряд факторов, отрицательно влияющих на растения: 1) конкуренция за питательные вещества и биологическое закрепление их, т. е. временное включение в состав бактериальных клеток; 2) восстановление нитратного азота в процессе денитрификации, приводящее к его потере; 3) накопление токсических продуктов в зоне корневых систем; 4) размножение фитопатогенных бактерий и грибов, вызывающих заболевание растений.

Конкуренция между микроорганизмами и растениями за питательные вещества. Микроорганизмам, как и растениям, необходимы азот, фосфор, калий, микроэлементы и т. д. Однако растения получают энергию в процессе фотосинтеза и создают органическое вещество, а бактерии черпают ее из разных форм органического вещества, синтезированного растениями. Если минеральные соли в почве имеются в небольшом количестве, то может возникнуть конкуренция между растениями и микроорганизмами за необходимые для тех и других элементы питания. Это было доказано следующим образом. Овес выращивали в вегетационных сосудах на подзолистой почве по низкому и высокому фосфорному фону (P_2O_5 —0,43 и 0,7 г на 1 кг почвы), в сосуды вносили азотобактер. В результате установили, что с увеличением количества азотобактера на фоне низкой дозы фосфора содержание P_2O_5 в почве сосудов уменьшалось, и урожай снижался. На богатом фосфорном фоне растения не страдали от недостатка фосфора [45].

Конкуренция за азот проявляется особенно резко при попадании в почву органического вещества, богатого клетчаткой, например соломы. В процессе разложения клетчатки целлюлозоразлагающие бактерии или грибы потребляют азот. В среднем на 30 г разложенной клет-

чатки они усваивают 1 г растворимого азота, который берут из почвы или из вносимых удобрений.

При избыточном количестве в почве элементов минерального питания и недостатке органического вещества микроорганизмы добывают себе энергию, разрушая перегной самой почвы, а при ослабленном состоянии растений, растущих в неблагоприятных условиях, могут переходить к паразитическому существованию на их корнях. Так, С. А. Самцевич [69] наблюдал у дубков, зимовавших в сосудах с черноземной почвой, в которую был добавлен легкоусвояемый азот ($0,2 \text{ г NH}_4\text{NO}_3$ на 1 га почвы), обильное размножение на корнях бактерий, которые использовали соединения углерода ткани корней. В результате все мелкие корешки мацерировались и сгнили. В контрольном варианте (без добавления азота) корневая система дубков была хорошо разветвленной и имела нормальную окраску.

Учитывая наблюдаемое в практике земледелия «перехватывание» микрофлорой при определенных условиях запасов минерального азота в почве, В. Р. Вильямс [8] рекомендовал вносить минеральные удобрения одновременно с навозом. Он считал, что в этом случае органическое вещество удобрений будет использоваться микроорганизмами как источник энергии и пищи, а большая часть вносимых минеральных удобрений останется в распоряжении растений. Действительно, установлено, что совместное применение органических и минеральных удобрений значительно повышает эффективность последних.

При поглощении бактериями питательных элементов из почвы происходит закрепление последних в виде нерастворимых в воде органических соединений живой плазмы, поэтому удобрения хотя и не вымываются из почвы, но становятся недоступны для растений.

Иммобилизация азота и фосфора из микробной биомассы происходит постепенно. В первый год растение поглощает 17—24% (от внесенного) азота бактериальных клеток, меченного радиоактивным азотом $^{15}\text{N}_2$ [76]. Фосфор (^{32}P), поглощенный почвенными дрожжами, уже через 10—15 дней становится доступным для сеянцев древесных пород, выращиваемых в песке в вегетационных сосудах.

Поступление фосфора из бактериальных клеток происходит значительно медленнее [86].

Потери азота в процессе денитрификации. Процесс восстановления нитратов в почве до нитритов аммиака или молекулярного азота происходит в результате жизнедеятельности денитрифицирующих бактерий, которые в больших количествах обнаруживаются в ризосфере растений. При восстановлении нитратов до газообразного азота происходит его потеря из почвы. В опытах с применением азотных удобрений, меченных стабильным изотопом азота ^{15}N , было показано, что в зависимости от особенностей почвы и вида удобрения в растения поступает 45—70% внесенного азота, остальной частично (20—40%) остается в почве, а частично (10—25%) теряется в процессе денитрификации [2, 104 и др.].

Денитрифицирующие бактерии восстанавливают нитраты только в условиях недостаточной аэрации. Они используют кислород нитратов для окисления органического вещества, которое служит донатором водорода. Денитрифицирующие бактерии имеют систему ферментов, активирующих кислород нитратов. В связи с этим между количеством восстановленных нитратов и количеством окисленных органических соединений существует определенное соотношение — на 100 мг окисленной глюкозы восстанавливается 300 мг KNO_3 .

Группа денитрифицирующих бактерий на корнях особенно активизируется при обильном снабжении растений нитратным азотом в условиях затрудненной аэрации, например при несвоевременном рыхлении или переувлажнении почвы, при глубокой заделке удобрений и наличии органического вещества.

При соблюдении правил агротехники денитрифицирующие бактерии, размножающиеся в корневой зоне растений, играют положительную роль, так как многие из них являются продуцентами ростовых веществ, а некоторые образуют противогрибковые антибиотики: Кроме того, денитрификаторы одновременно входят в группировку аммонифицирующих бактерий и при нормальной аэрации ведут себя как аммонификаторы, способствуя превращению нерастворимых азотистых соединений почвы в доступные для растений питательные вещества.

Накопление в ризосфере и на растениях вредных и фитопатогенных микроорганизмов. Это явление имеет место обычно при длительных бессменных посевах. В одних случаях наступает так называемое почвоутомление,

в других — накопление фитопатогенных видов, приспособленных к паразитированию на определенных культурах.

Почвоутомление может быть вызвано различными причинами: односторонним выносом питательных веществ, накоплением ионов алюминия, железа и других металлов. Но одной из основных причин является накопление токсических веществ, выделяемых некоторыми микроорганизмами-ингибиторами. Восстановление плодородия «утомленной» почвы достигается введением плодосмена, внесением удобрений, известкованием. Все эти мероприятия изменяют течение микробиологических процессов, в результате плодородие почвы повышается.

Многие виды фитопатогенных грибов и бактерий являются облигатными паразитами. В связи с этим при монокультуре патогены постепенно накапливаются в почве, попадая в нее с растительными остатками или размножаясь в корневой системе. Большое значение в борьбе с этим явлением и, следовательно, с распространением инфекции имеет, как и при почвоутомлении, введение севооборотов и внесение удобрений. Отсутствие растения-хозяина и соответствующих растительных остатков при смене культур, а также размножение почвенных антагонистов при внесении удобрений приводят к снижению численности патогенов и оздоровлению полей.

От обеспеченности растений питательными веществами зависит количество их выделений, а следовательно, размножение эпифитной и корневой микрофлоры, в составе которой всегда присутствуют антагонисты [40].

Взаимоотношения растений с ризосферными и эпифитными микроорганизмами довольно сложны и изучены недостаточно, однако несомненно, что «нормальная» микрофлора сопутствующая растениям, играет существенную положительную роль в их жизни. Эти взаимоотношения весьма разносторонни, и регулирование их является важной задачей.

Указатель литературы

1. Аврова Н. П. Влияние удобрений на размножение микробов—продуцентов витаминов в ризосфере пшеницы и значение последних для получения высококачественных семян. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Вильнюс, 1968, 18 с.

2. Андреева Е. А., Щеглова Г. М. Использование растениями азота почвы и азота удобрений. — «Агрохимия», 1966, № 10, с. 6—19.
3. Андреев Е. И. Грунтови актиноміцети та вищі рослини. Київ, «Наукова думка», 1972.
4. Ахромейко А. И. О выделении корнями растений минеральных веществ. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1936, № 1, с. 215—251.
5. Бабьева И. П., Белянина А. И. Дрожжи ризосферы. — «Микробиология», 1966, т. 35, вып. 4, с. 712—720.
6. Березова Е. Ф. Микрофлора ризосферы льна. — «Труды ВНИИ с.-х. микробиологии за 1941—45 гг.». М., Сельхозгиз, 1949, с. 70—97.
7. Верзилов В. Ф., Рункова Л. В. Влияние условий среды на интенсивность дыхания черенков, обработанных гетероауксином. — «ДАН СССР», 1959, т. 124, № 2, с. 466—468.
8. Вильямс В. Р. Почвоведение. М., Сельхозгиз, 1947.
9. Возняковская Ю. М. Эпифитные дрожжевые организмы. — «Микробиология», 1962, т. 31, вып. 4, с. 616—622.
10. Возняковская Ю. М. Микрофлора здоровых растений. Автореф. дис. на соиск. учен. степени д-ра биол. наук. М., 1964. 32 с.
11. Возняковская Ю. М. Микрофлора растений и урожай. Л., «Колос», 1969.
12. Возняковская Ю. М. Симпозиум по методам микробиологического стимулирования роста и развития растений. — «Микробиология», 1970, т. 39, вып. 3, с. 547—549.
13. Возняковская Ю. М., Аврова Н. П. Влияние удобрений на размножение микроорганизмов—продуцентов витаминов в ризосфере пшеницы. — «Микробиология», 1968, т. 37, вып. 1, с. 131—136.
14. Возняковская Ю. М., Жильцова Г. К. Видовой состав корневой микрофлоры некоторых растений. — «Микробиология», 1958, т. 27, вып. 5, с. 611—618.
15. Возняковская Ю. М., Рыбакова З. П. Способность микрофлоры растений к биосинтезу гетероауксина. — «Бюл. научн.-техн. информации по с.-х. микробиологии», 1961, № 10, с. 8—11.
16. Возняковская Ю. М., Рыбакова З. П. Некоторые новые данные об экологии и свойствах бактерий из рода *Protonobacterium*. — «Микробиология», 1969, т. 38, вып. 1, с. 135—142.
17. Возняковская Ю. М., Широков О. Г. Питательные среды для изучения корневых микроорганизмов. — «Труды ВНИИ с.-х. микробиологии», 1958, т. 15, с. 156—163.
18. Гебгардт А. Г., Дацюк Н. М. Распределение ауксоавтотрофных микроорганизмов в ризосфере пшеницы. — «Микробиология», 1964, т. 33, вып. 1, с. 97—102.
19. Гебгардт А. Г., Дацюк Н. М. Роль почвенных микроорганизмов как продуцентов витаминов в интенсификации протекания физиологических процессов в растениях. — В кн.: Микроорганизмы в сельском хозяйстве. М., Изд-во МГУ, 1970, с. 286—294.
20. Геллер И. А., Табеницкий Д. А. Корневые выделения и питание растений. — «ДАН СССР», 1957, т. 115, № 2, с. 389—391.

21. Горленко М. В. Краткий курс иммунитета растений к инфекционным болезням. М., «Советская наука», 1959.
22. Гродзинский А. М. Выделительные функции растений. — В кн.: Аллелопатия в жизни растений и их сообществ. Киев, «Наукова думка», 1956.
23. Демиденко Т. Д. Из области питания и обмена веществ у высших растений. — «Изв. С.-х. академии им. Тимирязева, посвященные памяти Н. Н. Худякова», 1929, № 3, с. 133—149.
24. Евдокимова Г. А. О численности микроорганизмов в ризосфере злаковых растений. — В кн.: Вопросы численности, биомассы и продуктивности почвенных микроорганизмов. М., «Наука», 1972, с. 230—235.
25. Измайлов С. Ф. Метаболизм и экскреция аминокислот у корней целых растений и изолированных корней в условиях стерильной культуры. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. М., 1968. 26 с.
26. Квасников Е. И. Биология молочнокислых бактерий. Ташкент, Изд-во АН УзССР, 1960.
27. Клишаре А. А. Роль *Pseudobacterium lacticum* 392 в накоплении некоторых витаминов группы В в питательной среде и проростках растений. — «Микробиология», 1972, т. 4, вып. 2, с. 251—255.
28. Колосов И. И. Поглощительная деятельность корневых систем растений. М., Изд-во АН СССР, 1962.
29. Котелев В. В. Значение микрофлоры почвы в передвижении и усвоении фосфора растениями при его очаговом внесении (методом P^{32}). — «Изв. Молд. филиала АН СССР», 1955, № 1 (21), с. 9—15.
30. Котелев В. В., Сабельникова В. И. Влияние бактерий, минерализующих органические соединения фосфора, на усвоение его растениями. — «Изв. Молд. филиала АН СССР», 1955, № 1 (21), с. 3—6.
31. Красильников Н. А. Усвоение корнями растений продуктов жизнедеятельности микробов. — «ДАН СССР», 1951, № 5, с. 878—892.
32. Красильников Н. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. М., Изд-во АН СССР, 1958.
33. Круглов Ю. В. Об аммонифицирующей способности денитрифицирующих бактерий вида *Pseudomonas fluorescens*. — «Труды ВНИИ с.-х. микробиологии», 1958, т. 15, с. 121—127.
34. Круглов Ю. В., Сирота Л. Б. Влияние корневой микрофлоры на поступление фосфора в растения. — «Труды Ин-та микробиологии АН СССР», 1961, т. 11, с. 246—251.
35. Лугаускас А. Ю., Грибаускаене В. Ю. Протеолитическая активность микомицетов, населяющих прикорневую зону и корни клевера. — «Труды АН ЛитССР», 1970, № 2 (52), с. 52—61.
36. Мазунина В. И. Влияние продуктов метаболизма актиномицетов на рост проростков некоторых растений. — В кн.: Сельскохозяйственная микробиология в Казахстане. Алма-Ата, «Наука», 1969, с. 47—51.
37. Мешков Н. В. Влияние корневых выделений гороха и кукурузы на развитие азотобактера и некоторых других почвенных микробов. — «Микробиология», 1950, т. 19, вып. 3, с. 109—114.

38. Мешков Н. В. Корневые выделения высшего растения. [Конференция по вопросам почвенной микробиологии]. М., Изд-во АН СССР, 1953, с. 285—297.
39. Мирославов Е. А. Изучение субмикроскопической морфологии эпидермиса злаков в связи с выделением воднорастворимых веществ. — Ботанический журнал, 1970, т. 55, № 3, с. 379 — 404.
40. Михалева В. В. и др. Некоторые корневые бактерии как антагонисты фитопатогенных грибов. — «Агробиология», 1965. № 1, с. 32—36.
41. Мовчан Н. А. К изучению видового состава микрофлоры, минерализующей перегной. — «Бюл. науч.-техн. информации по с.-х. микробиологии», 1956, № 2, с. 19—23.
42. Мосолов И. В., Ремпе Е. Х., Александровская В. А. О взаимоотношениях высшего растения и микроорганизмов. — «Агробиология», 1959, № 3, с. 425—430.
43. Муромцев Г. С. К вопросу об использовании воднонерастворимых фосфатов почвенными микробами. — «Докл. ВАСХНИЛ», 1955, вып. 5, с. 35—41.
44. Налбандян А. Д. О применении эпифитов-антагонистов для борьбы с фузариозом пшеницы. — В кн.: Применение антибиотиков в растениеводстве. Ереван, 1962, с. 180—184.
45. Образцова А. А. О роли азотобактера в фосфорном питании растений. — «Труды Ин-та физиологии растений АН СССР», 1949, т. 6, вып. 2, с. 199—205.
46. Овчаров К. Е. Роль витаминов в жизни растений. М., Изд-во АН СССР, 1958.
47. Овчаров К. Е., Кизилова Е. Г. Разнокачественность семян и продуктивность растений. М., «Колос», 1966.
48. Петербургский А. В. Агрохимия и физиология питания растений. М., Россельхозиздат, 1971.
49. Петренко М. Б. Микрофлора ризосферы картофеля и влияние ее на развитие растений. — «Труды Укр. НИИ овощеводства и картофеля», 1958, т. 4, с. 221—232.
50. Пиковская Р. И. Мобилизация фосфатов в почве в связи с жизнедеятельностью некоторых видов микробов. — «Микробиология», 1948, т. 17, вып. 5, с. 362—370.
51. Полянская Л. А., Носов А. К., Овчаров К. Е. Значение витаминов во взаимоотношениях растений и почвенных микроорганизмов. — В кн.: Микроорганизмы в сельском хозяйстве. Л., Изд-во ЛГУ, 1963, с. 83—94.
52. Попова Т. Е. Корневая микрофлора винограда на сероземных и луговых почвах Узбекистана. — «ДАН УССР», 1954, № 5, с. 61—66.
53. Пронин В. А., Воронкова Ф. В. Влияние корневой микрофлоры на урожай и качество семян овса. — В кн.: Влияние микроорганизмов и протравителей на семена. М., «Колос», 1972, с. 82—88.
54. Прянишников Д. Н. Представляет ли выделение аммиака корнями растений только посмертное явление. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1938, № 5—6, с. 1348—1355.
55. Ракитин Ю. В., Овчаров К. Е. Влияние аденина и никотиновой кислоты на рост и плодоношение хлопчатника. — «ДАН СССР», 1948, т. 59, № 9, с. 1165—1168.

56. Ратнер Е. И. Питание растений и применение удобрений. М., Изд-во АН СССР, 1962.
57. Ратнер Е. И. и др. Об усвоении растениями аминокислот в качестве источника азота. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1956, № 6, с. 64—82.
58. Ремпе Е. Х. Микрофлора корневой системы при выращивании растений в водных культурах. — «Труды ВНИИ с.-х. микробиологии», 1951, т. 12, с. 56—65.
59. Ремпе Е. Х. Изучение роли корневой микрофлоры в питании растений на простерилизованных субстратах. — «Агробиология», 1959, № 4, с. 590—603.
60. Ремпе Е. Х. Значение для растений витаминов, синтезируемых корневой микрофлорой. — «Физиология растений», 1972, т. 19, вып. 3, с. 663—667.
61. Ремпе Е. Х. Влияние корневой микрофлоры на высшее растение. Автореф. дис. на соиск. учен. степени д-ра биол. наук. Киев, 1972, 39 с.
62. Ремпе Е. Х., Грюнберг Т. М. Качественный и количественный состав корневых выделений стерильных растений кукурузы. — «Сельскохозяйственная биология», 1970, № 5, с. 703—707.
63. Ремпе Е. Х., Калтагова О. Г. Влияние корневых микроорганизмов на развитие и почвенное питание растений. — «Агробиология», 1965, № 5, с. 706—721.
64. Рыбакова З. П. Сравнительное действие витаминов и метаболитов микробов-витаминообразователей на ростовые процессы в прорастающих семенах. — В кн.: Влияние микроорганизмов и протравителей на семена. М., «Колос», 1972, с. 89—94.
65. Сабинин Д. А. Физиологические основы питания растений. М., Изд-во АН СССР, 1955.
66. Савельев В. Ф. До характеристики мікрофлори качанів кукурудзи на півдні України. — Мікробіол. журнал, 1962, т. 24, № 3, с. 39—43.
67. Салеев Р. К. О механизме поглощения веществ корнями растений. — «Физиология растений», 1965, т. 12, вып. 4, с. 569—575.
68. Самцевич С. А. О влиянии условий внешней среды на взаимоотношения между микроорганизмами почвы и высшими растениями. — «Труды Ин-та микробиологии АН СССР», 1961, вып. 1.1, с. 24—33.
69. Самцевич С. А. Взаимоотношения микроорганизмов почвы и высших растений. — В кн.: Микроорганизмы почвы и растения. Минск, «Наука и техника», 1972, с. 3—67.
70. Санкидзе Г. С. Микрофлора ризосферы лавра благородного и ее изменения в связи с внесением удобрений. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. Тбилиси, 1965, 22 с.
71. Сатклифф Дж. Ф. Поглощение минеральных солей растениями. Пер. с англ. М., «Мир», 1964.
72. Скворцов С. С. К вопросу о компонентах летучих фитонцидов. — В кн.: Фитонциды и их роль в природе. Л., Изд-во ЛГУ, 1957, с. 101—105.
73. Скворцов С. С. Некоторые данные о составе и биологической роли летучих органических выделений (фитонцидов). — В кн.: Фитонциды в народном хозяйстве. Киев, 1964, с. 68—71.

74. Сорокина Т. А. Изучение микрофлоры семян и корневой системы коксагыза и ее влияние на рост растений. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. М., 1960. 18 с.
75. Тарасенко А. А. Влияние эпифитной микрофлоры на рост и гормональный обмен проростков кукурузы. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. М., 1972. 20 с.
76. Тарвис Т. В. Имобилизация азота микрофлорой подзолистых почв и его доступность для растений. — В кн.: Экология и физиолого-биохимические основы микробиологического превращения азота. Тарту, 1972, с. 193—198.
77. Творогова А. С. О роли микрофлоры ризосферы растений — эдификаторов в превращениях азота в почве. — Учен. зап. Пермского пед. ин-та, 1968, т. 64, с. 347—350.
78. Токин Б. П. Фитонциды. М., Изд-во АМН СССР, 1951.
79. Турецкая Р. Х. Метод определения активности ростовых веществ по корнеобразованию. — «ДАН СССР», 1947, т. 57, № 3, с. 295—297.
80. Турецкая Р. Х. Физиология действия стимуляторов роста при размножении растений черенками. — «Успехи современной биологии», 1955, т. 40, № 1, с. 68—77.
81. Унтилова Г. И. Характерные особенности корневых выделений у некоторых растений. — «Вісник сільськогосподарські науки», 1960, № 3, с. 68—72.
82. Худяков Я. П. Передача веществ на расстояние по гифам грибов и бактериальным цепочкам из-за пределов ризосферы к корням. — «Конференция по вопр. почвен. микр.», М., Изд-во АН СССР, 1953, с. 184—196.
83. Худяков Я. П., Возняковская Ю. М. Микрофлора корней пшеницы и некоторые ее свойства. — «Микробиология», 1956, т. 25, вып. 2, с. 184—190.
84. Худяков Я. П., Рыжкова А. С. Метод учета количества фитонцидоустойчивых бактерий в почве. — В кн.: Фитонциды и их роль в природе. Киев, 1957, с. 97—100.
85. Чайлахян М. Х. Гиббереллины растений. М., Изд-во АН СССР, 1961.
86. Шестакова В. А. Изучение некоторых сторон взаимоотношений микроорганизмов с древесными растениями. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук. М., 1961.
87. Штеренберг П. М. Эпифитная микрофлора виноградной лозы. — «Агробиология», 1959, № 1, с. 49—53.
88. Эпштейн М. М., Щиголь М. Б. К механизму действия некоторых фитонцидов. Л., Изд-во ЛГУ, 1957, с. 138.
89. Якушкина Н. И., Эрдели Г. С. К вопросу о физиологических изменениях, происходящих в зеленых черенках при их укоренении. — «Бюл. Главн. ботан. сада АН СССР», 1956, вып. 25, с. 94.
90. Baker E. A. Chemical and Physical characteristics of Cuticular Membrans. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 55-65.
91. Barber S. A., Walker J. M., Vasey E. H. Mechanism for the movement of plant nutrients from the Soil and fertilizer to the plant root. — J. of Agr. and Food Chem., 1963, vol. 11, No. 1, p. 204-207.

92. Bonner J. The role of toxic substances in the interactions of higher plants. — «Botan. Review», 1950, vol. 16, No. 1, p. 51-65.
93. Burkhard F. Zur abgabe von Aminosäuren und Amiden in das Nährmedium durch die Wurzeln von *Helianthus Annus L.* — «Planta Archiv für wissenschaftliche Botanic», 1957, Bd. 49, H. 2, S. 210—234.
94. Burri R. Die Bacterienvegetation auf der Oberfläche normal entwickelter Pflanzen. — «Zentrbl. für Bakt. abt. 11», 1903, Bd. 10, S. 756—763.
95. Clark F. E. Soil Microorganisms and Plant Roots. — «Advancis in Agronomy», 1949, vol. 1, p. 241-247.
96. Cook F. D., Lochhead A. G. Growth factor relationships of Soil Microorganisms as affected by proximity to the plant roots. — «Canad. J. Microb.», 1959, vol. 5, No. 4, p. 299-308.
97. Crosse J. E. Interactions between Saprophytic and Pathogenic Bacteria in Plant Disease. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 283-289.
98. Dickinson C. H. Cultural studies of Leaf Saprophytes. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 129-138.
99. Fraser A. K. Growth Restriction of Pathogenic Fungi on the Leaf Surface. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 529-535.
100. Gerretsen F. C. The influence of micro-organisms on the phosphate in take by the Plant. — «Plant and Soil», 1948, vol. 1, No. 1, p. 51-81.
101. Hiltner L. Über nehere Erfahrungen und Probleme auf dem gebiete der Bakteriologie. — «Arb. Deutsch. Landw. Ges.», 1904, Nr. 98, p. 59.
102. Holloway P. J. The Chemical and Physical Characteristics of Leaf Surface. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 39-54.
103. Hussain A., Vancura V. Formation of Biologically active Substances by rhizosphere Bacteria and their effect on plant growth. — «Fol. microbiol.», 1970, vol. 15, No. 6, p. 468-478.
104. Jansson S. L. Balance Sheet Residual Effect of fertilizer Nitrogen in a 6-year Study with N^{15} . — «Soil Science», 1963, vol. 95, No. 1, p. 31-38.
105. Jensen V. The Bacterial Flora of Beech Leaves. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 463-470.
106. Katznelson H., Bose B. Metabolic activity and Phosphatdissolving capability of Bacterien isolates from wheat roots, rhizosphere and non-rhizosphere Soil. — «Canad. J. Microbiol.», 1959, vol. 5, No. 1, p. 79-85.
107. Katznelson H., Lochhead A. G., Timonin M. J. Soil Microorganisms and the Rhizosphere. — «The Botanical Review», 1948, vol. 14, No. 9, p. 543-580.
108. Kaunat H. Zum Problem der Spezifität der Rhizosphären microflora von Kulturpflanzen. — «Zentrbl. für Bakt. Abt. 11», 1963, Bd. 116, Nr. 75, S. 694-709.
109. Kunert R. The Influence of Epiphytic Bacteria on the Content of Extractabl Auxin in Higher Plants. — «Zesz. nauk. Uniw. Torunin», 1970, No. 23, p. 275—281.

110. Leben C., Daft G. C. Control of Leaf diseases by a Bacterium. — «Phytopathology», 1964, vol. 54, p. 898-900.
111. Leben C., Daft G. C. Influen of an epiphytic Bacterium on Cucumber Anthracnose, Early Blight of Tomato and Northern Leaf Blight of Corn. — «Phytopathology», 1965, vol. 55, No. 7, p. 760-762.
112. Libbert E., Manteufel R. Interactions between Plants and Epiphytic Bacteria regarding their Auxin Metabolism VII. The Influence of epiphytic Bacteria on the amount of Diffusible Auxin from corn Coleoptiles. — «Physiol. Plant», 1970, vol. 23, No. 1, p. 93-98.
113. Lochhead A. G. Soil Microbiology. — «Annual Review Microbiol.», 1952, vol. 6, p. 185.
114. Lochhead A. G., Chase F. Qualitative studies of Soil microorganisms V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. — «Soil Science», 1943, vol. 55, No. 2, p. 185-195.
115. Lochhead A. G., Thexton R. H. Qualitative Studies of Soil microorganisms VII. The «Rhizosphere effect» in relation to the aminoacid nutrition of Bacteria. — Canad. J. of research, 1947, vol. 25, No. 1, p. 20-26.
116. Lucas R. L. Transport of phosphorus by fungal mycelium. — «Nature», 1960, vol. 188, No. 4752, p. 763-764.
117. Macura J. The rhizosphere microflora of Sugar beet. — «Folia Biologica», 1958, vol. 4, No. 3, p. 129-135.
118. Macura J. Some Biological and Ecological Aspects of the Rhizosphere Effect. — «Folia microbiologica», 1971, vol. 16, No. 4, p. 328-336.
119. McBride R. P. Micro-organism Interactions in the Phyllosphere of Larch. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 545-555.
120. Menna M. E. Some Physiological characters of yeasts from Soil and Allied Habitats. — J. of Microbiology, 1959, vol. 20, No. 1, p. 13-23.
121. Pugh J. F., Buckley N. G. The Leaf Surface as a Substrate for Colonization by Fungi. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 430-445.
122. Rovira A. D. Plant root excretions in relation to the rhizosphere effect I. The nature of root exudate from oats and peas. — «Plant and Soil», 1956, vol. 11, No. 2, p. 178-194.
123. Rovira A. D. A Study of the development of the root surface microflora during the initial Stages of plant growth. — J. Appl. Bacteriol., 1956, vol. 19, No. 1, p. 72-79.
124. Rovira A. D. Interactions between plant roots and microorganisms. — «Annual review of Microbiology», 1965, vol. 19, p. 241-266.
125. Rouatt I. W., Katznelson H. The comparative growth of Bacterial isolates from rhizosphere and nonrhizosphere Soil. — Canad. J. Microbiology, 1957, vol. 3, No. 2, p. 271-275.
126. Rouatt I. W., Lochhead A. G. Qualitative studies of Soil Microorganisms XIII. Effect of decomposition of various crop plants on the Nutritional groups of Soil Bacteria. — «Soil Science», 1955, vol. 80, No. 2, p. 147-154.
127. Ruinen J. The phyllosphere IV. Cuticle decomposition by microorganisms in the phyllosphere. — «Annal Inst. Pasteur», 1966, vol. 3, No. 3, p. 342-346.

128. Russel H. L. Bacteria in their relation to vegetable tissue. Dissert., Johns Hopkins University, 1892.
129. Russel E. (цит. по А. В. Петербургскому). Обменное поглощение в почве и усвоение растениями питательных веществ. М., «Высшая школа», 1959.
130. Starkey R. L. Interactions between Microorganisms and Plant roots in Rhizosphere. — «Bact. Reviews», 1958, vol. 22, No. 3, p. 154-172. [«Сельское хоз-во за рубежом (земледелие)», 1959, № 3, с. 3—27].
131. Stott M. A. Studies on the Physiology of some Leaf Saprophytes. — In: Ecology of Leaf Surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 203-210.
132. Tukey H. B. Jr. Leaching of Substances from Plants. — In: Ecology of Leaf surface micro-organisms. London—New York, Acad. Press, 1971, p. 67-80.
133. Tukey H. B. Jr., Tukey H. B. Sr. The loss of organic and unorganic Materials by leaching from leaves and other above-ground Plant Parts. — «Proceedings of a Symposium», Bombay, 1962, p. 289-302.
134. Wallace R. H., King H. Nutritional groups of soil Bacteria on the Roots of Barley and Oats. — «Soil Science», 1954, vol. 18, No. 3, p. 282-285.
135. Zagallo A. C., Katznelson H. Metabolic activity of bacteria isolates from wheat rhizosphere and Control Soil. — J. Bacteriology, 1957, vol. 73, No. 6, p. 760-764.

Глава VI. УДОБРЕНИЯ И ПОЧВЕННО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

Эффективное плодородие почвы определяется, с одной стороны, природными свойствами почвы, с другой — вносимыми в нее минеральными и органическими удобрениями. Минеральные удобрения вносят в почвенный слой систематически в большом количестве, они становятся могущественным фактором воздействия на продуктивность почвы. Это заставляет исследовать их влияние на свойства и жизнь почвы. Природные свойства почвы и направленность их изменений при окультуривании важны не только сами по себе, но имеют также значение как фактор, от которого зависит эффективность минеральных удобрений.

По данным Д. М. Аникста [1], повышение урожайности зерновых культур от удобрений подчиняется определенной закономерности. На северных почвах они относительно более эффективны, чем на южных (табл. VI.1). Подобное же явление значительно раньше отмечали И. В. Тюрин и А. В. Соколов [16]. По нашему мнению,

Таблица VI.1

Эффективность азотных удобрений на разных почвах

Почвы	Урожай зерновых в контроле, ц с 1 га	Увеличение урожая от дозы азота 40 кг на 1 га, %
Мерзлотные	11,4	35,1
Дерново-подзолистые	14,2	22,2
Серые лесные	27,2	11,5
Выщелоченные черноземы	24,0	13,3
Обычные черноземы	18,0	8,9

это обусловлено микробиологическими процессами. В менее благоприятных для деятельности почвенной микрофлоры условиях Севера интенсивность мобилизационных процессов ослаблена, отсюда низкая естественная продуктивность почв, поэтому минеральные удобрения действуют сильнее, чем в почвах юга.

Отмеченную закономерность подтверждают экспериментальные данные. Так, А. А. Шамин [17] в вегетационных опытах с дерново-подзолистыми почвами установил, что минеральные удобрения на менее окультуренных, т. е. биологически малоактивных почвах, эффективнее, чем на более плодородных, сильноокультуренных.

Активность почвенной микрофлоры влияет на эффективность удобрений не только по зонам, но и внутри каждой почвенно-климатической зоны.

К настоящему времени у нас и за рубежом накоплен обширный литературный материал о влиянии удобрений на микрофлору и свойства почвы. Имеется много публикаций по влиянию различных удобрений на свойства и состав почвы.

подавляющее большинство исследователей отмечает положительное влияние на почвенную микрофлору минеральных, и особенно органических, удобрений. В удобренных почвах возрастает общая численность микроорганизмов, а подчас наблюдается и смена доминантных видов, входящих в те или иные физиологические группировки. На почвенную микрофлору особенно сильно действуют азотные удобрения, несколько меньше — соли фосфорной кислоты и еще слабее калийные удобрения.

Представляют интерес наши данные о влиянии удобрений на дерново-подзолистую почву, в течение 50 лет получавшую различные удобрения. В среднем на делянку в расчете на 1 га вносили ежегодно по 32 кг N и P_2O_5 , 45 кг K_2O и 20 т навоза (табл. VI.2).

В длительно паровавшей почве численность микроорганизмов резко снижается. Здесь единственным источником органического вещества служил перегной. В этих почвах увеличивается относительное количество проактиномицетов — группировки, способной питаться почвенным перегноем. При внесении минеральных удобрений численность микроорганизмов увеличивается, несколько снижается количество актиномицетов, что связано с некоторым подкислением почв, получавших минеральное удобрение.

Таблица VI.2

**Влияние удобрений на микрофлору дерново-
подзолистой почвы
(средние данные за 50 лет)**

Вариант удобрения	Численность, тыс. в 1 г почвы		
	бактерий	актино- мицетов	грибов
<i>Бессменно пар</i>			
—	590	117	15
NPK	1250	61	24
Навоз	2300	250	30
<i>Бессменно рожь</i>			
—	6560	3300	29
NPK	5890	2400	51
Навоз	13450	7010	28
<i>Севооборот</i>			
—	1680	830	4
NPK	4470	2320	72

При бессменном культивировании ржи резко увеличивалась численность всех группировок микроорганизмов. Это явилось следствием ежегодного обогащения почвы корневыми остатками ржи. В данном случае минеральные удобрения существенно не влияли на состав и численность микробов. Сильное действие оказал лишь навоз.

В севообороте с пропашными культурами по вполне понятным причинам, микроорганизмов было меньше, чем в вариантах с бессменной рожью. Здесь минеральные удобрения стимулировали размножение микроорганизмов.

Внесение минеральных удобрений, и особенно навоза, активизирует размножение нитрификаторов и нитрификационный процесс. На увеличение запасов минерального азота положительно отзывается также *Bacillus megaterium* (рис. VI.1).

Наши исследования показали, что внесение удобрений резко изменяет численность и состав целлюлозоразлагающих микроорганизмов почвы. В удобренной дерново-подзолистой почве их очень мало, и они представ-

лены в основном грибами. При внесении минеральных удобрений сильно увеличивается численность бактерий, особенно представителей рода *Cellvibrio*. Лабораторные опыты позволяют утверждать, что здесь сказывается прежде всего влияние минерального азота. При удобрении почв навозом отмечено увеличение не только *Cellvibrio*, но и миксобактерий, особенно рода *Cytophaga* (рис. VI.2).

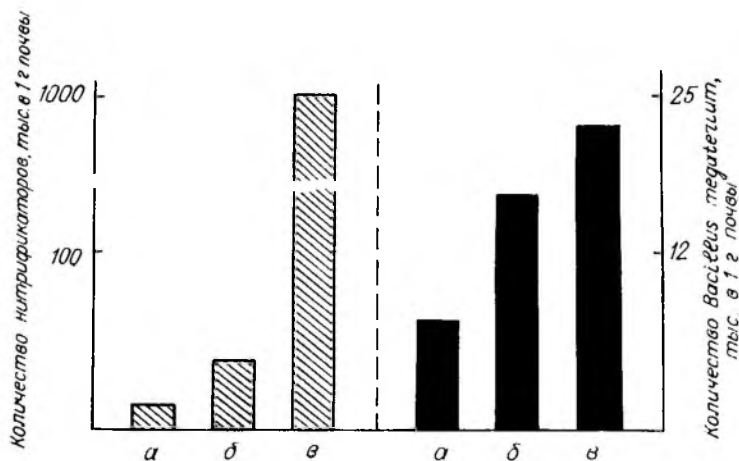


Рис. VI.1. Влияние удобрений на численность нитрификаторов и *Bacillus megaterium*:

а — К; б — NPK; в — навоз

Степень активизации микроорганизмов под влиянием удобрений четко выявляется с помощью методов, предложенных в нашей лаборатории аппликационных тестов [3, 8]. Заложённая в почву льняная ткань значительно быстрее разлагается в удобренной почве. Особенно эффективно действует навоз. На разлагающейся в удобренной почве целлюлозе отмечено более значительное, чем в контроле, накопление аминокислот, являющихся продуктами жизнедеятельности микроорганизмов. Извлеченные из ткани аминокислоты проявляли пингидрином и цветность раствора устанавливали по лейцину.

Наши опыты показали [7], что препараты гуминовой кислоты намного быстрее разлагаются смешанной микрофлорой почвы при добавлении к ним минерального

азота и органических соединений. Это можно объяснить тем, что в более богатой среде увеличивается численность микробов, активно атакующих перегнойные соединения (табл. VI.3).

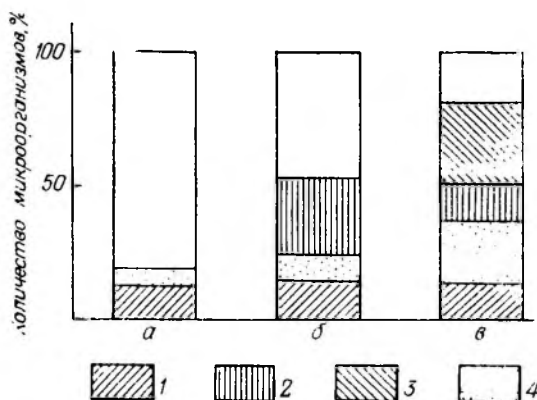


Рис. VI.2. Влияние удобрений на состав целлюлозоразлагающих микроорганизмов почвы ТСХА: а — контроль; б — NPK; в — навоз; 1 — грибы; 2 — Cellulibrio; 3 — Cytophaga; 4 — миксобактерии

Таблица VI.3
Разложение смешанной микрофлоры почвы гуминовой кислоты, %

Вариант опыта	Срок анализа	
	через 5 мес	через 12 мес
Гуминовая кислота	5,4	15,1
То же +0,1% NH_4NO_3	18,7	26,8
То же +0,1% NH_4NO_3 +1% глюкозы	20,4	65,0

Примечание. Основной питательный раствор состоял из среды С. И. Виноградского для нитрифицирующих бактерий с 0,1% гуминовой кислоты.

Таким образом, при наличии солей аммония и углевода минерализация перегноя ускоряется.

Работы ряда исследователей с $^{15}\text{N}_2$ [13, 15 и др.] показывают, что при внесении в почву азотных удобрений

усиливается поступление в растения азота из почвенных запасов.

Возникает весьма важный вопрос, как длительное применение удобрений сказывается на свойствах почвы и ее потенциальном плодородии, показателям которого является запас перегноя (табл. VI.4)*.

Таблица VI.4

Изменение содержания перегноя и урожайность ржи на различно удобрявшейся в течение 50 лет дерново-подзолистой почве

Вариант удобрения	pH солевой	Содержание перегноя, %	Осталось перегноя от исходного, %	Урожайность ржи, ц с 1 га
<i>Бессменно пар</i>				
—	3,8	1,08	45	—
НРК	3,6	1,35	61	—
Навоз	4,5	1,81	82	—
<i>Бессменно рожь</i>				
—	4,0	1,85	84	6,7
НРК	3,8	1,98	90	10,6
Навоз	5,3	2,66	121	13,7
<i>Севооборот</i>				
—	3,9	1,38	63	13,4
НРК	3,8	1,46	66	20,5

Примечание. Исходная почва содержала 2,2% перегноя.

Минеральные удобрения несколько снижали значение pH почвы, что явилось следствием их физиологической кислотности. Исследуемые почвы, однако, обладают достаточной буферностью, и отмеченное снижение было незначительным.

Можно было ожидать, что при внесении минеральных удобрений резко снизится запас перегноя. Однако этого не наблюдали даже в парующей почве. Как видно из приведенных данных, парующая почва потеряла около 50% перегноя. При внесении НРК потери заметно снизились. Очевидно, это явилось следствием развития на парующей почве значительного количества автотрофных микроорганизмов и прежде всего водорослей.

* Данные взяты из работы В. Е. Егорова [4] и касаются почв ТСХА.

Изучение состава перегноя длительное время паровавших почв показало, что в удобрявшихся вариантах существенно изменяется его фракционный состав. Анализ был проведен Ф. К. Воробьевым [2] спустя 33 года после начала опыта (рис. VI.3). В вариантах с сельскохозяйственными культурами содержание гумуса за счет формирования его из корневых остатков было более высоким, чем в парующей почве. Таким образом, по нашим наблюдениям, минеральные и органические удобрения благоприятно воздействуют на потенциальное плодородие почвы.

Однако, по нашим данным [16], длительное применение удобрений в некоторых случаях дает неблагоприятный эффект. На легких супесчаных оподзоленных почвах Соликамской опытной станции в течение 15 лет ежегодно вносили в среднем на 1 га по 70 кг N и P_2O_5 , 100 кг K_2O , 20 т навоза. Известь в начале опыта была внесена из расчета

по гидролитической кислотности. Минеральные удобрения существенно снизили здесь за период опыта численность бактерий и актиномицетов. Это явилось следствием сильного подкисления почвы и перехода солей алюминия в подвижные формы, которые оказывают токсическое действие как на отмеченные группы микроорганизмов, так и на высшие растения. По нашим данным, грибы более устойчивы к действию этих солей (табл. VI.5).

Депрессия микробиологической деятельности и снижение урожая сельскохозяйственных растений сопровождалось заметным снижением содержания перегноя. Пшеница перестала расти на данной почве; картофель давал

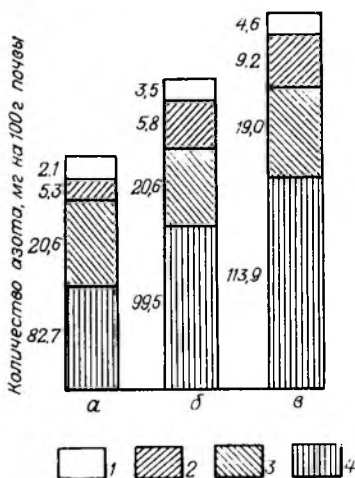


Рис. VI.3. Изменение фракционного состава перегноя различных удобрявшихся почв:

а — контроль; б — NPK; в — навоз;
1 — минеральный азот; 2 — легкогидролизующий; 3 — трудногидролизующий; 4 — негидролизующий

Таблица VI.5

**Влияние удобрений на микрофлору почв
Соликамской опытной станции**

Вариант удобрения	Численность, тыс. в 1 г почвы		
	бактерий	актино-мицетов	грибов
Контроль (без удобрения)	540	180	8
NPK	320	150	14
NPK+Ca	640	260	10
NPK+навоз	1140	610	16
NPK+Ca+навоз	1400	850	17

урожай в 3 раза меньше, чем неудобрявшийся контроль. Таким образом, неблагоприятные последствия длительного использования удобрений были обусловлены косвенными причинами — физиологической кислотностью удобрений. При ее снятии путем внесения извести минеральные удобрения, не говоря уже о навозе, оказывали положительное влияние и на биологические свойства почвы и на урожай (табл. VI.6).

Таблица VI.6

Влияние удобрений на агрохимические показатели почвы и урожай

Вариант удобрения	pH солевой	Подвижный Al, м-экв. на 100 г почвы	Гумус, %	Урожай яровой пшеницы, ц с 1 га
—	5,5	1,14	1,12	1,6
NPK	4,4	1,61	0,84	0,0
NPK+Ca	4,8	0	1,23	12,0
NPK+навоз	5,8	0,91	1,73	9,2
NPK+Ca+навоз	6,1	0	1,99	21,5

Неблагоприятное влияние минеральных удобрений на микрофлору малобуферных почв отмечено А. К. Миненко [5].

Опыты чешских исследователей [10] на деградированном черноземе показали, что отрицательное действие удобрений на свойства почвы обусловлено физиологической кислотностью. В течение 12 лет в почву ежегодно вносили большое количество удобрений (кг на 1 га):

N — 480; P₂O₅ — 130; K₂O — 400 (1 норма). Это позволило за относительно короткий срок прогнозировать возможный эффект длительного применения удобрений. Минеральные удобрения сильно подкисляли почву, в результате углеродсодержащая часть перегноя заметно уменьшилась (табл. VI.7). Внесение компоста улучшило свойства почвы.

Таблица VI.7

Изменение pH и содержания перегноя деградированного чернозема под влиянием удобрений

Вариант удобрения	pH солевой	Содержание, %			
		Всего		Изменение	
		С	N	С	N
Контроль	7,2	1,30	0,14	—0,12	0
80 т компоста на 1 га	7,6	2,10	0,23	+0,62	+0,09
160 т	7,5	2,96	0,33	+1,51	+0,019
НРК (1 норма)	4,5	1,16	0,17	—0,26	+0,03
То же (2 нормы)	4,3	1,16	0,19	—0,26	+0,005
Исходная почва		1,42	0,14		

И. В. Ярошевич [18] исследовал влияние на биологическую активность чернозема 50-летнего применения удобрений в севообороте. Установлено, что минеральные удобрения снижают интенсивность дыхания почвы и резко подавляют активность почвенных ферментов. Навоз оказал благоприятное влияние на эти показатели. К сожалению, автор не приводит агрохимических показателей изучаемых почв. Однако можно предположить, что и здесь отрицательное действие удобрений обусловлено их физиологической кислотностью. Таким образом, при длительном использовании удобрений и, особенно, высоких доз необходимо учитывать их возможную физиологическую кислотность и принимать меры, предупреждающие подкисление почвы.

Рассматривая влияние удобрений на микробиологические процессы почвы, следует помнить о роли микробиологического фактора в использовании внесенных в почву минеральных соединений.

Общеизвестно, что азотные удобрения используются растениями не более чем на 60—70% (чаще меньше),

фосфорнокислые — на 40%, калийные — на 70% и более. Накопленный достаточно богатый экспериментальный материал позволяет думать, что основные потери азота из почвы связаны с восстановлением бактериями азотной кислоты до N_2 и N_2O . Этот процесс происходит достаточно интенсивно даже в нормально аэрируемых почвах в силу наличия в них большого числа анаэробных микророн.

Потери азота при восстановительных процессах сильно колеблются и зависят от наличия в почве доступных микроорганизмам органических соединений, от количества нитратов в почве, ее влажности и т. д. Интересные данные получены П. М. Смирновым [13]. В дерново-подзолистую почву были внесены нитраты из расчета 120 мг азота на 1 кг. Часть сосудов засевали, другую — оставляли в парующем состоянии (влажность почвы — 60% от полной влагоемкости). Парующая почва теряла больше азота, чем почва под растениями, которые, ассимилируя соли азотной кислоты, снижали их возможную потерю из почвы. Микроорганизмы усваивали относительно небольшую часть внесенных нитратов.

В одном из опытов кафедры микробиологии ТСХА с песчаной культурой кукурузы использовали методику, разработанную для стерильной культуры растений Е. Х. Ремпе и В. В. Бернардом [11]. В песок вносили среду Гельригеля, но в одном варианте азот брали в форме $NaNO_3$, а в другом — в виде $(NH_4)_2SO_4$. После посева стерильных семян кукурузы вносили чистую культуру денитрифицирующих бактерий. Полученные данные показывают, что существенные потери азота имели место только в варианте с нитратами. Кроме того, они говорят о целесообразности разработки мероприятий, подавляющих нитрификационный процесс в почве, и перехода на использование гранулированных удобрений. В последнем случае уменьшается контакт между нитратами и почвенной микрофлорой, что ведет к более полному использованию растениями азота удобрений.

Как уже отмечалось выше, коэффициент использования фосфорных удобрений не превышает 40% (обычно он ниже). Возникает вопрос о причинах этого явления. Фосфорные соединения практически не вымываются из почвы даже при внесении их в очень больших количествах. Микроорганизмы почвы ассимилируют эти соединения также незначительно. Можно считать в среднем,

что их клетки содержат в 2—2,5 раза меньше фосфора, чем азота. Из приведенных данных следует, что азота минеральных удобрений в почве закрепляется биологически не столь много. Следовательно, для фосфора эта величина еще менее значительна. Как показал Ф. С. Соболев [14], при длительном удобрении черноземов даже навозом не происходит сколько-нибудь существенного накопления в почве органических соединений фосфора.

Основная же масса внесенных в почву фосфорных минеральных соединений остается переработанной микроорганизмами.

Некоторая часть фосфорных удобрений, реагируя с комплексами почвы, переходит в соединения, плохо усваиваемые растениями [12].

Попытки усилить мобилизацию минеральных и органических соединений фосфора внесением в почву разных культур микроорганизмов не увенчались успехом. В почве имеется огромное разнообразие микроорганизмов, но их деятельность ограничена отсутствием достаточного количества доступных органических соединений. Поэтому в целях мобилизации в почве фосфора целесообразнее создавать условия, способствующие накоплению в почве соединений, переводящих в раствор минеральные фосфаты. Для этого можно использовать в течение определенного времени физиологически кислые удобрения и разного рода органические растительные вещества (зеленое удобрение, пожнивные остатки и т. д.). При минерализации органических соединений образуются кислоты, способствующие переводу в раствор нерастворимых соединений фосфора. Последние переводятся в раствор и перегнойными соединениями, образующими с фосфорной кислотой и полуторными окислами комплексные соединения, которые усваиваются растениями [9].

Благодаря активизации жизнедеятельности почвенной микрофлоры при внесении органических удобрений усиливается распад фосфорорганических соединений.

Соли калия, внесенные в почву, используются довольно полно растениями (70% и более). Они практически не вымываются из пахотного слоя и в очень малых количествах закрепляются биологически. Некоторая часть неиспользованного калия может перейти постепенно в обменную форму, вступая в реакцию с глинистыми минералами [12].

В заключение можно сделать вывод, что минеральные и органические удобрения стимулируют жизнедеятельность почвенных микроорганизмов и усиливают цикл биологической трансформации питательных для растений веществ. Неблагоприятное действие минеральных удобрений на свойства почвы связано с их косвенным влиянием на кислотность почвы, что может быть устранено использованием физиологически нейтральных соединений.

Указатель литературы

1. Аникст Д. М. О географии действия минеральных удобрений на урожай яровой пшеницы. — «Агрохимия», 1969, № 10, с. 37—42.
2. Воробьев Ф. К. Влияние длительного воздействия удобрений на превращение азотных соединений в дерново-подзолистой почве. — «Докл. ТСХА», 1950, вып. 12, с. 150—162.
3. Востров И. С., Петрова А. Н. Определение биологической активности почвы. — «Микробиология», 1961, вып. 30(4), с. 665—672.
4. Егоров В. Е. К итогам полувекового опыта по исследованию роли севооборота, монокультур и удобрений в развитии плодородия почв подзолистого типа. — «Докл. ТСХА», 1961, вып. 71, с. 117—125.
5. Мищенко А. К. Действие фосфора и калия на микрофлору почвы и превращения аммонийных удобрений. — «Вестн. с.-х. наук», 1971, № 2, с. 39—39.
6. Мишустин Е. Н., Прокошев В. Н. Изменение состава почвенной микрофлоры в результате длительного применения удобрений. — «Микробиология», 1949, вып. 37(1), с. 30—41.
7. Мишустин Е. Н., Никитин Д. И. Атакуемость гуминовых кислот почвенной микрофлорой. — «Микробиология», 1961, вып. 30(5), с. 841—848.
8. Мишустин Е. Н., Петрова А. Н. Образование свободных аминокислот на разрушающейся в почве целлюлозе. — «Микробиология», 1966, вып. 35(3), с. 491—502.
9. Мишустин Е. Н., Синга М. К. Гумусовые вещества как фактор, мобилизующий минеральные соединения фосфора почвы. [Симпозиум «Humus et Planta»]. Т. 5. Прага, 1971, с. 491—495.
10. Новак Б. Влияние минеральных удобрений на гумус почвы. [Симпозиум «Humus et Planta»]. Т. 5. Прага, 1971.
11. Ремпе Е. Х., Бернгард В. В. Методика постановки стерильных вегетационных опытов. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1966, № 5, с. 711—718.
12. Синягин И. И. Превращение фосфорных и калийных удобрений в почве и повышение их усвояемости. М., «Колос», 1968.
13. Смирнов П. М. Превращение азотных удобрений в почве и их использование растениями. Автореф. дис. на соиск. учен. степени д-ра с.-х. наук. М., 1970. (ТСХА).

14. Соболев Ф. С. Превращение фосфорных соединений в почве. — В кн.: Влияние длительного применения удобрений на плодородие почвы и продуктивность севооборотов. М., «Колос», 1960, с. 208—219.
15. Турчин Ф. Б. Современные вопросы применения азотных удобрений и азотного питания растений. М., МСХ СССР, 1975.
16. Тюрин Н. В., Соколов А. В. Типы почв и эффективность удобрений. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1958, № 3, с. 651—660.
17. Шамин А. А. Микрофлора почвы и эффективность полного минерального удобрения. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. с.-х. наук. Л., 1969. (ВНИИСХМ).
18. Ярошевич И. В. Влияние 50-летнего применения удобрений в севообороте на биологическую активность чернозема. — «Агрохимия», 1966, № 6, с. 14—19.

Глава VII. МИКРОФЛОРА ПОЧВЫ И ГЕРБИЦИДЫ

Успехи современного сельского хозяйства неизбежно связаны с механизацией и химизацией сельскохозяйственного производства. В настоящее время наряду с минеральными удобрениями широко используются различные полимеры и химические средства защиты растений — пестициды.

За 30 лет была создана фактически новая отрасль промышленности, которая уверенно из года в год наращивает темпы производства. Если в 1963 г., по данным Берана (по Г. Майер-Боде [7]), мировая продукция пестицидов составляла 1,25 млн. т, то в 1974 г. она достигла почти 2 млн. т и ежегодно увеличивается на 7—15%. И дело не только в увеличении валовой продукции. Синтезируются все более сильные ядохимикаты, дозы внесения которых составляют от нескольких сот граммов до нескольких килограммов на 1 га.

В наиболее развитых странах Западной Европы и Северной Америки ежегодно пестицидами обрабатывается в зависимости от почвенно-климатических условий и культуры растений 30—100% сельскохозяйственных угодий. На каждый квадратный метр вносится от нескольких сот до нескольких десятков тысяч миллиграммов ядохимикатов, обладающих сильным физиологическим действием. Более того, в системе агротехнических мероприятий в течение сезона поля обрабатываются пестицидами несколько раз, что создает небывалый по силе прецедент воздействия на природу.

Систематическое применение пестицидов в сельском хозяйстве привело к тому, что они стали постоянно действующим экологическим фактором, изменяющим и формирующим макро- и микробиоценозы. Проблема эта многосторонняя и широко дискутируется в научной и об-

и общественно-политической литературе, выйдя за рамки региональных и узконациональных интересов.

Сложность рассматриваемого вопроса заключается в чрезвычайном разнообразии химических веществ, используемых для защиты растений. В настоящее время зарегистрировано около 900 химических соединений, на основе которых предложено более 100 тыс. препаратов [9]. В практике используется около 125 гербицидов, относящихся в основном к 12 классам органических соединений [16]. Степень их изученности неодинакова.

Большая часть пестицидов — гербицидов, фунгицидов, арборицидов — попадает главным образом в почву. Значительный вынос их в водоемы происходит только на орошаемых или мелиорируемых землях. Поэтому почва является основным местом, основной средой, в которой происходит взаимодействие этих веществ с микрофлорой.

В настоящее время в литературе накопился значительный материал, посвященный воздействию ядохимикатов, в частности гербицидов, на почвенную микрофлору [2, 8, 15, 21, 22, 23, 24, 27, 30]. Вместе с тем токсикологическая оценка их в отношении почвенных микроорганизмов является весьма неопределенной из-за отсутствия унифицированного подхода и четких критериев для характеристики этого эффекта, сложной структуры микробсообществ, разнообразия почвенно-климатических условий и агротехники культур. Вследствие этого результаты, полученные различными авторами, трудно сравнивать между собой. Поэтому целесообразно отделить токсичность самих пестицидов от опосредованного их действия на микрофлору почвы, вызываемого гибелью сорных растений и изменением приемов обработки почвы. В таком случае оценка токсичности пестицидов, и в частности гербицидов, должна будет сводиться к определению границ или в более узком смысле концентраций применения, при которых действие их будет переходить физиологические пределы устойчивости отдельных видов или групп микроорганизмов, что вызовет перестройку микробсообщества и нарушение равновесия биохимических процессов, протекающих в почве. Причем необходимо четко разграничить экологическую и санитарно-гигиеническую стороны этого вопроса.

Такой подход требует постановки модельных опытов, правильного и осторожного выбора индикаторных микро-

организмов и процессов, а также четкого критерия для количественной оценки токсического эффекта. В качестве критерия можно принять такие концентрации пестицида, которые подавляют биохимические процессы в почве на 50% ($ИК_{50}$) или снижают количество микроорганизмов на 80% ($СК_{80}$). Так как дозы пестицидов в разных почвенно-климатических условиях под различные культуры неодинаковы, то для характеристики степени вредности их целесообразно, по нашему мнению, установить коэффициент безопасности ($Кб$), который выражается отношением $ИК_{50}$ или $СК_{80}$ к минимальной производственной концентрации пестицида ($ПК_{min}$):

$$Кб = \frac{ИК_{50} \text{ (или } СК_{80})}{ПК_{min}} .$$

В таком случае при $Кб < 1$ гербициды являются условно токсичными и должны быть отнесены к разряду почвенных стерилизаторов, при $Кб$, равном 1—10, — ингибиторов, при $Кб = 10—100$ — слабых ингибиторов и при $Кб > 100$ они безвредны для исследуемой группы микроорганизмов [4].

Некоторые результаты такого подхода к оценке токсического эффекта гербицидов на почвенно-микробиологические процессы приведены ниже (табл. VII.1). Как видно из таблицы, это позволяет выявить диапазон ингибирующих концентраций и избирательный характер действия гербицидов. В частности, четко проявляется фунгицидный эффект карбатиона, а также его отрицательное действие на процесс нитрификации и микроскопические водоросли. Монулон является умеренным ингибитором нитрификации и очень сильным альгицидом. Атразин подавляет развитие водорослей, не оказывая существенного влияния на другие микроорганизмы. Предлагаемый способ первичной оценки токсического эффекта пестицидов исходит из общих принципов оценки, принятых в токсикологических исследованиях, и удобен тем, что в нем четко определены важнейшие тест-объекты и критерий токсичности.

Действие ядохимикатов на микрофлору почвы имеет временный характер. Кинетика токсического эффекта хорошо изучена при так называемой «частичной стерилизации» почвы и представляет S-образную кривую. Снижение биомассы микроорганизмов, вызванное введением стерилизаторов, быстро сменяется возрастанием их чис-

ла до уровня, превышающего исходное количество. Это объясняется их действием как антисептиков, высокой лабильностью и изменением агрохимических показателей почвы [1].

Современные гербициды, как правило, не оказывают существенного влияния на физико-химические свойства почвы и обладают более мягким действием на микроорганизмы, чем стерилизаторы. Суммарные методы определения, которые в настоящее время широко используются в практике почвенно-микробиологических исследований, не позволяют установить каких-либо существенных сдвигов в биологической активности почв, обрабатываемых большинством гербицидов. Однако некоторые закономерности, характерные для стерилизаторов, присущи и им.

Из современных гербицидов ближе всего к почвенным стерилизаторам стоит карбатион. Он применяется в относительно высоких дозах. Механизм его действия основан на фумигирующем эффекте продуктов распада: изотиоцианата и сероуглерода. По нашим данным, представленным на рис. VII.1, карбатион ока-

Таблица VII.1

Токсическое действие гербицидов на микрофлору и некоторые биохимические процессы в дерново-подзолистой супесчаной почве

Гербицид	Минимальная доза, мг/кг (ПК мин)	Дыхание почвы		Нитрификационная способность		Бактерии		Грибы		Водоросли	
		ИК ₅₀	Кб	ИК ₅₀	Кб	СК ₅₀	Кб	СК ₅₀	Кб	СК ₅₀	Кб
Атразин	2	200	100	200	100	200	100	200	100	2	1
Монурон	2	200	100	12	6	200	100	200	100	0,5	0,25
Эптам	2	200	100	24	12	200	100	200	100	50	25
Карбатион	500	1500	3	3	0,01	100	0,2	100	0,2	50	0,1

Примечание. ИК₅₀ и СК₅₀ — концентрации гербицидов, снижающих интенсивность процессов и содержание микроорганизмов в почве соответственно на 50 и 80%; Кб — коэффициент безопасности.

зывает значительное влияние на микроорганизмы. Если содержание грибов, водорослей, нитрифицирующих, денитрифицирующих и целлюлозоразлагающих бактерий резко снижается, то количество сапрофитных бактерий увеличивается.

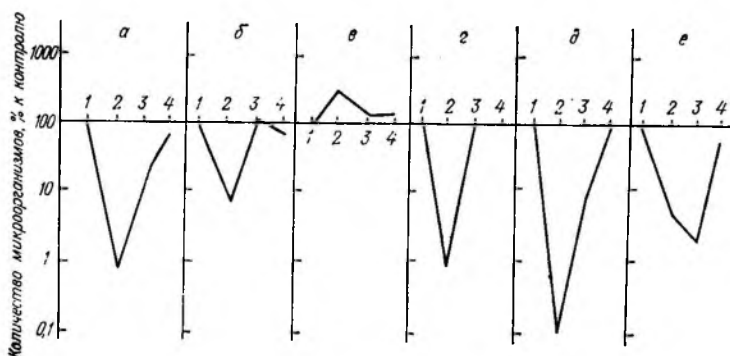


Рис. VII.1. Влияние карбатиона на содержание различных групп микроорганизмов в дерново-подзолистой почве:

а — грибы; б — водоросли; в — сапрофитные бактерии на почвенном агаре; г — денитрификаторы; д — целлюлозоразлагающие бактерии; е — нитрификаторы; 1 — перед внесением гербицида; 2, 3, 4 — через 5, 50 и 110 дней после обработки почвы карбатионом

Процесс нитрификации полностью блокируется карбатионом в течение двух месяцев.

Ингибирующий эффект гербицида носит временный характер. По мере детоксикации и устранения его из почвы происходит восстановление биомассы микроорганизмов, что указывает на высокую устойчивость экосистемы в целом. Более подробный анализ видового состава альгофлоры почвы показал, что чувствительность отдельных видов водорослей к гербициду неодинакова. Наибольшей чувствительностью обладают некоторые виды азотфиксирующих сине-зеленых водорослей, которые полностью выбиваются из альгоценоза (табл. VII.2). Восстановление качественного состава альгофлоры идет чрезвычайно медленно. Через год основную массу ее составляют зеленые водоросли из родов *Chloococcum* и *Normidium*.

К гербицидам более мягкого избирательного действия относятся производные симметричных триазинов и фенилмочевины. Они, как правило, не влияют или оказывают незначительное действие на дыхание и нитрификаци-

Влияние гербицидов на качественный состав альгофлоры почвы
(сентябрь — 110 дней после обработки)

Водоросли	Конт- роль	Карба- тион	Монурон	Атразин
<i>Chlamidomonas</i> sp.	+	+	—	+
<i>Chlorococcum</i> sp.	+	+	+	+
<i>Hormidium nitens</i>	+	+	—	—
<i>Amorphonostoc punctiforme</i>	+	+	—	—
<i>Anabaena cylindrica</i>	+	—	—	—
<i>An. oscillarioides</i>	+	—	—	—
<i>CylindrospERMUM licheniforme</i>	+	—	—	—
<i>C. muscicola</i>	+	—	—	—
<i>Phormidium autumnale</i>	+	+	+	+
<i>Ph. curtum</i>	+	+	—	—
<i>Ph. phaeolarum</i>	+	—	—	—
<i>Oscillatoria</i> sp.	+	—	—	—
<i>Hantzschia amphioxys</i>	+	—	—	—
<i>Navicula atomus</i>	+	—	+	+
<i>Nitzschia palea</i>	+	+	—	—
<i>Chloridella neglecta</i>	+	—	—	+
Всего, тыс. в 1 г	126,1	92,8	34,0	105,3

Примечание. Знаком плюс (+) обозначено наличие водорослей в почве; знаком минус (—) — отсутствие.

онную способность почвы, а также на содержание в ней бактерий, грибов и актиномицетов. Однако эти вещества как ингибиторы фотосинтеза подавляют развитие микроскопических водорослей.

Кинетика ингибирующего эффекта их имеет характерную одновершинную кривую.

Анализ видового состава водорослей в конце вегетационного периода показал значительные изменения: из 16 видов водорослей, обнаруженных в контрольном варианте опыта, в почве, обработанной монуроном, осталось 3 вида, при обработке атразином — 5. Происходит обеднение качественного состава альгофлоры. При многолетней систематической обработке такое состояние закрепляется. Ряд видов сине-зеленых и диатомовых водорослей полностью исчезает из почвы и не обнаруживается в ней в течение четырех лет. В почве, обработанной монуро-

ном, преобладают зеленые и некоторые виды диатомовых водорослей. По-видимому, аналогичные изменения в той или иной степени происходят и в видовом составе других таксономических групп микроорганизмов. К сожалению, вопрос этот практически не разработан. Однако ряд данных, опубликованных в литературе, достаточно хорошо иллюстрирует возможность таких изменений и должен привлечь внимание почвенных микробиологов. В частности, в опытах Уилкинсона [34] было показано, что под влиянием гербицида и дефолианта диквата гриб *Fusarium culmorum* вытесняет с листьев растений, помещенных в почву, *Trichoderma viride* (табл. VII.3).

Т а б л и ц а VII.3

Влияние диквата на заселение листьев растений грибами
(по Wilkinson [34])

Дикват, мг/л	% образцов с доминированием	
	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Fusarium culmorum</i>
0	100	0
1560	30	70
3120	0	100

По данным Собещанского, многолетнее применение гербицидов приводит к изменению бактериальной флоры почвы.

Таким образом, важным следствием применения гербицидов является перегруппировка микрофлоры в почве, обеднение ее качественного состава. Характер и степень этих изменений зависят от химического состава препарата. Отсюда вытекает, что одна из важнейших задач исследований заключается в переходе от суммарных методов определения биологической активности почвы к более глубокому качественному анализу микрофлоры.

Причины, обуславливающие изменение видового состава микроорганизмов, заключаются в разной чувствительности их к гербицидам. По данным ряда авторов, чувствительность микроорганизмов к ядохимикатам не является постоянной и изменяется в зависимости от фазы

их развития и условий культивирования. У грибов и актиномицетов, по-видимому, наиболее чувствительными являются генеративные органы. Вместе с тем под влиянием гербицидов наблюдаются определенные изменения в биохимической деятельности микроорганизмов. В частности, в присутствии гербицидов увеличивается или уменьшается антибиотическая активность грибов и актиномицетов, изменяется количество продуцируемых ими витаминов, аминокислот и других физиологически активных веществ. Бактерицидным эффектом обладают некоторые продукты трансформации гербицидных веществ.

Совокупность всех этих изменений может привести к нарушению нормальных пищевых связей между отдельными группами микроорганизмов, а также их взаимоотношений с высшими растениями. Однако последние вызываются, как правило, дозами, значительно превышающими производственные. Это одна из сторон последствия гербицидов на микрофлору почвы, что связано с прямым эффектом их как физиологически активных веществ. Вместе с тем следует отметить, что применение гербицидов в земледелии влечет за собой изменение в технологии механической обработки почвы.

Гербициды вызвали к жизни «химический» пар, «минимальные» и «нулевые» обработки почвы, когда значительная часть механических обработок по уходу за посевами вообще снимается. Естественно, в этом случае резко изменяются экологические условия развития микроорганизмов [14]. На рис. VII.2 отражены данные, характеризующие запас воды и процент сохранившейся на поверхности почвы стерни в паровом поле по фону основных обработок почвы.

Запас воды в поле «химического» пара увеличился в 4 раза по сравнению с классической механической обработкой парующего поля. В результате изменились водно-воздушный режим почвы, запас и распределение органического вещества по почвенному профилю, что повлекло за собой и соответствующие изменения в микрофлоре.

На рис. VII.3 отражена динамика дыхания почвы парового поля по вариантам опыта.

Процессы окисления органического вещества идут более энергично в отсутствие механических обработок при использовании гербицидов («химический» пар). Вместе с тем в этом варианте опыта снижается содержание нитратов в почве, что, по-видимому, связано с закреп-

лением их микроорганизмами. Последнее очень важно с хозяйственной точки зрения, поскольку накопление минерального азота в паровом поле нежелательно.

В многолетних насаждениях, на плантациях цитрусовых культур, в садах и лесопосадках, где проводится систематическая обработка почвы гербицидами, на перед-

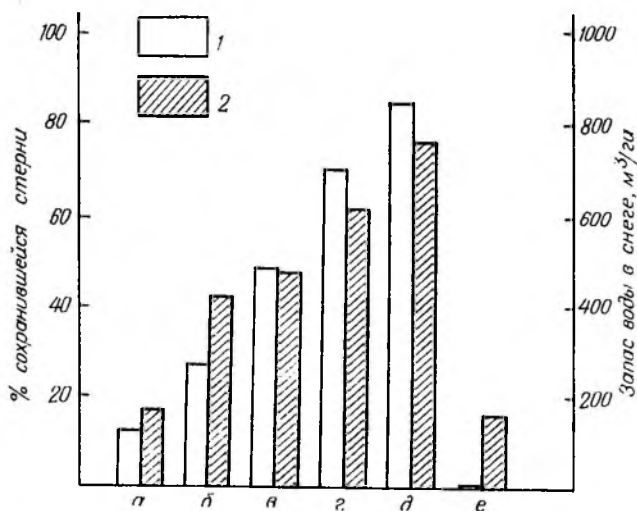


Рис. VII.2. Влияние различных способов обработки почвы на сохранение стерни и запас влаги (по Н. А. Соснину):

а — пар, обработанный безотвально; б — 3 механические обработки+однократное внесение гербицидов; в — 2 механические обработки+двукратное внесение гербицидов; г — одна механическая обработка почвы+трехкратное внесение гербицидов; д — без механической обработки+четырекратное внесение гербицидов («химический пар»); е — пар, обработанный плугом с отвалами; 1 — % стерни; 2 — запас воды

ний план выдвигаются другие факторы. Так, под влиянием гербицидов изреживается или исчезает совсем травянистый покров, меняется ботанический состав; почва «оголяется», создаются иные экологические условия. Можно предполагать, что эти изменения оказывают влияние и на микрофлору.

В течение двух лет нами проводились почвенно-микробиологические исследования на плантациях лекарственного растения — диоскореи (Всесоюзный НИИ лекарственных растений). В нашем распоряжении были вари-

анты опыта с 1, 2, 3 и 4-летней обработкой почвы симазинном и атразином, что позволило вести систематические наблюдения за изменением биологической активности почвы [5].

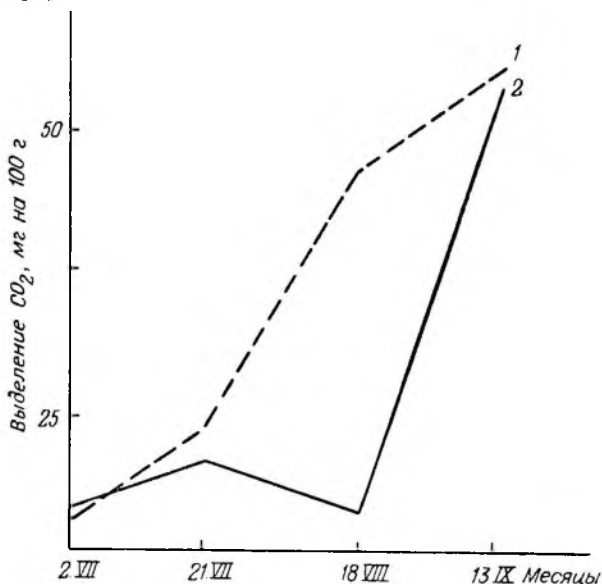


Рис. VII.3. Динамика выделения CO₂ из почвы:
1 — химический пар; 2 — вспашка почвы с оборотом пласта

В первый год интенсивность дыхания почвы, обработанной атразином, несколько превышала таковую в контроле, а далее из года в год снижалась (рис. VII.4). Как показали модельные опыты, это объясняется отнюдь не ингибирующим эффектом атразина, а связано с динамикой поступления энергетического материала.

В первый год повышенное выделение углекислоты связано с отмиранием и поступлением значительной массы сорных растений в почву. Далее, при повторных обработках органическое вещество в почву почти не поступает. Наблюдается постепенное обеднение почвы легкоподвижным энергетическим материалом и соответственно с этим снижение в ней энергетических процессов.

По-видимому, отсутствие или точнее, резкое ограничение притока энергетического материала извне сдвига-

ет равновесие процессов синтеза — разложения органического вещества в сторону разложения, что может повлечь за собой «сгорание» гумуса. Скорость этого процесса, вероятно, зависит от почвенно-климатических условий. В условиях Подмоскovie на плантациях диоскорей достоверного изменения содержания гумуса по сравнению

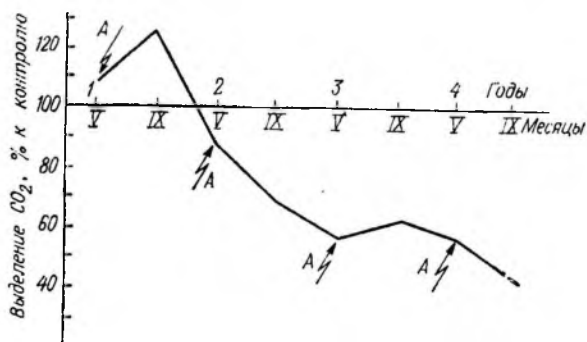


Рис. VII.4. Влияние многолетнего систематического применения атразина на интенсивность дыхания почвы:

A — время обработки атразином

с контролем за 4 года не обнаружено. Однако в Закавказье наблюдали иную картину (табл. VII.4).

За пятилетний период содержание гумуса в вариантах опыта с массовой обработкой гербицидами сни-

Таблица VII.4

Влияние систематического внесения гербицидов на содержание гумуса в почве (по Т. Х. Самоладосу)

Почва	Гумус, %		Гербициды Контроль, %
	Контроль	Гербициды	
Подзолистая	4,03	3,53	88
Аллювиальная	4,36	3,37	78
Желтозем	4,80	4,25	89

зилось на 10—20%. Отсюда следует сделать соответствующие практические выводы по восстановлению органического вещества почвы путем определенных агротехнических мероприятий. «Оголение» почвы, потеря гумуса могут привести к изменению ее физических свойств, а в ряде случаев и к развитию эрозионных процессов, особенно опасных на склоновых участках в зонах избыточного увлажнения.

Таким образом, изменение водно-воздушного режима почвы, перераспределение органического вещества, вызванное изменением технологии механической обработки почвы при использовании химических средств защиты растений, — это те косвенные факторы, которые оказывают не меньшее влияние на характер и интенсивность почвенно-микробиологических процессов, чем прямое действие гербицидов на микроорганизмы. Степень этих изменений, по-видимому, зависит от почвенно-климатических условий и возделываемой культуры.

Систематическое и все возрастающее использование пестицидов в земледелии связано с аккумуляцией их в окружающей среде, что, как мы отмечали выше, усиливает «давление» на природу и создает угрозу для самого существования отдельных видов животных, растений и микроорганизмов, а также опасность для здоровья человека. Поэтому вопрос о путях миграции, характере и скорости минерализации пестицидов и их метаболитов в окружающей среде приобретает исключительно большое практическое значение.

Характеристика персистентности в почве ряда гербицидов, относящихся к различным классам химических соединений, в какой-то степени является относительной (табл. VII.5). Однако она дает достаточно четкое представление об огромной разнице в скорости детоксикации гербицидов. Эта разница определяется структурой химического соединения, а также климатическими, физическими, химическими и биологическим факторами.

Мы не будем останавливаться на характеристике физико-химических факторов детоксикации пестицидов в почве. Этот вопрос представляет самостоятельный интерес и достаточно полно освещен в ряде обзоров, вышедших за последнее десятилетие [13, 16, 21 и др.].

В настоящее время общепризнано активное участие микроорганизмов в разрушении гербицидов, хотя определение роли микробиологического фактора в самоочи-

Время детоксикации гербицидов в почве [16, 17, 18, 19, 30]

Гербицид	Химическое название	Время полной детоксикации, мес
<i>Феноксикалкилкарбоновые кислоты</i>		
2,4-Д	2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота	0,5—2
2М-4Х	2-метил-4-хлорфеноксиуксусная кислота	1—3
2М-4ХМ	2-метил-4-хлорфенокси-γ-масляная кислота	1,5—3,5
2, 4, 5-ТП	α-(2, 4, 5-трихлорфенокси) пропионовая кислота	>4
2, 4, 5-Т	2, 4, 5-трихлорфеноксиуксусная кислота	5—11
<i>Хлорированные алифатические кислоты</i>		
Далапон	α, α-дихлорпропионовая кислота	0,5—1
ТХК	Трихлоруксусная кислота	0,5—3
<i>Карбаматы</i>		
ИФК	Изопропил-N-фенилкарбамат	0,5—1
Хлор-ИФК	Изопропил-N-(3-хлорфенил) карбамат	0,5—2
<i>Тиокарбаматы</i>		
Эптам	S-этил-N, N-ди-(н-пропил) тиокарбамат	1—4
<i>Дитиокарбаматы</i>		
Вегадекс	2-хлораллил-N, N-диэтилдитиокарбамат	1—2
Вапам	N-метилдитиокарбамат натрия	1—2
<i>Симметричные триазины</i>		
Симазин	2-хлор-4, 6-бис-(этиламино)-симм-триазин	2,5—24
Атразин	2-хлор-4-этиламино-6-изопропиламино-симм-триазин	3,5—17
Ипазин	2-хлор-4-изопропиламино-6-диэтиламино-симм-триазин	>15
Пропазин	2-хлор-4,6-бис-(изопропиламино)-симм-триазин	3—15
<i>Производные фенилмочевины</i>		
Фенурон	N-фенил-N', N'-диметилмочевина	7—18
Монурон	N-4-хлорфенил-N', N'-диметилмочевина	4—36
Диурон	N-3,4-дихлорфенил-N', N'-диметилмочевина	15

щении почвы от того или иного ядохимиката не всегда является бесспорным.

Пути взаимодействия микроорганизмов с гербицидами можно представить следующей схемой:

Схема взаимодействия гербицидов с микрофлорой почвы



Если, используя гербициды в качестве источника энергии и питания, микроорганизмы принимают прямое участие в их трансформации, то в других случаях это участие носит косвенный характер.

В процессе жизнедеятельности микроорганизмы поглощают гербициды, а также адсорбируют их на поверхности клетки. Гербициды, не участвуя в метаболизме, взаимодействуют с определенными структурами клетки. Механизм взаимодействия гербицидов с микробной клеткой практически не изучен, но, вероятно, не отличается от механизма взаимодействия гербицидов с растениями и животными, и, по-видимому, включает адсорбцию и образование соответствующих комплексов с белком. Все это ведет к изъятию гербицидов из среды и аккумуляции их в микробной массе. Таким путем в клетках микроорганизмов, по нашим данным, концентрируется от 0,005 до 0,2% гербицидов, что для почвы среднего плодородия с микробной массой около 1 т на 1 га составляет от 10 до 500 г на 1 га.

В процессе жизнедеятельности микроорганизмов происходит изменение рН и гН почвы, а также возможно

накопление метаболитов, катализирующих трансформацию гербицидов, что в определенных условиях может иметь решающее значение. Так, в процессе окисления элементарной серы рН среды изменяется с 7 до 2. Аналогичная картина наблюдается при окислении восстановленных форм азота и фосфора. При анаэробном разложении растительных остатков накапливаются органические кислоты, спирты и т. д. Учитывая гетерогенный характер распределения этих веществ в почве и микроразональный мозаичный характер почвенно-микробиологических процессов, следует предполагать, что в отдельных микроразонах могут создаваться условия исключительно высокой кислотности. Резкие изменения рН среды происходят при использовании массированных доз физиологически кислых минеральных удобрений, особенно их гранулированных форм, препаратов элементарной серы, полисульфидных отходов металлургической промышленности, а также при запахивании свежих растительных остатков, соломы и т. д.

Величина рН является решающим фактором детоксикации гербицидов. Так, гидролиз атразина в условиях нейтральной реакции среды протекает десятки лет, при повышении кислотности до рН 2—3 он заканчивается за несколько дней. Важной чертой его является незавершенность процесса, накопление в окружающей среде продуктов гидролиза, что само по себе не снимает вопроса о загрязнении природы.

Метаболизм гербицидов и минерализация их осуществляются многими микроорганизмами. В естественных условиях этот процесс идет по S-образной кривой. Более или менее длительный латентный период, продолжительность которого в зависимости от природы химического соединения колеблется от нескольких дней до нескольких месяцев, связан с адаптацией популяции почвенных микроорганизмов. Механизм этой адаптации не совсем ясен, но, предпочтительно, можно рассматривать две возможности.

1. Появление и последующее развитие в популяции случайных мутантов, обладающих способностью к усвоению данного вещества.

2. Индуцирование адаптивных ферментов.

Эти два механизма не являются альтернативными, и в природном субстрате может происходить и то и другое [21].

В настоящее время показано, что почти все гербициды метаболизируются микроорганизмами. Однако чистые культуры микроорганизмов выделены далеко не во всех случаях. Так, отсутствуют данные о микроорганизмах, разрушающих дитиокарбаматы, очень ограничены сведения о микробиологической трансформации дипиридилов.

Список микроорганизмов, участвующих в разложении основных классов органических соединений, обладающих гербицидными свойствами, представленный в табл. VII.6, показывает, что бактерии легче атакуют феноксиалкилкарбоновые кислоты, хлорпроизводные алифатические кислоты и карбаматы. Симметричные триазины, производные фенилмочевины и бензойной кислоты, в основном разрушаются грибами.

При инвентаризации таксономического состава микроорганизмов, разлагающих гербициды, необходимо обратить внимание на следующее: 1) выделены в основном беспоровые бактерии; из споровых упоминается *Bac. sphaericus*, неидентифицированная бацилла, разлагающая монурон и атразин, а также *Clostridium pasteurianum*, способность которого разлагать дипиридины требует проверки; 2) из низших грибов доминирующее положение занимают роды *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*; 3) способность актиномицетов разлагать гербициды, по-видимому, весьма ограничена. В литературе упоминается всего несколько представителей трех родов: *Nocardia*, *Streptomyces*, *Actinomyces*.

Имеются сообщения об участии в процессе детоксикации гербицидов микроскопических водорослей [3, 33]. Однако эти сведения носят эпизодический характер. Способность микроскопических водорослей аккумулировать пестициды и передавать их по пищевой цепи общеизвестна. Количество ДДТ, гексахлорана, пропанида, 2,4-Д увеличивается в клетках водорослей по сравнению с окружающей средой в десятки раз. Роль их в самоочищении водоемов от ядохимикатов, по-видимому, исключительно велика. Но этот вопрос малоизучен.

Несомненно, список микроорганизмов будет расширен и уточнен в дальнейшем, так как необходимо иметь в виду, что история синтеза и применения гербицидов насчитывает немногим более 30 лет, а первые серьезные работы по их метаболизму появились 10—15 лет назад.

Микроорганизмы, разрушающие гербициды [16, 17, 22, 28 и др.]

Микроорганизм	Феноксал- килкарбо- новые кислоты	Галогенпропиз- водные али- фатические кислоты	Карбаматы	Фенилмо- чевины	Симметрич- ные триа- зины	Дипири- даты	Производ- ные бензой- ной кислоты
<i>Бактерии</i>							
<i>Pseudomonas</i> sp.	+	+	+	+	+		+
<i>Ps. fluorescens</i>			+			+	
<i>Ps. degalogenans</i>		+	+				
<i>Achromobacter</i> sp.	+	+	+		+		
<i>Arthrobacter</i> sp.	+	+	+		+		+
<i>Agrobacterium</i> sp.	+	+					
<i>A. aerogenes</i>						+	
<i>A. tumefaciens</i>						+	
<i>Alkaligenes</i> sp.		+					
<i>Corinebacterium</i> sp.	+			+	+		
<i>C. fascians</i>						+	
<i>Micrococcus</i> sp.	+	+					
<i>Microbacterium</i> sp.					+		
<i>Mycoplana</i> sp.	+						
<i>Flavobacterium</i> sp.	+	+	+				
<i>F. peregrinum</i>	+						
<i>Bacterium</i> sp.					+		
<i>B. globiforme</i>	+				+		
<i>Xanthomonas</i> sp.			+				
<i>Sarcina</i> sp.				+			
<i>Empedobacter</i> sp.					+		
<i>Rhizobium meliloti</i>	+						
<i>Bacillus</i> sp.				+	+		
<i>Bac. sphaericus</i>				+			
<i>Bac. cereus</i>						+	
<i>Bac. megaterium</i>				+	+		
<i>Clostridium pasteurianum</i>						+	

Актиномицеты

<i>Nocardia</i> sp.	+	+	+		+		
<i>N. coeliaca</i>	+						
<i>N. opaca</i>	+						
<i>Actinomyces candidus</i>					+		
<i>Streptomyces</i> sp.	+	+			+		
<i>Str. viridochromogenes</i>	+						
<i>Str. albidoflavus</i>					+		
<i>Str. grizeus</i>					+		
<i>Str. violaceus</i>					+		

Микроорганизм	Феноксикарбоновые кислоты	Галогенпропеновые алифатические кислоты	Карбаматы	Фенилмочевины	Симметричные триазины	Дипиридилы	Производные бензойной кислоты
<i>Грибы</i>							
<i>Aspergillus</i> sp.				+			
<i>A. niger</i>	+				+		
<i>A. flavipes</i>					+		
<i>A. ustus</i>					+		
<i>A. fumigatus</i>					+		
<i>A. repens</i>					+		
<i>A. awamorii</i>					+		
<i>A. flavus</i>					+		
<i>A. tamaraii</i>					+		
<i>Acrostalagmus</i> sp.		+			+		
<i>Clonostachys</i> sp.		+			+		+
<i>Geotrichum</i> sp.							+
<i>Neocosmospora vasinfecta</i>							+
<i>Fusarium</i> sp.							+
<i>F. oxysporum</i>					+		
<i>F. moniliforme</i>					+		
<i>F. ovenaceum</i>					+		
<i>Penicillium</i> sp.		+		+	+		+
<i>P. purpurogenum</i>					+		
<i>P. cyclopium</i>					+		
<i>P. lilacinum</i>		+					
<i>P. roquefortii</i>		+					
<i>P. jensenii</i>					+		
<i>Rhizopus</i> sp.					+		
<i>Rh. stolonifer</i>	-				+		
<i>Stachybotris</i> sp.					+		
<i>Trichoderma viride</i>		+		+	+		+
<i>Talaromyces wortmanii</i>				+			
<i>Lipomyces starkeyi</i>						+	

Рассматривая данные по распространению микроорганизмов, разлагающих гербициды, в экологическом плане следует обратить внимание на характер распределения их в почве.

Известно, что в зоне корневой системы растений происходят отбор и концентрация беспоровых бактерий, относящихся главным образом к родам *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Xanthomonas*, составляющих 90—99% от общего количества микроорганизмов [6]. Для лесных и кислых оподзоленных почв характерно доминирование грибов. В каштановых почвах и на черноземах при нейтральной и слабощелочной реакции наблюдается значительное количество актиномицетов [10].

В зоне избыточного увлажнения и на затопляемых почвах рисовых полей увеличивается биомасса водорослей, повышается роль анаэробных процессов.

Таким образом, в зависимости от экологических условий происходит смена доминирующих форм микроорганизмов. Отсюда логически вытекает вывод, что разрушение гербицидов в разных почвенно-климатических условиях на парующих почвах или под растительным покровом может происходить при участии различных микроорганизмов. Теоретическое и практическое значение этого вывода будет понятно при рассмотрении трансформации некоторых гербицидов. Метаболические пути распада гербицидов, относящихся к различным классам органических соединений, изучены не в одинаковой степени, что, собственно, зависит от ряда факторов, в том числе от времени их синтеза и поступления к исследователям. Наиболее подробно изучены феноксиалкилкарбоновые кислоты, представители которых были синтезированы и нашли широкое применение еще в начале 40-х годов, и галогенпроизводные алифатические кислоты.

Микробная трансформация триазиновых гербицидов, производных фенилмочевины и фенилкарбаматов, была достаточно подробно изучена в последние 5—7 лет. Однако схема их метаболизма все еще не вскрыта до конца.

Гипотетической является метаболическая схема для тиокарбаматов. До сих пор не выделены микроорганизмы, участвующие в детоксикации дитиокарбаматов.

Мы попытались представить основные биохимические реакции, экспериментально установленные для начальных этапов трансформации органических соединений, об-

ладающих гербицидными свойствами, в результате которых, как правило, происходит потеря или ослабление гербицидной активности (табл. VII.7). Это — гидролиз,

Т а б л и ц а VII.7

Метаболизм микроорганизмами основных групп органических соединений, используемых в качестве гербицидов

Гербицид	Начальный этап трансформации гербицидов	Микроорганизмы
Феноксилалкилкарбоновые кислоты	Гидроксилирование	<i>A. niger</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.
	Разрыв эфирной связи β-окисление алифатической цепи	<i>Arthrobacter</i> sp., <i>Flavobacterium</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., <i>A. niger</i> , <i>Nocardia opaca</i> <i>Pseudomonas</i> sp.
Хлорпроизводные алифатические кислоты	Замещение Cl на OH-группу	<i>Arthrobacter</i> sp. <i>Fusarium roseum</i>
Симм-триазины	Гидролиз Гидролиз, потеря заместителя у C атома в гетероцикле	
Фенилмочевины	Деалкилирование с последующим дезаминированием	<i>A. fumigatus</i>
	Последовательное деалкилирование	<i>Talaromyces wortmanii</i>
Фенилкарбаматы	Гидролиз	<i>Bac. sphaericus</i> <i>Pseudomonas striata</i>
Тиокарбаматы	»	Не выделены
Дитиокарбаматы	Не изучен	»
Дипиридилы	Деметилирование	Неидентифицированные бактерии

деалкилирование, разрыв эфирной связи, окисление алифатической цепи, гидроксилирование. Последующие этапы связаны с образованием веществ, которые используются в процессах биосинтеза как энергетический материал и источник питания.

Следует обратить внимание на существование нескольких путей превращения гербицидов в культурах микроорганизмов. Например, высшие феноксилканы (2М-4ХМ, 2,4-ХМ и др.) в результате β-окисления боковой цепи в культуре *Pseudomonas* sp. образуют произ-

водные феноксиуксусной кислоты, а при гидролизе по месту эфирной связи в культуре *Flavobacterium* sp. дают производные фенола.

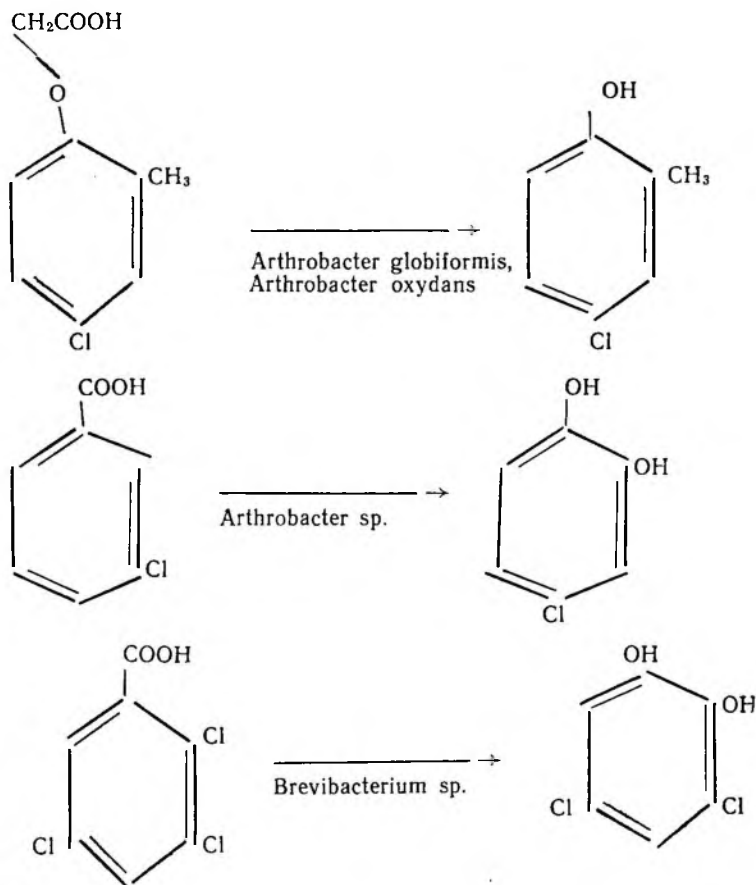
Начальные этапы разложения хлор-симм-триазинов могут происходить двумя путями. В результате замещения хлора гидроксильной группой в культуре *Fusarium roseum* образуются нефитотоксичные гидроксианалоги, а при последовательном деалкилировании в культуре *A. fumigatus* — аминотриазины — амелин и амелид. При гидролизе алкилфенилмочевин наблюдается образование соответствующих производных анилина, при деалкилировании — различные производные фенилмочевин. В связи с этим пути трансформации гербицидов и персистентность их, а также их метаболитов в почве неодинаковы и, соответственно, по-видимому, различно их воздействие на флору и фауну. Существование нескольких вероятных путей разложения гербицидов в зависимости от участвующих в процессах микроорганизмов предопределяет и накопление различных метаболитов в почвах и водоемах.

Было показано, что гербициды, в частности хлорпроизводные алифатические кислоты, могут использоваться микроорганизмами в качестве источника энергии и питания. Однако характерная черта трансформации многих гербицидных веществ заключается в том, что начальные этапы этого процесса идут с затратой энергии. Поэтому для осуществления их требуются определенная биомасса и энергетический материал, обеспечивающий нормальное развитие микроорганизмов. Этот феномен трансформации органических веществ за счет других источников углерода получил название кометаболизма. Механизм его для феноксиалканов, по мнению Г. К. Скрябина и др. [12], заключается в том, что «окисление источника углерода генерирует восстановленные коферменты, необходимые для функционирования трансформирующих систем». В соответствии с этим процесс трансформации таких гербицидов возможен только при окислении других органических веществ. Некоторые реакции такого рода приведены на с. 225.

Таким образом, способность к трансформации тех или иных гербицидных веществ в почве предопределяется не только присутствием в ней тех или иных микроорганизмов, потенциально способных к проведению этого процесса, о чем мы уже говорили выше, но и наличием тех

или иных субстратов, создающих условия для процессов кометаболизма. В связи с этим нельзя не учитывать чрезвычайно разнообразный качественный состав органического вещества различных почв и его высокую лабильность, что зависит от типа почвы и возделываемой культуры. Возможно, что наблюдаемое рядом авторов ускорение процессов детоксикации гербицидов при внесении навоза и сидератов в почву имеет в основе ту же природу—кометаболизм.

Накопленные в литературе данные позволяют сделать заключение о том, что производственные дозы гербицидов не производят катастрофических изменений в



микрофлоре и процессах, протекающих в почве. Почва обладает значительной биологической буферностью. Вместе с тем достаточно четко выявляется селективное действие некоторых гербицидов на микрофлору, что вызывает заметную перестройку микробных ценозов. Степень и длительность этих изменений зависят, по-видимому, как от структуры химических соединений, так и от состава микроорганизмов в почве, который определяется соответствующими почвенно-климатическими факторами.

Применение пестицидов в сельском хозяйстве влечет за собой изменение технологии механической обработки почвы, вплоть до полного отказа от нее («минимальная», «нулевая» обработки, «химический» пар и т. д.), что связано с изменением плотности растительного покрова, перераспределением органического вещества в почве, изменением водно-воздушного режима в ней. Эти факторы играют исключительно важную роль в жизни микроорганизмов и определяют косвенное влияние гербицидов на микрофлору почвы. Последнее наиболее четко проявляется при длительном многократном применении гербицидов, особенно при бессменных посевах.

В связи с тем, что при интенсификации земледелия насыщение почвы пестицидами с каждым годом увеличивается, и уже в настоящее время применение их имеет систематический характер, вопрос этот приобретает исключительно важное значение. Не вызывает сомнения, что микроорганизмы являются важнейшим агентом детоксикации гербицидов. Однако вопрос о степени их участия в этом процессе в почвах и водоемах далеко не ясен. Относительно быстрая адаптация микроорганизмов к гербицидам в условиях накопительной культуры не соответствует исключительно высокой персистенции многих из них в почвах. Вследствие гетерогенности распределения гербицидов, исключительно низкой концентрации их и в большинстве случаев плохой растворимости в воде эффект адаптации в полевых условиях менее выражен и растянут на более длительные сроки.

Важное место в механизме детоксикации гербицидов занимают, по-видимому, реакции кометаболизма, идущие за счет окисления других органических веществ, присутствующих в средах. Отсюда логически вытекает направление поиска приемов, регулирующих скорость разложения гербицидов в почве, которые заключаются во введении в почву органических удобрений, свежих рас-

тительных остатков в виде сидератов и специфических веществ индивидуальной природы, а также в создании условий, необходимых для их энергичного окисления микроорганизмами. Имеющийся в этом отношении опыт дает обнадеживающие результаты [15].

Наличие микроорганизмов, способных в лабораторных условиях энергично разрушать гербициды, наводит на мысль об использовании их для ускорения процессов детоксикации веществ в почве путем искусственной инокуляции. Такой путь, как нам кажется, является наименее перспективным по ряду причин. Главная из них заключается в том, что почва обладает сильной биологической буферностью, которая определяется исторически сложившимся ценозом микроорганизмов, базирующимся на целом комплексе экологических условий. Опыты с бактериальными удобрениями, препаратами микробов—стимуляторов роста показали, что микрофлора, внесенная в почву, быстро «выбрасывается» из естественного ценоза.

Попытки использовать микроорганизмы для инокуляции почвы давали неплохие результаты в стерильных условиях, но оказались малоэффективными в нестерильной почве. Для получения результатов, представляющих практический интерес, «нагрузка» инокулюма должна составлять 10^7 — 10^9 клеток бактерий на 1 г почвы. Современные бактериальные препараты, выпускаемые микробиологической промышленностью, содержат 10^9 — 10^{10} клеток на 1 г препарата. Следовательно, при такой нагрузке в почву необходимо будет внести не менее 10 г препарата на 1 кг или не менее 30 т на 1 га площади сельскохозяйственных угодий. Совершенно ясно, что применение таких микробных препаратов будет нерентабельным, хотя не исключено, что этот метод окажется эффективным при использовании микробных препаратов в коллекторной сети очистных сооружений.

Указатель литературы

1. Буткевич В. В. Стерилизация почвы. М., «Сельхозгиз», 1950.
2. Круглов Ю. В. Влияние гербицидов на микрофлору почвы. — В кн.: Микробиология на службе сельского хозяйства. [Сер. «Итоги науки»]. М., 1970, с. 105—116. (ВИНИТИ).
3. Круглов Ю. В., Пароменская Л. Н. Детоксикация симазина микроскопическими водорослями. — «Микробиология», 1970, т. 39, вып. 1, с. 157—160.

4. Круглов Ю. В. О критериях оценки токсического действия пестицидов на микробиологические процессы в почве. — В кн.: Тезисы докладов советских участников 8-го Международного конгресса по защите растений. М., 1975, с. 69—70.
5. Круглов Ю. В., Перцева А. В., Галкина Г. А. Изменение биологической активности почвы под влиянием многолетней систематической обработки гербицидами. — «Докл. ВАСХНИЛ», 1975, № 2, с. 20—21.
6. Красильников Н. А. Микроорганизмы и высшие растения. М., Изд-во АН СССР, 1958.
7. Майер-Бодэ Г. Остатки пестицидов. М., «Мир», 1966.
8. Меренюк Г. В., Тарков М. И. Действие пестицидов на микроорганизмы. Кишинев, «Штинца», 1972.
9. Мельников Н. Н. Современные направления развития производства и применения пестицидов. М., 1970. (ВИНИТИ).
10. Мишустин Е. Н., Емцев В. Т. Микробиология. М., «Колос», 1970.
11. Михайлова Е. И., Круглов Ю. В. Влияние некоторых гербицидов на альгофлору почвы. — «Почвоведение», 1973, № 8, с. 81—85.
12. Скрябин Г. К. и др. Микробиологическая трансформация гербицидов в соокислительных условиях. — «Изв. АН СССР. Сер. биол.», 1974, № 3, с. 353—359.
13. Соколов М. С., Стрекозов Б. П. Миграция и детоксикация пестицидов в почвах. М., 1970. (ВНИИТЭИСХ).
14. Соснин Н. А. О минимализации обработки почвы в зоне обыкновенных черноземов Северного Казахстана. — «Вестн. с.-х. науки», 1972, № 1, с. 58—63.
15. Тосков Н. и др. Химизация на селското стопанство и микробиологичните процеси в почвата. Пловдив, «Христо Г. Данков», 1973.
16. Разложение гербицидов. Под ред. П. Керни и Д. Кауфман. М., «Мир», 1971.
17. Alexander M. Introduction to Soil Microbiology. — J. Wiley and Son's Inc., New York — London, 1961.
18. Alexander M. Microbiol degradation and biological effects of pesticides in soil. — «Soil Biology, reviews of research», Paris, UNESCO, 1969, p. 209-240.
19. Alexander M. Biodegradation: Problems of molecular recalcitrance and microbiol fallibility. — «Adv. Appl. Microbiol.», 1965, vol. 7, p. 35-80.
20. Anderson J. R., Drew E. A. Growth characteristics of a species of Lipomyces and its degradation of paraquat. — J. Gen Microbiol., 1972, vol. 70, No. 1, p. 43-58.
21. Audus L. I. The physiology and biochemistry of herbicides. — «Acad. Press», London — New York, 1964, p. 163-206.
22. Cullimore D. R. Interaction between herbicides and soil microorganisms. — «Res. Revs», 1971, vol. 35, p. 65-80.
23. Domsch K. H. Interactions of soil microbes and pesticides. — «Symp. Biol. Hung.», Budapest, 1972, p. 337-347.
24. Grossbard E. An appraisal of the criteria by which to measure the effect of herbicides on the soil microflora. — «Meded. Fac. landbouwwetensch. Rijksuniv. Gent», 1970, 35, No. 2, p. 515-530.

25. Horvath R. S., Alexander M. Cometabolism of m-chlorobenzoate by an *Arthrobacter*. — «Appl. Microbiol.», 1970, vol. 20, No. 2, p. 254-258.
26. Jensen H. L. The influence of herbicide chemical on soil metabolism and the zymogenic soil microflora. — «Recent Progr. Microbiol.», Toronto, Univ. Press, 1963, p. 249-256.
27. Kaiser P., Pochon J., Cassine K. Influence of triazine herbicides on soil microorganisms. — «Res. Rews», 1970, vol. 32, p. 211-233.
28. Kaufman D., Kearney P. C. Microbial degradation of s-triazine herbicides. — «Res. Rews», 1970, 32, p. 235-263.
29. Kearney P. C., Kaufman D. Enzyme from soil bacterium hydrolyzes phenylcarbamate herbicides. — «Science», 1965, No. 3659, p. 740-741.
30. Kearney P. C. Summary and conclusions. — «Res. Rews», 1970, 32, p. 391-399.
31. McRae I. C., Alexander M. Microbial degradation of selected herbicides in soil. — J. Agr. and Chem., 1965, 13, No. 1, p. 72-76.
32. Raymond D., Alexander M. Cleavage of the Ether Bond of Phenylmethyl Ether by Enzymes of *Arthrobacter* sp. — «Pesticide biochemistry and physiology», 1972, vol. 2, No. 3, p. 270-277.
33. Tweedy B., Loeppky C., Ross I. A. Metabolism of 3-(p-bromophenyl)-1-methoxy-1-methylurea (methobromuron) by selected soil microorganisms. — J. Agr. and Food Chem., 1970, vol. 18, No. 5, p. 851-853.
34. Wilkinson V., Lucas R. L. Influence of herbicides on the competitive ability of fungi to colonize plant residues. — «New Phytol.», 1969, vol. 68, p. 701-708.
35. Wilkinson V., Lucas R. L. Effect of herbicides on the growth of soil fungi. — «New Phytol.», 1969, vol. 68, p. 709-712.
36. Wright S. I. L. Degradation of herbicides by Soil Microorganisms. — «Microbial Aspects of Pollution», London—New York, 1971, p. 233-255.

О Г Л А В Л Е Н И Е

Введение	3
Глава I. Корневое питание растений и почвенно-микробиологические процессы	11
Роль почвенной микрофлоры в корневом питании растений	11
Минерализация органического азота почвенными микроорганизмами	17
Иммобилизация минерального азота удобрений микроорганизмами	27
Использование растениями биологически поглощенного азота	31
Опыты с применением ^{15}N в стерильных почвах как один из методов изучения азотного режима	36
Глава II. Биохимическая деятельность микрофлоры и плодородие почвы	47
Ферментативная активность почвы	47
Влияние различных агротехнических мероприятий на ферментативную активность почв	59
Коррелятивная связь активности ферментов с основными элементами плодородия почв	75
Глава III. Биологический азот и его роль в земледелии	83
Значение биологически связанного азота	83
Клубеньковые бактерии и их свойства	89
Некоторые данные о механизме и химизме симбиотической фиксации азота	93
Производство и применение нитрагина	97
Эффективность нитрагина	99
Влияние биологически связанного азота на качество урожая и последствие бобовых культур	104
Условия, определяющие активную деятельность азотфиксирующей системы: бобовое растение — клубеньковые бактерии	110
Глава IV. Анаэробная азотфиксирующая флора различных почвенных типов	126
Распространение различных видов <i>Clostridium</i> в почвах Советского Союза	126
Влияние почвенно-климатических условий на изменчивость морфолого-физиологических особенностей <i>Clostridium</i>	130
Эффективность фиксации азота	137

Глава V. Взаимоотношения растений с микроорганизмами ризосферы и филлосферы	144
Характер взаимоотношений между растениями и сопутствующими им микроорганизмами	144
Корневая и ризосферная микрофлора и ее роль в питании растений	147
Микрофлора филлосферы и ее значение для растений	165
Полезные свойства эпифитных микроорганизмов и их роль в жизни растений	173
Влияние условий выращивания на взаимоотношения растений с микроорганизмами	179
Глава VI. Удобрения и почвенно-микробиологические процессы	191
Глава VII. Микрофлора почвы и гербициды	204

АГРОНОМИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Л., отделение издательства «Колос», 1976

231 с с ил.

Редактор Г. А. Пенькова Художественный редактор О. П. Андреев
Технический редактор Л. Б. Резникова Корректор А. У. Федорова

Сдано в набор 9/VI 1976 г. Подписано к печати 17/XI 1976 г.
Формат 84×108¹/₃₂. Бумага тип. № 1. Усл. печ. л. 12,18. Уч.-изд. л. 13,18.
Тираж 3 000 экз. Заказ № 1128. Цена 83 коп.

Отделение ордена Трудового Красного Знамени издательства «Колос»,
191186, Ленинград, Д-186, Невский пр., 28.

Типография № 8 Управления издательств, полиграфии и книжной торговли
Мосгорисполкома, Москва, Товарищеская ул., д. 4