

УДК 631.46:576.851.15

## ИНТЕНСИВНОСТЬ НЕСИМБИОТИЧЕСКОЙ ФИКСАЦИИ АТМОСФЕРНОГО АЗОТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СОЧЕТАНИЯХ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА, ВЛАЖНОСТИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ПОЧВЫ

М. С. ЯГОДИНА, Б. А. ЯГОДИН, Е. Л. ВЕРЕВКИН  
(Кафедра агрономической и биологической химии  
и ВНИИ удобрений и агропочвоведения)

Исследованию несимбиотической фиксации атмосферного азота посвящено много работ, но ее размеры в различных почвенно-климатических зонах страны изучены недостаточно, поскольку в природных условиях азотфиксация зависит от ряда весьма динамичных факторов среды, которые обуславливают значительные колебания в ее активности [1—24]. Указанное обстоятельство затрудняет оценку размеров азотфиксации на 1 га посевной площади за весь вегетационный период.

Анализ литературных данных и результаты наших исследований позволяют предположить, что такие факторы, как обеспеченность почвы органическим веществом, ее влажность и температура определяют проявление в почве азотфиксирующей активности. Размеры последней будут зависеть от продуктивности микроорганизмов, преобладающих в данном типе почв. Минеральные удобрения, известкование почв, растительный покров, газовый режим и другие факторы в известной мере изменяют интенсивность этого процесса, но, как правило, они эффективны в тех условиях, когда влажность, температура и органическое вещество не лимитируют азотфиксацию.

Изучение динамики фиксации атмосферного азота в полевых условиях [9] показало, что при изменении оптимальных значений одного из факторов (снижение температуры до 2° или уменьшение влажности до 10—13%) различия по уровню азотфиксации между вариантами с минеральными удобрениями отсутствовали, количество фиксированного азота резко снижалось.

В настоящее время в литературе имеются определенные сведения о влиянии влажности, температуры почвы и содержания органического вещества на несимбиотическую фиксацию атмосферного азота, полученные при вычленении влияния на данный процесс одного из этих факторов. Большинство исследований проведено на плодородных почвах рисовых полей [1, 3—5, 11, 23, 24]. Показано, что за счет несимбиотической фиксации атмосферного азота под рисом может ежегодно накапливаться до 60—70 кг азота на 1 га [11]. Причем в затопляемых почвах под растениями фиксируется 57—63 кг азота на 1 га за сезон, в незатопляемых — 3—7 кг, без растений в затопленных почвах — 23—28 кг азота на 1 га [24]. Азотфиксация в почвах рисовых полей Краснодарского края достигала 9—27 кг азота на 1 га за 3-месячный период вегетации. При внесении соломы в почву усиливалось размножение различных групп азотфиксирующих микроорганизмов и азотфиксация возрастала до 20—40 кг азота на 1 га в месяц [4]. Увеличение влажности почвы приводило к повышению активности азотфиксации при разложении соломы и целлюлозы [4, 10]. Азотфиксирующая активность снижалась при влажности почвы, близкой к полной влагоемкости [4].

Внесение в почву глюкозы, целлюлозы, соломы, корневых и пожнивных остатков при повышенной влажности вызывало усиление азотфик-

сации [2—5, 7—9, 10, 18, 19] и в отдельных случаях до 64 и 800 раз [19] по сравнению с исходным уровнем.

Значительно изменяется азотфиксирующая активность в почве и при колебании температуры, причем в различных экосистемах неодинаково. Так, в пастбищных и окультуренных почвах Ирландии азотфиксация отсутствовала при 10°, слабая азотфиксация наблюдалась при 25° в анаэробных условиях [18]. В ассоциациях азотфиксирующих микроорганизмов в почвах Западной Сибири процесс азотфиксации в условиях культуры наиболее интенсивен при 26°. Некоторые формы микроорганизмов способны фиксировать азот при температурах, близких к нулю [6]. Максимальная фиксация азота микрофлорой болотного торфа отмечена при 30—35°, процесс ингибировался при 45° [22]. В отдельных случаях [15] несимбиотическая фиксация азота при температуре 15—25° была выше, чем при температуре 35°.

Необходимо уточнить значения влажности и температуры в различных почвенно-климатических условиях, при которых происходит торможение или интенсификация азотфиксирующей активности.

Цель настоящей работы изучить дифференцированное действие содержания органического вещества, влажности и температуры почвы и взаимовлияние этих факторов на несимбиотическую азотфиксацию.

#### Методика

Для лабораторного опыта использовали образцы дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почвы,  $pH_{KCl}$ —5,8, содержание гумуса—1,5%,  $K_2O$ —12,8 мг,  $P_2O_5$ —10,3 мг на 100 г почвы. Компосты приготавливали из пожнивно-корневых остатков костра безостого в почве из-под озимой пшеницы, посеянной по костру после 3-летнего использования. Определяли зависимость азотфиксации (зависимая переменная  $y$ ) от содержания органического вещества (независимая переменная  $x_1$ ), влажности (независимая переменная  $x_2$ ), температуры почвы (независимая переменная  $x_3$ ). Эта зависимость

ней приписывалось два—0 и 2. В результате эксперимент разбивался на две части, в первой из которых изучались сочетания двух уровней—0 и 1 для трех факторов— $x_1$ ,  $x_2$  и  $x_3$  на нулевом фоне  $S_0=000$ , а во второй—те же сочетания на втором уровне условного фактора  $S_1=111$ . В обоих случаях на определенном фоне число вариантов составляет  $2 \times 2 \times 2=8$ , а на обоих вместе— $8 \times 2=16$  вариантов. При четырех сроках компостирования общее количество вариантов в опыте  $16 \times 4=64$ .

В целом схема опыта для каждого срока компостирования была следующей:

Фон $S_0=000$				Фон $S_1=111$			
000	002	200	202	111	113	311	313
020	022	220	222	131	133	331	333

изучалась при четырех сроках компостирования:  $T_1=3$ ;  $T_2=9$ ;  $T_3=14$ ;  $T_4=30$  сут. Каждая из трех переменных испытывалась при четырех уровнях, включая нулевой: 0; 1; 2 и 3. При проведении эксперимента по полной схеме понадобилось бы  $4 \times 4 \times 4 \times 4=256$  вариантов. Для сокращения числа вариантов при планировании опыта был применен так называемый метод условного фактора<sup>1</sup>.

Условный фактор состоял из двух сочетаний трех указанных независимых переменных  $S=x_1x_2x_3$ , причем он имел два уровня— $S_0=000$  и  $S_1=111$ . Трех же основным факторам— $x_1$ ,  $x_2$  и  $x_3$ —вместо четырех уров-

В приведенных сочетаниях первая цифра (0; 1; 2; 3) означает уровень 1-го фактора—содержание в почве органического вещества, взятого для компостирования в форме пожнивно-корневых остатков (0—отсутствие органического вещества в почве; 1—0,5%; 2—1%; 3—2%), вторая цифра—уровень 2-го фактора—влажности почвы (0—20%; 1—25%; 2—30%; 3—35%), третья цифра—уровень 3-го фактора—температуры—0—(+2°); 1—(+10°); 2—(+18°); 3—(+26°). Азотфиксирующую активность в почве определяли ацетиленовым методом [9].

<sup>1</sup> Сокращенная схема опыта разработана в лаборатории математических методов ВИАУ. Там же под руководством В. Н. Перегудова была проведена статистическая обработка экспериментальных данных.

## Обсуждение результатов

В таблице приведены исходные данные о величине азотфиксации ( $y$ ) для четырех сроков компостирования. Довольно быстрое ее повышение наблюдалось по мере увеличения продолжительности компостирования. Например, в 30-суточных компостах в варианте 111 (содержание органического вещества — 0,5%, влажность — 25%, температура — 10°) азотфиксация была в 10 раз больше, чем в 3-суточных, а в варианте 333 (содержание органического вещества — 2%, влажность — 35%, температура — 26°) — более чем в 40 раз. Азотфиксирующая активность в почве значительно увеличивалась и при повышении уровней изучаемых факторов, особенно при сочетании их наивысших уровней. При 3-суточном компостировании величина азотфиксации между вариантами колебалась от 0,34 до 37,44, при 9-суточном — от 1,69 до 965,00, а при 30-суточном — от 6,72 до 1591,74 мкг N на 1 кг почвы в сутки. Из полученных экспериментальных данных следует, что величина изучаемого признака сначала мало изменяется, но по мере повышения уровней факторов она довольно значительно повышается. При графическом изображении получается круто возрастающая кривая совокупного действия факторов.

Например, при 14-дневном компостировании имеем следующие фактические данные:

Варианты	000	111	222	333
Значения $y$	0,51	3,90	125,42	1448,72

Полученная зависимость с достаточной точностью описывается уравнением

$$y = a^z,$$

и после обработки данных на ЭВМ, дисперсионного и регрессионного анализов это уравнение примет вид:

$$y = 10^{a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_1x_2 + a_5x_1x_3 + a_6x_2x_3}.$$

Данное уравнение позволяет определить теоретические значения азотфиксации при любых сочетаниях градаций изученных факторов (при этом не рекомендуется выходить за границы взятых в опыте). В таблице приводятся коэффициенты корреляции между фактическими и теоретическими величинами азотфиксации, которые указывают на их

**Величина азотфиксации (мкг N на 1 кг почвы в сутки) при различном сочетании уровней изучаемых факторов (фактические и теоретические данные)**

Варианты	Срок компостирования, сут							
	3		9		14		30	
	факт.	теор.	факт.	теор.	факт.	теор.	факт.	теор.
000	0,34	0,63	1,69	3,07	0,51	0,91	6,72	13,43
002	1,69	0,95	2,37	2,05	2,37	2,27	12,78	9,64
020	0,34	0,28	2,54	1,36	0,34	0,30	13,28	9,55
022	1,18	1,14	1,52	2,18	2,71	2,37	14,62	10,60
200	2,54	1,39	3,55	2,62	6,27	2,46	5,28	7,21
202	1,69	2,12	2,93	5,47	5,42	3,78	9,86	9,04
220	0,34	0,81	3,55	4,69	3,22	6,15	15,11	33,56
222	1,69	3,25	140,90	23,45	125,45	29,59	569,35	64,90
111	1,36	1,05	4,90	3,62	3,90	2,66	13,80	14,40
113	2,88	2,60	6,93	6,62	8,28	9,20	11,66	16,97
131	1,36	0,88	3,22	4,99	5,08	4,28	32,19	32,55
133	3,22	5,73	16,42	21,93	25,67	46,64	24,47	59,10
311	3,73	2,64	8,47	10,98	5,42	15,46	15,27	26,15
313	5,08	6,57	32,02	62,46	21,36	32,89	30,18	53,84
331	2,54	2,82	153,28	60,89	229,16	187,80	384,00	386,90
333	37,44	18,50	965,00	831,80	1448,72	1252,60	1591,74	1228,00
R		0,955		0,988		0,998		0,949

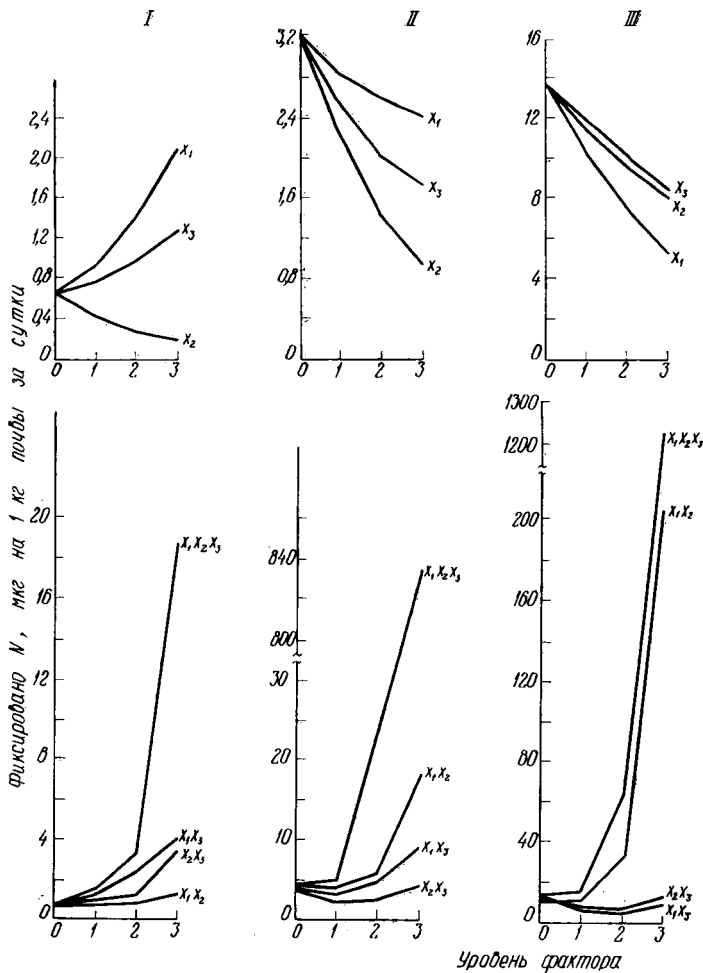


Рис. 1. Влияние отдельно взятых факторов: органического вещества ( $x_1$ ), влажности ( $x_2$ ) и температуры ( $x_3$ ), их парных и тройных сочетаний на несимб, фиксацию атмосферного азота.  
 I, II и III — компостирование соответственно 3, 9 и 30 сут.

высокую сопряженность. Это дало основание для каждого изучаемого фактора —  $x_1$  (содержание в почве органического вещества),  $x_2$  (влажность),  $x_3$  (температура), — взятого при 4 уровнях (0; 1; 2; 3), произвести расчеты азотфиксации при любой комбинации этих уровней, то есть в количестве  $4 \times 4 \times 4 = 64$  вариантов для каждого срока.

На рис. 1 представлены данные, характеризующие действие на азотфиксацию отдельно взятых факторов —  $x_1$ ,  $x_2$  и  $x_3$ , их парных сочетаний —  $x_1$  и  $x_2$ ,  $x_1$  и  $x_3$ ,  $x_2$  и  $x_3$  и тройного сочетания —  $x_1x_2x_3$ . Данные показывают, что все три фактора, взятые в отдельности, по мере увеличения их уровня и продолжительности компостирования (9,30 сут) приводят к снижению азотфиксации. Это наблюдается при повышении уровня одного фактора при начальных величинах двух других.

Например, при компостировании почвы в течение 30 сут повышение содержания органического вещества ( $x_1$ ) с 0 до 2% при начальном уровне температуры ( $2^\circ$ ) и влажности (20%) сопровождалось уменьшением азотфиксирующей активности. Аналогичная картина наблюдалась при увеличении влажности с 20 до 35% и температуре  $2^\circ$  без органики, а также и при повышении температуры с 2 до  $26^\circ$  в варианте с влажностью 20% и без органики.

При парной комбинации  $x_1$  и  $x_2$ , начиная с уровня 2 (влажность — 30%, содержание органического вещества — 1%), азотфиксация возрастала и в варианте 330 (содержание органического вещества — 2%, влажность — 35%) достигала большой величины при 30-дневном компостировании. При парных сочетаниях различных уровней таких факторов, как  $x_1$  и  $x_3$ ,  $x_2$  и  $x_3$ , азотфиксирующая активность или не повышалась, или повышалась весьма незначительно.

Совместное действие трех факторов по мере увеличения уровня каждого из них приводило к резкому росту азотфиксирующей активности в почве. Причем по мере увеличения продолжительности компостирования (с 3 по 30 сут) фиксация азота прогрессивно повышалась (с 18,5 до 1228,0 мкг N на 1 кг почвы в сутки). Максимум азотфиксирующей активности наблюдался при содержании органического вещества в почве 2%, влажности 35% и температуре 26°.

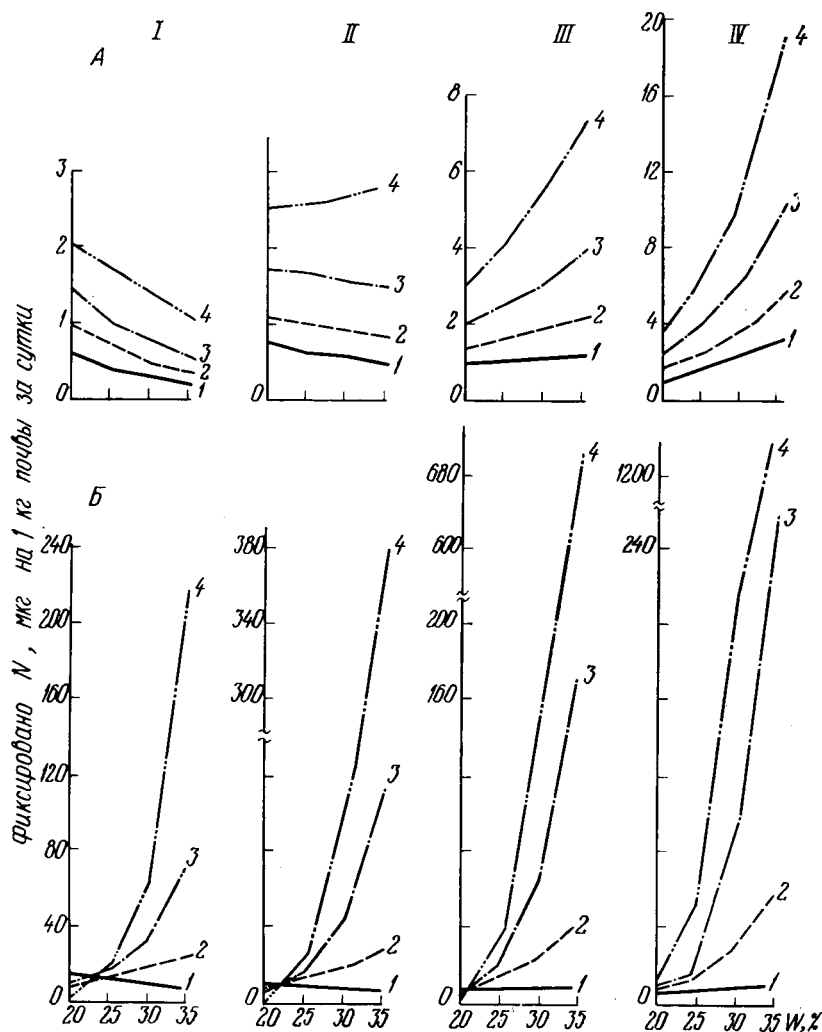


Рис. 2. Интенсивность несимбиотической азотфиксации в зависимости от влажности почвы и обеспеченности органическим веществом при различном температурном режиме.

А и Б — компостирование соответственно в течение 3 и 30 сут;  
 I, II, III, IV — температура при компостировании почвы соответственно 2, 10, 18 и 26°; 1 — компостирование при отсутствии органического вещества; 2 — вариант с содержанием 0,5% органического вещества; 3 — с 1%; 4 — с 2%.

Наряду с общей оценкой действия на азотфиксацию отдельно взятых факторов, их парных и тройных сочетаний значительный интерес представляет изучение действия каждого из этих факторов на разных фонах двух дружих.

Из характера кривых (рис. 2) следует, что при температуре почвы 2 и 10° в начале компостирования (3 сут) во всех вариантах, различающихся по содержанию органического вещества, азотфиксирующая активность с увеличением влажности почвы снижалась, особенно при температуре 2°. Весьма непродолжительный ингибирующий эффект отмечался и при компостировании соломы в почве, залитой водой [16, 17].

При температуре почвы 18 и 26° азотфиксация увеличивалась по мере улучшения влагообеспеченности и повышения в почве концентрации органического вещества.

При более поздних сроках компостирования (14—30 сут) не наблюдалось тормозящего влияния на азотфиксацию пониженных температур. Начиная с дозы органического вещества 1% и влажности 30% азотфиксирующая активность возрастала, особенно при 18 и 26°.

Следует отметить, что в варианте без органического вещества в почве при колебании температуры от 2 до 18° и влажности от 20 до 30% количество фиксированного атмосферного азота составило 8,2—11,1 мкг при максимуме 12,3 мкг.

При внесении в почву органического вещества в изучаемом интервале температур варьирование азотфиксирующей активности в зависимости от влажности и количества органического вещества значительно увеличивалось. При содержании в почве 0,5% органического вещества и влажности 20 и 35% азотфиксация составила соответственно 9,09—9,84 и 24,2—59,1 мкг N. В вариантах с 1 и 2% органического вещества и влажности 35% было фиксировано 72,4—269,3 мкг и 217,1—1228,0 мкг N на 1 кг почвы за сутки.

Хотя лабораторные исследования трудно экстраполировать на природные условия, тем не менее они дают четкое представление о закономерностях изменения интенсивности процесса и возможных размерах несимбиотической азотфиксации в дерново-подзолистой почве.

Наблюдаемую нами закономерность изменения величины несимбиотической азотфиксации при компостировании с различным содержанием органического вещества следует учитывать при планировании методики эксперимента. В начальные сроки компостирования при увеличении содержания органического вещества с 0,5 до 1 и 2% в интервале температуры 18 и 26° и влажности 35% азотфиксирующая активность возросла соответственно в 2 и 4 раза. При продолжительном компостировании (30 сут) азотфиксация при этих же условиях увеличилась в 4 и 21 раз.

Если пересчитать количество фиксируемого азота на 1 г органического вещества с учетом 0,5; 1 и 2% содержания органического вещества при влажности 35% и температуре 26°, то получим следующие величины азотфиксации: 11,8; 24,2; 61,4 мкг N на 1 г растительных остатков. Исходя из этого нам кажется целесообразным при необходимости установления количества азота, дополнительно фиксируемого на внесенное органическое вещество, делать компосты не более чем с 0,5% содержанием органического вещества. В пересчете на посевную площадь это будет соответствовать 15 т пожнивно-корневых остатков на 1 га. При 2% содержании органического вещества (60 т/га) и пересчете размеров азотфиксации на реально поступившее количество пожнивно-корневых остатков получается завышенная величина.

### Заклучение

Увеличение уровня одного из факторов (органического вещества, влажности и температуры) при начальных уровнях двух других приводит к снижению азотфиксации. При парной комбинации факторов (ор-

ганического вещества и влажности) азотфиксирующая активность возрастает. Сочетания органического вещества с температурой и влажности с температурой не дают таких результатов. При совместном действии трех факторов по мере увеличения их уровней процесс азотфиксации резко возрастает. Характер изменения азотфиксирующей активности позволяет заключить, что без внесения в почву органического вещества за месяц может быть фиксировано не более 0,7—1,1 кг N на 1 га. При поступлении в почву 15 т пожнивно-корневых остатков азотфиксация будет колебаться от 0,8 до 5,4 кг на 1 га. При влажности 20% и изменении температурного режима от 2 до 26° в дерново-подзолистой почве может быть фиксировано 0,6—0,9 кг, а при влажности 35% — 2,2—5,4 кг N на 1 га за месяц.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Баландро Ж. П., Доммерг И. Р., Умаров М. М. Определение несимбиотической азотфиксации в ризосфере риса ацетиленовым методом. В кн.: Повышение плодородия почв рисовых полей. М., «Наука», 1977, с. 107—116. — 2. Емцев Т. А., Покровский Н. П., Хрушкова Т. А. Несимбиотическая фиксация молекулярного азота атмосферы в дерново-подзолистой почве и факторы, определяющие ее интенсивность. «Изв. ТСХА», 1978, вып. 1, с. 118—123. — 3. Калининская Т. А., Миллер Ю. М., Култышкина И. Т. Изучение азотфиксирующей активности почв разного типа с помощью  $^{15}\text{N}_2$ . В сб.: Применение стабильного изотопа  $^{15}\text{N}$  в исследованиях по земледелию. М., «Колос», 1973, с. 55—61. — 4. Калининская Т. А., Миллер Ю. М., Белов Ю. М., Рао В. Р. Изучение с помощью  $^{15}\text{N}_2$  активности несимбиотической азотфиксации в почвах рисовых полей Краснодарского края. «Изв. АН СССР». Сер. биол., 1977, № 4, с. 565—570. — 5. Калининская Т. А., Миллер Ю. М., Рао В. Р., Белов Ю. М. Активность несимбиотической азотфиксации в почвах рисовых полей. В кн.: Повышение плодородия почв рисовых полей. М., «Наука», 1977, с. 97—106. — 6. Клевенская И. Л. Влияние температуры и влажности почвы на развитие азотфиксаторов и процесс биологической фиксации азота. «Изв. Сиб. отд. АН СССР». Сер. биол., 1976, № 5, вып. 1, с. 59—62. — 7. Мишустин Е. Н., Сидоренко О. Д. Влияние соломы на микробиологические процессы в затопляемых рисовых полях. В кн.: Повышение плодородия почв рисовых полей. М., «Наука», 1977, с. 31—49. — 8. Чундерова А. И., Зубко И. К. Несимбиотическая фиксация азота при инокуляции почвы азотфиксирующими микроорганизмами. В сб.: Экология и физиология почвенных микроорганизмов. Л., «Наука», 1976, с. 111—125. — 9. Ягодин Б. А., Ягодина М. С., Веревкин Е. Л. Влияние минеральных удобрений и предшественников озимой пшеницы на несимбиотическую фиксацию азота атмосферы в дерново-подзолистой почве. «Изв. ТСХА», 1978, вып. 5, с. 109—115. — 10. Brouzes R., Laskik J., Knowles R. "Canad. J. Microbiol.", 1969, vol. 15, N 8, p. 899. — 11. Datt R. A. "Soil Biol. Biochem.", 1973, vol. 5, N 1, p. 5. — 12. Dommergues J. et al. "Soil Biol. Biochem.", 1973, vol. 5, N 1, p. 83—89. — 13. Hardy R. W. F. et al. "Soil Biol. Biochem.", 1973, vol. 5, N 1, p. 47—81. — 14. Hardy R. W. F. et al. "Plant Physiol.", 1968, vol. 43, N 8, p. 1185—1207. — 15. Fehr P. I., Pang P. C. et al. "Agron. J.", 1972, vol. 64, N 2, p. 251—254. — 16. Kimber R. W. "Aust. J. Agr. Research", 1967, vol. 18, N 3, p. 361. — 17. Kimber R. W. "Plant. a. Soil", 1973, vol. 38, p. 543. — 18. Murphy P. M. "Proc. Roy Irish Acad.", 1975, B75, N 22, p. 453—464. — 19. Paul E. A. et al. "Plant a. Soil", 1971, special vol. p. 495—507. — 20. Ripaud G. "Rev. ecol. biol. soc.", 1974, t. 11, N 2, p. 149—168. — 21. Vlassak K., Shivashanker K. "Agricultura" (Heverlee), 1973, vol. 21, N 4, p. 213—220. — 22. Waughman George John. "Canad. J. Microbiol.", 1976, vol. 22, N 10, p. 1561—1566. — 23. Yoshida T., Ancajas R. R. "Soil Sci. Soc. Amer. Proc.", 1971, vol. 35, N 1, p. 156—158. — 24. Yoshida T., Rosabel R. "Soil sci. soc. of Amer. Proc.", 1973, vol. 37, N 1, p. 42—46.

Статья поступила 9 ноября 1978 г.

#### SUMMARY

Dependence of the intensity of non-symbiotic nitrogen fixation on three factors — content of organic matter in the soil ( $x_1$ ), moisture ( $x_2$ ) and temperature ( $x_3$ ) — was studied at four composting dates and four levels (rates) of each factor, including the zero factor. The higher level of one factor, two other factors remaining at the initial levels, resulted in lower intensity of nitrogen fixation. In coupled combination of  $x_1$  and  $x_2$  nitrogen fixing activity was growing beginning from the second level. Combinations of  $x_1$ ,  $x_3$  and  $x_2$ ,  $x_3$  did not give similar results. Combined application of the three factors accompanied by the increasing of their levels resulted in rapid development of the process of nitrogen fixation.