

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССЫ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЫ

Н.Н. ИГНАТЬЕВ<sup>1</sup>, Т.А. КАРЕПИНА<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Кафедра почвоведения;<sup>2</sup> кафедра микробиологии и иммунологии  
РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)

Проводилась оценка биологической активности тепличного грунта с корнями огуречных проростков и без корней тремя способами. Измерялась скорость поглощения кислорода грунтом, определялась микробная биомасса в грунте, проводился подсчет колоний в чашках Петри трех групп микроорганизмов: на сусло-агаре, мясо-пептонном агаре и крахмало-аммиачном агаре. Установлена аналогия колебаний величин скорости поглощения кислорода и величин микробной биомассы по вариантам опыта. При подсчете колоний микроорганизмов такой аналогии не обнаружено. Сделан вывод, что при оценке общей биологической активности грунта следует использовать величины микробной биомассы в грунте в дополнении к величинам скорости поглощения кислорода грунтом. Такое сочетание двух подходов дает дополнительную возможность для толкования результатов при изучении общей биологической активности почвы.

*Ключевые слова:* биологическая активность почвы, скорость поглощения кислорода почвой и системой почва — растение, ретенция CO<sub>2</sub>, обобщающие показатели биологической активности почвы, доверительная вероятность.

Биологическая активность почвы — функционирование обитающих в ней живых организмов — представляет собой многоплановое явление, которое имеет целый ряд показателей и способов их оценки; например, подсчет числа микроорганизмов, измерение активности почвенных ферментов, измерение активности нитрификации и другие. Каждый из указанных показателей характеризует биологическую активность почвы с какой-то одной стороны. При работе со сложными объектами большую ценность представляют обобщающие результаты, которые характеризуют объект в целом. Долгое время одним из таковых являлся показатель скорости выделения углекислого газа из почвы. Однако очень часто результаты искажает ретенция углекислого газа, т.е. его химическое связывание [11]. В итоге экспериментатор получает результат меньший, чем почва выделяет CO<sub>2</sub> в действительности. При измерении скорости поглощения кислорода почвой ограничений такого рода нет [6].

Особенно ценным является измерение скорости поглощения кислорода почвой при наличии развившихся в ней живых корней растений. Такие измерения можно осуществлять, с использованием, например, модифицированного аппарата Варбурга [7]. Применяя различные воздействия на систему почва — растение, можно выделить такие, которые приведут к повышению урожая с.-х. культур [4]. Однако для осмысливания полученных результатов одного показателя скорости поглощения кислорода может оказаться недостаточно. В опыте Г.Н. Егриной отмечено снижение скорости поглощения кислорода тепличным грунтом с корнями огуречных проростков после предварительной обработки семян стимулятором роста растений. Опыт был

повторен: кроме величины поглощения кислорода было подсчитано число корней у каждого проростка и определена физиологическая активность почвы в вариантах (под физиологической активностью подразумевалось наличие физиологически активных веществ в почве). Оказалось, что активизация роста растений, о чем свидетельствовало увеличение числа корней у проростков, привела к увеличению содержания токсинов в почве, которые частично подавили почвенную микрофлору; отсюда и снижение биологической активности почвы [5]. Как указывают А.М. Гродзинский и соавторы, в корневых выделениях у растений содержится большое количество токсинов [3]. Увеличение количества корней у растений вполне могло сопровождаться повышением содержания в почве корневых выделений, а соответственно и токсинов. В аналогичном опыте А.О. Бирюкова показано, что усиление активности стимулирующих факторов при предпосевной обработке ими семян огурцов приводит к резкому снижению микробной массы в тепличном грунте при выращивании на нем огуречных проростков [2].

Приведенные выше примеры показывают, что усиление роста растений при действии стимулирующих факторов может сопровождаться снижением активности почвенной микрофлоры. Это похоже на почвоутомление в микромасштабе. При изучении общей биологической активности почвы, которая содержит в себе живые корни, информация о состоянии почвенной микрофлоры может быть весьма полезной для оценки полученных результатов. Для этого часто используется подсчет колоний разных категорий микроорганизмов, выросших в чашках Петри на соответствующих им питательных средах. Этот подход необходим для решения конкретных микробиологических задач, но при оценке общей биологической активности почвы он часто дает противоречивые результаты или результаты, которые с трудом поддаются истолкованию. На наш взгляд, для указанных выше целей предпочтительнее использовать общую микробную массу почвы. Это утверждение требует экспериментального подтверждения.

#### Методика

В настоящей работе приведены величины трех показателей биологической активности тепличного грунта: скорость поглощения кислорода грунтом, микробная масса грунта и количество трех групп микроорганизмов, развивающихся в грунте, полученное путем подсчета колоний на питательных средах в чашках Петри.

В качестве почвенного субстрата был использован тепличный грунт, переходный торф с добавлением доломитовой муки,  $pH_{KCl} = 6,4$ . Просеянный через сито с диаметром ячеек 3 мм грунт помещали по 5,6 г абсолютно сухого грунта в стаканчик. Объем почвы в стаканчике — 40 мл. В почву вносили удобрения из расчета: N — 122,5;  $P_2O_5$  — 57,5;  $K_2O$  — 189,1 мг/100 г почвы в форме:  $NH_4NO_3$ ;  $NH_4H_2PO_4$  и  $K_2SO_4$ . Кроме того, вносили микроэлемент медь ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) — 1,2 г/100 г грунта. В каждый стаканчик высаживали одно проросшее семя огурца (сорта Эстафета). У семидневных проростков перед анализом срезали стебли на уровне почвы. Растения выращивали под двумя лампами ДРЛФ — 400 (8). Влажность грунта поддерживали путем периодического полива дистиллированной водой на уровне 443% от сухого грунта, что соответствовало пористости аэрации 30% от объема почвы. Повторность опытов 6-кратная.

Изучение процессов поглощения кислорода грунтом выполнено Д.А. Андрюшиным с использованием модифицированного аппарата Варбурга. Анализы с почвенными микроорганизмами, выполнены по стандартным методиками [12]. Микробная

масса была определена И.Н. Басовой и С.В. Шевяковой с использованием методов, описанных в [1 и 10].

В настоящей работе приняты следующие сокращения: П — почва; Р — растения (пишется в условиях опыта); У — удобрения (NPK); КОЕ — колонии образующие единицы; Р — доверительная вероятность; СА — сусло-агар (для грибов); МПА — мясо-пептонный агар (для микроорганизмов, потребляющих органический азот); КАА — крахмало-аммиачный агар (для микроорганизмов, потребляющих минеральный азот).

Статистическую обработку проводили путем парного сравнения каждого варианта с контролем с использованием критерия Стьюдента. Все первые варианты были контрольными.

Т а б л и ц а 1

**Скорость поглощения кислорода  
тепличным грунтом с корнями  
и без корней**

Вариант	O <sub>2</sub> мл/кг·ч	%	P
1 — П	15,8	100	—
2 — П + У	31,9	202	0,99
3 — П + Cu	24,9	158	0,99
4 — П + У + Cu	36,3	230	0,99
5 — П + Р	27,5	174	0,99
6 — П + Р	27,5	100	—
7 — П + Р + У	38,8	141	0,99
8 — П + Р + Cu	33,8	123	0,99
9 — П + Р + У + Cu	47,0	171	0,99

**П р и м е ч а н и е .** Здесь и далее: 5-й вариант введен как исключение, чтобы вычленить действие растения по сравнению с действием других факторов.

**Результаты исследований**

В качестве эталона для оценки и удобства сравнения биологической активности тепличного грунта использовали скорость поглощения кислорода почвой (табл. 1).

Из таблицы 1 видно, что в условиях опыта действие удобрений привело к более высокой скорости поглощения O<sub>2</sub>, чем в опыте с наличием корней в почве. Это можно объяснить интенсивным потреблением NPK микроорганизмами. При наличии растения удобрения обеспечивают более низкую скорость поглощения O<sub>2</sub>, чем без растения. Это можно объяснить частичным подавлением почвенной микрофлоры токсинами корневых выделений растений с учетом того, что удобрения могли усилить выделительную деятельность корней.

Для оценки почвенной микрофлоры в первом приближении подсчитывают в чашках Петри КОЕ, выросшие на СА (микроскопические грибы), а также микроорганизмы, выросшие на МПА и на КАА (табл. 2).

Из таблицы 2 видно, что максимальное количество микроскопических грибов было в варианте 9, что вполне можно объяснить наиболее высокой в опыте выделительной деятельностью корней. Что касается токсинов корневых выделений, то следует отметить именно у грибов наибольшую способность разлагать токсины.

Данные о содержании в грунте микроорганизмов, развивающихся на МПА, представлены в таблице 3.

Из таблицы 3 видно, что во всех вариантах, кроме седьмого, результаты были ниже контроля. Это можно объяснить недостатком азота органических соединений. В варианте 7 результат был выше контроля при высоком уровне достоверности. Это вполне можно объяснить усилением выделительной деятельности корней растений за счет внесения удобрений. Азот органической части корневых выделений способствовал усилению активности части почвенной микрофлоры. В варианте 9 с растениями результат был близок к контролю, несмотря на наличие удобрений. Добавка в почву меди могла способствовать увеличению в корневых выделениях

Таблица 2

**Численность микроскопических грибов, учитываемых на СА, КОЕ/г/абс. сух. почвы**

Вариант	КОЕ ×10 <sup>3</sup>	%	P
1 — П	58,9	100	—
2 — П + У	78,3	133	0,95
3 — П + Cu	63,9	109	0,95
4 — П + У + Cu	89,4	152	0,95
5 — П + P	66,7	113	0,95
6 — П + P	66,7	100	—
7 — П + P + У	75,6	113	0,95
8 — П + P + Cu	70,6	106	0,95
9 — П + P + У + Cu	92,2	138	0,95

токсинов, что, несмотря на внесение удобрения, привело к результату более низкому, чем в варианте 7.

Данные о численности микроорганизмов, развивающихся на КАА, представлены в таблице 4.

Из таблицы 4 видно, что во всех вариантах результаты были выше контроля, что объясняется внесением минерального азота.

При сравнении данных таблиц 2-4 заметно, что микроорганизмы разных групп неодинаково реагируют на одни и те же условия, и подсчет колоний в чашках Петри не может служить универсальным способом для оценки общей биологической активности почвы.

Для сравнения данных, приведенных в таблице 5, с результатами, представленными в таблицах 1-4, была определена общая микробная масса в почве по тем же вариантам.

Из таблицы 5 видно, что во всех вариантах наблюдалось достоверное увеличение микробной биомассы. Максимальное ее увеличение имело место в варианте с растением, в котором в почву были внесены NPK и медь.

Результаты, полученные при всех использованных способах оценки биологической активности почвы и системы почва — растение, приведены в таблице 6.

Таблица 3

**Численность микроорганизмов, учитываемых на МПА, КОЕ / г абс. сух. почвы**

Вариант	КОЕ ×10 <sup>4</sup>	%	P
1 — П	63,9	100	—
2 — П + У	45,6	71	0,95
3 — П + Cu	41,7	65	0,95
4 — П+У+Cu	23,9	37	0,95
5 — П+P	38,3	60	0,95
6 — П+P	38,3	100	—
7 — П+P+У	46,7	122	0,95
8 — П+P+ Cu	22,2	58	0,95
9 — П + P + У + Cu	36,1	94	0,95

Таблица 4

**Численность микроорганизмов, учитываемых на КАА, КОЕ/ г абс. сух. почвы**

Вариант	КОЕ ×10 <sup>4</sup>	%	P
1 — П	38,3	100	—
2 — П + У	49,4	129	0,95
3 — П + Cu	57,2	149	0,95
4 — П + У + Cu	47,8	125	0,95
5 — П + P	48,9	128	0,95
6 — П + P	48,9	100	—
7 — П + P + У	57,8	118	0,95
8 — П + P + Cu	52,2	107	0,95
9 — П + P + У + Cu	57,2	117	0,95

Таблица 5

**Микробная биомасса, мкг/г абс. сух. почвы**

Вариант	Биомасса, мкг/г	%	P
1 — П	633	100	—
2 — П + У	1433	226	0,95
3 — П + Cu	958	151	0,95
4 — П + У + Cu	1583	250	0,95
5 — П + P	1083	171	0,95
6 — П + P	1083	100	—
7 — П + P + У	1308	121	0,95
8 — П + P + Cu	1250	115	0,95
9 — П + P + У + Cu	1833	170	0,95

## Реакция почвенной микрофлоры на внешние воздействия, % от контроля

Вариант	O <sub>2</sub>	Грибы СА	МПА	КАА	Микробная биомасса
1 — П	100	100	100	100	100
2 — П + У	202	129	71	133	226
3 — П + Cu	158	149	65	109	151
4 — П + У + Cu	230	125	37	152	250
5 — П + P	174	128	60	113	171
6 — П + P	100	100	100	100	100
7 — П + P + У	141	118	122	113	121
8 — П + P + Cu	123	107	58	106	115
9 — П + P + У + Cu	171	117	94	138	170

В таблице 6 приведены данные скорости поглощения кислорода почвой и системой почва — растение, аналогичные результатам определения микробной массы. Колебания скорости поглощения кислорода по вариантам соответствовали колебаниям микробной массы. Конкретные результаты в процентном выражении, полученные двумя способами, в некоторой степени близки, хотя и не тождественны. Для оценки корреляции между микробной биомассой и скоростью поглощения кислорода почвой без растений и с растениями использовали результаты в натуральных единицах (табл. 5, биомасса; и табл. 1, O<sub>2</sub>). Коэффициент парной корреляции составил 0,97\*\* (97%). Такой близости с данными по поглощению кислорода с результатами, полученными путем подсчета колоний в чашках Петри, мы не наблюдаем. Поэтому для оценки общего состояния почвенной микрофлоры и биологической активности почвы предпочтительнее использовать результаты измерения величины микробной биомассы.

## Выводы

1. Результаты измерения микробной биомассы почвы вполне можно использовать для оценки общей почвенной биологической активности. Изменения величин микробной биомассы по вариантам опыта были весьма близки с изменениями величин скорости поглощения кислорода тепличным грунтом в тех же вариантах.

2. При подсчете числа колоний микроорганизмов, выросших на различных питательных средах, изменение результатов по вариантам опыта не соответствуют изменению результатов по скорости поглощения O<sub>2</sub> грунтом и изменению величин микробной массы в грунте.

3. При подсчете колоний микроорганизмов в чашках Петри не обнаружено соответствия между величинами численности различных микробных групп по вариантам опыта. Это можно объяснить различными особенностями разных групп микроорганизмов. У них разная реакция на одни и те же воздействия.

4. При наличии живых корней в грунте необязательно получение максимальных результатов наблюдений. Например, скорость поглощения кислорода грунтом с корнями была ниже, чем скорость поглощения кислорода грунтом без корней при наличии в нем удобрений. Активное поглощение минерального питания микроорганизмами привело к увеличению скорости потребления O<sub>2</sub> почвенной микрофлорой.

5. При оценке общей биологической активности тепличного грунта более предпочтительно использовать микробную биомассу, чем подсчет колоний в чашках Петри разных групп микроорганизмов, выросших на питательных средах.

### Библиографический список

1. *Бабьева П.П., Зенова Г.М.* Биология почв. М.: Изд. МГУ, 1989.
2. *Бирюков А.О.* Стимулирующая способность тепличного грунта в условиях применения регуляторов роста растений. Автореф. канд. дисс. М.: РГАУ-МСХА, 2009.
3. *Гродзинский Л.М. и соавт.* Аллелопатическое почвоутомление. Киев: Наукова думка, 1979.
4. *Дозорцева Н.В., Игнатъев Н.Н.* Влияние совместного применения меди и биостимуляторов Симбионта-1 и Симбионта-2 на поглощение кислорода тепличной почвой с корнями огуречных проростков // Известия ТСХА, 1983. Вып. 2. С. 90-96.
5. *Егрина Г.Н.* Поглощение кислорода системой почва — растение в условиях применения лимонной кислоты и кобальта. Автореф. канд. дис. М.: МСХА, 1991.
6. *Игнатъев Н.Н.* Определение общей микробиологической активности почвы по поглощению кислорода и выделению углекислого газа в аппарате Варбурга [в модификации Н.Н. Игнатъева] (пропись Игнатъева). В кн.: Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Перверзева. Практикум по микробиологии. М.: Колос, 1972. С. 169-177.
7. *Игнатъев Н.Н.* Модификация метода Варбурга с целью определения интенсивности поглощения кислорода почвами с ненарушенной структурой // Докл. ТСХА, 1972. Вып. 176. С. 51-55.
8. *Игнатъев Н.Н., Дозорцева Н.В.* Поглощение кислорода системой почва — растение в зависимости от уровня аэрации, азотного питания и действия стимулятора Симбионт-1 // Известия ТСХА, 1980. Вып. 6. С. 94-101.
9. *Леман В.М.* Курс светофизиологии растений. 2-е изд. М.: Высшая школа, 1976.
10. *Мирчинк Т.Г., Паников И.С.* Современные подходы к оценке биомассы и продуктивности грибов и бактерий в почве // Успехи микробиологии. Т. 20. М.: Наука, 1985. С. 44-47.
11. *Семихатова О.А., Чулановская М.В.* Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза растений. М.-Л.: Наука, 1965.
12. *Теппер Е.З., Шильникова В.К., Перверзева Г.И.* Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2004.

Рецензент — д. б. н. Л.В. Мосина

### SUMMARY

Hothouse soil biological activity evaluation has been made by means of cucumber germs roots and without them in three ways. The speed of oxygen absorption by soil, microbial biomass in soil is specified, scoring colonies in Petri dishes of three groups of microorganisms has been performed in wort-agar, meat-peptonic agar and in starch-ammoniac agar. Oxygen absorption speed fluctuations analogy and biomass size has been found in experiment variants. When scoring colonies of microorganisms such analogy is not discovered. The following conclusion has been drawn - when evaluating general soil biological activity one should use microbial biomass values in soil in addition to oxygen intake speed by soil. Such combination of both approaches gives additional opportunity for results interpretation when researching general biological soil activity.

*Key words*, soil biological activity, oxygen absorption by soil speed and the system: soil - plant, CO<sub>2</sub> retention, generalizing indices of soil biological activity, true probability.

Игнатъев Николай Николаевич — д. б. н. Тел. (499) 976-16-17.

Карепина Татьяна Алексеевна — к. б. н. Эл. почта: mshapochv(@,mail.ru.