

УДК 631.46:631.45

МИКРООРГАНИЗМЫ И РЕГУЛИРОВАНИЕ ИХ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В ПОЧВЕ

В. Т. ЕМЦЕВ

(Кафедра микробиологии)

Проблемы, связанные с разработкой научных основ повышения плодородия почв, урожайности сельскохозяйственных культур и охраны окружающей среды, не могут

быть решены без углубленного знания микрофлоры почв и микробиологических процессов трансформации органических, минеральных веществ и ксенобиотиков. В связи

с этим важно изучить различные группы микроорганизмов, участвующих в указанных процессах, и определить зависимость их активности от экологических и антропогенных факторов с тем, чтобы на основе полученных результатов создавать наиболее благоприятные условия для накопления и превращения питательных веществ в почвах. Данным вопросам и были посвящены исследования, проводимые в последние годы кафедрой микробиологии Тимирязевской академии.

Важным разделом разрабатываемой на кафедре темы «Микробиологические основы повышения плодородия почв» являлось изучение особенностей состава микрофлоры почв различных типов и характера ее изменения под влиянием различных антропогенных факторов. Эти исследования позволили выявить микроорганизмы, свойственные тем или иным почвам, показать роль их в почвообразовательных процессах, определить изменение микронаселения почв под воздействием деятельности человека.

При изучении группировок микроорганизмов, трансформирующих органические и минеральные вещества почвы, анализировали основные типы почв союзных республик и почвы некоторых зарубежных стран (о. Шпицбергена, Египта, Бангладеш, Кубы и др.). Большое внимание уделялось распространению, эколого-физиологическим и биохимическим особенностям малоизученных аэробных и анаэробных групп почвенных микроорганизмов: нокардий, микромоноспор, артробактера, анаэробных сахаролитических, пуринолитических, протеолитических и сульфатредуцирующих бактерий, железовосстанавливающих и др. Итоги исследований аэробных микроорганизмов и их деятельности в почвах были освещены в более ранних работах кафедры [2, 7]. В данной статье в основном приводятся результаты изучения почвенных анаэробных микроорганизмов.

Как известно, существенную долю микробной популяции почвы составляют анаэробные микроорганизмы, причем некоторые из них развиваются только в отсутствие кислорода воздуха (облигатные анаэробы). Большинство облигатных анаэробов почвы — это бактерии родов *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Desulfovibrio* и др. Представители указанных анаэробов принимают активное участие во многих процессах, связанных с плодородием почвы. Они разлагают полисахариды, белки и другие органические соединения, фиксируют азот из атмосферы, трансформируют соединения серы и других элементов, а также участвуют в деградации пестицидов.

В течение ряда лет на кафедре исследуется состав ценозов сахаролитических, протеолитических и пуринолитических анаэробов рода *Clostridium* в почвах различных типов. Установлено, что ареалы оптимального размножения анаэробов разных видов в почвах разных климатических зон неодинаковые. Так, сахаролитических *Clostridium* в почвах северной зоны СССР (подзолы, дерново-подзолистые и т. д.) значительно больше, чем в южных, в то время

как протеолитических и пуринолитических анаэробов больше в южных почвах [10].

В последнее время большое внимание нами уделяется сульфатредуцирующим бактериям родов *Desulfotomaculum* и *Desulfovibrio*, экология которых и роль в почвенных процессах совсем мало исследованы, хотя встречаются они во всех типах почв Советского Союза [5]. Выявлена тенденция увеличения их численности в почвах с севера на юг. Зонами оптимального размножения являются южные почвы — черноземы, каштановые, красноземы. Особенно много этих микроорганизмов в южных почвах, используемых под рис (лугово-черноземовидная, солонец луговой солончаковый и др.). Количество бактерий в данных почвах исчисляется тысячами и миллионами клеток на 1 г почвы, что на несколько порядков выше, чем в других почвах. Максимальная численность сульфатредуцирующих бактерий отмечена в солонце луговом солончаковым — 1134,75 тыс. клеток на 1 г почвы.

В окультуренных почвах численность сульфатредуцирующих бактерий существенно выше, чем в целинных. Так, если в целинной дерново-подзолистой почве (Московская обл.) содержалось $0,17 \cdot 10^3$ клеток этих бактерий на 1 г, то в окультуренной — $0,37 \cdot 10^3$, в серой лесной (Тульская обл.) — соответственно 0,20 и 0,39, черноземе типичном (Орловская обл.) — 0,32 и 1,93, лугово-черноземовидной (Краснодарский край) — 9,18 и 50,0 (под рисом), каштановой (Херсонская обл.) — 0,19 и 2,67, красноземе (г. Анасеули) — 12,9 и $25,6 \cdot 10^3$, солонце луговом солончаковым (Ставропольский край) — 265,1 и 1134,7 (под рисом). О зависимости развития сульфатредукторов от окультуривания свидетельствуют результаты исследований почвы из-под монокультуры риса (Краснодарский край) без удобрений и с их внесением.

В вариантах с зеленым удобрением и совместным применением зеленого и минерального удобрений количество сульфатредуцирующих анаэробов было намного выше, чем в контроле (соответственно $27800 \cdot 10^3$, $3390 \cdot 10^3$ и $1030 \cdot 10^3$). При внесении минеральных удобрений развитие бактерий несколько подавлялось ($496 \cdot 10^3$), что, возможно, связано с резким сдвигом рН почвы в кислую сторону.

На основании полученных материалов можно заключить, что тип почвы оказывает значительное влияние на численный состав не только сахаролитических, протеолитических и пуринолитических анаэробов, но и сульфатредуцирующих бактерий. Следовательно, для большинства анаэробных микроорганизмов, как и для многих аэробных бактерий [7], имеются почвенные зоны оптимального размножения, хотя нельзя отрицать и факта весьма широкого распространения отдельных видов микроорганизмов.

В различных почвенных средах происходят специфические изменения микроорганизмов приспособительного порядка. Впервые было показано, что у бактерий рода *Clostridium* имеются явно выраженные экологи-

Анаэробная фиксация $^{15}\text{N}_2$ разными почвами

Почва	Общий почв., %	Без добавки глюкозы			С добавкой глюкозы		
		избыток обогащения $^{15}\text{N}_2$ в почве, ат %	фиксировано		избыток обогащения $^{15}\text{N}_2$ в почве, ат %	фиксировано	
			мг на 1 кг почвы	кг на 1 га		мг на 1 кг почвы	кг на 1 га
Дерново-подзолистая	0,21	0,24	5,8	15,8	0,62	13,6	40,7
Чернозем	0,48	0,07	3,5	10,5	0,85	17,6	52,7
Каштановая	0,24	0,63	0,8	2,3	0,27	6,8	20,5

ческие расы, т. е. они обладают приспособительной реакцией [1, 3].

На кафедре изучается также деятельность анаэробных бактерий в почве. Прежде всего следует остановиться на фиксации молекулярного азота атмосферы сахаролитическими бактериями.

В настоящее время известно более 10 видов анаэробных сахаролитических бактерий рода *Clostridium*, способных фиксировать молекулярный азот атмосферы. На эту их способность существенно влияют почвенно-климатические условия [1], антропогенные факторы и др. Так, южные культуры *Clostridium* усваивают на единицу использованного источника углерода меньше молекулярного азота, чем культуры, выделенные из почв более холодного климатического пояса, что может быть объяснено энергичной минерализацией органических азотсодержащих соединений и активной нитрификацией в южных почвах. Поэтому южные расы *Clostridium* адаптированы к питанию связанными формами азота и активность нитрогеназы у них снижена.

Выявленные различия азотфиксирующей активности экологических рас *Clostridium* позволяют предположить, что разные почвы фиксируют в анаэробных условиях неодинаковое количество молекулярного азота. Это побудило нас изучить данный вопрос, используя тяжелый азот ($^{15}\text{N}_2$).

Наиболее интенсивно молекулярный азот атмосферы связывался в дерново-подзолистой почве, наименее — в каштановой (табл. 1). Это подтверждает большую азотфиксирующую активность анаэробных бактерий рода *Clostridium* в почвах северной зоны.

В результате проведенных исследований была выявлена положительная реакция анаэробных бактерий на мелниоративные мероприятия. Количество всех видов *Clostridium* на таких участках во много раз выше, чем в целинной и немелиорированной почвах.

Высокая степень насыщения почвы водой не является оптимальным условием для существования азотфиксирующих анаэробов в почве. В модельных опытах установлено, что анаэробные микроорганизмы хорошо развиваются при влажности 80 и 90 % от полной влагоемкости, а при 100 % их раз-

витие существенно затормаживается.

Окультуривание почвы сказывается на физиологической активности бактерий рода *Clostridium*. Культуры, выделенные из целинных почв, обладают меньшей аукогетеротрофностью и более слабой ферментативной активностью. Несколько меняется также состав продуктов, получаемых при сбраживании углеводов.

Обычно культуры *Clostridium*, выделенные из окультуренных почв, отличаются более высокой азотфиксирующей способностью.

Органические удобрения в обычно применяемых дозах не подавляют азотфиксацию анаэробами, минеральный же азот в дозах, превышающих 50 кг на 1 га (в расчете на $^{15}\text{N}_2$), вызывает определенную депрессию связывания молекулярного азота [12]. Об этом свидетельствуют данные опыта, представленного с черноземной почвой Кубани, взятой с рисового поля. В почву была внесена глюкоза (1 % от массы почвы). За 24 дня на 1 кг почвы связывалось следующее количество $^{15}\text{N}_2$ (в мг): в контроле — 13,05; при внесении 50 кг азота на 1 га в виде $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 10,61; 100 кг — 7,95; 200 кг — 6,08; 500 кг — 7,58; 1000 кг — 0,02.

Исследования кафедры, проведенные совместно с ВНИИ риса (г. Краснодар), показали, что рисовая солома, заделываемая в почву, существенно усиливает анаэробную азотфиксацию, особенно на первых стадиях разложения, она составляет 2—5 мг N_2 на 1 кг почвы за 24 ч. При внесении разных форм азотных удобрений вместе с рисовой соломой (1 % азота от массы последней) уровень анаэробной азотфиксации снижается. Наименьшее количество фиксированного азота в первые 7—10 дней затопления риса было в варианте с рисовой соломой и сульфатом аммония, а с 12-го по 40-й день затопления — в варианте с рисовой соломой и мочевиной.

Динамика анаэробной азотфиксации имеет скачкообразный характер и согласуется с динамикой численности анаэробных микроорганизмов.

Исследования экологии анаэробных азотфиксаторов позволили перейти к изучению биологической фиксации азота в естествен-

ных условиях в почве и выявлению роль природных и антропогенных факторов в его интенсификации, что необходимо для направленного регулирования процесса связывания азота атмосферы микроорганизмами в почве.

Мы попытались выявить закономерности проявления анаэробной фиксации азота в почве ацетиленовым методом, изучая сезонную и суточную динамику этого процесса в дерново-подзолистой почве многолетнего опыта Опытной станции полеводства Тимирязевской академии. Установлено, что в течение вегетационного периода фиксация азота атмосферы анаэробными свободноживущими бактериями в неудобрённой дерново-подзолистой почве бессменного пара оставалась практически на одном уровне, который не превышал 5 мкг азота на 1 кг почвы за сутки.

При внесении в многолетний пар навоза (30 т/га) общий уровень фиксации молекулярного азота в почве был выше, чем на неудобрённой почве, однако характер данного процесса не изменился. В период наблюдений, за исключением весенних месяцев, его интенсивность практически оставалась на одном и том же уровне. Резкое увеличение активности азотфиксации весной (до 20 мкг азота на 1 кг почвы за сутки) связано с утилизацией органического вещества навоза азотфиксаторами.

Динамика развития азотфиксирующих бактерий рода *Clostridium* в дерново-подзолистой почве многолетнего пара аналогична сезонной динамике активности азотфиксации, причем в неудобрённой почве численность анаэробных азотфиксаторов была на порядок ниже, чем в почве унавоженного пара, и не превышала 3 тыс. клеток на 1 г почвы.

Важнейшим фактором, определяющим интенсивность и характер фиксации азота атмосферы свободноживущими бактериями в почве, является возделываемая культура. Активность азотфиксации в почве под озимой рожью и льном в 5—10 раз выше, чем в почве многолетнего пара.

Активность фиксации азота атмосферы в почве под растениями изменялась в зависимости от фаз их развития. Так, если в начале весеннего отрастания озимой ржи интенсивность азотфиксации не превышала 10 мкг на 1 кг почвы в сутки, то к началу колошения — 45 мкг. В период созревания урожая и после его уборки активность азотфиксации в ризосферной почве вновь снижалась. Такой ритм этого процесса, очевидно, обусловлен характером поступления в почву корневых выделений. Максимум азотфиксирующей активности совпадал с периодом наиболее быстрого роста растений, когда, как известно, интенсивность корневой экссудации резко возрастает.

Установлено также, что при удалении надземной части растений сильно изменяются активность и характер процесса фиксации азота атмосферы свободноживущими бактериями в почве. Так, к наступлению фазы колошения многолетних злаковых трав азотфиксирующая активность в ризосфере достигала значительного уровня. Од-

нако сразу после скашивания растений она уменьшалась почти в 10 раз: с 285 до 23 мкг азота на 1 кг почвы за сутки. Одновременно в ризосферной почве примерно на порядок снижалась численность азотфиксирующих анаэробов. По мере отрастания трав активность азотфиксации в почве также возрастала, но к следующему укосу она не достигала прежнего высокого уровня.

Тесная связь фиксации азота атмосферы свободноживущими анаэробами в почве с жизнедеятельностью растений была выявлена и при изучении суточного ритма азотфиксирующей активности в системе почва — растение. В ризосфере овса в течение дня фиксация азота атмосферы была подвержена кратковременным пульсационным колебаниям. В утренние часы азотфиксация была незначительной и не превышала 1 мкг азота на 1 кг почвы в час, к 12 ч она возросла почти в 5 раз, затем постепенно снижалась и к вечеру достигала первоначального уровня. В то же время в почве без растений активность азотфиксации в течение дня существенно не изменялась.

Дневные колебания активности азотфиксации в почве под растениями были обусловлены в первую очередь ритмом их фотосинтетической активности, который изменялся в зависимости от интенсивности солнечной инсоляции. Это подтверждают результаты определения азотфиксирующей активности в почве при искусственном освещении. В темноте нитрогеназная активность системы почва — растение практически отсутствовала. Однако сразу после включения источника света она быстро возрастала, а при повторном его выключении вновь значительно снижалась.

Анализ полученных данных показывает, что фиксация азота атмосферы свободноживущими бактериями в почве бывает двух видов: периодическая, характеризующаяся волнами (периодами), уровень которых может быть довольно высоким, и постоянная, которая во много раз слабее первой.

Периодичность процесса азотфиксации определяется растением и обусловлена в первую очередь суточным ритмом фотосинтеза и выделением корнями продуктов экзоосмоса. Максимум азотфиксирующей активности в почве приходится на середину дня, когда солнечная инсоляция наиболее сильная. В утренние и вечерние часы активность азотфиксации в ризосфере растений наиболее низкая.

Постоянство этого процесса поддерживается за счет использования азотфиксирующими бактериями в качестве источника энергии растительных остатков и продуктов распада гумусовых соединений. В результате активность азотфиксации практически не меняется в течение длительного времени. Органические удобрения интенсифицируют азотнакопительную деятельность бактерий, но не изменяют постоянного характера азотфиксации.

В последующем были проведены специальные эксперименты с целью изучения взаимодействия между фотосинтетической активностью растений и азотфиксацией в

Нитрогеназная активность в корневой зоне растений (C_2H_4 , нмоль/г·ч)

Вариант опыта	Срок анализов					Среднее
	26/VI	20/VII	31/VII	7/VIII	25/VIII	
Контроль (почва без растений)	350	330	277	244	230	181
Кукуруза:						
ризоплана	327	402	376	286	253	329
ризосфера	1560	1710	1658	1523	1490	1588
Овес:						
ризоплана	247	294	275	270	290	275
ризосфера	930	1090	1040	825	798	925

корневой зоне кукурузы (C_4) и овса (C_3), существенно различающихся по интенсивности фотосинтеза. C_4 -растения вследствие своей способности «концентрировать» CO_2 в клетках обкладок, тесно примыкающих к окончаниям проводящих пучков, имеют более высокую интенсивность фотосинтеза, чем C_3 -виды в обычных условиях. Это подтверждается полученными нами данными: интенсивность фотосинтеза у кукурузы (C_4) в течение вегетационного периода колебалась в пределах 52—0,8 мг $CO_2/дм^2$ в час, у овса (C_3) — от 26 до 3 мг $CO_2/дм^2$ в час.

Характер фотосинтетической деятельности оказывает влияние на нитрогеназную активность корневой зоны растений. В первые периоды их развития интенсивность фотосинтеза наибольшая, то же можно сказать и о нитрогеназной активности. В конце июля и в августе интенсивность фотосинтеза резко снижается, что связано с накоплением фотосинтатов в результате высокой фотосинтетической активности в растениях. В дальнейшем растения лишь использовали фотосинтаты, одновременно поддерживая невысокий фотосинтез. В этот же период несколько снижается нитрогеназная активность в корневой зоне. Неполное соответствие фотосинтеза и азотфиксации в середине и конце вегетации растений объясняется, по-видимому, тем, что свободноживущие азотфиксаторы в качестве источника энергии, кроме углеродсодержащих соединений корневых выделений, могут использовать отмершие клетки корневого эпидермиса, которые в этот период находятся в ризосфере в значительно больших количествах, чем в начале развития растений. В пользу этого говорит и тот факт, что в контроле (почва без растений) нитрогеназная активность намного ниже, чем в ризосфере растений (табл. 2). Чрезвычайно низкая азотфиксация в почве без растений обусловлена отсутствием притока продуктов фотосинтеза, а также отмерших корней или корневых волосков, являющихся главными источниками углерода для свободноживущих гетеротрофных азотфиксаторов.

Более тесная связь между фотосинтезом растений и азотфиксацией прослеживается при суточном наблюдении за этими процессами. В результате выявлены два уровня нитрогеназной активности: более высокий

(примерно около 12 ч), который характеризует дневную активность, и более низкий (около 24 ч), свойственный ночному времени. Эти два периода разделены между собой периодами с более низкой азотфиксацией или отсутствием нитрогеназной активности — вариант — с парующей почвой (табл. 3).

Два максимума нитрогеназной активности легко объяснить, если допустить определенный интервал для миграции продуктов фотосинтеза от листьев к корням: первый максимум (дневной) обусловлен притоком продуктов фотосинтеза в виде корневых выделений; второй (ночной) связан, видимо, с выделением продуктов гидролиза запасных углеводов, накопленных на протяжении дня.

Возникает вопрос, как будут действовать удобрения на активность азотфиксации в почве, занятой растениями. Внесение минеральных удобрений (100N150P120K) в парующую дерново-подзолистую почву многолетнего опыта ТСХА вызвало полное подавление данного процесса в течение двух месяцев. Удобрения, внесенные под растения, наоборот, стимулировали фиксацию азота атмосферы в почве. В ризосфере растений при внесении НРК средний уровень активности азотфиксации оказался в 1,5—2 раза выше, чем в контроле (без удобрений). Азотфиксирующая активность в почве под растениями при внесении минерального азота угнеталась только в первые 20 дней.

Известкование дерново-подзолистой почвы усиливает азотфиксацию свободноживущими бактериями. Так, в почве под растениями в вариантах с известью она была в 2—3 раза выше, чем в известкованной почве. Причем в этих вариантах сильнее проявлялось положительное влияние минеральных удобрений на азотфиксацию в ризосфере растений. Стимулирующее действие навоза (30 т/га) особенно сильно проявилось при внесении его под растения. Активность азотфиксации в ризосфере растений в этом варианте была в 2—4 раза выше, чем в неудобрившей почве.

Таким образом, главным фактором, определяющим характер и активность фиксации азота атмосферы свободноживущими бактериями в почве, являются высшие растения. Минеральные и органические удобрения

Актуальная нитрогеназная активность корневой зоны растений (C_2H_4 , нмоль/г·ч)

Вариант	Время суток, ч				Среднее
	6	12	18	24	
26/VI					
Парующая почва	0,0	4,5	4,4	2,2	2,78
Кукуруза	12,9	76,5	26,7	36,4	38,10
Овес	10,1	45,0	18,5	24,3	29,10
20/VII					
Парующая почва	1,0	4,2	4,0	2,0	2,80
Кукуруза	11,5	77,5	27,3	36,5	38,20
Овес	8,5	41,8	18,0	20,6	26,50
30/VII					
Парующая почва	1,0	2,7	2,0	2,0	1,68
Кукуруза	9,7	62,5	20,5	30,7	30,90
Овес	5,7	34,0	15,3	21,5	19,10
7/VIII					
Парующая почва	0,0	2,0	1,5	0,5	1,00
Кукуруза	7,5	47,2	17,5	28,3	25,10
Овес	5,8	37,5	14,5	23,4	17,8
25/VIII					
Парующая почва	0,6	2,3	1,0	0,7	1,15
Кукуруза	5,7	48,7	15,7	28,0	24,50
Овес	6,1	36,9	15,9	22,7	20,7

ния, а также известкование дерново-подзолистых почв, улучшая условия развития растений, способствуют усилению фиксации молекулярного азота в почве.

Одним из способов интенсификации процесса азотфиксации в почве является внесение соломы. В микрополевоом опыте при внесении соломы в дерново-подзолистую почву общий уровень фиксации азота свободными бактериями повысился в 3—10 раз по сравнению с контролем (табл. 4). Причем максимальный эффект при осеннем применении соломы наблюдался весной.

При ежегодной заделке соломы в дерново-подзолистую почву стимулирующее действие ее на активность фиксации азота атмосферы была в 3—4 раза выше, чем при однократном внесении.

Азотные удобрения в дозе 90 кг азота на 1 га, внесенные в почву перед посевом семян ячменя, угнетали процесс азотфиксации. При совместном внесении соломы и минерального азота в почву отрицательное действие последнего на азотфиксацию ослабевало и этот процесс был более интенсивным, чем в контроле. Снижение ингибирующего влияния минерального азота на азотфиксацию в почве при внесении его вместе с соломой связано с быстрым поглощением данного элемента бурно размножающейся азотфиксирующей микрофлорой.

Солома оказывала положительное влияние на фиксацию азота атмосферы свободными бактериями в дерново-подзолистой почве и на 2-й год после внесения,

однако ее интенсивность в этом случае была почти в 5 раз ниже.

Результаты полевого и вегетационных опытов показали, что внесение соломы в дерново-подзолистую почву в наибольшей степени активизировало азотфиксацию при заделке ее в верхний (0—6 см) слой.

Большое внимание в наших исследованиях уделялось вопросам жизнедеятельности протеолитических анаэробов [8, 9] в почве. Установлено, что свойства (в частности, протеолитическая активность, образование кислот и спиртов и др.) различных культур протеолитических бактерий рода *Clostridium*, выделенных из разных типов почв, неодинаковы. Так, наиболее высокой протеолитической активностью обладают культуры, выделенные из светло-каштановой почвы и серозема, наименьшей — культуры из дерново-подзолистой почвы.

Наиболее интенсивный гидролиз белка альбумина *Cl. sporogenes* отмечен также в светло-каштановой почве, наименее — в дерново-подзолистой. Самое большое количество фракции $N-NH_4$ высвободилось при внесении в почву альбумина по фону инокуляции, причем и в данном случае аммонификация была наиболее значительной в светло-каштановой почве.

Следовательно, протеолитические *Clostridium* в почве осуществляют протеолиз белка, причем интенсивность его в разных почвах неодинакова. Тип почвы оказывает существенное влияние на активность этого процесса, а также на соотношение продуктов брожения белков у протеолитических

Влияние длительного внесения соломы в дерново-подзолистую почву на активность азотфиксации (мкг N₂ на 1 почвы в сутки). Микрополевой опыт

Вариант опыта	Дата анализа				
	5/X—76 г.	20/IV—77 г.	22/V—77 г.	22/IX—77 г.	11/X—77 г.
PK	2,0	11,5	6,0	3,6	0,5
PK+солома (5 лет)	9,9	342,0	44,0	11,0	4,0
NPК	3,6	25,7	1,0	5,6	0,5
NPК+солома (5 лет)	10,6	454,0	23,3	11,0	1,5
NPК+солома (1 год)	8,2	102,5	7,5	4,5	0,5

анаэробных бактерий. Интенсивность гидролиза белка в почве возрастает по мере продвижения с севера на юг.

Разложение альбумина указанными бактериями сопровождается образованием летучих жирных кислот: муравьиной, уксусной, в некоторых случаях масляной. Их количество увеличивалось при внесении в почву глюкозы и достигало максимума в дерново-подзолистой почве. Следовательно, бродильная активность *Cl. sporogenes*, изолированных из дерново-подзолистой почвы, больше, чем у культур, выделенных из более южных почв.

Обогащение почвы казеином с последующей инокуляцией культурами *Cl. bifermittans*, полученными из почв различных типов, показало, что наиболее энергично протеолиз данного субстрата осуществляют бактерии, изолированные из южных почв (светло-каштановой и серозема), при этом высвобождается больше N—NH₄ и свободных аминокислот.

Влажность оказывала существенное влияние на трансформацию казеина: этот процесс был наименее активным при влажности, соответствующей 60 % полной влагоемкости, и наиболее интенсивным в условиях полного затопления.

Т а б л и ц а 5

Накопление N—NH₄ в дерново-подзолистой (числитель) и светло-каштановой (знаменатель) почвах при трансформации альбумина протеолитическими анаэробами (мг на 100 г сухой почвы)

Вариант опыта	Число дней после закладки опыта	
	3	10
Почва (контроль)	4,51	4,51
	2,91	2,91
Почва+ <i>Cl. sporogenes</i>	9,23	13,18
	15,23	16,23
Почва+альбумин (контроль)	18,90	18,90
	13,91	13,91
То же+ <i>Cl. sporogenes</i>	71,42	80,17
	89,67	110,79

Протеолитические клостридии в почве гидролизуют белковые вещества, входящие в состав клевера. Процесс разложения данного растения характеризуется аммонификацией—его протеинов. Интенсивность трансформации белковых соединений клевера культурами *Cl. sporogenes* зависит от типа почвы: наибольшей она была у культур, выделенных из серозема, наименьшей—у выделенных из дерново-подзолистой почвы. Протеолиз белковых веществ сопровождается подщелачиванием почвы, образованием свободных аминокислот и их дезаминированием, образованием летучих жирных кислот, главным образом уксусной.

Нашими исследованиями установлена также способность *Cl. sporogenes* разлагать белковые вещества, входящие в состав навоза. Показано, что температура существенно влияет на их трансформацию. При 37° аммонификация этих веществ была наибольшей, при 5° она практически отсутствовала. В первом случае отмечена и наибольшая численность протеолитических клостридий. Обнаружено быстрое превращение аминокислот в почве в процессе гидролиза белков навоза. При разложении его указанными бактериями в почве образуется уксусная кислота.

Установлено участие протеолитических анаэробных бактерий в разложении гумусовых веществ [13]. Наиболее сильные изменения в химическом составе гумусовых соединений (фульвокислот и гуминовых кислот) происходят при разложении их *Cl. sporogenes* в первые 30 дней инкубирования. К 60-му дню интенсивность минерализации гумусовых фракций заметно снижается. Дальнейшее инкубирование не приводит к изменению их химического состава.

Следует отметить, что *Cl. sporogenes* наиболее активно разлагают фульвокислотные фракции гумусовых соединений. Наименее интенсивно разлагается самая высокомолекулярная фракция гуминовых кислот.

При разложении гумусовых соединений *Cl. sporogenes* сильно меняется содержание азота в составе их молекул. Через 30 и 60 дней инкубирования оно снижается соответственно на 9,5—15,0 и 29,0—41,2 %. В дальнейшем изменений в содержании азота в составе гумусовых молекул не наблюдалось. Это, вероятно, может служить основанием считать, что *Cl. sporogenes* до-

Влияние симазина и навоза на численность микроорганизмов
(тыс. на 1 г абсолютно сухой почвы), растущих на нитритном агаре
(через 25 сут после внесения)

Вариант	Общее количество	Mycobacterium	Arthrobacter	Nocardia	Micromonospora
РК	2841	1417	358	48	—
РК + симазин	4683	2014	602	44	21
То же + 100 т/га пн	4381	1557	952	149	63
» » + 300 т/га пн	6963	2418	1759	367	74
» » + 100 т/га жн	5463	1192	1982	219	69
» » + 300 т/га жн	6423	1900	2119	269	40

Примечание. Пн — подстильный навоз; жн — жидкий навоз.

ной азотфиксации в нестерильной почве и в двух типах стерильных почв с внесением биомассы *Dv. desulfuricans* на уровне, близком к естественному (10^5 клеток на 1 г почвы). Результаты опыта показали, что азотфиксация чистой культурой колеблется в пределах 2—7 мг азота на 1 кг почвы в сутки, а в нестерильной почве при увеличении срока затопления достигает 115 мг азота в сутки. Актуальная азотфиксация в нестерильной почве составляет 4,06 кг азота на 1 га за месяц, в варианте с чистой культурой в незасоленной почве — 0,38 кг, в затопленной — 0,35 кг азота на 1 га за месяц, т. е. только одни сульфат-редуцирующие бактерии связывают около 9% азота из общего азота гетеротрофной азотфиксации в нестерильной почве. Следовательно, данная группа анаэробов играет определенную роль и в азотном режиме затопленной почвы.

Существенное место в исследованиях кафедр занимали вопросы регулирования микробиологических процессов деградации ксенобиотиков, главным образом, пестицидов. Основная роль в их разложении в почве принадлежит анаэробным и аэробным микроорганизмам. Исследования в этом направлении были проведены с гербицидом группы триазинов — симазинном. Хотя в основном эта группа гербицидов не оказывает вредного действия на человека, животных и микроорганизмы, однако их остатки, довольно долго сохраняющиеся в почве, могут причинять существенный ущерб последующим культурам.

Исследованиями ряда авторов показана ведущая роль почвенных грибов в деградации симазина. Работами нашей кафедры выявлена группа наиболее конкурентоспособных по отношению к симазину микроорганизмов: *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Micromonospora*.

Наиболее действенным способом избавления от остаточных количеств симазина в почве является использование органических удобрений, которые стимулируют кометаболическое разрушение симазина микроорганизмами при введении дополнительных субстратов.

В связи с этим нами были проведены вегетационные и полевые опыты с кукурузой

на дерново-подзолистой почве с обработкой симазинном и внесением различных доз подстильного и жидкого навоза.

Результаты вегетационного опыта показали, что симазин незначительно снижал численность микроорганизмов, использующих минеральный и органический азот, при этом возрастала доля спорных бактерий, что говорит об их большей устойчивости к действию гербицида. В вариантах с навозом численность этих групп микроорганизмов увеличивалась, особенно через 90 сут. Общая численность микроорганизмов, относящихся к автохтонной группе, не различалась по вариантам опыта (табл. 7), в то же время навоз, не увеличивая общего количества микроорганизмов этой группы, вызывал перегруппировку видового состава, а именно: возрастала численность *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Micromonospora*, т. е. тех групп микроорганизмов, которые принимают участие в разложении симазина.

Наблюдая за характером микробных пейзажей, через 25—90 сут после внесения симазина можно видеть скопление вокруг него частиц очень мелких кокков и палочек, похожих на споры *Micromonospora* и клетки *Nocardia*.

Симазин оказался токсичен для протозоа. В вариантах с препаратом простейшие не обнаруживались. Добавление навоза снимало токсический эффект на протозоа.

Что касается влияния органических удобрений на биодegradацию симазина, то наиболее активно его разложение происходило в почве при внесении по фону НРК подстильного навоза в дозе 100 т/га или жидкого навоза в дозе 100 т/га (содержание симазина в почве составило соответственно 0,01 и 0,02 мг д. в. на 1 кг, в варианте НРК + симазин — 0,2 мг).

Результаты полевых исследований подтвердили данные вегетационных опытов. Так, через 1 мес в вариантах со 150 и 300 т навоза на 1 га численность микроорганизмов на МПА и КАА заметно возрастала. Применение жидкого навоза в полевых условиях также привело к увеличению численности *Nocardia* и *Micromonospora*, участвующих в деградации симазина.

Анализ данных о содержании симазина в почве в день внесения навоза показал

его большую адсорбционную способность (без навоза — 0,2 мг симазина на 1 кг почвы, в вариантах с навозом — 0,1 мг).

Через месяц после внесения симазина в почву по фону 300 т навоза на 1 га обнаруживались лишь его следы. В остальных вариантах он присутствовал. Это говорит о том, что для ускоренного разложения симазина в полевых условиях необходимо вносить не менее 300 т навоза на 1 га.

¹ В данный краткий обзор не вошли результаты многочисленных исследований по регулированию деятельности других агрономически важных группировок почвенных микроорганизмов, участвующих в трансформации органических и минеральных веществ и ксенобиотиков. Они будут рассмотрены в последующих работах.

Расхождения в оптимальных дозах, полученные в вегетационных и полевых опытах, связаны с различными спецификой и длительностью исследований.

В настоящее время нами обнаружены анаэробные почвенные микроорганизмы, относящиеся к роду *Clostridium*, способные разлагать многие пестициды, в том числе ДДТ.

Таким образом, в результате проведенных исследований¹ выявлены условия трансформации органических и минеральных веществ и ксенобиотиков (главным образом, пестицидов) в почве, в ряде случаев определены пути регулирования микробиологической трансформации веществ и на этой основе разрабатываются способы, которые позволят регулировать интенсивность накопления и превращения питательных элементов в почвах и деградации ксенобиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Емцев В. Т. Почвенные анаэробные азотфиксаторы рода *Clostridium*. — Успехи микробиол., 1974, вып. 9, с. 153—182. — 2. Емцев В. Т. Микробиология на службе с.-х. — Изв. ТСХА, 1975, вып. 6, с. 3—18. — 3. Емцев В. Т., Мухаметдинова А. К. Свойства протеолитических *Clostridium*, выделенных из почв разных типов. — Изв. ТСХА, 1981, вып. 4, с. 81—89. — 4. Емцев В. Т., Сидоренко О. Д., Лимарь Т. Е. Экология сульфатредуцирующих бактерий затопленных почв. — В сб.: Микроорганизмы как компонент биогенноза. Алма-Ата, 1982. — 5. Лимарь Т. Е., Сидоренко О. Д. Распространение сульфатредуцирующих бактерий в почве, ризосфере и ризоплане риса. — Изв. ТСХА, 1980, вып. 6, с. 106—109. — 6. Лимарь Т. Е. Сульфатредуцирующие бактерии и их роль в почвах рисовых полей. — Автореф. канд. дис. М., 1982. — 7. Мишустин Е. Н., Емцев В. Т. Почвенные типы и их микробное население. — Изв. ТСХА, 1974, вып. 4, с. 73—86. — 8. Мухаметдинова А. К., Емцев В. Т. Трансформация различных белоксодержащих субстратов протеолитическими анаэробами

рода *Clostridium*. — Изв. ТСХА, 1981, вып. 6, с. 96—102. — 9. E m t s e v V. T. Proteolytic bacteria of the genus *Clostridium*, their ecological variability and role in anaerobic transformation of proteins in different soils. Abstracts volutary Papers. 12-th International congress of soil science. New Delhi, India, 8—16, February, 1982. — 10. E m t s e v V. T. Problems of soil science. Soviet pedologist to the XII International Congress of soil science. M.: Nauka, 1981, p. 79—84. — 11. E m t s e v V. T. Abstracts of Papers VIIIth Meeting of soil biology section of the Hungarian Society for soil science, on soil biology and conservation of the biosphere. Gödöllo, 26—28 August, 1981. Hungary, p. 10—11. — 12. M i s h u s t i n E. N., E m t s e v V. T. Symposia papers I Non-symbiotic nitrogen fixation and organic matter in the tropics. 12th International congress of soil science. New Dehli, India, 8—16 February, 1982, p. 48—53. — 13. T u y e v N. A., E m t s e v V. T., T e p p e r E. Abstracts of Papers VIIIth Meeting of soil biology section of the Hungarian Society for soil science, on soil biology and conservation of the biosphere, Gödöllo, 26—28 August, 1981, p. 48—49.

SUMMARY

Results of studyings anaerobe soil microflora of the chair of microbiology were given in the article. Data on amount of different groups of anaerobe microorganisms of *Clostridium* types in soils of various zones of the USSR, sulfate reducible anaerobes was presented. Materials characterising the influence of different practices of soil cultivation on these groups of microorganisms were given. Great attention was paid to nitrogen fixation of atmosphere by free living anaerobes. Survey of works on studying the role of sulfate reducible bacteria on sulphur transformation in soil was given. Problems of intensification of microbiological degradation of pesticides in soil were considered.