

УДК 631.46:576.851.15

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ И ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА НЕСИМБИОТИЧЕСКУЮ ФИКСАЦИЮ АЗОТА АТМОСФЕРЫ В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЕ

Б. А. ЯГОДИН, М. С. ЯГОДИНА, Е. Л. ВЕРЕВКИН

(Кафедра агрономической и биологической химии,
ВНИИ удобрений и агропочвоведения)

В проблеме биологической фиксации атмосферного азота вопрос о размерах несимбиотической азотфиксации до сих пор остается дискуссионным. Вместе с тем совершенно ясно, что при расчете азотного баланса необходимо учитывать количество азота, фиксируемого из атмосферы в результате деятельности симбиотических и свободноживущих микроорганизмов. Изучение процесса фиксации атмосферного азота в динамике до недавнего времени было связано с большими методическими трудностями, так как отсутствовал метод, позволяющий определять азотфиксирующую активность почвы в полевых условиях.

Исследования несимбиотической фиксации атмосферного азота с применением стабильного изотопа $^{15}\text{N}_2$ проводились, как правило, при длительной экспозиции почвенных образцов (до 4—8 недель) в замкнутой системе с газовой смесью, содержащей $^{15}\text{N}_2$, и оптимальном гидротермическом режиме [1, 3]. Величина азотфиксации, полученная в таких оптимальных условиях, безусловно, выше, чем в природе, где не всегда в наличии все факторы, необходимые для фиксации азота микроорганизмами. В то же время при данной постановке опыта создаются благоприятные условия не только для фиксации молекулярного азота, но и для таких сопряженных микробиологических процессов, как аммонификация и денитрификация, которые приводят к потерям азота. Поэтому в балансовых расчетах априорно принимают, что за счет деятельности свободноживущих микроорганизмов в течение вегетационного периода фиксируется 3—6 кг молекулярного азота на гектар [5, 6].

В настоящее время при изучении биологической фиксации атмосферного азота широко используется ацетиленовый метод, который имеет явные преимущества по сравнению с упомянутым выше, поскольку позволяет определять азотфиксацию в почвенных образцах без нарушения структуры, при исходной полевой влажности и температуре и относительно коротких экспозициях (от нескольких часов до суток).

Теоретические основы и сущность ацетиленового метода освещены в отдельных обзорах авторов метода [11, 13]. Основан он на способности нитрогеназы — азотфиксирующего ферментного комплекса микроорганизмов — восстанавливать не только природный субстрат — молекулярный азот, но и ряд других соединений, в частности ацетилен, до этилена. Количество фиксированного азота определяют, используя соотношение между количеством образовавшегося этилена и аммиака 3:1 [12].

По имеющимся литературным сведениям, величина фиксации атмосферного азота свободноживущими микроорганизмами, определенная ацетиленовым методом, сильно колеблется в природных условиях в за-

висимости от почвенно-климатических условий и растительности. Азот-фиксирующая активность почвы под пастбищными травами Канады, Калифорнии, в Туссок — пастбищных почвах Новой Зеландии — не превышает 1—5 кг на 1 га за год [14, 15, 16, 18, 19], под тропическими злаковыми травами азотфиксация в условиях саванн составляет 10 кг/га, в условиях тропиков — 53—67, а в отдельных случаях — до 300 кг/га в год [9, 10]. Значительные размеры фиксации атмосферного азота свободноживущими микроорганизмами обнаружены и в почве рисовых полей. Затопляемые почвы под рисом в зависимости от сезона фиксируют 57—63 кг атмосферного азота на 1 га, незатопляемые — 5—7 кг [20]. Показано, что почвы рисовых полей Украины, Краснодарского края, Казахстана могут накапливать за сезон 10—48 кг атмосферного азота на 1 га [4]. Предварительные данные о нитрогеназной активности в ризосфере пшеницы, кукурузы и цикория в почвах Бельгии показывают, что в условиях умеренного климата за год фиксируется 7,8—13 кг атмосферного азота на 1 га [17].

Сравнительно недавно ацетиленовый метод стали применять для определения фиксации атмосферного азота под различными сельскохозяйственными культурами в зоне умеренного климата в СССР [2, 8]. Из полученных предварительных данных следует, что на размеры фиксации атмосферного азота в почве влияют вид растений, фаза развития, известкование почв, применение минеральных и органических удобрений. Так, в почве под озимой рожью на известкованном фоне может быть фиксировано в зависимости от варианта удобрения 1,0—11,1 мкг атмосферного азота на 1 кг почвы в сутки, под смесью ячменя с клевером — 0,5—20,3 мкг [2]. Проведенный нами грубый пересчет этих данных на весь вегетационный период показал, что на известкованном фоне в варианте НРК с навозом под озимой рожью ориентировочно может быть фиксировано атмосферного азота 3,2 кг/га, под смесью ячменя с клевером — 6,0 кг/га.

Данные о интенсивности несимбиотической фиксации атмосферного азота в природных условиях свидетельствуют о том, что в отдельных случаях этот процесс может вносить в земледелие определенный экономический вклад. Изучение вопроса о размерах фиксации атмосферного азота в различных почвенно-климатических условиях в нашей стране находится в стадии накопления экспериментальных данных. Необходимо выявление факторов, при которых несимбиотическая фиксация атмосферного азота может иметь важное значение в азотном балансе.

В задачу наших исследований входило изучение влияния минеральных удобрений и различных предшественников озимой пшеницы на интенсивность несимбиотической фиксации атмосферного азота в дерново-подзолистой почве.

Методика

Исследования проводили на дерново-подзолистой тяжелосуглинистой почве ЦОС ВИУА (Барыбино)¹. Здесь на различных фонах минеральных удобрений выращивали многолетние травы — костер, клевер, люцерну: на поле 1 в 1973—1975 гг., на поле 2 в 1974—1976 гг. За три года были внесены по вариантам следующие дозы удобрения: 1 — без удобрений; 2 — P₁₈₀K₃₆₀ (PK); 3 — N₂₇₀P₁₈₀K₃₆₀ (N₁PK); 4 — N₅₄₀P₁₈₀K₃₆₀ (N₂PK). При закладке опыта вносили доломитовую муку из расчета 1 г. к. В почвенных образцах в 1976—1977 гг. величина рН_{KCl} была равна 5,8. В августе 1975 г. (поле 1) и 1976 г. (поле 2) после уборки сена многолетних трав 3-летнего пользования поля перепахали и засеяли озимой пшеницей, под которую во всех вариантах было внесено по 90 кг азота на 1 га.

¹ Авторы благодарят доктора биологических наук С. П. Трепачева за почвенные образцы, взятые с делянок опыта, проводимого под его руководством.

Отбор почвенных образцов на азотфиксирующую активность проводили с июля 1975 г. по август 1977 г. Азотфиксацию определяли ацетиленовым методом [13]. Почву с поля брали буром 2×10 см в междурядьях озимой пшеницы. Средний почвенный образец, состоящий из 10—12 индивидуальных, доставляли в лабораторию в полиэтиленовых мешочках и тут же готовили к инкубации с ацетиленом, которую проводили при исходной полевой влажности и температуре в течение 24 ч либо в пенициллиновых пузырьках, либо в колбах на 200 мл со шлифом 29, закрываемых вакуумными затворами. Во время инкубации газовую среду не заменяли, ацетилен вводили в количестве 0,05 атм избыточного давления ($5 \cdot 10^3$ Па). Повторность опытов 3—4-кратная.

Определяли азотфиксирующую активность и в прикорневом слое после удаления основной массы почвы, т. е. в комочках почвы, прилипших к корням. Контролем служили образцы почвы и почва с корнями в инкубационных сосудах с воздухом, в которые ацетилен не вводили. После инкубации почвенных образцов в замкнутом сосуде шприцем с силиконовой прокладкой отбирали 1 мл газовой смеси.

Газовые пробы анализировали на газовом хроматографе «Хроме-2» с пламенно-ионизационным детектором. В качестве газа-носителя был аргон. Для разделения метана, этилена, ацетилена использовали колонку из нержавеющей стали длиной 850 мм, внутренним диаметром 5 мм. Адсорбент — окись алюминия со щелочной пропиткой. Хорошее разделение газов происходило при следующих условиях: температура обогрева колонки 50°, давление газа-носителя и водорода на входе 1,0 атм ($1 \cdot 10^5$ Па). Расход водорода 50 мл/мин, расход аргона 30 мл/мин, расход воздуха 0,820 л/мин. Время удержания этилена 27 с, ацетилена — 67 с. Количество этилена определяли по стандартным пикам калибровочной кривой. По полученным данным рассчитывали величину активности фиксации A атмосферного азота, используя формулу

$$A = \frac{(C_2 - C_1) NV 1000}{3m} \cdot$$

где C_2 — количество образованного этилена, нмоль; C_1 — количество фонового этилена, нмоль; N — молекулярная масса азота, г; V — объем газовой фазы реакционного сосуда, мл; m — масса опытной навески, г; 3 — коэффициент пересчета на количество фиксированного азота (соотношение между образовавшимся этиленом и соответствующим ему количеством фиксированного азота 3:1).

Азотфиксирующую активность выражали в микрограммах азота на 1 кг почвы в сутки.

Результаты исследований

Изучение несимбиотической азотфиксации под костром, клевером и люцерной показало, что величина ее в большей степени определяется погодными условиями.

Особенность лета 1975 г. — малое количество осадков и высокая температура воздуха. Несимбиотическая азотфиксация при влажности почвы 10% отсутствовала во все сроки определений под изучаемыми культурами как в варианте без удобрений, так и при их внесении (рис. 1). С увеличением влажности почвы возрастала и азотфиксирующая активность. В августе поле, занятое травами 3-го года пользования, после уборки сена было перепахано под озимую пшеницу. В это время прошли обильные дожди. В условиях повышенной влажности и сравнительно высокой для осени температуры почвы наблюдался подъем азотфиксирующей активности, который сохранялся в течение сентября. При снижении температуры почвы до 2° в октябре несимбиотическая фиксация атмо-

сферного азота отсутствовала, хотя влажность почвы оставалась довольно высокой (27%).

Интенсивность азотфиксации в почве с пожнивно-корневыми остатками ковра была выше, чем после перепашки участков с клевером и люцерной. Применение минеральных удобрений способствовало увеличению интенсивности этого процесса, но зависимость от предшествующей культуры оказалась такой же, как и в варианте без удобрений.

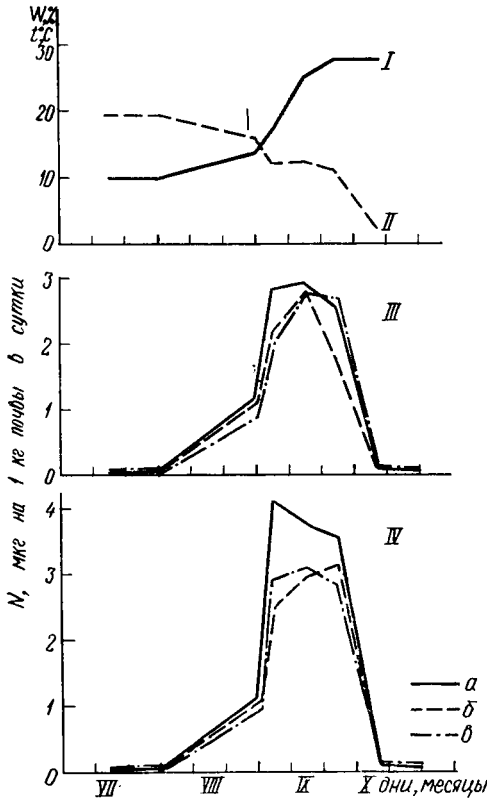


Рис. 1. Динамика влажности (I), температуры (II) и азотфиксирующей активности в варианте без удобрений (III) и при внесении в почву N_2PK (IV) под ковром (а), клевером (б) и люцерной (в).

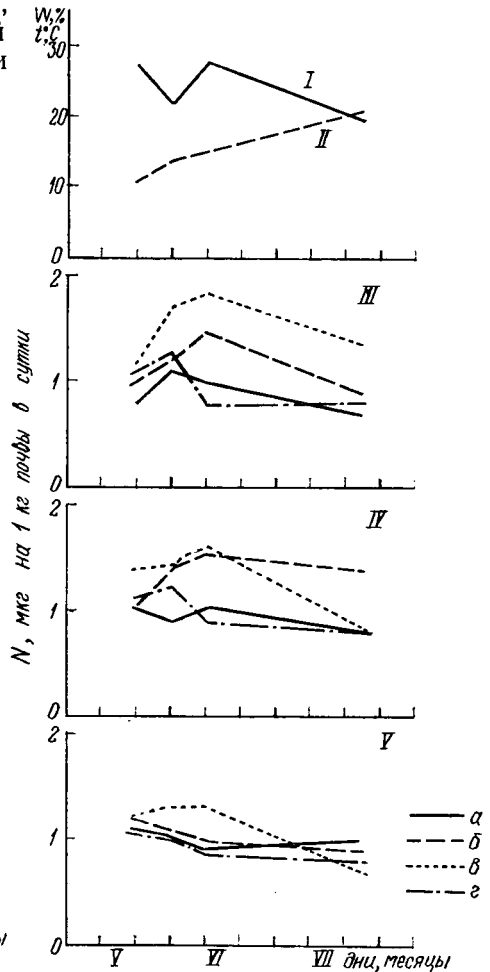


Рис. 2. Интенсивность несимбиотической азотфиксации в опыте 1976 г. при изменении влажности (I), температуры (II) на поле с озимой пшеницей, посеянной по ковром (III), клеверу (IV), люцерне (V) на различных фонах минеральных удобрений.

а — без удобрений; б — PK; в — N_2PK ; г — N_2PK (опыт 1976 г.).

В мае 1976 г. возобновили отбор почвенных образцов с поля, занятого озимой пшеницей после ковра, клевера и люцерны (поле 1). В этот срок исследований азотфиксирующая активность в почве, на которой в течение 3 лет рос ковер, была выше, чем после клевера и люцерны (рис. 2).

Положительное влияние минеральных удобрений на интенсивность несимбиотической фиксации проявилось при дозах $P_{180}K_{360}$ и $N_{270}P_{180}K_{360}$, внесенных за 3 года под предшествующую культуру, и 90 кг азота — под озимую пшеницу. Наибольшая азотфиксирующая активность в фазе

стеблевания на фоне $N_{270}P_{180}K_{360}$ после костра, клевера и люцерны составила 1,84; 1,61 и 1,27 мкг N на 1 кг почвы в сутки. На том же фосфорно-калийном фоне доза N_{540} (за 3 года) в большинстве случаев снижала азотфиксацию в почве. В некоторых случаях последняя была даже ниже, чем в варианте без удобрений.

В течение вегетации интенсивность несимбиотической фиксации атмосферного азота изменялась, что могло быть связано как с фазой развития растений, так и с погодными условиями.

В мае 1977 г. продолжалось изучение влияния минеральных удобрений и предшественников озимой пшеницы на несимбиотическую фиксацию азота атмосферными на поле 2 (рис. 3). Интенсивность азотфиксации в отдельные сроки в этом году была более чем в 2 раза больше величины данного показателя в предыдущем году. Это, по-видимому, объясняется различиями в погодных условиях, при которых шло формирование урожая костра, клевера, люцерны третьего года пользования и разложение их пожнивно-корневых остатков: в 1975 г. (поле 1) вегетационный период был засушливым, а в 1976 г. (после 2) дождливым. Более высокий уровень азотфиксации в 1977 г., видимо, определяется также и лучшими погодными условиями этого года в период вегетации озимой пшеницы.

Как и в 1976 г., размеры несимбиотической фиксации азота атмосферы оказались более высокими на участках с озимой пшеницей после костра чем по люцерне (рис. 3). Максимум азотфиксации отмечен в фазу молочной спелости. В фазу восковой спелости она резко уменьшилась во всех вариантах опыта, что, по-видимому, произошло и из-за снижения влажности почвы в этот период до 13%. Интенсивность несимбиотической азотфиксации в неудобренной почве во все сроки определений ниже, чем в вариантах с минеральными удобрениями, за исключением $N_{540}P_{180}K_{360}$. Наибольшей она была на фоне $N_{270}P_{180}K_{360}$ (внесено за 3 года) по костру, несколько ниже—при дозе $N_{540}P_{180}K_{360}$. По люцерне различия между вариантами с разными дозами азотных удобрений отсутствовали.

Положительное последствие минеральных удобрений, применяемых под предшествующую культуру, на интенсивность несимбиотической фиксации атмосферного азота,

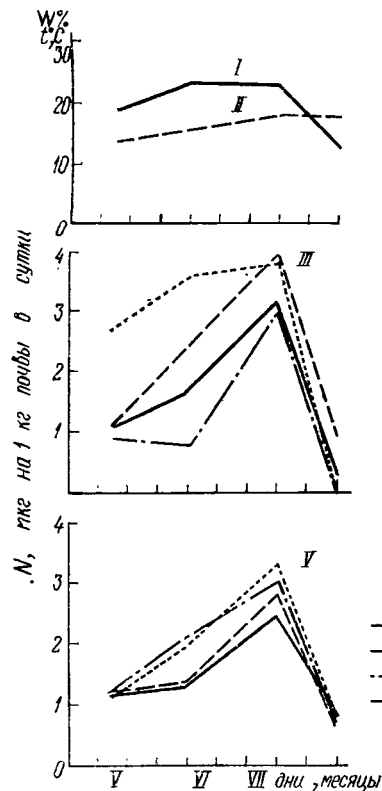


Рис. 3. Интенсивность несимбиотической азотфиксации в опыте 1977 г. Обозначения те же, что на рис. 2

Интенсивность азотфиксации в прикорневом слое и в ризосферной почве на поле с озимой пшеницей после костра (мкг N на 1 кг почвы в сутки)

Вариант	Прикорневой слой		Ризосфера	
	июнь	июль	июнь	июль
Без удобрений	9,02	9,04	1,69	3,22
PK	15,22	14,43	2,37	3,93
N_1PK	9,64	17,56	3,55	3,67
N_2PK	11,42	12,0	0,75	3,06

по-видимому, связано с большим поступлением в почву пожнивно-корневых остатков в результате увеличения урожая надземной массы в вариантах с удобрениями.

Увеличение интенсивности несимбиотической азотфиксации при внесении минеральных удобрений под костер было больше, чем на участках с люцерной и клевером. Последнее обстоятельство можно объяснить тем, что для костра минеральные удобрения являются единственным источником увеличения урожая, а клевер и люцерна в благоприятных для симбиоза клубеньковых бактерий условиях при отсутствии азотных удобрений переходят на фиксацию азота атмосферы и формируют урожай [7]. Отрицательное влияние высоких доз азота на несимбиотическую фиксацию, видимо, связано с тем, что при избытке подвижных форм азота в почве микроорганизмы с автотрофного типа питания переходят на гетеротрофный.

Поступление в почву органического вещества в виде корневых выделений также способствует увеличению азотфиксирующей активности почвы. Из таблицы видно, что в прикорневом слое несимбиотическая азотфиксация в 2—10 раз больше, чем в ризосферной почве. Применение минеральных удобрений усиливало несимбиотическую азотфиксацию и в прикорневом слое, так как улучшало рост растений и увеличивало количество корневых выделений.

Проведенные исследования показали, что в природе наблюдаются значительные колебания активности фиксации азота атмосферы. В связи с этим очень трудно оценивать размеры азотфиксации на гектар посевной площади за весь вегетационный период. В описанном опыте при влажности почвы 24—27% и температуре 12—14° в варианте N₁PK после костра несимбиотическим путем было фиксировано около 0,5 кг азота атмосферы, после люцерны — около 0,4 кг на гектар за месяц. Эту величину, на наш взгляд, нельзя считать окончательно установленной по следующим соображениям.

При поступлении в почву пожнивно-корневых остатков возделываемых культур наблюдается подъем азотфиксирующей активности. Однако из-за неравномерности распределения пожнивно-корневых остатков в поле и относительно малых объемов анализируемых почвенных образцов решить вопрос о размерах азотфиксации в расчете на всю массу поступивших пожнивно-корневых остатков с должной достоверностью весьма трудно.

С целью выяснения последнего вопроса нами были поставлены лабораторные опыты, где изучалось влияние пожнивно-корневых остатков костра и люцерны на интенсивность азотфиксации в парующей почве. Компостирование почвы с предварительно измельченными растительными остатками проводили в течение 60 дней при температуре 18—20° и влажности 27%, т. е. в условиях, которые могут создаваться в определенное время года в природе. Предварительный подсчет количества фиксированного азота показал, что при поступлении в почву 10 т пожнивно-корневых остатков костра и люцерны может быть фиксировано азота атмосферы за месяц соответственно 4,23 и 2,96 кг/га. Следует отметить, что уже к 40-му дню компостирования азотфиксация снижается в 20 раз и в последующий месяц остается на очень низком уровне. В этом плане необходимы дальнейшие исследования.

Другая методическая трудность состоит в решении вопроса о том, как правильно пересчитывать на гектар азотфиксацию в прикорневом слое почвы, которая значительно больше азотфиксации в ризосферной почве. Видимо, в каждом конкретном случае нужно делать пересчет либо на массу корней, либо на объем прикорневого слоя почвы возделываемых культур в отдельности. Решение отмеченных выше методических вопросов при изучении несимбиотической фиксации азота атмосферы будет способствовать уточнению ее размеров в природных условиях.

Выводы

1. Несимбиотическая фиксация атмосферного азота в течение вегетационного периода изменяется в зависимости от фазы развития растений, погодных условий и поступления в почву растительных остатков.

2. Азотфиксирующая активность в почве на участке с озимой пшеницей, посеянной после костра 3-летнего пользования, выше, чем после люцерны.

3. Минеральные удобрения в дозах $P_{180}K_{360}$ и $N_{270}P_{180}K_{360}$ в последствии способствовали увеличению несимбиотической азотфиксации. Азот в дозе N_{540} (за 3 года) на том же фосфорно-калийном фоне снижал азотфиксацию в большинстве случаев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захарченко И. Г., Леончик О. А., Пироженко Г. С., Томашевская Е. Г. и др. Результаты изучения баланса азота в системе почва—растение при помощи изотопного метода. В кн.: Применение стабильного изотопа ^{15}N в исследованиях по земледелию. М., «Колос», 1973, с. 223—232. — 2. Емцев В. Т., 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}N . В кн.: Применение стабильного изотопа ^{15}N в исследованиях по земледелию. М., «Колос», 1973, с. 55—61. — 4. Калининская Т. А., Миллер Ю. М., Рао В. Р., Белов Ю. М. В сб.: Повышение плодородия почв рисовых полей. М., «Наука», 1977, с. 97—106. — 5. Мишустин Е. Н., Черепков Н. Н. О биологическом азоте в сельском хозяйстве СССР. Докл. на VIII Междунар. конгр. по минеральным удобрениям. М., ВИНТИ, 1976. — 6. Трепачев Е. П. Возможные размеры накопления биологического азота и степень его использования в земледелии. «Агрохимия», 1977, № 4, с. 135—145. — 7. Трепачев Е. П. Агрохимические аспекты проблемы биологического

азота в земледелии. Автореф. докт. дис. М., 1971. — 8. Чундерова А. И., Зубко И. К., Князева В. Л. Влияние окультуривания дерново-подзолистых почв на их азотфиксирующую активность. Бюллетень ВНИИ с.-х. микробиол. Л., 1975, № 17, вып. 2, с. 56—61. — 9. Balandreau J. "Rev. écol et biol. Sol.", 1976, vol. 13, N 4, p. 529—544. — 10. Dobereiner J., Day J. M., Dart P. J. "Plant a. Soil", 1972, vol. 37, p. 191—196. — 11. Hardy R. W. F., Burns R. C., Holsten R. D. "Soil Biol. Biochem.", 1973, vol. 5, p. 47—81. — 12. Hardy R. W. F. et al. "Plant a. Soil", 1971, Special vol., p. 561—590. — 13. Hardy R. W. F. et al. "Plant Physiol.", 1968, vol. 43, p. 1185—1207. — 14. Line M. A., Loutit M. W. N. L. "J. of agricultural research", 1973, vol. 16, N 1, p. 87—94. — 15. Nelson A. D. et al. "Canad. J. Microbiol.", 1976, vol. 22, N 4, p. 523—530. — 16. Paul E. A., Myers R. I., a Rice W. A. "Plant a. Soil", 1971, special vol., p. 495—507. — 17. Reynnders L., Vlassak K. "Agricultura", 1976, vol. 24, N 4, p. 5—12. — 18. Steyn P. L. a. Delwiche C. C. "Environ. Sci. Technol.", 1970, vol. 4, P. 1122—1128. — 19. Vlassak K., Paul E. A., Harris R. E. "Plant a. Soil", 1973, vol. 38, N 3, p. 637—649. — 20. Yoshida T., Rosabel R. A. "Soil Sci. soc. of amer. proc.", 1973, vol. 37, N 1, p. 42—46.

Статья поступила 5 мая 1978 г.

SUMMARY

The activity of non-symbiotic fixation of air nitrogen was studied in dynamics by acetylene method in soddy-podzolic heavy loams. The activity varied with the stage of plant development, weather conditions, the amount of plant residues and fertilizers in the soil. The nitrogen fixing activity in the rhizosphere of winter wheat sown after awnless brome grass grown for 3 years is higher than in that after clover and alfalfa. Fertilizers in their afteraction contributed to higher nitrogen fixation. Mineral nitrogen at the rate of N_{540} kg (after using it for 3 years to the previous crop—brome grass) in its afteraction inhibited non-symbiotic nitrogen fixation. Nitrogen fixing activity in the soil layer near the roots of winter wheat is 2—10 times higher than in the rhizospheric soil.