

УДК 631.461:631.4:633.18.03

АКТИВНОСТЬ АНАЭРОБНОЙ МИКРОФЛОРЫ ЗАТОПЛЯЕМЫХ ПОЧВ РИСОВЫХ ПОЛЕЙ ПРИ ВНЕСЕНИИ РИСОВОЙ СОЛОМЫ

А. Г. ЛАДАТКО, В. Т. ЕМЦЕВ
(Кафедра микробиологии ТСХА и ВНИИ риса)

Почва является прекрасной средой для развития почвенных микроорганизмов. По их содержанию, в свою очередь, можно судить об изменении свойств почвы. Но поскольку концентрация и доступность питательных веществ, благодаря которым обеспечивается непрерывное развитие микроорганизмов, со временем значительно колеблется, то и условия жизнедеятельности последних также существенно изменяются.

Согласно В. Эдвардсу [8], зависимость метаболической активности микроорганизма от содержания в среде любого из ее составляющих компонентов выражается выпуклой кривой с плоской вершиной. В. Эдвардс указывает, что если питательное вещество является обязательным для роста клетки, то первоначальные значения метаболической активности при низких его концентрациях могут равняться нулю или даже быть от-

Химический и элементный состав растительного материала (% на сухую навеску)

Объект исследования	Гемцеллюлоза	Клетчатка	Лигнин	H	C	N	C:N	Зола
Солома	6,2	38,8	21,3	6,71	36,93	0,93	39,71	16,80
Листья	—	—	—	8,04	35,68	1,13	31,58	19,54
Стебли	—	—	—	6,03	39,32	0,68	57,82	10,18

рицательными. При увеличении концентрации питательного субстрата возрастает метаболическая активность микроорганизма. По достижении определенного значения концентрации повышение ее не вызывает увеличения физиологической активности (плоская вершина), т. е. достигается предел последней. Однако в данном случае нельзя исключить и лимитирующего влияния другого питательного вещества.

Увеличение концентрации изучаемого компонента после достижения наивысшей метаболической активности микроорганизма может привести к ее снижению в результате ингибирования.

В связи с этим, несмотря на достаточное содержание в почве различных питательных веществ, способных обеспечить непрерывное развитие микроорганизмов, средний уровень их активной деятельности остается невысоким. В то же время для эффективного функционирования почвенной экосистемы, а следовательно, создания высокого плодородия важен высокий уровень их активности. Так как интенсивный обмен веществ, осуществляемый микроорганизмами, невозможен без интенсивного обмена энергии в системе почва — микроорганизмы, то одним из приемов, обеспечивающих высокий уровень микробиологической активности, является систематическое восстановление (пополнение) энергетических ресурсов почвы путем внесения свежего органического материала.

Поскольку микромозаичное распределение микроорганизмов в почве обусловлено главным образом микроразнообразием распределения пищевых ресурсов, то управление микробиологическими процессами в почве, по нашему мнению, возможно в основном путем искусственного создания в почве микрзон с высоким содержанием энергетических и пищевых ресурсов, где будет происходить интенсивный обмен веществ и энергии в результате деятельности микроорганизмов. Такие экологические микрзоны могут быть созданы при внесении свежего (негумифицированного) органического вещества, например соломы различных злаковых культур. Попадая в образующую растительной частицей микрзону, микроорганизм как бы приобретает временную автономность и не зависит от окружающих условий, следовательно, он будет вырабатывать собственные эндогенные ритмы, не подчиняя свою жизнь флуктуациям внешней среды. Вероятно, чем мельче эти микрзоны и чем плотнее они расположены в пространстве, тем активнее микробиологические процессы в почве, что и определяет общую направленность почвенных процессов.

Использование соломы в качестве свежего органического удобрения — известный прием в сельскохозяйственной практике [1, 3, 5]. Тем не менее обсуждаемые в настоящей статье вопросы, к сожалению, не получили должного освещения как в отечественной, так и в зарубежной литературе.

Цель наших исследований — изучение функционирования искусственных микрзон в затопленной почве, образуемых при внесении свежего растительного материала, в зависимости от степени его измельчения и качественного состава, а также форм азотного удобрения. Об активности функционирования искусственных микрзон судили по численности анаэробных микроорганизмов, ибо именно они в условиях затопления почвы являются главными агентами, трансформирующими различные органические и неорганические соединения в процессах распада и синтеза при весьма различных значениях окислительно-восстановительного потенциала.

Методика исследований

Для лабораторных опытов взяты образцы лугово-черноземовидной почвы весной из пахотного слоя (0—20 см) участка, длительно используемого под культуру затопляемого риса и вспаханного осенью. Этот срок взятия образцов позволяет исключить влияние свежих органических соединений растительного происхождения на процессы минерализации вносимых органических веществ [7, 9].

Перед закладкой опытов почву измельчали и тщательно очищали от растительных остатков. В работе использовалась фракция измельченной почвы — 0,5—2,0 мм; $pH_{вод}$ — 7,18; $pH_{сол}$ — 6,00, содержание C — 1,76 %, N — 0,19 %, C:N — 9,26; емкость поглощения — 43,41 мэкв на 100 г почвы; масса сухого остатка водной вытяжки — 0,059 %.

Свежим органическим удобрением служили спелая солома риса сорта Краснодарский 424, а также отдельные вегетативные его органы (листья и стебли). Данные об их химическом и элементном составе представлены в табл. 1.

Для закладки опытов использовали следующие фракции измельченной рисовой соломы и вегетативных органов растений: <0,10 мм; 0,10—0,25; 0,25—0,50; 0,50—1,00; 1,00—2,0; 2,0—3,0; 3,0—5,0 мм.

После закладки опыта и затопления почвы образцы компостировали в темноте при постоянной температуре 28°. В срок определения компост быстро освобождали от слоя воды, тщательно перемешивали до образования гомогенной консистенции и от-

бирали пробы для анализа. Повторность опыта 5-кратная.

Общую численность анаэробов, включая анаэробных *Clostridium* и факультативно-анаэробных *Bacillus polymixa*, азотфиксаторов определяли методом предельных разведений на среде Федорова и Калининской [6] с сахарозой, ломтиком картофеля и 200 мг мела. Маслянокислые бактерии *Cl. pasteurianum* учитывали на пектоно-дрожжевой среде, ацетобутиловые *Cl. acetobutylicum* — на 5% кукурузном заторе [2].

Результаты исследований

Степень измельчения соломы оказывает существенное влияние на общую численность анаэробных микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 2

Общая численность анаэробных микроорганизмов в затопленной почве ($\times 10^6$ клеток на 1 г сухой почвы) в зависимости от степени измельчения соломы риса

Фракция измельченной соломы, мм	Срок компостирования, дни			В сред-нем
	3	5	10	
<0,10	19,7	12,3	10,1	14,0
0,10—0,25	22,2	28,6	25,0	25,3
0,25—0,50	9,6	12,5	19,9	14,0
0,50—1,0	10,0	15,0	22,0	15,7
1,0—2,0	12,1	22,5	27,3	20,6
2,0—3,0	13,0	21,0	20,0	18,0
3,0—5,0	10,4	9,3	8,7	9,5

При уменьшении (<0,5 мм) или увеличении (>2,0 мм) размера частиц соломы направленность динамики численности микроорганизмов менялась. Так, при внесении частиц соломы <0,10 мм численность микроорганизмов была наибольшей на 3-й день затопления. По мере увеличения срока компостирования количество анаэробов резко уменьшалось. При внесении частиц соломы >0,10 мм (фракция 0,10—0,25 мм) максимальная численность микроорганизмов наблюдалась на 5-й день затопления, а при размере частиц до 2,0 мм — на 10-й день. Максимальное количество анаэробов при внесении фракций измельченной соломы 0,25—0,50; 0,5—1,0 и 1,0—2,0 мм соответственно составляло $19,9 \cdot 10^6$, $22 \cdot 10^6$ и $27,3 \cdot 10^6$ клеток на 1 г сухой почвы. При внесении фракций измельченной соломы 2,0—3,0 и 3,0—5,0 мм численность анаэробов снижалась соответственно до $18,0 \cdot 10^6$ и $9,5 \cdot 10^6$ клеток на 1 г сухой почвы.

К причинам, сдерживающим развитие анаэробов при внесении фракции соломы >2,0 мм, относятся неравномерное распределение их в почве в процессе заделки и слаборазрушенная структура растительной ткани. Именно степень доступности вносимого органического вещества микроорганизмам является одним из показателей, определяющих не только их развитие, но и длительность функционирования самой микробиоты. Так, среднеарифметические данные

о численности анаэробов за 10 дней компостирования соломы показывают, что наибольшее их количество наблюдается при внесении фракции измельченной соломы 0,1—0,25 мм — $25,3 \cdot 10^6$ клеток на 1 г сухой почвы. Однако несмотря на относительно высокую численность микроорганизмов, длительность активного функционирования таких микрочзон незначительная (численность анаэробов снижается через 5 дней компостирования), а следовательно, и влияние их на общий метаболизм почвенных процессов будет носить кратковременный характер.

Совершенно иначе развиваются микроорганизмы при внесении частиц соломы от 0,5 до 2,0 мм. Численность анаэробов повышается по мере увеличения срока компо-

Таблица 3

Численность анаэробных бактерий в затопленной почве ($\times 10^6$ клеток на 1 г сухой почвы) при внесении листьев (в числителе) и стеблей риса (в знаменателе) в дозе 1% от массы почвы

Микроорганизмы	Срок компостирования, дни			В сред-нем
	10	20	30	
Общая численность анаэробов	11,3	7,1	5,7	8,0
	32,5	19,2	16,7	22,8
<i>Cl. pasteurianum</i>	6,4	3,7	2,8	4,3
	8,0	4,0	3,6	5,2
<i>Cl. acetobutylicum</i>	4,3	2,5	1,8	2,9
	10,0	5,6	4,4	6,7

стирования соломы, что в конечном итоге сказывается на среднеарифметической численности микроорганизмов, которая возрастает от $14 \cdot 10^6$ до $21 \cdot 10^6$ клеток на 1 г сухой почвы. Это указывает на равное расходование (расщепление) пищевых (энергетических) ресурсов из данных микрочзон, а следовательно, и на возможность более длительного их влияния на развитие почвенных процессов.

Заделка частиц соломы 2,0—3,0 и 3,0—5,0 мм при агрегатном составе почвы 0,5—2,0 мм приводит к снижению среднеарифметической численности анаэробов соответственно на 7,1 и 56,5% по сравнению с численностью их в варианте с фракцией соломы 0,5—2,0 мм.

Таким образом, степень измельчения соломы, вносимой в почву, во многом определяет флуктуацию численности анаэробных микроорганизмов, а также активность анаэробных процессов. Важно также и оптимальное соотношение между размерами частиц заделываемой измельченной соломы и агрегатным составом почвы. При оптимальном соотношении формируются оптимальные «рабочие объемы» искусственных микрочзон для микроорганизмов и, следовательно, повышается интенсивность почвенно-биологических процессов.

Влияние качества вносимого растительного материала на жизнедеятельность ана-

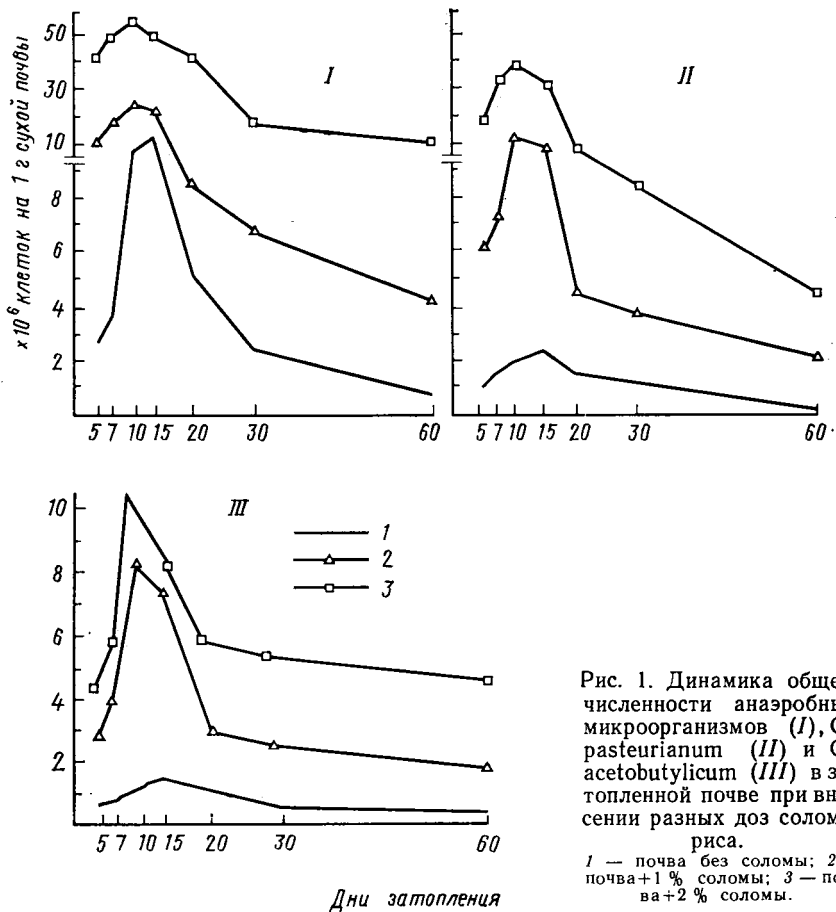


Рис. 1. Динамика общей численности анаэробных микроорганизмов (I), *Cl. pasteurianum* (II) и *Cl. acetobutylicum* (III) в затопленной почве при внесении разных доз соломы риса.
1 — почва без соломы; 2 — почва + 1 % соломы; 3 — почва + 2 % соломы.

эробных микроорганизмов изучалось нами в опыте с измельченной массой листьев и стеблей риса (частицы 0,5—2,0 мм).

Стебли оказывали большее активирующее воздействие на развитие анаэробных микроорганизмов, чем листья (табл. 3), что по-видимому, обусловлено большим содержанием в них углеродных соединений; в листьях же содержится на 66 % больше азота.

Следует отметить также, что *Cl. pasteurianum* лучше развиваются при внесении листьев, а *Cl. acetobutylicum* — при внесении стеблей. В варианте со стеблями общая численность анаэробов была в 2,8 раза, *Cl. pasteurianum* — в 1,2, а *Cl. acetobutylicum* — в 2,3 раза больше, чем в варианте с листьями.

Активность искусственных микрорзон зависит от дозы соломы (рис. 1). При внесении 1 и 2 % соломы общая численность анаэробов в среднем за весь период ее компостирования увеличилась по отношению к неудобренному варианту соответственно в 2,6 и 7,9 раза, *Cl. pasteurianum* — в 5,1 и 15,6 и *Cl. acetobutylicum* — в 4,7 и 7,1 раза. Таким образом, при увеличении дозы соломы в 2 раз общая численность анаэробов и *Cl. pasteurianum* возросла в 3 раза, а *Cl. acetobutylicum* — в 1,5 раза. Это указывает на то, что 2 % концентрация соломы в почве не является предельной для повышения активности анаэробов

и что *Cl. pasteurianum* более отзывчив на внесение соломы.

Наиболее активным периодом развития изучаемых анаэробов во всех вариантах опыта являются первые 15—20 дней затопления. По мере увеличения срока затопления количество анаэробов снижается, что, по-видимому, связано с истощением запасов легкодоступных углеродсодержащих соединений.

Внесение азотных удобрений из расчета 1 % от массы соломы при ее заделке в почву способствовало развитию анаэробных бактерий (рис. 2). Так, общая их численность в среднем за период компостирования соломы в варианте с ее дозой 2 % при внесении сульфата аммония была на 52,1 %, а при внесении мочевины — на 59,8 % выше, чем без азотных удобрений, *Cl. pasteurianum* — соответственно на 61,9 и 22,0, *Cl. acetobutylicum* — на 40,6 и 81,3 %.

Разные виды *Clostridium* неодинаково реагируют на внесение разных форм азота: к аммиачному азоту (сульфату аммония) более чувствителен *Cl. pasteurianum*, а к амидному (мочевине) — *Cl. acetobutylicum*. Различная реакция *Clostridium* на азот и особенности трансформации последних в почве определили своеобразие динамики общей численности анаэробов. Например, при внесении мочевины максимальная численность анаэробов наблюдалась на первых стадиях разложения соломы, а при

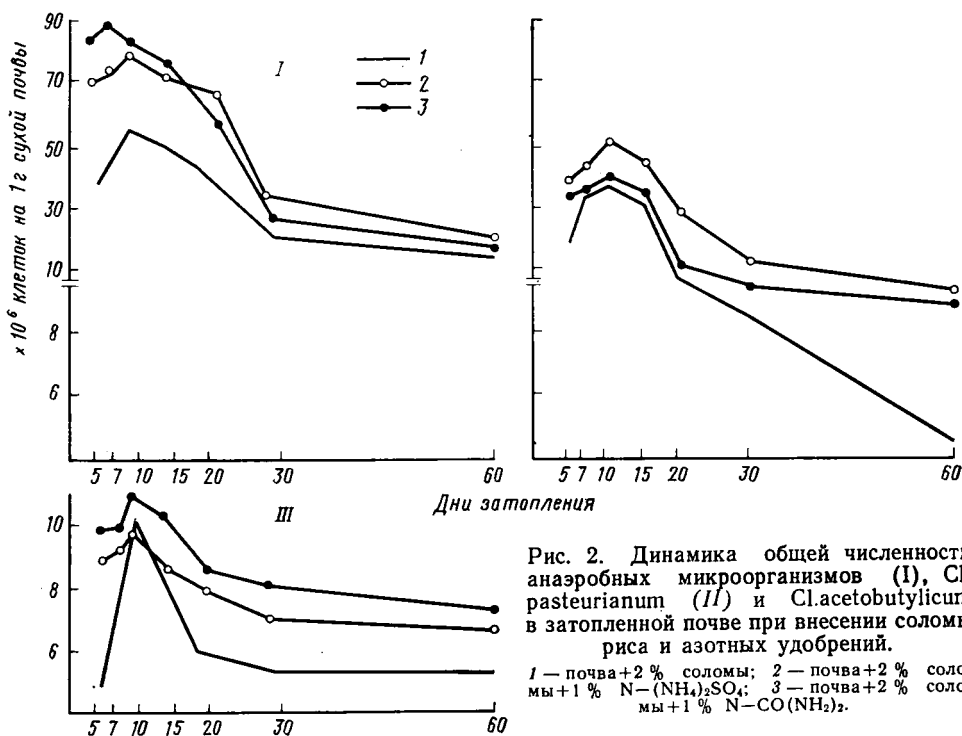


Рис. 2. Динамика общей численности анаэробных микроорганизмов (I), *Cl. pasteurianum* (II) и *Cl. acetobutylicum* в затопленной почве при внесении соломы риса и азотных удобрений.
 1 — почва + 2% соломы; 2 — почва + 2% соломы + 1% $N-(NH_4)_2SO_4$; 3 — почва + 2% соломы + 1% $N-CO(NH_2)_2$.

внесении сульфата аммония — только после 15-дневного компостирования.

Поскольку в естественных условиях солома разлагается при разной влажности почвы, нами изучалась динамика численности анаэробных микроорганизмов при сменном режиме увлажнения почвы — предварительное компостирование при 60% влажности с последующим затоплением (создание 120% влажности). Активность анаэробных микроорганизмов определяли при дозах соломы 1 и 2% от массы почвы и внесении сульфата аммония или мочевины

из расчета 1% от массы соломы. Наблюдения проводили начиная с последнего дня компостирования при 60% влажности и в течение всего последующего срока затопления почвы.

Большое влияние на активность функционирования искусственных микрочзон оказывает длительность предварительного аэробного компостирования почвы при 60% влажности. По мере увеличения этого периода активность развития анаэробов в условиях последующего ее затопления снижалась (рис. 3).

То же наблюдалось и при внесении разных доз соломы (1 и 2%, рис. 4 и 5) и азотного удобрения. Эффективность суль-

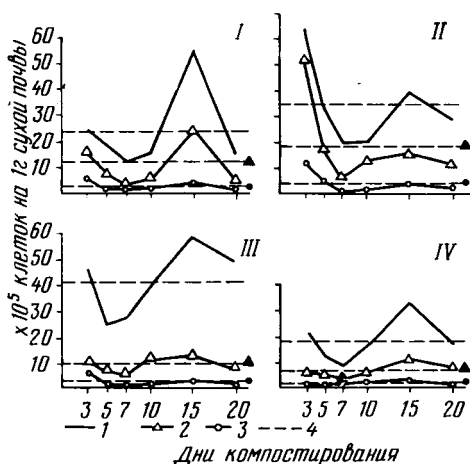


Рис. 3. Динамика численности анаэробных микроорганизмов при сменном режиме увлажнения почвы.

1 — общая численность; 2 — *Cl. pasteurianum*; 3 — *Cl. acetobutylicum*; 4 — среднеарифметическая; I, II, III, IV — срок предварительного компостирования при 60% влажности соответственно 5, 10, 20, 30 дней.

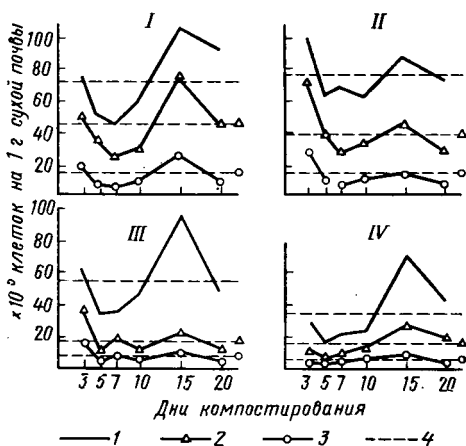


Рис. 4. Динамика численности анаэробных микроорганизмов в условиях сменного режима увлажнения почвы при внесении 1% соломы риса.

Обозначения те же, что на рис. 3.

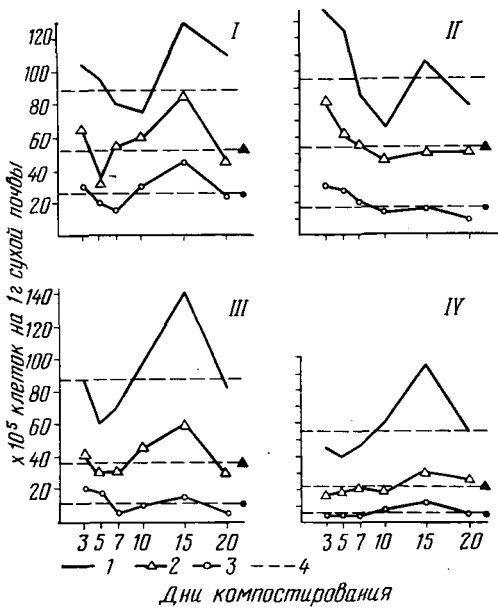


Рис. 5. Динамика численности анаэробных микроорганизмов в условиях сменного режима увлажнения почвы при внесении 2% соломы риса.

Обозначения те же, что на рис. 3.

фата аммония в первые 10 дней затопления почвы после предварительного компостирования при 60% влажности несколько превышала эффективность мочевины (рис. 6 и 7).

В условиях сменного режима увлажнения почвы сохранялось также доминирующее развитие *Cl. pasteurianum*. При внесении

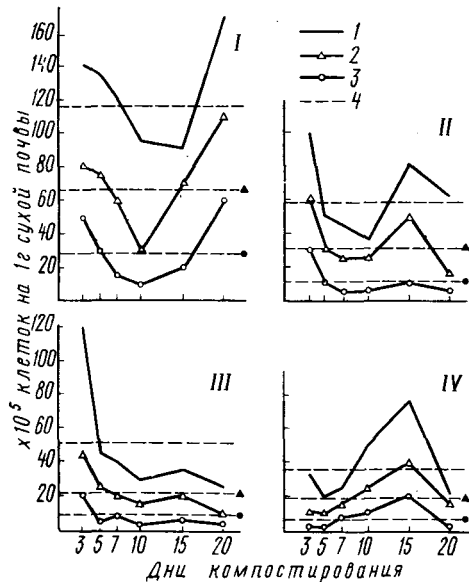


Рис. 6. Динамика численности анаэробных микроорганизмов в условиях сменного режима увлажнения почвы при внесении 2% соломы риса и 1% азота сульфата аммония.

Обозначения те же, что на рис. 3.

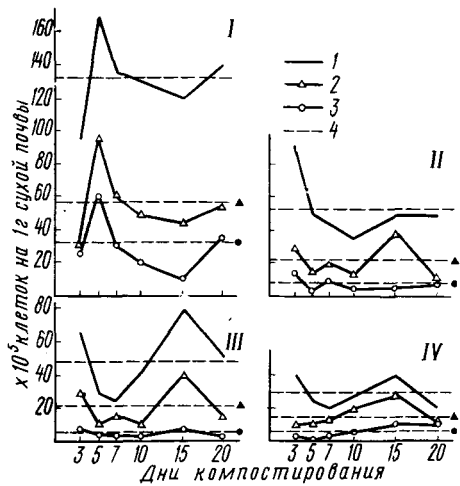


Рис. 7. Динамика численности анаэробных микроорганизмов в условиях сменного режима увлажнения почвы при внесении 2% соломы риса и 1% азота мочевины.

Обозначения те же, что на рис. 3.

соломы и аммиачного азота эти бактерии развивались более энергично, чем при внесении соломы и амидного азота.

Выводы

1. В почвах рисовых полей широко распространены анаэробные бактерии рода *Clostridium*. Среди них доминируют *Cl. pasteurianum*, что объясняется высокой приспособленностью этих бактерий к существованию в экстремальных условиях почвенной среды. *Cl. acetobutylicum* обнаружены в меньших количествах.

2. При внесении в затопленную почву измельченной рисовой соломы усиливается развитие анаэробных микроорганизмов благодаря формированию своеобразных искусственных микрзон вокруг частиц соломы.

3. Длительность функционирования искусственных микрзон зависит от степени измельчения поступающего в почву растительного материала. Причем оптимальные для интенсивного развития микроорганизмов условия создаются при одинаковом соотношении размеров частиц соломы и агрегатов почвы. В случае несовпадения их размеров темпы развития анаэробных микроорганизмов ускоряются или замедляются в результате формирования различных по объему искусственных микрзон.

4. При увеличении дозы рисовой соломы, вносимой в почву, развитие анаэробных бактерий усиливается.

5. Внесение азотных удобрений из расчета 1% азота от массы заделываемой рисовой соломы активизирует развитие анаэробных микроорганизмов рода *Clostridium*.

6. В условиях сменного режима увлажнения почвы сохраняется активизирующее влияние более высоких доз соломы и разных форм азотного удобрения на развитие анаэробных микроорганизмов, при этом *Cl. pasteurianum* развивается интенсивнее *Cl. acetobutylicum*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авров О. Е., Мороз З. М. Использование соломы в сельск. хоз-ве. Л.; Колос, 1979. — 2. Емцев В. Т. Методы количественного учета различных видов маслянокислых и ацетобутиловых бактерий в почве. — Докл. ТСХА, 1965, вып. 109, с. 123—130. — 3. Использование соломы как органического удобрения. М.: Наука, 1980. — 4. Кольбе Г., Штумпе Г. Солома как удобрение. М.: Колос, 1972. — 5. Повышенные плодородия почв рисовых полей. М.: Наука, 1977. — 6. Федоров М. В., Калининская Т. А. Отношение азотфиксирующей микобактерии (*Mycobacterium* sp. 301) к различным источникам углерода и дополнительным факторам роста. — Микробиология, 1961, т. 30, № 5, с. 833. — 7. Vonneau M., — *Sci. Sol.*, 1971, N 1, p. 31—46. — 8. Edwards V. H., *Biotechnol. Bioeng.*, 1970, N 12, p. 679—682. — 9. Harmsen J. W., Schreven D. A. van. — *Advances in agron.* N. Y., 1955, vol. 7, p. 299—308.

Статья поступила 9 марта 1983 г.

SUMMARY

Application of newly crushed rice straw into the soil considerably increases vital activity of anaerobic nitrogen-fixing bacteria. Around each straw particle special microzones are formed creating optimal conditions for anaerobes development. Efficiency of regulating influence of microzones on general biological condition of the soil depends on the degree of crushing applied plant material and its qualitative composition, on density and uniformity of distribution in the soil, on forms of additional nitrogen fertilization and humidity regime.