

## **Влияние микробных препаратов на микробиологическую активность торфяной выработки при разной степени увлажнения**

**Лилия Картыжова, Зинаида Алещенкова, Екатерина Соловьева, Александр Яковлев, Галина Булавко, Светлана Антохина**

*Институт микробиологии НАН Беларуси*

При изучении влияния биологических способов рекультивации выработанных торфяников Витебского месторождения (Беларусь) было установлено, что применение серии микробных препаратов оказывает существенное влияние на микробиологическую активность торфяной залежи. Установлено, что применение микробных препаратов на выработанных торфяниках при влажности торфяной выработки, составляющей 60% от общей влагоемкости, способствует активации микроорганизмов основных эколого-трофических групп, изменяя их соотношения в сторону увеличения численности агрономически ценной микрофлоры. Биогенность торфяной залежи в вариантах с применением микробных препаратов составила, в среднем, в мае -  $4,6 \cdot 10^{10}$  КОЕ/г и сентябре -  $2,77 \cdot 10^{10}$  КОЕ/г., что в среднем в 13 раз больше, чем в контроле. Установлено, что преобладающей группой в структуре микробоценоза торфяной залежи при применении серии микробных препаратов являлась активная аммонифицирующая микрофлора. Необходимо отметить, что климатические условия 2-го года испытаний, а в частности переувлажнение торфяной выработки (80% от полной влагоемкости), способствовали снижению ее целлюлозоразрушающей активности, интенсивности микробиологических процессов, как в контроле, так и с применением микробных препаратов. Данный факт подтверждает значимость климатических условий (степень увлажнения) при применении фиторекультивационных мероприятий на выработанных торфяниках и необходимость дополнительных агротехнических мероприятий для увеличения эффективности используемых микробных препаратов.

*Выработанные торфяники, микробные препараты, микробиологическая активность, влажность почвы*

### **Введение**

Самой реактивной частью природных биоценозов являются микроорганизмы. Изменение условий их существования моментально отражается на направленности биохимических процессов, происходящих в почве и их разнообразии (Никитина, 1991; Звягинцев и др., 1994; Никитина, Голодяев, 2003). Известно, что численность микроорганизмов в почве, на фоне внутренних закономерностей развития микробных популяций, значительно изменяется вследствие сезонных колебаний, обусловленных как засушливыми, так и дождливыми периодами. Гидротермические условия чаще всего оказывают на развитие микроорганизмов косвенное влияние, замедляя или ускоряя их рост и размножение, и становятся основными регуляторами биологических процессов в почве только в экстремальных условиях (Орлова, 2013). Влияние внешних факторов отражается как на накоплении, так и на разрушении продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. Количественная динамика почвенных микроорганизмов тесно связана с влажностью почвы, ее температурой и токсичностью, содержанием, а также временем попадания в почву необходимых для питания микроорганизмов веществ и взаимоотношением между микроорганизмами. Переувлажнение почвы снижает активность микробоценоза, о чем свидетельствует обеднение азотом (более широкое соотношение C:N), рост времени генерации и существенное уменьшение потоков углерода и азота через микробную биомассу. Отрицательное влияние переувлажнения почв на эти показатели усиливается при внесении минерального азота (Орлова, 2013). В связи с этим изучение микробиологической активности почвы позволяет установить степень влияния данных факторов на состояние микробоценоза на фоне применяемых агроприемов. Особенно это актуально при проведении исследований, направленных на изучение эффективности применения биологических методов восстановления бросовых земель, выбывших

из промышленного использования, таких как выработанные торфяники при разных погодных условиях.

Разработанная в Институте микробиологии НАН Беларуси и ГНУ «Центральный ботанический сад» схема применения микробных препаратов на основе органического вещества, целлюлозоразрушающих, азотфиксирующих и фосфатмобилизующих бактерий была использована на Витебском торфяном месторождении. Основными действующими началами биоудобрений являются: 1) минеральные элементы питания (азот, фосфор, калий); 2) активная микробная ассоциация; 3) органическое вещество. Изучение микробиологической активности выработанных торфяников, в условиях фиторекультивации и применения микробных препаратов, в течение 2 вегетационных периодов явилось целью наших исследований.

### **Методика исследования**

Для оценки эффективности применения серии микробных препаратов в составе с 10% и 50% рабочим раствором микробного препарата МаКлоР (на основе ассоциативной азотфиксирующей микрофлоры и арбускулярно-микоризных грибов) на торфяной выработке проводили серию лабораторных и полевых опытов с применением агрохимических и микробиологических методов.

В лабораторных условиях осуществляли контроль активности штаммов микроорганизмов при наработке микробных препаратов, применяемых в полевых опытах. Качество микробных препаратов оценивали по численности микроорганизмов, входящих в их состав, культивируемых на жидких питательных средах (Теппер, 2004) а также по показателям азотфиксирующей (Методические..., 1982) и фосфатмобилизующей (Методы..., 1983) активности. Степень соответствия полученных данных устанавливали при сравнении с исходными (ТУ ВУ).

Исследование водно-физических, физико-химических и агрохимических свойств образцов торфяной залежи в полевых опытах осуществляли трижды за сезон с использованием общепринятых методов: определение обменной кислотности ( $pH_{KCl}$ ) – потенциометрически с помощью прибора pH-150МП по ГОСТ 11623-89 (Торф..., 1990); гидролитической кислотности ( $Hr$ ) – по методу Каппена (Почвы..., 1992); суммы поглощенных оснований ( $S$ ) – по методу Каппена (Почвы..., 1992); емкости поглощения ( $T$ ) и степени насыщенности основаниями ( $V$ ) – расчетным методом; содержания гумуса – по методу И.В. Тюрина (Торф..., 1990); нитратного азота – по ГОСТ 27894.4-88 (Торф..., 1990); аммиачного азота – по ГОСТ 27894.3-88 (Торф..., 1989); подвижных форм фосфора (в пересчете на  $P_2O_5$ ) – фотоэлектроколориметрически по ГОСТ 27894.5-88 (Торф..., 1989); обменного калия (в пересчете на  $K_2O$ ) – методом пламенной фотометрии по ГОСТ 27894.6-88 (Торф..., 1989).

Микробиологическую активность почвы модельно - полевого опыта устанавливали дважды весной и осенью, определяя численность почвенных микроорганизмов (Попова, 1987).

Целлюлозолитическую активность выработанного торфяника в условиях лабораторного эксперимента, так и полевых условиях определяли по интенсивности разложения льняного полотна (Попова, 1987). Целлюлолитическую активность торфяной залежи по вариантам опыта определяли по потере веса (% от контроля) льнополотна, в течение 30 дней.

## Результаты и обсуждение

Погодные условия вегетационного периода 2017 года исследований оказались неблагоприятные для роста и развития опытных растений голубики. В начале вегетационного периода (весна, 2-я декада лета) количество выпавших осадков было ниже нормы, минимальная температура воздуха была ниже на 30-50% среднемесячной температуры. Из чего следует, что гидротермический режим вегетационного периода 2-го года исследований (2017 г.) оказал существенное влияние как на микробиологические процессы торфяной выработки в районе исследований, так и на рост и развитие голубики, особенно, в контрольных вариантах опыта. На рисунке 1 представлена диаграмма, свидетельствующая о ингибирующем влиянии повышенной влажности торфяной выработки (80%) на ее биогенность (контрольный вариант).

Установлено снижение общей численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп на 14%. Применение серии микробных препаратов, как в первый, так и во второй год в условиях переувлажнения, способствует активации почвенной микрофлоры. Количество и качество доступного органического вещества, внесенная микробная ассоциация могут существенно влиять на функционирование микробного ценоза почвы, а следовательно, и на содержание гумуса в ней (Орлова, 2013). Установлено, что численность аммонифицирующих микроорганизмов и усваивающих минеральный азот, выявляемых на МПА и КАА,

возрастала за счет применения микробных препаратов, как в год закладки полевого опыта, так и последующий год.

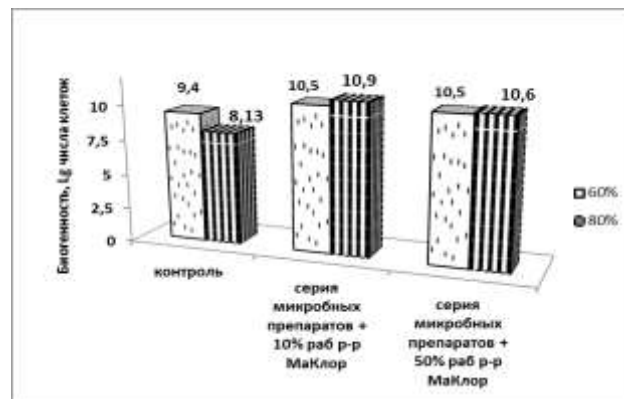


Рис. 1. Биогенность выработанного торфяника при разной влажности (60% и 80%) в полевого опыта № 1 (торфяное месторождение «Журавлевское»), Lg числа клеток/г а.с.п. почвы

Применение серии микробных препаратов, рост и развитие растений способствовали обогащению торфяной выработки макро и микроэлементами, органическим веществом (внесенным и свежим за счет поступления растительных остатков) несмотря на переувлажнение почвы и, как следствие, увеличению численности этих групп микроорганизмов на порядок. Количественная динамика почвенных микроорганизмов тесно связана с влажностью почвы, ее температурой и токсичностью, содержанием и временем попадания в почву необходимых для питания микроорганизмов веществ и взаимоотношением между микроорганизмами, что и подтверждается полученными данными: количество аммонифицирующих бактерий согласуется с содержанием аммиака в торфяной выработке и более высокой влажностью. Установлено, что исходное содержание макроэлементов в торфяной выработке существенно изменилось в течение 2 вегетационных периодов, особенно в вариантах с применением микробных препаратов в посадках голубики. Дополнительное накопление аммиачного азота в варианте с применением серии микробных препаратов в составе с 50% рабочим раствором микробного препарата МаКлоР за два года в среднем составило: (+52,2 мг/кг почвы), фосфора – (+117,2мг/кг), калия – (+194,7мг/кг). Известно, что для активного образования нитратов необходимо наличие некоторого минимума аммиачных соединений. Таким образом, активная деятельность нитрифицирующих микроорганизмов, окисляющих аммиачные формы в нитритные и нитратные, обусловлена накоплением определенного содержания аммиака, положительно влияющего на процессы нитрификации, которые являются показателем плодородия почвы. Необходимо отметить, что слабо аэрируемые, характеризующиеся высокой кислотностью и недостатком кальция, фосфора и калия почвы угнетают деятельность нитрифицирующих бактерий, и образование нитратов в них тормозится, в то время как процесс аммонификации осуществляется достаточно активно. Установлено, что в условиях переувлажнения торфяной выработки (2 год вегетации) применение

серии микробных препаратов способствовало более активному размножению нитрифицирующих бактерий, численность их увеличилась в 2,2 раза по сравнению с контролем. Таким образом, очевидно, что применение микробных препаратов способствует активации процессов минерализации органического вещества и накоплению подвижного азота.

Изучение качественного состава микроорганизмов торфяной выработки и их соотношений позволило судить об интенсивности процессов минерализации органического вещества в модельных условиях. Учитывая соотношение микроорганизмов, превращающих азот органических и минеральных соединений микробиологическим путем, была установлена степень биологической минерализации. На рисунке 2 представлена сравнительная характеристика процесса минерализации органического вещества (коэффициент минерализации,  $K_{мин.}$ ) в разных вариантах полевого опыта, по которой можно судить о характере основных биохимических процессов, происходящих в почве, в том числе и о мобилизации органического азота.

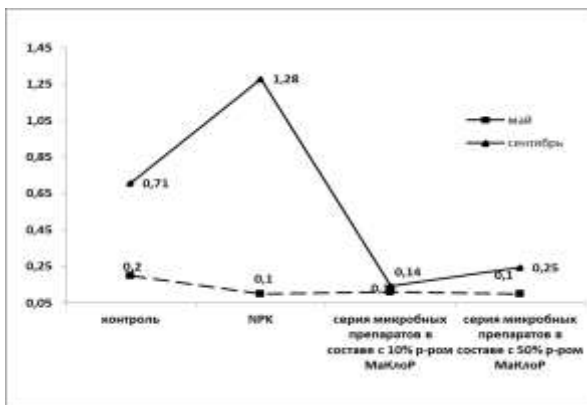


Рис. 2. Коэффициент минерализации органического вещества по вариантам полевого опыта (торфяное месторождение «Журавлевское»)

Необходимо отметить, что в условиях выработанных торфяников с низким содержанием гумуса, использование минеральных удобрением способствуют активации процессов минерализации органического вещества, что увеличивает его потери. В вариантах с применением микробных препаратов процессы минерализации органического вещества протекают менее интенсивно, что способствует его накоплению.

Анализ деятельности целлюлозоразрушающей микрофлоры (ЦРМ) в течение 2 вегетационных периодов на выработанных торфяниках в полевом опыте показал, что применение микробных препаратов в 1 год исследований при 60% влажности почвы способствовало активному разрушению льнополотна в течение 30 дней, которое превысило на 8 % (10% р-р МаклоР) и 27% (50% р-р МаклоР) контрольные показатели (рисунок 3). Погодные условия 2-го вегетационного периода и влажность выработанного торфяника, составившая 80%, оказали негативное влияние на развитие целлюлозоразрушающей микрофлоры в вариантах с применением микробных препаратов (в составе с 10 и 50% р-ром МаклоР). Снижение титров клеток целлюлозоразрушающей

микрофлоры (ЦРМ) составило 72 и 68% соответственно, тогда как применение минеральных удобрений обеспечило стимуляцию (19 %) деятельности данной микрофлоры. Для проведения сравнительного анализа деятельности целлюлозоразрушающей микрофлоры в образцах торфяной выработки 1-го и 2-го года вегетации растений при оптимальной влажности (60%) в лабораторных условиях был заложен модельный опыт с почвенными образцами 2-го года вегетации. Период инкубации льняных полотен в образцах выработанного торфяника с 60 % влажностью составил 30 дней. В результате поставленного эксперимента были получены данные свидетельствующие, что в образцах торфяной выработки 1 и 2-го года вегетации с влажностью 60% процесс разрушения льнополотна (активность целлюлозоразрушающей микрофлоры) в вариантах с применением микробных препаратов в составе с 10 и 50% рабочим раствором микробного препарата МаклоР проходил на 10 и 60% более активно, чем в контроле, соответственно.

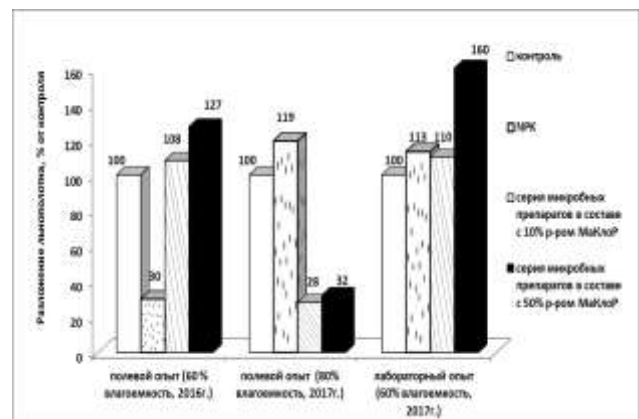


Рис.3. Целлюлозоразрушающая способность выработанного торфяника при разных уровнях влажности по вариантам опыта

Таким образом, моделирование условий позволило провести сравнительный анализ деятельности ЦРМ при использовании микробных препаратов в течение 2 лет. Установлено, что при одинаковых почвенно-климатических условиях использование микробных препаратов обеспечивает активацию деятельности ЦРМ, в результате чего идет пополнение почвы аминокислотами, которые являются промежуточным звеном в круговороте азота почвы и тем самым способствуют повышению плодородия. В связи с этим при фиторекультивации выработанных торфяников с применением микробных препаратов в периоды их переувлажнения обязательным условием эффективного их действия, как установлено в лабораторном модельном опыте, является поддержание торфяной залежи в аэрируемом состоянии, путем дополнительных агротехнических мероприятий.

## Выводы

Изучена микробиологическая активность выработанных торфяников полевого опыта № 1 в течение 2-х вегетационных периодов (2016 -2017 гг.) и установлено, что используемые биологические системы (микробо-растительные ассоциации)

значительно изменяют численность и структуру микробного населения почвы в сторону увеличения ее биогенности (в 13 раз больше) по сравнению с контрольными участками. Применение микробных препаратов в изучаемых дозах и по разработанной схеме способствовало увеличению численности агрономически ценной микрофлоры и активизации ее деятельности по накоплению аммонийного азота в почве в период вегетации. Дополнительное накопление аммиачного азота в варианте с применением серии микробных препаратов в составе с 50% рабочим раствором микробного препарата МаКлоР за два года в среднем составило: (+52,2 мг/кг почвы), фосфора – (+117,2мг/кг), калия – (+ 194,7мг/кг). Установлено, что в условиях переувлажнения торфяной выработки применение микробных препаратов способствует активации почвенной микрофлоры, а в сочетании с агроприемами по улучшению аэрации способствует восстановлению активной деятельности ЦРМ.

#### Литература

- 1.ЗВЯГИНЦЕВ Д. Г., ДОБРОВОЛЬСКАЯ Т. Г., ПОЛЯНСКАЯ Л. М., ЧЕРНОВ И. Ю. Теоретические основы экологической оценки микробных ресурсов почв // Почвоведение. 1994. № 4. С. 65–73.
- 2.НИКИТИНА З. И. Микробиологический мониторинг наземных экосистем. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1991. 219 с.
- 3.НИКИТИНА З. И., ГОЛОДЯЕВ Г. П. Экология микроорганизмов и санация техногенных территорий. Владивосток: Дальнаука, 2003. 179 с.

- 4.ОРЛОВА О.В. Активное органическое вещество как регулятор процессов трансформации азота и углерода в дерново-подзолистых почвах: автореф. дис...д-ра биол. наук : 06.01.03, ГНУ ВНИИ агрохимии им. Д.Н. Прянишникова Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, 2013, 48 с.
- 5.ТЕППЕР, Е. З. ШИЛЬНИКОВА, Г. И. ПЕРЕВЕРЗЕВА. Практикум по микробиологии, Москва, 2004, 256 с.
6. *Методические указания по использованию ацетиленового метода при селекции бобовых культур на повышение симбиотической азотфиксации.* Ленинград, 1982, 18 с.
7. *Методы общей бактериологии:* в 3 т. / Под ред. Ф. Герхардта [и др.]. – М.: Мир, 1983 – Т. 2. – 470 с.
8. *Торф и продукты его переработки для сельского хозяйства.* Методы определения обменной и активной кислотности: ГОСТ 11623–89, Введ. 01.01.90, Москва, 1990, 6 с.
9. Почвы. Определение гидролитической кислотности по методу Каппена в модификации ЦИНАО: ГОСТ 26212-91, Введ. 01.07.93, Москва, 1992, 7 с.
10. *Торф и продукты его переработки для сельского хозяйства.* Методы определения нитратного азота : ГОСТ 27894.4-88, Введ. 01.01.90, Москва, 1990, 6 с.
11. *Торф и продукты его переработки для сельского хозяйства.* Методы определения аммиачного азота: ГОСТ 27894.3-88, Введ. 01.01.90, Москва, 1989, 11 с.
12. *Торф и продукты его переработки для сельского хозяйства.* Методы определения подвижных форм фосфора: ГОСТ 27894.5-88, Введ. 01.01.90, Москва, 1989, 8 с.
13. *Торф и продукты его переработки для сельского хозяйства.* Методы определения подвижных форм калия: ГОСТ 27894.6-88, Введ. 01.01.90, Москва, 1989, 5 с.
14. ПОПОВА, Ж. П. Основные микробиологические и биохимические методы исследования почв: метод. реком. Ленинград, 1987, 46 с.

Liliya Kartyzhova, Zinaida Aleschenkova, Ekaterina Solovyova, Aleksandr Yakovlev, Galina Bulavko, Svetlana Antohina

#### Effect of microbial preparations on microbiological activity of peat- hag varying in moisture content

##### Summary

The studies on the effect of biological recultivation methods on the exhausted peateries of Vitebsk deposit, Belarus have shown that application of a series of microbial products exerted a significant impact on microbiological activity of peat strata. It was found that application of microbial preparations for treatment of peat-hag at soil humidity level constituting 60% of total saturation capacity led to activation of microorganisms from major ecologotrophical groups and shifted the balance toward agronomically valuable species. Biogenic potential of peat hag inoculated with microbial preparations averaged  $4.6 \cdot 10^{10}$ CFU/g soil in May and  $2.77 \cdot 10^{10}$ CFU/g soil in September, exceeding 13 times the control values. It was shown that ammonifying microflora dominated in treated peat biocenoses. Noteworthy that climatic conditions of the second year of trials, namely excessive moisturization of peat-hag fields 80% of total saturation capacity) adversely affected the observed cellulolytic activity and decelerated the rate of microbiological processes both in intact and treated soil. This fact stresses the importance of climatic factors (moisture level) for phytoremediation measures practiced on depleted peateries and highlights the need of a dditional agrotechnological procedures to raise the efficiency of applied microbial preparations

*Microbial preparations, microbiological activity, moinsture content*

Получено в марта 2018 г., подписано в печать в апреля 2018 г.

**Лилия КАРТЫЖОВА.** Кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Института микробиологии НАН Беларуси. Адрес: ул. ак. Купревича, 2, 220141, Минск, Беларусь. Тел. +37529-6385416, адрес эл. почты: Liliya\_Kartyzhova@mail.ru

**Liliya KARTYZHOVA.** PhD, Institute of Microbiology, National Academy of Sciences (NAS), leading researcher. Address: Kuprevich str. 2, 220141, Minsk, Belarus. Tel. +37529-6385416, e-mail: Liliya\_Kartyzhova@mail.ru

**Зинаида АЛЕЩЕНКОВА.** Доктор биологических наук, главный научный сотрудник Института микробиологии НАН Беларуси. Адрес: ул. ак. Купревича, 2, 220141, Минск, Беларусь. Тел. 8017-2659967, адрес эл. почты: aleschenkova@mbio.bas-net.by

**Zinaida ALESCHENKOVA.** Institute of Microbiology, National Academy of Sciences (NAS), doctor of biological sciences, principal researcher. Address: Kuprevich str. 2, 220141, Minsk, Belarus. Tel. 8017-2659967, e-mail: aleschenkova@mbio.bas-net.by

**Александр ЯКОВЛЕВ.** Кандидат биологических наук, доцент, заведующий лабораторией Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Адрес: ул. Сурганова, 2в, 220012, Минск, Беларусь. Тел. +37517-2842527, адрес электронной почты: A.Yakovlev@cbg.org.by

**Alexandr YAKOVLEV,** PhD, ass. prof., Central Botanic Garden, National Academy of Sciences (NAS), head of the laboratory. Address: Surganov str. 2v, 220012, Minsk, Belarus. Tel. +37517-2842527, e-mail: A.Yakovlev@cbg.org.by

**Галина БУЛАВКО.** Кандидат биологических наук, доцент ведущий научный сотрудник Центрального ботанического сада НАН Беларуси. Адрес: ул. Сурганова, 2в, 220012, Минск, Беларусь. Тел. +37517-2926911, адрес электронной почты: bulavko\_g@mail.ru

**Galina BULAVKO,** PhD, ass. prof., Central Botanic Garden, National Academy of Sciences (NAS), researcher. Address: Surganov str. 2v, 220012, Minsk, Belarus. Tel. +37517-2926911, e-mail: bulavko\_g@mail.ru

**Светлана АНТОХИНА.** Младший научный сотрудник Центрального ботанического сада НАН Беларуси Адрес: ул. Сурганова, 2в, 220012, Минск, Беларусь. Тел. +37517-2926911, адрес электронной почты: antohina\_lana@mail.ru

**Svetlana ANTOHINA,** Central Botanic Garden, National Academy of Sciences (NAS), researcher. Address: Surganov str. 2v, 220012, Minsk, Belarus. Tel. +37517-2926911, e-mail: antohina\_lana@mail.ru