

Влияние видов и сочетаний минеральных удобрений на микробоценоз дерново-подзолистой почвы*

Н. Е. ЗАВЬЯЛОВА¹, И. Г. ШИРОКИХ², М. Т. ВАСБИЕВА¹, Д. Г. ШИШКОВ¹

¹Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, ул. Культуры, 12, с. Лобаново, Пермский край, 614532, Российская Федерация

²Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого, ул. Ленина, 166 а, Киров, 610007, Российская Федерация

Резюме. Исследования проводили с целью изучения влияния длительного применения азотных, фосфорных и калийных удобрений на численность и состав микроорганизмов в дерново-мелкоподзолистой тяжелосуглинистой почве. Работу выполняли в Пермском крае в многолетнем стационарном полевом опыте, заложенном в 1978 г., в следующих вариантах: без удобрений (контроль), N_{90} , P_{90} , K_{90} , $N_{90}P_{90}$, $N_{90}K_{90}$, $P_{90}K_{90}$, $N_{90}P_{90}K_{90}$, N_{150} , P_{150} , K_{150} , $N_{150}P_{150}$, $N_{150}K_{150}$, $P_{150}K_{150}$, $N_{150}P_{150}K_{150}$. Общее количество микроорганизмов в почве при длительном применении удобрений было на 28...73 % ниже, чем в контрольном (15,8 млн КОЕ/г). В вариантах K_{90} , $P_{90}K_{90}$, $N_{90}P_{90}K_{90}$, $N_{150}P_{150}K_{150}$ численность микрофлоры была наиболее близкой к контролю – 11,2...11,5 млн КОЕ/г почвы. При длительном применении удобрений в почве наблюдали уменьшение количества микроорганизмов, усваивающих органические формы азота, относительно контроля, в 2 раза и увеличение микроорганизмов, использующих для питания его минеральные формы от 0,6 до 3,6 млн КОЕ/г почвы. Одновременно численность олигонитрофильной микрофлоры снижалась на 20...95 %, целлюлозолитической – возрастала в 1,3...3,0 раза. Систематическое использование минеральных удобрений существенно уменьшало долю бактерий (с 89 до 62...81 %) и повышало долю микроскопических грибов (с 11 до 17...33 %) в комплексе микроорганизмов, утилизирующих минеральные формы азота. Коэффициент минерализации по Е. Н. Мишустину во всех вариантах опыта был менее 1, что характеризует низкую активность почвенных микроорганизмов и слабую степень разложения органического вещества исследуемой почвы. Степень воздействия отдельных элементов питания на изменение трофности почвенного микробного комплекса изучаемой дерново-подзолистой почвы можно представить следующим образом: $K < N < P$. Наибольшие в опыте отрицательные изменения в микробиологическом сообществе почвы отмечали при длительном одностороннем применении фосфорных удобрений. По величине коэффициента олигонитрофильности более устойчивое к внешним воздействиям микробное сообщество сформировалось в варианте $N_{90}P_{90}K_{90}$.

Ключевые слова: минеральные удобрения, эколого-трофические группы, коэффициент минерализации, коэффициент олигонитрофильности.

Сведения об авторах: Н. Е. Завьялова, доктор биологических наук, главный научный сотрудник (e-mail: nezavyalova@gmail.com); И. Г. Широких, доктор биологических наук, зав. лабораторией; М. Т. Васбиева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; Д. Г. Шишков, младший научный сотрудник.

Для цитирования: Влияние видов и сочетаний минеральных удобрений на микробоценоз дерново-подзолистой почвы / Н. Е. Завьялова, И. Г. Широких, М. Т. Васбиева и др. // Достижения науки и техники АПК. 2023. Т. 37. № 5. С. 66–71. doi: 10.53859/02352451_2023_37_5_66

*исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Пермского края в рамках научного проекта № 20-45-596005 р_НОЦ_Пермский край.

Influence of types and combinations of mineral fertilizers on the microbocenosis of sod-podzolic soil

N. E. Zavyalova¹, I. G. Shirokikh², M. T. Vasbieva¹, D. G. Shishkov¹

¹Perm Federal Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. Kultury, 12, s. Lobanovo, Permskii Krai, 614532, Russian Federation

²Rudnitsky Federal Agrarian Scientific Center, ul. Lenina, 166 a, Kirov, 610007, Russian Federation

Abstract. The studies aimed to study the effect of long-term use of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers on the number and composition of microorganisms in soddy-small podzolic heavy loamy soil. The work was carried out in the Perm Territory in a long-term stationary field experiment, established in 1978 in the following variants: without fertilizers (control), N_{90} , P_{90} , K_{90} , $N_{90}P_{90}$, $N_{90}K_{90}$, $P_{90}K_{90}$, $N_{90}P_{90}K_{90}$, N_{150} , P_{150} , K_{150} , $N_{150}P_{150}$, $N_{150}K_{150}$, $P_{150}K_{150}$, $N_{150}P_{150}K_{150}$. The total number of microorganisms in the soil with long-term use of fertilizers was 28-73% lower than in the control (15.8 million CFU/g). In variants K_{90} , $P_{90}K_{90}$, $N_{90}P_{90}K_{90}$, $N_{150}P_{150}K_{150}$, the number of microflora was the closest to the control – 11.2-11.5 million CFU/g of soil. With prolonged use of fertilizers in the soil, a decrease in the number of microorganisms that assimilate organic forms of nitrogen, relative to control, by 2 times, and an increase in microorganisms using its mineral forms for nutrition from 0.6 to 3.6 million CFU/g of soil were observed. At the same time, the number of oligonitrophilic microflora decreased by 20-95%, cellulolytic – increased by 1.3-3.0 times. The systematic use of mineral fertilizers significantly reduced the proportion of bacteria (from 89 to 62-81%) and increased the proportion of microscopic fungi (from 11 to 17-33%) in the complex of microorganisms utilising mineral forms of nitrogen. The mineralization coefficient according to E.N. Mishustin in all variants of the experiment was less than 1, which characterises the low activity of soil microorganisms and a low degree of decomposition of the organic matter of the soil under study. The degree of influence of individual nutrients on the change in the trophicity of the soil microbial complex of the studied soddy-podzolic soil can be represented as follows: $K < N < P$. The greatest negative changes in the microbiological community of the soil in the experiment were observed with prolonged unilateral use of phosphorus fertilizers. According to the value of the oligonitrophilicity coefficient, a microbial community more resistant to external influences was formed in the $N_{90}P_{90}K_{90}$ variant.

Keywords: mineral fertilizers; ecological and trophic groups; mineralization coefficient; oligonitrophilicity coefficient.

Author Details: N. E. Zavyalova, D. Sc. (Biol.), chief research fellow (e-mail: nezavyalova@gmail.com); I. G. Shirokikh, D. Sc. (Biol.), head of Laboratory; M. T. Vasbieva, Cand. Sc. (Biol.), Ph.D., senior research fellow; D. G. Shishkov, junior research fellow.

For citation: Zavyalova NE, Shirokikh IG, Vasbieva MT, et al. [Influence of types and combinations of mineral fertilizers on the microbocenosis of soddy-podzolic soil]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2023;37(5):66–71. Russian. doi: 10.53859/02352451_2023_37_5_66

Изучение влияния удобрений на состав и структуру микробных сообществ, начатое с середины XX века, остается актуальным и сегодня. Почвенным микроорганизмам принадлежит важная роль в почвообразовательном процессе, синтезе и минерализации органического вещества. Качественный и количествен-

ный состав микроорганизмов зависит от типа почв, растительного сообщества, а также конкретно складывающихся метеорологических условий. В результате сельскохозяйственного использования почвы состав и структура микробных сообществ изменяется. При этом может происходить как уменьшение, так и увеличение

видового разнообразия почвенной микробиоты, изменение долевого вклада отдельных групп и видов, появление структурных особенностей, не свойственных конкретным зональным условиям, утрата ряда параметров пространственно-временной организации сообществ [1, 2, 3]. Неблагоприятные экологические условия, характерные для агрогенно-преобразованных почв, могут привести к угнетению почвенной микрофлоры [4, 5].

В то же время микробиологическое сообщество почв способно адаптироваться к новым условиям существования и противостоять внешним отрицательным воздействиям. Различные системы удобрения, приемы обработки, севообороты активизируют биологические процессы в почве, приводят к повышению эффективного плодородия почвы. Данные по влиянию минеральных удобрений на микробиологические сообщества противоречивы. Некоторые исследователи отмечают, что при длительном применении минеральных удобрений происходит снижение общей численности микроорганизмов и групп микроорганизмов, участвующих в трансформации азота [6, 7, 8]. В других работах отмечается, что применение азотного или полного минерального удобрения увеличивает численность микроорганизмов различных эколого-трофических групп [9, 10]. Отслеживая изменения в структуре и численности различных групп микроорганизмов, можно оценить направленность почвенных процессов, скорректировать возможные негативные последствия различных агроприемов [11].

Цель исследований – определить численность и состав основных эколого-трофических групп микроорганизмов, видовую структуру комплекса актиномицетов в образцах дерново-подзолистых почв при длительном применении минеральных удобрений.

Условия, материалы и методы. Работу выполняли на дерново-мелкоподзолистой тяжелосуглинистой почве в стационарном полевом опыте, заложенном в 1978 г. Постановка опыта была проведена по неполной факториальной схеме 1/9 (6х6х6). Для исследований были выбраны следующие варианты: без удобрений (контроль), N_{90} , P_{90} , K_{90} , $N_{90}P_{90}$, $N_{90}K_{90}$, $P_{90}K_{90}$, $N_{90}P_{90}K_{90}$, N_{150} , P_{150} , K_{150} . Севооборот имел следующее чередование культур: чистый пар, озимая рожь, картофель, пшеница, клевер 1 г.п., клевер 2 г.п., ячмень, овес. Минеральные удобрения вносили под зерновые культуры и картофель, на клевере изучали последствие. В опыте использовали мочевины или аммиачную селитру, суперфосфат и хлористый калий. Известь вносили перед закладкой опыта в дозе 1,0 H_f . Общая площадь делянки 120 м², учетная – 76,4 м². Повторность опыта двухкратная, размещение вариантов рендомизированное. Опыт заложен в 2-х полевых закладках.

Таблица 1. Изменение агрохимических свойств почвы при длительном применении минеральных удобрений (0...20 см)

Вариант	pH_{KCl}		Нг, смоль(экв)/кг		S, смоль(экв)/кг		P_2O_5 , мг/кг		K_2O , мг/кг		Гумус, %	
	1*	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Без удобрений	5,7	5,2	2,2	2,5	20,0	17,0	240	192	190	129	2,13	1,93
N_{90}	5,7	4,9	2,4	3,5	21,0	18,7	198	188	157	112	2,20	1,89
P_{90}	5,9	5,1	2,1	2,6	20,8	19,1	169	461	159	108	2,13	2,06
K_{90}	6,0	5,5	1,9	1,6	21,8	18,6	152	235	156	217	2,27	2,37
$N_{90}P_{90}$	5,5	4,5	2,5	3,8	19,3	15,9	203	397	169	109	2,22	2,22
$N_{90}K_{90}$	5,5	4,6	2,8	3,9	18,0	13,6	138	185	158	218	2,18	2,20
$P_{90}K_{90}$	6,0	5,2	2,8	2,6	17,0	16,8	177	397	162	195	1,86	1,84
$N_{90}P_{90}K_{90}$	5,9	4,7	2,0	4,0	21,5	15,7	194	371	185	230	2,22	2,29
$N_{60}P_{60}K_{60}$	6,0	4,6	2,0	3,8	18,2	16,7	206	339	182	178	2,12	2,06
$N_{150}P_{150}K_{150}$	5,7	4,5	2,2	5,1	20,3	16,0	173	530	166	234	2,13	2,36
НСР ₀₅	-	0,3	-	0,2	-	3,4	-	123	-	17	-	0,33

* 1 – перед закладкой опыта, 2 – VI ротация севооборота.

Почвенные образцы отбирали после уборки яровой пшеницы с 5 индивидуальных точек на каждой делянке с двух полевых повторений из слоя 0...20 см. Вегетационный период 2021 г., когда проводили отбор образцов, был аномально засушливым, что могло отразиться на результатах исследований.

Микробиологические исследования проводили общепринятыми методами количественного учета микроорганизмов в почве (разведение почвенной суспензии с высевом на селективные питательные среды) [12]. Количество микроорганизмов, усваивающих органические формы азота (аммонифицирующие), учитывали на мясо-пептонном агаре (МПА), усваивающие минеральные источники азота – на крахмало-аммиачном агаре (КАА), целлюлозолитики – на агаре Гетчинсона с пластинкой фильтровальной бумаги в качестве единственного источника углерода, олигонитрофильные и азотфиксирующие микроорганизмы – на агаре Эшби (ЭА), актиномицеты – на казеин-глицериновом агаре (КГА), микроскопические грибы – на агаре Чапека (ЧА).

Для характеристики изменений в структуре почвенного микробного сообщества рассчитывали коэффициент минерализации (КАА/МПА), отражающий интенсивность мобилизации азота, и коэффициент олигонитрофильности (ЭА/МПА), который показывает отношение числа микроорганизмов, растущих на бедном элементом питания агаре (ЭА), к числу микроорганизмов, растущих на богатых органических средах (на МПА).

В качестве модельной группы микроорганизмов для выявления структурных перестроек микробного сообщества использовали актиномицеты. Определение видовой структуры комплексов актиномицетов проводили при выделении на КГА с учетом частоты встречаемости и обилия видов. Дифференцировали и учитывали количественно все цветковые группы актиномицетов (секции и серии). Морфологию клеток изучали на живых препаратах при микроскопировании – объективы 20 и 40, окуляр 10, микроскоп Leica DM 2500 (Германия).

Агрохимическая характеристика исследуемой дерново-подзолистой почвы в период отбора образцов представлена в работе [13, 14]. Кислотность почвы в различных вариантах опыта варьировала от сильнокислой до слабокислой (табл. 1).

Обеспеченность почвы подвижным фосфором по Кирсанову была высокой и очень высокой, подвижным калием – повышенной и высокой. В вариантах с внесением фосфорных удобрений P_{90} , $N_{90}P_{90}$, $P_{90}K_{90}$ и $N_{60}P_{60}K_{60}$ содержание подвижного фосфора в почве составило 339...530 мг/кг. Максимальным содержанием подвижного калия характеризовалась почва при вне-

Таблица 2. Количество микроорганизмов разных эколого-трофических и таксономических групп, коэффициенты направленности трансформации органического вещества почвы

Вариант	Общая численность на средах					Общее количество, млн КОЕ/г воздушно-сухой почвы	Коэффициент минерализации (КАА/МПА)	Коэффициент олигонитрофильности (Эшби/МПА)
	МПА (аммонификаторы)	КАА (амилолитики)	Эшби (дiazотрофы)	Гетчинсона (целлюлозолитики)	Чапека (микромикеты)			
	млн КОЕ/г воздушно-сухой почвы	млн КОЕ/г воздушно-сухой почвы	млн КОЕ/г воздушно-сухой почвы	млн КОЕ/г воздушно-сухой почвы	млн КОЕ/г воздушно-сухой почвы			
Без удобрений	8,3±3,0	0,6±0,3	6,7±1,1	90±40	135±115	15,8	0,1	0,8
N ₉₀	3,8±0,5	1,5±0,2	1,0±0,1	210±35	365±60	6,8	0,4	0,3
P ₉₀	3,0±0,9	0,7±0,2	0,3±0,1	135±25	35±10	4,3	0,2	0,1
K ₉₀	4,7±1,0	2,3±0,2	3,7±2,5	190±20	400±175	11,2	0,5	0,8
N ₉₀ P ₉₀	4,2±0,3	2,1±0,4	1,7±0,1	135±30	435±290	8,5	0,5	0,4
N ₉₀ K ₉₀	2,2±0,5	1,1±0,4	1,3±0,6	200±30	300±100	5,2	0,5	0,6
P ₉₀ K ₉₀	4,4±0,2	2,3±0,4	4,0±0,2	245±20	300±20	11,2	0,5	0,9
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	3,4±1,0	1,4±0,6	5,3±0,2	275±40	1035±305	11,4	0,4	1,6
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	4,8±0,1	0,9±0,5	1,0±0,1	165±30	600±200	7,5	0,2	0,2
N ₁₅₀ P ₁₅₀ K ₁₅₀	4,8±0,2	3,6±0,2	2,0±1,4	120±25	965±475	11,5	0,7	0,4

сении калийных удобрений в дозе 90 кг д.в./га и выше – 195...234 мг/кг, что практически в два раза выше, чем в контроле и вариантах с систематическим применением N₉₀, P₉₀ и N₉₀P₉₀. Исследуемая дерново-подзолистая тяжелосуглинистая почва характеризовалась низким содержанием гумуса – 1,89...2,36 %, что лимитировало ее биологическую активность. Свежее органическое вещество поступало в виде пожнивно-корневых остатков и соломы (до середины V ротации севооборота солома отчуждалась) возделываемых культур.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета программ Microsoft Excel. Характеристики выборок приведены в виде M±m, где M – среднее, m – стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение. Согласно ориентировочной шкалы обогащенности почвы микрофлорой численность микроорганизмов утилизирующих минеральный азот (на КАА) и целлюлозолитиков (на ГА) в контрольном варианте опыта соответствовала грациям «очень бедная» (< 1 млн КОЕ/г почвы). Обеспеченность почвы в отношении аммонификаторов (на МПА) – «богатая» (8,3 млн КОЕ/г почвы), в отношении diaзотрофов (на ЭА) – «богатая» (6,7 млн КОЕ/г почвы) (табл. 2). Diazотрофы (азотфиксаторы, олигонитрофилы) – часть олиготрофных микроорганизмов, способных расти в условиях незначительного количества доступного азота в почвенном растворе. Учет численности олигонитрофилов позволяет определить способность почвенной микрофлоры к несимбиотической фиксации азота воздуха и проследить за активностью разложения органического вещества [15]. Количество микромикетов было низким – 135±115 тыс. КОЕ/г. В структуре комплекса амилолитической микрофлоры (на КАА) почвы контрольного варианта преобладали бактерии (89 %), на среде Гетчинсона с целлюлозой – актиномицеты (86 %) (табл. 3). Грибы в структуре комплексов утилизаторов минерального азота и целлюлозы в этом варианте также составляют небольшую долю – 11 и 6 % соответственно. Тип разложения клетчатки – бактериальный, преимущественно – актиномицетный (86 %).

Таблица 3. Качественный состав микроорганизмов, утилизирующих минеральные формы азота и целлюлозу в почве, %

Вариант	Соотношение на КАА			Соотношение на среде Гетчинсона с целлюлозой		
	бактерии	грибы	актиномицеты	бактерии	грибы	актиномицеты
Без удобрений	89	11	0	9	6	86
N ₉₀	81	19	0	6	3	90
P ₉₀	96	4	0	2	9	89
K ₉₀	81	19	0	7	7	86
N ₉₀ P ₉₀	77	17	6	9	5	86
N ₉₀ K ₉₀	71	29	0	5	1	94
P ₉₀ K ₉₀	67	26	7	2	4	94
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	62	33	5	6	1	93
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	64	30	7	15	5	80
N ₁₅₀ P ₁₅₀ K ₁₅₀	89	11	0	21	0	79

Внесение минеральных удобрений независимо от их вида, сочетания и дозы оказало существенное влияние на почвенное микробиологическое сообщество. Результатом длительной антропогенной нагрузки на почву стало снижение общей численности аммонифицирующей микрофлоры относительно контрольного варианта на 42...73 %, diaзотрофной – на 20...95 %. Систематическое внесение в почву элементов питания по отдельности сопровождалось значительным сокращением численности diaзотрофов и азотфиксаторов. К наибольшему снижению (на порядок) привело использование фосфорных удобрений (P₉₀), на втором месте был азот (N₉₀), менее всего олиготрофная микрофлора реагировала на внесение в почву калия (K₉₀).

Во всех вариантах с минеральными удобрениями отмечено возрастание численности микроорганизмов, усваивающих минеральные источники азота (на КАА), в 1,5...3,1 раза, целлюлозолитиков – в 2,2...2,3 раза, микромикетов – в 2,2...7,1 раза. Исключение составил вариант с P₉₀, где количество микроскопических грибов снизилось на 74 %. Максимальное увеличение количества амилолитической микрофлоры (на КАА) отмечено при внесении NPK по 150 кг д.в./га, целлюлозолитической (на ГА) – в варианте N₉₀P₉₀K₉₀. Общее количество микроорганизмов в почве при использовании минеральных удобрений было на 28...73 % ниже контрольного варианта. Минимальной величина этого показателя была при длительном одностороннем применении фосфорных удобрений (4,3 млн КОЕ/г воздушно-сухой почвы). В вариантах K₉₀, P₉₀K₉₀, N₉₀P₉₀K₉₀, N₁₅₀P₁₅₀K₁₅₀ общая численность микрофлоры была наиболее близкой к контролю – 11,2...11,5 млн КОЕ/г воз-

душно-сухой почвы. Причины уменьшения количества микроорганизмов в почве при длительном применении минеральных удобрений могут существенно отличаться и зависеть от их вида и сочетания, в результате которого происходит определенное изменение агрохимических свойств почвы, например, уменьшение или увеличение количества легкодоступного органического вещества и интенсивности процессов его минерализации, подкисление в результате внесения физиологически кислых азотных удобрений, нарушение соотношения в почве $N : P : K$. Кроме того считается, что от 30...40 % [16] до 90...99 % [17,18] всех бактерий, архей и микроскопических грибов на сегодняшний день некультивируемы. Поэтому нельзя исключать тот факт, что длительное использование минеральных удобрений может привести к существенной перестройке микробного сообщества и увеличению групп микроорганизмов, которые этими методами не культивируются.

Выявлены корреляционные связи для каждой группы микроорганизмов с агрохимическими показателями почвы (табл. 4). Достоверные корреляционные связи средней силы установлены между количеством в почве микромицетов с кислотностью почвы, содержанием обменного калия и гумуса. С другими группами микроорганизмов достоверных взаимосвязей не отмечено.

Таблица 4. **Корреляционные зависимости между группами микроорганизмов и агрохимическими показателями почвы**

Показатель	pH_{KCl}	Hg	S	$P_{подв}$	$K_{подв}$	$C_{орг}$
МПА (аммонификаторы)	0,33	-0,27	0,20	-0,18	-0,19	-0,26
КАА (амилолитики)	-0,15	0,33	-0,10	0,49	0,47	0,46
ЭА (дiazотрофы)	0,42	-0,32	-0,09	-0,23	0,25	-0,05
Гетчинсона (целлюлозолитики)	0,06	-0,02	-0,14	-0,13	0,44	-0,03
Чапека (микромицеты)	-0,55*	0,69*	-0,38	0,40	0,64*	0,59*
Общее количество микроорганизмов	0,31	-0,16	-0,03	-0,05	0,26	0,03

* коэффициент корреляции достоверный ($p < 0,05$).

Расчет экологических коэффициентов, которые позволяют проследить за особенностями взаимоотношений отдельных групп микроорганизмов, участвующих в общем процессе разложения органического вещества почвы, дает дополнительную информацию в агроэкологических исследованиях почвенной микробиоты, наряду с определением общей численности эколого-трофических групп микроорганизмов. В почвах с энергичным процессом минерализации микроорганизмы, усваивающие минеральный азот (на КАА) обычно превышают по численности микрофлору, развивающуюся благодаря органическому азоту (на МПА) и значения этого коэффициента более 1, что отражает более интенсивный процесс разложения органических веществ в почве.

Процессы минерализации при раздельном поступлении в почву элементов минерального питания усилились, но в разной степени, в зависимости от конкретного элемента. В наших исследованиях при систематическом применении минеральных удобрений коэффициент минерализации увеличивался в зависимости от вида удобрения, соотношения и дозы от 0,1 (контрольный вариант) до 0,2...0,7. Степень трансформирующего воздействия при одностороннем применении азотных, фосфорных и калийных удобрений на микробный комплекс почвы снижалась в ряду $K > N > P$, где коэффициенты минерализации составили 0,5, 0,4 и 0,2, соответственно. В вариантах с парным сочетанием удобрений ($N_{90}P_{90}$, $N_{90}K_{90}$, $P_{90}K_{90}$) коэффициент был на одном уровне – 0,5. Значения коэффициентов минерализации возрастали с увеличением дозы внесения полного минерального удобрения от 0,2 в варианте $N_{60}P_{60}K_{60}$ до 0,7 – $N_{150}P_{150}K_{150}$.

Коэффициент минерализации по Е. Н. Мишустину во всех вариантах опыта был менее 1, что характеризует низкую активность почвенных микроорганизмов и слабую степень разложения органического вещества исследуемой почвы [19].

Коэффициент олигонитрофильности показывает степень развития микроорганизмов, как относящихся к коренному микронаселению почвы (автохтонная часть), diaзотрофов и азотфиксаторов, так и участвующих в новообразовании гумусовых соединений. Считается, что чем выше этот коэффициент, тем более биогеоценоз приближен к естественным ценозам изучаемой почвенно-климатической зоны и обладает большей устойчивостью к негативным воздействиям со стороны различных антропогенных вмешательств. Повышение этого индекса в целом может свидетельствовать о замедлении процессов деструкции органического вещества и о переходе изучаемого биоценоза в более устойчивое состояние, стремящееся к состоянию климатической системы [15].

Коэффициент олигонитрофильности в нашем опыте варьировал от 0,1 до 1,6. Отмечено как увеличение, так и уменьшение значений коэффициента при внесении минеральных удобрений относительно контрольного варианта (0,8). Он заметно снизился в вариантах N_{90} и P_{90}

(до 0,3 и 0,1 соответственно), а при внесении калийных удобрений 90 кг д.в./га сохранился на уровне варианта без удобрений. Степень воздействия отдельных элементов питания на изменение трофности почвенного микробного комплекса изучаемой дерново-подзолистой почвы можно представить

следующим образом: $K < N < P$. При рассмотрении парных сочетаний минимальное значение коэффициента олигонитрофности получено при внесении азотно-фосфорных удобрений – 0,4, азотно-калийных – 0,6, фосфорно-калийных – 0,9. Максимальное его значение отмечено при длительном применении NPK по 90 кг д.в./га – 1,6. В этом варианте коэффициент олигонитрофильности был значительно выше, чем в вариантах с односторонним или парным сочетанием различных видов минеральных удобрений. Следовательно, микробное сообщество в почве этого варианта сформировалось наиболее устойчивым к внешним воздействиям, а агроценоз приближен к естественным ценозам изучаемой почвенно-климатической зоны [15].

В результате длительного применения минеральных удобрений отмечены изменения в качественном составе микроорганизмов амилолитической микрофлоры и целлюлозолитиков. Внесение минеральных удобрений существенно снизило долю бактерий (с 89 до 62...81 %) и повысило долю микроскопических грибов (с 11 до 17...33 %) в комплексе микроорганизмов, утилизирующих минеральные формы азота.

Наибольшие изменения в структуре отмечены в вариантах с парным и тройным сочетанием удобрений. Исключение составили варианты, где вносили фосфор в чистом виде и NPK по 150 кг д.в./га. При длительном применении фосфорных удобрений (P_{90}) наблюдали обратную закономерность – увеличение доли бактерий и снижение доли грибов. В варианте с максимальной дозой NPK количество микроорганизмов на КАА было максимальным – $3,6 \pm 0,2$ млн КОЕ/г почвы, соотношение

Таблица 5. Изменение структуры актиномицетного комплекса дерново-подзолистого почвенного сообщества в результате длительного применения полного минерального удобрения

Вариант	Доля актиномицетов в прокариотном комплексе, %	Частота встречаемости/ доленое участие видов, %							
		секций и серий рода <i>Streptomyces</i>							рода <i>Micromonospora</i>
		<i>Cinereus</i>			<i>Albus</i> <i>Albus</i>	<i>Helvolo- Flavus</i> <i>Helvolus</i>	<i>Roseus</i>	<i>Imper- fectus</i>	
		<i>Achromo- genes</i>	<i>Chromo- genes</i>	<i>Viola- ceus</i>					
Без удобрений	10,4	100/41	100/10,0	66/2,0	100/11,0	33/35,0	0	0	33/1,0
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	7,3	100/75	33/5,8	66/3,5	66/7,7	66/7,7	0	0	0
N ₉₀ P ₉₀ K ₉₀	9,0	100/56	66/6,7	100/5	100/10,6	100/9,6	0	100/1,9	100/10,6
N ₁₅₀ P ₁₅₀ K ₁₅₀	5,5	100/44	0	100/13	66/8,7	100/26,1	33/4,3	33/4,3	0

бактерии: грибы соответствовало контрольному варианту. Следует отметить, что в этом варианте наблюди наибольшие изменение в составе целлюлозолитиков, выявлено существенное увеличение доли бактерий с 9 до 21 %, снижение доли актиномицетов с 86 до 79 %, отсутствие микроскопических грибов.

Одним из показателей обеспеченности почвы минеральным питанием служит развитие актиномицетов. В зависимости от дозы внесения полного минерального удобрения в почве выявлены перестройки таксономической структуры комплекса актиномицетов, вырастающих при посеве на КГА (табл. 5).

По сравнению с вариантом без удобрений наблюдали снижение частоты встречаемости и долевого участия в комплексе видов, относимых к цветковым секциям и сериям *Cinereus Chromogenes*, *Helvolum Flavus Helvolum* и *Albus Albus*, но при этом увеличились встречаемость и относительное обилие представителей серий *Cinereus Achromogenes* и *Cinereus Violaceus* рода *Streptomyces*. В вариантах $N_{90}P_{90}K_{90}$ и $N_{150}P_{150}K_{150}$ появились виды секций *Roseus* и *Imperfectus*, не обнаруженные в контрольном варианте. В комплексе актиномицетов варианта $N_{90}P_{90}K_{90}$ в число доминантов перешли виды рода *Micromonospora*, отмеченные в почве без удобрений как типичные редкие.

Наибольшее разнообразие актиномицетов (7 таксонов) и наиболее широкий спектр доминантов с высокой частотой встречаемости (100 %) – 6 таксонов отмечено при внесении $N_{90}P_{90}K_{90}$. Увеличение дозы полного минерального удобрения, одновременно с изменением частоты встречаемости и относительного обилия представителей отдельных таксонов, приводило к снижению с 10,4 (без удобрений) до 5,5 % ($N_{150}P_{150}K_{150}$) долевого вклада актиномицетов в прокариотный комплекс почвы.

Полученные результаты выступают следствием разной чувствительности отдельных представителей актинобиоты к содержанию в почве элементов питания и характеризуют изменение экологического состояния

почвы в результате систематического применения минеральных удобрений в возрастающих дозах.

Выводы. Длительное систематическое применение азотных, фосфорных, калийных удобрений и их различных сочетаний на дерново-подзолистой почве изменило численность и структуру ее микробиоценоза и уменьшило общую биогенность, относительно контроля без удобрений. Общая численность микроорганизмов уменьшилась с 15,8 млн КОЕ/г в варианте без удобрений до 4,3 млн КОЕ/г почвы при длительном использовании фосфорных удобрений. Общей тенденцией при постоянном поступлении в почву доступных элементов минерального питания выступает смещение соотношения численности микроорганизмов, способных усваивать минеральные и органические формы азота в сторону преобладания бактерий, усваивающих минеральный азот, над аммонифицирующими. Результатом длительного применения минеральных удобрений стало уменьшение практически в 2 раза количества микроорганизмов, усваивающих органические формы азота, на фоне увеличения микроорганизмов, использующих для питания его минеральные формы с 0,6 до 3,6 млн КОЕ/г почвы. В вариантах с удобрениями отмечено снижение в почве численности олигонитрофильной микрофлоры на 20...95 % и увеличение количества целлюлозолитических микроорганизмов на среде Гетчинсона в 1,3...3,0 раза, относительно контрольного варианта. Коэффициент минерализации по Е. Н. Мишустину во всех вариантах опыта был менее 1, что характеризует низкую активность почвенных микроорганизмов и слабую степень разложения органического вещества исследуемой почвы. Судя по величине коэффициента олигонитрофильности наиболее устойчивое микробное сообщество, близкое к природным экосистемам, сформировано при длительном внесении в почву $N_{90}P_{90}K_{90}$. Различия между почвами в отдельных вариантах подтверждают данными об имеющихся между ними различиями в видовой и родовой структуре комплексов мицелиальных бактерий – актиномицетов.

Литература.

1. Почвы в биосфере и жизни человека: монография / Г. В. Добровольский, Г. С. Куст, И. Ю. Чернов и др. / под ред. Г. В. Добровольского, Г. С. Куста, В. Г. Санаева. М.: МГУЛ, 2012. 584 с.
2. Ковриго И. О., Першина Н. А., Андронов Е. Е. Оценка длительного воздействия агротехнических приемов и сельскохозяйственных культур на почвенные микробные сообщества // Микробиология. 2016. Т. 85. № 2. С. 199–210. doi: 10.7868/S0026365616020117.
3. Методология микробиологических исследований почвы в рамках проекта «Микробиом России» / Т. И. Чернов, В. А. Холодов, Б. М. Козут и др. // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2017. Вып. 87. С. 100–113. doi: 10.19047/0136-1694-2017-87-100-113.
4. Изменение метагенома прокариотного сообщества как показатель плодородия пахотных дерново-подзолистых почв при применении удобрений / А. Н. Налиухин, С. М. Хамитова, А. П. Глинушкин и др. // Почвоведение. 2018. № 3. С. 331–337. doi: 10.7868/S0032180X18030073.
5. Русакова И. В. Влияние длительного применения соломы и минеральных удобрений на биологические свойства дерново-подзолистой почвы // Агрохимия. 2017. № 8. С. 16–24. doi: 10.7868/S0002188117080026.
6. Зинченко М. К. Система биологических показателей для оценки экологического состояния серой лесной почвы на примере стационарного опыта // Владимирский земледелец. 2022. № 1 (99). С. 9–15. doi: 10.24412/2225-2584-2022-1-9-15.
7. Бойко А. Н., Сидоренко М. И., Тимошина Р. В. Влияние длительного применения удобрений на соотношение эколого-трофических групп микроорганизмов различных по типу азотного питания // Вестник Алтайского государственного

аграрного университета. 2018. № 9 (107). С. 40–43.

8. Биологическая активность почвы и урожайность яровой пшеницы при использовании органических и минеральных удобрений / В. Г. Сычев, Г. Е. Мерзлая, С. П. Волошин и др. // *Плодородие*. 2016. № 6 (93). С. 2–4.

9. Менькина Е. А., Шаповалова Н. Н., Воропаева А. А. Численность эколого-трофических групп микроорганизмов в зависимости от технологии возделывания озимой пшеницы на черноземе обыкновенном // *Юг России: экология, развитие*. 2021. Т. 16. № 2 (59). С. 55–64.

10. Золкина Е. И. Влияние длительного применения удобрений на плодородие дерново-подзолистой почвы и продуктивность культур // *Плодородие*. 2019. № 5 (110). С. 20–23. doi: 10.25680/S19948603.2019.110.06.

11. Менькина Е. А. Изменение численности эколого-трофических групп микроорганизмов в технологии прямого посева в зависимости от разных доз минеральных удобрений и предшественников // *Новости науки в АПК*. 2018. № 2 (11). С. 131–134. doi: 10.25930/ykzj-9c25.

12. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Московский университет, 1980. 224 с.

13. Vasbieva M. T., Zavyalova N. E., Shishkov D. G. Changes in the agrochemical properties of albic retisol (abruptic, aric, loamic) during a long-term use of nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizers under Cis-Ural // *Eurasian Soil Science*. 2022. Vol. 55. No. 11. P. 1623–1632. doi: 10.1134/S1064229322110138.

14. Агрохимические показатели, содержание и запасы подвижных и обменных форм калия в профиле пахотной дерново-подзолистой почвы длительного опыта при внесении возрастающих доз NPK / Н. Е. Завьялова, М. Т. Васбиева, Д. Г. Шишков и др. // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2022. № 5. С. 54–59. doi: 10.31857/S2500262722050106.

15. Титова В. И., Козлов А. В. Методы оценки функционирования микробиоценоза почвы, участвующего в трансформации органического вещества: научно-методическое пособие. Нижний Новгород: Нижегородская сельскохозяйственная академия, 2012. 64 с.

16. Благодатская Е. В., Семенов М. В., Якушев А. В. Активность и биомасса почвенных микроорганизмов в изменяющихся условиях окружающей среды. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2016. 243 с.

17. Микробиологические индикаторы экологических функций почв (обзор) / Д. А. Никитин, М. В. Семенов, Т. И. Чернов и др. // *Почвоведение*. 2022. № 2. С. 228–243. doi: 10.31857/S0032180X22020095.

18. High proportions of bacteria and archaea across most biomes remain uncultured / A. D. Steen, A. Crits-Christoph, P. Carini, et al. // *The ISME Journal*. 2019. Vol. 13. No. 12. P. 3126–3130. doi: 10.1038/s41396-019-0484-y.

19. Звягинцев Д. Г. Структура и функционирование комплекса почвенных микроорганизмов // *Структурно-функциональная роль почвы и почвенной биоты в биосфере*. М.: Наука, 2003. С. 102–114.

References

1. Dobrovolskii GV, Kust GS, Chernov IYu, et al., authors; Dobrovolskii GV, Kust GS, Sanaev VG, editors. *Pochvy v biosfere i zhizni cheloveka: monografiya* [Soils in the biosphere and human life: Monograph]. Moscow: MGUL; 2012. 584 p. Russian.

2. Kovrigo IO, Pershina NA, Andronov EE. [Assessing the long-term effects of agricultural practices and crops on soil microbial communities]. *Mikrobiologiya*. 2016;85(2):199–210. Russian. doi: 10.7868/s0026365616020117.

3. Chernov TI, Kholodov VA, Kogut BM, et al. [Methodology of microbiological studies of soil in the project "Microbiome of Russia"]. *Byulleten' Pochvennogo instituta im. V.V. Dokuchaeva*. 2017;(87):100–113. Russian. doi: 10.19047/0136-1694-2017-87-100-113.

4. Naliukhin AN, Khamitova SM, Glinushkin AP, et al. [Changes in the metagenome of the prokaryotic community as an indicator of the fertility of arable soddy-podzolic soils under the application of fertilizers]. *Pochvovedenie*. 2018;(3):331–7. Russian. doi: 10.7868/S0032180X18030073.

5. Rusakova IV. [Influence of long-term use of straw and mineral fertilizers on the biological properties of soddy-podzolic soil]. *Agrokhimiya*. 2017;(8):16–24. Russian. doi: 10.7868/S0002188117080026.

6. Zinchenko MK. [System of biological indicators in assessing the ecological state of grey forest soil on the example of a stationary experiment]. *Vladimirskii zemledelets*. 2022;(1):9–15. Russian. doi: 10.24412/2225-2584-2022-1-9-15.

7. Boiko AN, Sidorenko MI, Timoshina RV. [Influence of long-term use of fertilizers on the ratio of ecological and trophic groups of microorganisms of various types of nitrogen nutrition]. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2018;(9):40–3. Russian.

8. Sychev VG, Merzlaya GE, Voloshin SP, et al. [Biological activity of soil and productivity of spring wheat when using organic and mineral fertilizers]. *Plodородие*. 2016;(6):2–4. Russian.

9. Men'kina EA, Shapovalova NN, Voropaeva AA. [The number of ecological and trophic groups of microorganisms, depending on the technology of cultivation of winter wheat on ordinary chernozem]. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie*. 2021;16(2):55–64. Russian.

10. Zolкина EI. [Influence of long-term use of fertilizers on the fertility of soddy-podzolic soil and crop productivity]. *Plodородие*. 2019;(5):20–3. Russian. doi: 10.25680/S19948603.2019.110.06.

11. Men'kina EA. [Change in the number of ecological and trophic groups of microorganisms in the technology of direct sowing depending on different doses of mineral fertilizers and forecrops]. *Novosti nauki v APK*. 2018;(2):131–4. Russian. doi: 10.25930/ykzj-9c25.

12. Zvyagintsev DG, editor. *Metody pochvennoi mikrobiologii i biokhimii* [Methods of soil microbiology and biochemistry]. Moscow: Moskovskii universitet; 1980. 224 p. Russian.

13. Vasbieva MT, Zavyalova NE, Shishkov DG. Changes in the agrochemical properties of albic retisol (abruptic, aric, loamic) during a long-term use of nitrogen, phosphorus, and potassium fertilizers under Cis-Ural. *Eurasian Soil Science*. 2022;55(11):1623–32. doi: 10.1134/S1064229322110138.

14. Zavyalova NE, Vasbieva MT, Shishkov DG, et al. [Agrochemical indicators, content and reserves of mobile and non-exchangeable forms of potassium in the profile of arable soddy-podzolic soil of a long-term experiment with the application of increasing doses of NPK]. *Rossiiskaya sel'skokhozyaistvennaya nauka*. 2022;(5):54–9. Russian. doi: 10.31857/S2500262722050106.

15. Titova VI, Kozlov AV. *Metody otsenki funktsionirovaniya mikrobiotsenoza pochvy, uchastvuyushchego v transformatsii organicheskogo veshchestva: nauchno-metodicheskoe posobie* [Methods for assessing the functioning of soil microbiocenosis involved in the transformation of organic matter: Scientific and methodological manual]. Nizhnii Novgorod (Russia): Nizhegorodskaya sel'skokhozyaistvennaya akademiya; 2012. 64 p. Russian.

16. Blagodatskaya EV, Semenov MV, Yakushev AV. Aktivnost' i biomassa pochvennykh mikroorganizmov v izmenyayushchikhsya usloviyakh okruzhayushchei sredy [Activity and biomass of soil microorganisms under changing environmental conditions]. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK; 2016. 243 p. Russian.

17. Nikitin DA, Semenov MV, Chernov TI, et al. [Microbiological indicators of ecological functions of soils (review)]. *Pochvovedenie*. 2022;(2):228–43. Russian. doi: 10.31857/S0032180X22020095.

18. Steen AD, Crits-Christoph A, Carini P, et al. High proportions of bacteria and archaea across most biomes remain uncultured. *The ISME Journal*. 2019;13(12):3126–30. doi: 10.1038/s41396-019-0484-y.

19. Zvyagintsev DG. [Structure and functioning of the complex of soil microorganisms]. In: *Strukturno-funktsional'naya rol' pochvy i pochvennoi bioty v biosfere* [Structural and functional role of soil and soil biota in the biosphere]. Moscow: Nauka; 2003. p. 102–14. Russian.