

# БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 631.461:631.82

doi: 10.17223/19988591/46/2

**А.В. Козлов<sup>1</sup>, А.Х. Куликова<sup>2</sup>, О.В. Селицкая<sup>3</sup>, И.П. Уромова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Нижегородский государственный педагогический университет  
имени Козьмы Минина, г. Нижний Новгород, Россия

<sup>2</sup>Ульяновский государственный аграрный университет  
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

<sup>3</sup>Российский государственный аграрный университет –  
Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, г. Москва, Россия

## **Устойчивость микробиологической активности дерново-подзолистой почвы в условиях применения диатомита и цеолита**

*Впервые определена изменчивость численности основных сапротрофных микроорганизмов и ферментативной активности почвы в методическом контексте определения устойчивости ее микробиологической активности в рамках оценки разностороннего взаимодействия диатомовой и цеолитовой пород с дерново-подзолистой легкосуглинистой почвой. На основе полученных данных рассчитаны интегральные показатели направления трансформации органического вещества почвы и установлен уровень ее микробиологической стабильности. Зафиксирована активизация аммонифицирующей и ингибирование амилитической функций микробиоты почвы: в большей степени под действием высоких доз диатомита, в меньшей – цеолита. Под влиянием диатомовой породы выявлены относительная сохраняемость аммонифицирующей части микробного пула в почве, снижение микробиологической минерализации ее органического вещества и увеличение микробной биомассы. Установлены оптимизация биологической окультуренности почвы и повышение устойчивости ее микробиологической активности при применении диатомита в дозах 6 и 12 т/га. В отношении взаимодействия цеолита с почвой схожие направления в активности микробиоты нестабильны за счет отсутствия пролонгированности и вида тенденции.*

**Ключевые слова:** опал-кristобалитовые и клиноптилолитовые породы; численность сапротрофных микроорганизмов; гидролазная ферментативная активность; микробиологическая устойчивость почвы.

### **Введение**

Почва как четырехфазная динамическая система функционирует в единстве физических, химических и биологических процессов почвенного про-

филя [1, 2]. При отсутствии систематического наблюдения за изменением микробиологических и биохимических показателей почвенного покрова, например, в условиях агроэкосистем нашей страны, ряд отечественных и зарубежных фундаментальных работ [3–6] указывает на приоритетность мониторинга данных параметров как при оценке устойчивости агроландшафтов, так и при анализе геохимической стабильности почвенного тела в условиях естественных и техногенных преобразований. Основной причиной служит эволюционно сложившееся функционирование почвенной системы через узкую микробиотическую нишу, поскольку оборот поступающей мертвой зоо- и фитомассы напрямую сопряжен с биохимией педобиоты, метаболизм почвенных микроорганизмов участвует во всех элементарных почвенно-биотических процессах, а их масса составляет до 85% от всей находящейся в ней живой биомассы и до 5% органического вещества почвы. С одной стороны, это динамический приток органогенных компонентов в почву, который должен подвергаться оптимальной для каждого почвенного типа минерализации с оттоком и резервацией стабильных гумусовых веществ, с другой – это физико-химическое взаимодействие почвенного раствора с органоминеральной и коллоидной частями каждого почвенного горизонта и последующим элювиально-иллювиальным переносом, сорбцией и отложением продуктов редокс-трансформации. При этом в экологически устойчивом почвенном теле зона гомеостаза микробного сообщества, инициированного определенным воздействием на почву, не должна превышать естественную буферную емкость конкретной гетеротрофной микробиоты.

В связи с этим в современной научной литературе [1, 3] под стабильным функционированием почвенного покрова сельскохозяйственных ландшафтов понимается оптимизированная сопряженность физико-химических и микробиологических процессов почвенного профиля, которая во многом индивидуально устанавливает свойства эффективного плодородия пахотного горизонта и оптимально высокую продуктивность агрофитоценозов.

Вопрос об устойчивости микробиоты почвенного покрова как таковой, так и к различным воздействиям в научной литературе обсуждается сравнительно давно [7–16]. Кроме того, среди данных исследований показаны результаты [9, 10, 16], которые подчеркивают положительное влияние почвообитающих и иных микроорганизмов на устойчивость сельскохозяйственных культур к неблагоприятным явлениям. Однако в настоящее время нет единого методологического подхода к оценке устойчивости почвы как естественноисторического природного образования.

Эффективность применения в агроэкосистемах кремнийсодержащих природных материалов в качестве удобрений, мелиорантов и почвенных кондиционеров также рассматривается уже длительное время [17, 18]. Опки, диатомиты, трепелы, цеолиты и различные глины способны оказывать положительное влияние на физико-химические и агрохимические свойства почв, оптимизируя их структурное состояние и кислотно-основной режим,

а также фосфорное и кремниевое питание культурных растений, что в итоге положительно сказывается на их урожайности и качестве получаемой продукции [19–21]. Кроме того, ряд таких материалов способен проявлять сорбционные свойства в отношении ионов многих тяжелых металлов и алюминия, остаточных количеств пестицидов и полициклических ароматических углеводов, мышьяка и других экотоксикантов. Данные показатели предусматривают широкие возможности использования кремниевых пород в агроэкосистемах. Однако к настоящему времени в недостаточной степени накоплено сведений, описывающих поведение микробиоты почвы при ее взаимодействии с веществом кремниевых материалов. Кроме того, устойчивость таких значимых аспектов, как углеродный и азотный циклы биохимического превращения вещества в почве, при применении высококремнистых пород не рассматривалась.

Ранее [22, 23] изучены микробиотические отклики гетеротрофных прокариот L-отбора (на примере целлюлозосапротрофных бактерий), а также бактерий R- и K-стратегий (олиготрофы и представители бактериального автохтонного микробионаселения) на вещество природных кремнийсодержащих материалов в условиях полевого опыта. Цель данного исследования – оценка состояния базисных микробных участников L-отбора стратегии выживания (аммонифицирующая и амилитическая консорции) в сопряжении с гидролазной ферментативной активностью дерново-подзолистой почвы под действием высоких доз диатомовой и цеолитовой пород с последующей оценкой стабильности рассматриваемой части микробиоты.

### Материалы и методики исследования

Полевые исследования проведены в период 2015–2017 гг. на опытном участке картофелеводческого предприятия Борского муниципального района Нижегородской области ООО «Элитхоз» (56°31'13.00"N 44°06'57.37"E). Объекты исследования – диатомит из Инзенского месторождения (Ульяновская область) и цеолит из Хотынецкого месторождения (Орловская область).

Диатомиты входят в опал-кристобалитовую группу и представляют собой осадочную породу органогенного генеза, которая состоит из остатков панцирей диатомовых водорослей. Отличительными особенностями материала являются его биогенное происхождение, наличие нанопористой структуры и высокое содержание аморфного (неокристаллизованного) кремнезема – до 50%. Диатомиты обладают рядом различных свойств, питательность и каталитическая способности которых являются наиболее значимыми с точки зрения агрономического почвоведения. В валовом составе диатомитов Инзенского месторождения в среднем содержится (%):  $\text{SiO}_2$  – 83,1,  $\text{CaO}$  – 0,52,  $\text{MgO}$  – 0,48,  $\text{P}_2\text{O}_5$  – 0,05,  $\text{K}_2\text{O}$  – 1,25. Катионообменный комплекс породы включает (мг/кг) обменные соединения кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) – 10, магния ( $\text{Mg}^{2+}$ ) – 39 и фосфора ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) – 37 [23]. Отличительной особенностью рассматрива-

емого диатомита является очень высокое содержание аморфного кремния ( $\text{SiO}_2$ ) – 12 200 мг/кг и калия ( $\text{K}^+$ ) – 350 мг/кг, что определяет высокую емкость катионного обмена (ЕКО), которая, по данным разных авторов, может достигать 80–100 мг-экв./100 г породы. Такие свойства материала изначально могут определять ее высокую доступность к биоразложению почвенными микроорганизмами. Данные свойства определяют выраженные ионообменные способности материала и его доступность к микробиологической минерализации.

Цеолиты – осадочные полигидратированные каркасные алюмосиликаты преимущественно гидротермального экзогенного происхождения, в составе которых доминируют клиноптилолит, опал-кристобалит, гидрослюды, кальцит, каолинит и другие минералы. Цеолит Хотынецкого месторождения сложен более, чем на 37%, клиноптилолитом, а также в своем составе содержит свыше 15% опал-кристобалита, около 11% гидрослюды, 10% тонкозернистого кварца и 8–10% монтмориллонита [24]. В валовом составе цеолитовой породы в среднем содержится (%):  $\text{SiO}_2$  – 56,6,  $\text{CaO}$  – 13,3,  $\text{MgO}$  – 1,90,  $\text{P}_2\text{O}_5$  – 0,23,  $\text{K}_2\text{O}$  – 1,82,  $\text{Na}_2\text{O}$  – 0,23,  $\text{SO}_3$  – 0,13,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  – 10,41,  $\text{FeO} + \text{Fe}_2\text{O}_3$  – 3,87 и другие элементы. Катионообменный комплекс породы включает (мг-экв./100 г) очень большое содержание обменных соединений кремния ( $\text{SiO}_3^{2-}$ ) – 900, высокое содержание магния ( $\text{Mg}^{2+}$ ) – 160 и еще больше кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) – 480, а также достаточно высокое содержание обменных соединений фосфора (до 26) и калия (до 25), что характеризует высокую питательную ценность материала для фитоценозов и почвенной микробиоты. Такие свойства цеолита изначально могут определять его податливость к биохимической деструкции почвообитающими микроорганизмами и, как следствие, влияние на химические свойства почвы.

За счет полиминерального состава цеолиты имеют ряд отличительных свойств, в частности, такие как сорбционная активность, нейтральная реакция и высокая катионообменность.

В микрополевым опыте породы вносили однократно в пахотный горизонт в летний сезон 2014 г. при закладке опыта и разбивке участка на делянки. Схема опыта включала вариант без использования удобрений (Контроль, Control), а также варианты с внесением в почву высоких доз диатомита и цеолита – из расчета 3 т/га (Диатомит-1 (Diatomite-1) и Цеолит-1 (Zeolite-1)), 6 т/га (Диатомит-2 (Diatomite-2) и Цеолит-2 (Zeolite-2)) и 12 т/га (Диатомит-3 (Diatomite-3) и Цеолит-3 (Zeolite-3)).

Опытное поле сложено дерново-подзолистой среднедерновой неглубокооподзоленной неоглеенной легкосуглинистой почвой, сформированной на покровном суглинке; по [25] – тип дерново-элювиевой типичный AY-EL-BT-D (C) (по WRB – Retisols). На момент закладки опыта почва характеризовалась среднекислой реакцией ( $\text{pH}_{\text{KCl}}$  4,8 ед. pH), гидролитической кислотностью  $\text{H}_T$  2,83 мг-экв./100 г, средним содержанием обменных соединений кальция (5,10 мг-экв./100 г) и магния (1,17 мг-экв./100 г), средней степенью насыщен-

ности почвы основаниями ( $V_s$  69%), низким содержанием гумуса (1,21%), средней обеспеченностью подвижными соединениями фосфора (86 мг/кг) и калия (110 мг/кг) – по Кирсанову, а также средним уровнем дефицита в балансе актуальных (16 мг/кг) и потенциальных (213 мг/кг) соединений кремния – по Матыченкову.

В годы исследования выращивали зерновые культуры, сорта которых районированы по Волго-Вятскому региону: озимая пшеница сорта Московская 39 (2015 г.), ячмень сорта Велес (2016 г.) и горох посевной сорта Чишминский 95 (2017 г.). Агротехника выращивания культур – общепринятая для микрополевых экспериментов, все работы проводили вручную. Учетная площадь делянки – 1 м<sup>2</sup>, расположение делянок рендомизированное, повторность в опыте – четырехкратная.

Образцы почвы отбирали в дни уборки урожая культур: точечные – методом конверта из пяти точек с делянки, соединяя их в один объединенный образец. Отбор проводили из гумусо-аккумулятивного (пахотного) горизонта, поскольку именно в этой части почвенного профиля сосредоточена основная часть сапротрофных микроорганизмов, отвечающих за превращение вещества углеродного и азотного циклов [26]. Далее почвенные образцы доставляли в лабораторию, отбирали посторонние включения и просеивали через сито с диаметром ячеек в 5 мм.

Затем проводили подготовку образцов к анализам по методике В.Д. Мухи и Л.И. Васильевой с определением инактивированного и мобилизованного количества микроорганизмов [27]. Объединенный образец высушивали естественным путем в тени, затем разделяли на две части, одну из которых оставляли (инактивированный образец), а другую увлажняли до 60% от КВ и помещали в термостат на инкубацию в течение 12 суток при +28°C (мобилизованный образец).

Далее численность микроорганизмов определяли дважды – в инактивированной и мобилизованной почве методом Коха с разведением почвы по Пастеру [28] на мясопептонном (МПА, ВЕА) и крахмало-аммиачном (КАА, Inorganic Salt Starch Agar) агарах. Состав МПА, г/л среды: гидролизат панкреатический – 12; пептон ферментативный – 12, натрий хлористый – 6, агар-агар – 15. Состав КАА, г/л среды: крахмал – 10, сульфат аммония – 2, гидроортофосфат калия – 1, хлорид натрия – 1, сульфат магния – 1, карбонат кальция – 3, агар-агар – 20. Ферментативную активность определяли из свежих образцов. Активность протеолитических ферментов определяли спектрофотометрически нингидриновым методом по Галстяну и Арутюнян при помощи спектрофотометра ПЭ-5400 ВИ (ООО «Экротхим», Россия), активность инвертазных ферментов – гравиметрическим методом по Купревичу и Щербаковой с реактивом Феллинга [29] при помощи сухожарового шкафа ГП-40 СПУ (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия). Также в свежих почвенных образцах определяли интенсивность выделения CO<sub>2</sub> почвой газометрическим методом по Галстяну (СДТ), общую биомассу микроор-

ганизмов оценивали по углероду микробной массы, определенному регидратационным методом по Благодатскому ( $C_{\text{БИОМАСС}}$ ). Аналитическая часть исследования выполнена на базе лабораторного комплекса «Эколого-аналитическая лаборатория мониторинга и защиты окружающей среды» и научно-образовательного центра «Биотехнология» Мининского университета (г. Нижний Новгород, Россия) в период 2014–2017 гг.

Устойчивость почвенной микробиоты оценивали по методике В.Д. Мухи и Л.И. Васильевой [27], рассчитывая коэффициент минерализации ( $C_M$ ) как показатель, характеризующий интенсивность микробного разложения органического вещества в почве, степень N-микробиологической устойчивости ( $DMS_N$ ) активности аммонифицирующих ( $DMS_{\text{BEA}}$ ) и амилолитических ( $DMS_{\text{SAA}}$ ) групп микробиоты, а также коэффициент интенсивности микробной трансформации N-содержащих органических веществ ( $IMT_N$ ) – как показатели, описывающие стабильность сапротрофного микробного пула почвы. Кроме того, рассчитывался коэффициент микробиологической окультуренности почвы ( $DMC_N$ ) как условный показатель, отражающий характер ее микробного насыщения, свойственного для типичного культурного почвообразования (агропедогенеза).

Математическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики [30] (среднее арифметическое, стандартное отклонение, коэффициент вариации и критерий Фишера) с использованием программного пакета Microsoft Office Excel 2007.

### Результаты исследования и обсуждение

Жизнедеятельность микроорганизмов, участвующих в биохимическом упрощении органических веществ, является одним из ключевых процессов генезиса почвенного профиля, который, в свою очередь, формирует его естественную геохимическую устойчивость [31]. При этом микробные ассоциации L-стратегии жизнеобеспечения (экологический отбор нестабильных условий) здесь проявляют определяющую роль, поскольку их представители содержатся в почвах в небольших количествах, но массово и активно реагируют на свежее органическое вещество. Численность данных микроорганизмов является индикатором ремиссии всего микробного пула в экстремальных условиях. Согласно многолетним исследованиям [27] оценка состояния стабильности почвенной микробиоты возможна при его двухфазном анализе. Фаза инактивированного состояния характеризует способность почвы к сохранению определенной микробной ниши (микробиологическая устойчивость), в то время как мобилизованная фаза описывает потенциальную микробиологическую активность в почве, т.е. наиболее возможный биохимический «запас» исследуемой микробной консорции.

Поскольку в настоящем исследовании взаимодействие диатомита и цеолита в почве сопряжено исключительно с ее естественными органическими компо-

нентами и в том числе с гумусом, необходимой оказывается оценка вариабельности в количестве сапротрофов L-стратегии в инактивированном и мобилизованном состояниях, возникающей под действием изучаемых материалов.

Данные табл. 1 отражают изменения численности аммонифицирующих и амилитических микроорганизмов в почве, происходящие под действием исследуемых материалов в течение 3 лет.

Прежде всего нужно отметить стабильное увеличение численности аммонифицирующих и уменьшение численности амилитических микроорганизмов в почве по годам исследований, происходившее под действием изучаемых материалов. Причем данные изменения происходили как при инактивации почвы, так и при ее мобилизации.

Выявлено, что на вариантах с применением диатомита количество аммонификаторов в инактивированной почве возрастает. Рост числа данных бактерий продолжался до 2-го года, а максимальная эффективность в отношении показателя прослеживалась на вариантах с внесением в почву 6 т/га породы – до 31%, 46% и 43% соответственно по годам исследования. Аналогичная, но менее активная закономерность отражалась и в мобилизованных образцах. При этом активность показателя сохранялась до 3-го года исследования. В среднем за время проведения эксперимента численность инактивированных аммонификаторов максимально возросла до 42%, а мобилизованных – до 13%.

Таблица 1 [Table 1]

**Численность аммонифицирующих и амилитических микроорганизмов в дерново-подзолистой почве из инактивированных (верхнее значение) и мобилизованных (нижнее значение) образцов в зависимости от вида и дозы высококремнистой породы**  
 [Number of ammonifying and amylolytic microorganisms in the sod-podsolic soil from inactivated (the top value) and mobilized (the lower value) samples depending on the type and dose of high-siliceous rock]

Вариант [Variant]	Динамика численности по годам исследования [Number dynamics by years of research]						В среднем за 3 года [Average for 3 years]
	2015		2016		2017		
	m ± SD	V	m ± SD	V	m ± SD	V	
Аммонифицирующие микроорганизмы (МПА) × 10 <sup>7</sup> КОЕ/г почвы [Ammonifying microorganisms (BEA) × 10 <sup>7</sup> CFU/g of soil]							
Control	1,24±0,10	16	2,18±0,09	9	3,36±0,06	4	2,26
	4,83±0,10	4	7,64±0,11	3	9,85±0,04	1	7,44
Diatomite-1	1,56±0,04	5	2,94±0,06	4	3,98±0,11	6	2,83
	5,12±0,07	3	7,89±0,27	7	11,03±0,07	1	8,01
Diatomite-2	1,63±0,07	9	3,18±0,06	4	4,80±0,11	5	3,20
	5,24±0,09	4	8,38±0,13	3	11,68±0,08	1	8,43
Diatomite-3	1,59±0,08	11	3,07±0,06	4	4,62±0,09	4	3,09
	5,19±0,11	4	8,32±0,13	3	11,46±0,17	3	8,32
F <sub>r</sub> (F <sub>r</sub> = 3,86)	5,83 / 3,58		37,76 / 7,89		120,35 / 50,08		–
Zeolite-1	1,34±0,07	10	2,44±0,14	11	3,44±0,05	3	2,41
	4,96±0,15	6	7,92±0,26	7	9,92±0,22	4	7,60
Zeolite-2	1,39±0,03	5	2,60±0,18	14	3,67±0,05	3	2,55
	5,03±0,19	8	8,00±0,09	2	10,19±0,33	6	7,74

Окончание табл. 1 [Table 1 (end)]

Вариант [Variant]	Динамика численности по годам исследования [Number dynamics by years of research]						В среднем за 3 года [Average for 3 years]
	2015		2016		2017		
	m ± SD	V	m ± SD	V	m ± SD	V	
Zeolite-3	1,42±0,06	8	2,47±0,10	8	3,89±0,07	4	2,59
	5,13±0,13	5	8,14±0,31	8	10,31±0,13	3	7,86
F <sub>f</sub> (F <sub>t</sub> = 3,86)	1,65 / 0,71		1,31 / 1,09		19,42 / 1,36		–
Амилолитические микроорганизмы (КАА) × 10 <sup>7</sup> КОЕ/г почвы [Amylolytic microorganisms (Inorganic Salt Starch Agar) × 10 <sup>7</sup> CFU/g of soil]							
Control	1,38±0,03	5	2,33±0,11	9	4,66±0,08	4	2,79
	4,92±0,12	5	7,86±0,19	5	8,80±0,16	4	7,19
Diatomite-1	1,01±0,03	6	2,08±0,04	4	4,41±0,08	4	2,50
	4,11±0,15	7	7,14±0,11	3	8,24±0,14	4	6,50
Diatomite-2	0,82±0,05	14	1,51±0,04	5	3,19±0,09	5	1,84
	3,86±0,14	7	6,69±0,36	11	7,39±0,07	2	5,98
Diatomite-3	0,87±0,06	15	1,67±0,09	11	2,85±0,08	6	1,80
	4,02±0,15	7	6,84±0,24	7	7,21±0,17	5	6,02
F <sub>f</sub> (F <sub>t</sub> = 3,86)	26,40 / 12,47		29,48 / 6,56		117,69 / 21,95		–
Zeolite-1	1,04±0,07	13	2,26±0,05	5	4,57±0,03	2	2,62
	4,30±0,19	9	7,50±0,20	5	8,62±0,09	2	6,81
Zeolite-2	1,01±0,09	19	2,18±0,07	7	4,43±0,04	2	2,54
	4,20±0,16	8	7,32±0,18	5	8,54±0,09	2	6,69
Zeolite-3	0,93±0,07	16	2,01±0,08	8	4,39±0,08	4	2,44
	4,18±0,08	4	7,22±0,16	5	8,48±0,09	2	6,63
F <sub>f</sub> (F <sub>t</sub> = 3,86)	7,16 / 5,05		4,77 / 2,00		3,54 / 1,65		–

*Примечание.* Здесь и далее: m ± SD – средняя арифметическая ± стандартное отклонение; V – коэффициент вариации (%); F<sub>f</sub> – расчетный критерий Фишера в сравнении вариантов при статистическом уровне значимости p < 0,05; F<sub>t</sub> = 3,86 – теоретический критерий Фишера при n<sub>1</sub> = 3 и p < 0,05.

[Note. Hereinafter: m ± SD - Arithmetic mean ± Standard deviation; V - Variation factor (%); F<sub>f</sub> - Settlement Fisher's ratio test in comparison of variants with statistical significance value equal to p < 0.05; F<sub>t</sub> = 3.86 - Theoretical Fisher's ratio test at n<sub>1</sub> = 3 and p < 0.05].

При использовании цеолитовой породы намечена тенденция оптимизации обеих фаз аммонифицирующей группы микроорганизмов, которая только на 3-й год оказалась статистически существенной в отношении инактивированной микробной ассоциации. По-видимому, оптимизация условий жизнедеятельности данных групп микроорганизмов обусловлена как повышением доступности кремниевых веществ в почве, так и улучшением ее кислотно-основного режима, происходящим за счет диатомита и цеолита [21].

В отличие от аммонифицирующих L-стратегов амилолитическая группа микробиоты иначе реагировала на взаимодействие изучаемых материалов с почвой. Здесь численность амилолитиков в инактивированной почве снижалась до варианта с 6 т/га диатомита и до варианта с 12 т/га цеолита.

В среднем за годы исследования количество амилолитических микроорганизмов уменьшилось на 34% в условиях применения диатомовой породы и на 13% при применении цеолита. Мобилизация почвенных образцов показала схожую, но менее интенсивную ингибирующую закономерность: до

17% снижения численности на вариантах с диатомитом и до 8% снижения – на вариантах с цеолитом. Вероятно, что такая особенность взаимодействия пород с почвой, проявившаяся на количестве амилитических L-стратегов, связана со степенью доступности минеральных соединений азота, а также с наличием легкоразлагаемого безазотистого органического вещества.

Как показано ранее [23], применение рассматриваемых высококремнистых пород способствовало оптимизации развития некоторых олиготрофов в почве и стабилизации ее гумусовых компонентов в виде сохранения количества специфического органического вещества на одном уровне в течение лет исследования. Это, очевидно, связано с активизацией биохимического образования сложных кремнийорганических веществ в гумусо-аккумулятивной части профиля [32, 33]. В связи с этим можно предполагать, что трансформация мобильных органических матриц в большей мере на вариантах с диатомитом и в меньшей – с цеолитом, направлена в сторону замедления их минерализации до простых компонентов. Наоборот, снижение активности амилитической группы зимогенной ниши могло быть обусловлено вовлечением  $\text{NH}_4^+$ -формы азота в циклы полимеризации и поликонденсации безазотистого органического контента в предгумусовые матрицы автохтонной консорцией микроорганизмов [34, 35]. Данные процессы снижают концентрацию минерального азота и относительно простых углеводов в микрозонах метаболизма амилитиков, что явно не способствует оптимизации их развития.

Ферментативная активность почвы, определенная по величинам наиболее значимых гидролазных ферментов – протеазных и инвертазных, изменялась в схожих с численностью микроорганизмов направлениях под действием пород (табл. 2).

Таблица 2 [Table 2]

**Активность ферментов дерново-подзолистой почвы в зависимости от вида и дозы высококремнистой породы**  
[Activity of sod-podsolic soil enzymes depending on the type and dose of high-siliceous rock]

Вариант [Variant]	Динамика ферментативной активности почвы по годам исследования [Dynamics of soil enzymatic activity by years of research]						В среднем за 3 года [Average for 3 years]
	2015		2016		2017		
	m ± SD	V	m ± SD	V	m ± SD	V	
Протеазная активность, мг глицина/г почвы/24 ч [Protease activity glycine, mg/g of soil/24 h]							
Control	2,12±0,02	2	3,21±0,04	3	3,96±0,05	3	3,10
Diatomite-1	2,69±0,01	1	3,90±0,03	2	4,60±0,05	2	3,73
Diatomite-2	3,03±0,03	2	4,68±0,10	4	5,13±0,02	1	4,28
Diatomite-3	2,90±0,06	4	4,57±0,07	3	5,02±0,06	2	4,16
$F_t (F_t = 3,86)$	96,49		89,53		150,42		–
Zeolite-1	2,26±0,03	3	3,42±0,03	2	4,09±0,10	5	3,26
Zeolite -2	2,31±0,04	3	3,58±0,03	2	4,21±0,05	2	3,37

Окончание табл. 2 [Table 2 (end)]

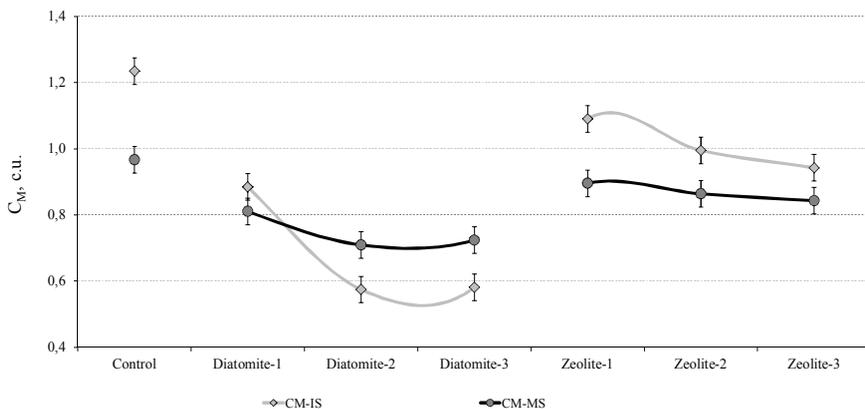
Вариант [Variant]	Динамика ферментативной активности почвы по годам исследования [Dynamics of soil enzymatic activity by years of research]						В среднем за 3 года [Average for 3 years]
	2015		2016		2017		
	m ± SD	V	m ± SD	V	m ± SD	V	
Zeolite -3	2,38±0,03	3	3,64±0,05	3	4,29±0,05	2	3,44
F <sub>r</sub> (F <sub>t</sub> = 3,86)	9,47		24,42		3,48		–
Инвертазная активность, мг глюкозы/г почвы/24 ч [Invertase activity glucose, mg/g of soil/24 h]							
Control	8,66±0,07	2	9,73±0,06	1	9,89±0,10	2	9,43
Diatomite-1	8,46±0,13	3	9,21±0,06	1	9,11±0,11	2	8,93
Diatomite-2	8,40±0,07	2	9,09±0,19	4	8,83±0,12	3	8,77
Diatomite-3	8,32±0,10	2	8,94±0,10	2	8,78±0,10	2	8,68
F <sub>r</sub> (F <sub>t</sub> = 3,86)	1,91		7,42		31,67		–
Zeolite-1	8,59±0,06	2	9,55±0,10	2	9,50±0,11	2	9,21
Zeolite-2	8,50±0,04	1	9,47±0,06	1	9,33±0,14	3	9,10
Zeolite-3	8,44±0,15	4	9,42±0,05	1	9,26±0,05	1	9,04
F <sub>r</sub> (F <sub>t</sub> = 3,86)	1,56		4,98		6,98		–

В ходе проведения исследования выявлена активизация протеолитической ферментной системы почвы, которая выражалась в увеличении активности ее энзимов на 30–46% на варианте с 2-й дозой диатомита, но в меньшей степени (на 8–13%) – на варианте с 3-й дозой цеолита. В среднем за 3 года активность протеазных ферментов возросла до 38% от применения диатомитовой и до 11% – цеолитовой пород.

Активность инвертазных ферментов, биохимия которых сопряжена с деградацией молекул сложных углеводов до простых мономеров, начала достоверно снижаться на 2-й год исследования с увеличением дозы каждой из пород и пролонгированно усиливалась вплоть до конца эксперимента. Однако мера снижения оказалась значительнее на вариантах с диатомитовым материалом (до 8–11%), чем с цеолитом (до 3–6%).

Поскольку активность ферментной системы почвы, как правило, зависит от численности ее соответствующих микроорганизмов, на основании сопоставления двух параметров показано, что активизирующее действие на аммонифицирующую функцию почвы в большей степени проявил диатомит, а ингибирующее действие на амилитическую функцию – цеолит. Такие закономерности проявлялись в отношении инактивированной части микробиоты, что говорит о прямом положительном воздействии диатомитовой породы на сохраняемость аммонифицирующей части зимогенной экологической ниши. Мобилизованная часть почвенных микроорганизмов также позитивно реагировала на вещество диатомита, что свидетельствует о возможности его влияния на стабилизацию потенциального микробиотического запаса аммонификаторов.

Отражением полученных изменений в численности изучаемых микроорганизмов служит микробиологический коэффициент минерализации органического вещества почвы, динамика которого представлена на рис. 1.



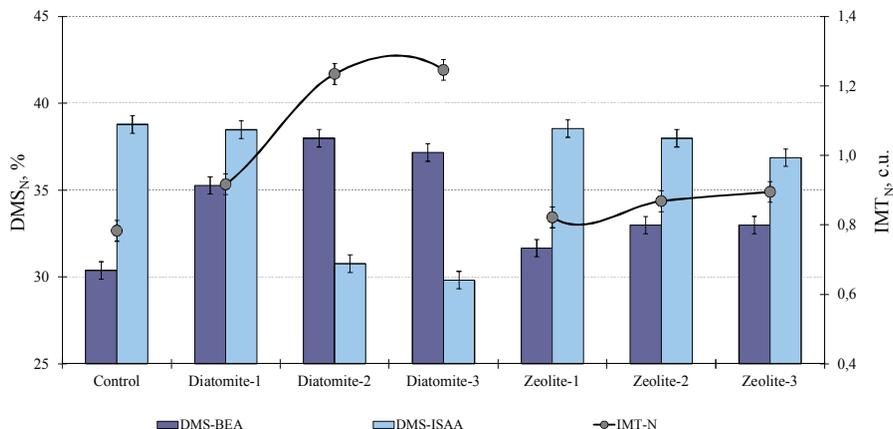
**Рис. 1.** Коэффициент микробиотической минерализации органического вещества в дерново-подзолистой почве в зависимости от вида и дозы высококремнистой породы (в среднем за 2015–2017 гг.). По горизонтали: вариант исследования, CM-IS и CM-MS – коэффициент минерализации инактивированной и мобилизированной почвы соответственно; по вертикали:  $C_M$ , c.u. – коэффициент минерализации, условные единицы [Fig. 1. Coefficient of microbiotic mineralization of organic matter in the sod-podsolic soil depending on the type and dose of high-siliceous rock (on average for 2015–2017). CM-IS - Coefficient of mineralization of inactivated soil and CM-MS - Coefficient of mineralization of mobilized soil; on the Y-axis:  $C_M$ , c.u. - Coefficient of mineralization, conventional unit]

Показано, что применение обеих пород в целом снижало значение коэффициента  $C_M$ . При этом в инактивированных образцах степень их воздействия на показатель оказалась значительнее. Наименьшие значения  $C_M$  установлены на вариантах с внесением в почву 6 и 12 т/га, где снижение доходило до 54% на вариантах с диатомитом и до 24% – с цеолитом по отношению к контрольным значениям. Из их полученной вариабельности показателей следует, что применение диатомовой породы, и особенно в высоких дозах способствовало снижению активности микробиологических процессов разложения органического вещества в почве (инактивированная часть микробиоты) с одновременным сохранением потенциала данной функции (уровень мобилизированной части). Внесение цеолита в почву также в незначительной степени снижало рассматриваемый показатель, однако однозначно не способствовало повышению потенциальной микробиологической активности в трансформации органического вещества, поскольку уровень кривой CM-MS по цеолиту оказался ниже его уровня  $C_M$  из устойчивой составляющей микробиоты (инактивированная часть).

Показатели общего количества микроорганизмов на МПА и КАА в инактивированном образце и в образце, максимально биологически активном, позволяют отразить степень микробиологической устойчивости почвы (рис. 2).

Вследствие изменения численности сапротрофных микроорганизмов в почве, произошедшего под действием диатомита, степень ее микробиологи-

ческой устойчивости повышалась на 17–27% по аммонифицирующей функции и снижалась на 21–23% по амилолитической функции в зависимости от дозы породы.



**Рис. 2.** Степень микробиологической устойчивости дерново-подзолистой почвы в зависимости от вида и дозы высококремнистой породы (в среднем за 2015–2017 гг.)

По горизонтали: вариант исследования, DMS-BEA и DMS-SAA – степень N-микробиологической устойчивости активности аммонифицирующих и амилолитических микроорганизмов соответственно, IMT-N – коэффициент интенсивности микробной трансформации N-содержащих органических веществ; по вертикали: DMS<sub>N</sub>, % – микробиологическая устойчивость почвы, в процентах, IMT<sub>N</sub>, c.u. – интенсивность микробной трансформации N-содержащих органических веществ, условные единицы.

[Fig. 2. Degree of microbiological stability of the sod-podsolic soil depending on the type and dose of high-siliceous rock (on average for 2015-2017). On the X-axis: research variant, DMS-BEA - Degree of N-microbiological stability of ammonifying microorganisms' activity and DMS-ISAA - Degree of N-microbiological stability of amyolytic microorganisms' activity, IMT-N - Coefficient of microbial transformation intensity of N-containing organic substances; on the Y-axis: DMS<sub>N</sub>, % - Soil microbiological stability, as percentage, IMT<sub>N</sub>, c.u. - Intensity of microbial transformation of N-containing organic substances, conventional units]

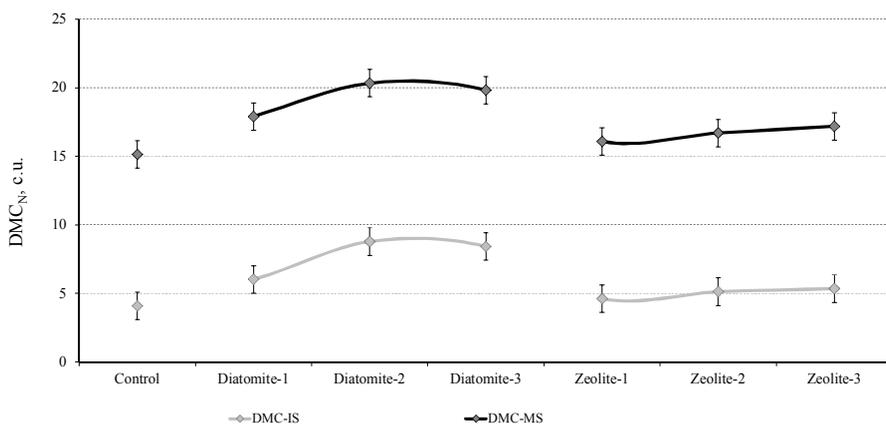
В результате чего показатель микробиологической трансформации азот-содержащего органического вещества возрастал до 58–60% по отношению к контролю.

На вариантах с применением цеолита в среднем за 3 года исследования наблюдалась схожая, но незначительная по активности тенденция. Здесь показатель DMS<sub>N</sub> возрастал на 12–14% на вариантах с 2-й и 3-й дозами породы.

В целом по активности рассмотренной части сапротрофного микробного пула дерново-подзолистой почвы степень ее микробиологической окультуренности возрастала при применении обоих материалов (рис. 3).

Расчет данного коэффициента показал, что на фоне общего усиления микробиологической активности почвы (более чем в 2 раза на вариантах с

диатомитом и на 12–29% на вариантах с цеолитом) достаточно весомо повышалась сохраняемость потенциального микробного запаса L-стратегов (на 19–31% на вариантах с диатомитом и на 7–14% на вариантах с цеолитом). Ранее рассмотренное относительное расширение соотношения численности микроорганизмов в системе «МПА : КАА» диатомита позволяет говорить о его положительном влиянии на процессы насыщения сапротрофного микробного пула, что в итоге приводило к оптимизации микробиологической окультуренности почвы, в обычных условиях свойственной для типичного культурного процесса стабильного агроценоза дерново-подзолистых почв.

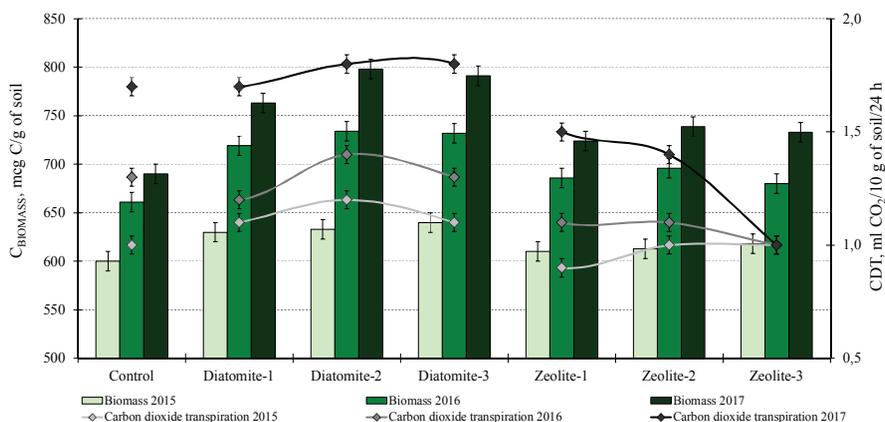


**Рис. 3.** Коэффициент микробиологической окультуренности почвы в зависимости от вида и дозы высококремнистой породы (в среднем за 2015–2017 гг.). По горизонтали: вариант исследования, DMC-IS и DMC-MS – коэффициент микробиологической окультуренности инактивированной и мобилизированной почвы соответственно; по вертикали:  $DMC_N$ , c.u. – микробиологическая окультуренность почвы, условные единицы [Fig. 3. Coefficient of microbiological cultural level of the soil depending on the type and dose of high-siliceous rock (on average for 2015–2017). DMC-IS - Coefficient of microbiological cultural level of inactivated soil and DMC-MS - Coefficient of microbiological cultural level of mobilized soil; on the Y-axis:  $DMC_N$ , c.u. - Microbiological cultural level of the soil, conventional units]

Количественным отражением рассмотренных выше биотических процессов, протекающих в почве под действием изучаемых пород, послужили относительное увеличение в ней микробной биомассы и оптимизация выделения углекислого газа («дыхания» почвы), динамика которых представлена на рис. 4.

Показано, что на вариантах с применением диатомовой породы при постепенном ежегодном увеличении углерода микробомассы в почве (с 5 до 11% на варианте Д1, с 6 до 16% на варианте Д2 и с 7 до 15% на варианте Д3) активность ее выделения углекислого газа снижалась относительно контрольных значений.

На вариантах с внесением цеолита отмечена схожая тенденция: более слабая в отношении микробной биомассы (в среднем за 3 года на 4% вне зависимости от дозы) и существенно резкая в отношении транспирации  $CO_2$  – на 11–21%.



**Рис. 4.** Общая биомасса микроорганизмов в дерново-подзолистой почве и активность транспирации  $\text{CO}_2$  в зависимости от вида и дозы высококремнистой породы. По горизонтали: вариант исследования, Biomass 2015, 2016 и 2017 – биомасса микроорганизмов в почве по годам исследования, Carbon dioxide transpiration 2015, 2016 и 2017 – интенсивность выделения углекислого газа («дыхания») из почвы по годам исследования; по вертикали:  $C_{\text{BIOMASS}}$ , mcg C/g of soil – количество мкг углерода микробной биомассы на г почвы, CDT, ml  $\text{CO}_2/10$  g of soil/24 h – количество мл углекислого газа на 10 г почвы в суточной экспозиции

[Fig. 4. General biomass of microorganisms in the sod-podsolic soil and activity of  $\text{CO}_2$  transpiration depending on the type and dose of high-siliceous rock. Biomass 2015, 2016 and 2017 - Biomass of microorganisms in the soil by years of research, Carbon dioxide transpiration 2015, 2016 and 2017 - Intensity of carbon dioxide release ("respiration") from soil by years of research; on the Y-axis:  $C_{\text{BIOMASS}}$ , mcg C/g of soil - Number of mcg of microbic biomass carbon in g of soil, CDT, ml  $\text{CO}_2/10$  g of soil/24 h - Number of ml of carbon dioxide in 10 g of soil in daily exposition]

По-видимому, вещество диатомита способствовало повышению микробной биомассы почвы за счет активной микробной деградации. Цеолитовые компоненты также оптимизировали данный показатель, однако, судя по интенсивности почвенного «дыхания», в большей степени способствовали ингибированию процессов разложения органического вещества почвы до конечных продуктов.

## Выводы

1. Взаимодействие высоких доз диатомита с дерново-подзолистой легкосуглинистой почвой приводит к увеличению активности ее аммонифицирующей микробной ассоциации в 1,3–1,5 раза и снижению активности амилотической группы микроорганизмов в 1,4–1,7 раза. Применение цеолитовой породы имеет аналогичное, но менее выраженное направление.

2. Степень устойчивости микробиологической активности почвы под действием диатомита возрастает на 17–27% относительно аммонифицирующих L-стратегов и снижается на 21–23% относительно амилотической группы

бактерий. В данных условиях показатель микробиологической окультуренности почвы возрастает более чем в 2 раза в сохраняемой части микробиоты и на 31–34% в биохимически активной части. Активность микробной трансформации азотсодержащего органического вещества увеличивается до 58–60%. Поскольку в течение лет исследования на фоне действия диатомита микробная биомасса в почве увеличивалась в среднем на 11%, интенсивность ее транспирации  $\text{CO}_2$  постепенно снижалась, а гумусовое состояние имеет удерживаемый характер, очевидно, что процессы трансформации органических компонентов направлены в сторону усложнения и активно вовлекаются непосредственно в метаболизм почвообитающих микроорганизмов. Последнее, несомненно, имеет позитивное значение с точки зрения активного участия микробиоты в образовании гумусовых матриц в почве.

*Коллектив авторов выражает благодарность генеральному директору ООО «Элитхоз» (Борский район Нижегородской области) Анатолию Германовичу Пушкинову за предоставленную возможность проведения микробиологических исследований – участок поля и высококачественный посевной материал зерновых культур.*

### Литература

1. Иванов И.В. Общие вопросы эволюции почв // Эволюция почв и почвенного покрова. Теория, разнообразие природной эволюции и антропогенных трансформаций почв. М.: ГЕОС, 2015. С. 20–38.
2. Griffiths B.S., Bonkowski M., Roy J., Ritz K. Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts // Applied Soil Ecology. 2001. Vol. 16. PP. 49–61. doi: 10.1016/S0929-1393(00)00081-0
3. Добровольский Г.В., Никитин Е.Д. Экология почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2012. 412 с.
4. Соколов М.С., Марченко А.И., Санин С.С., Торопова Е.Ю., Чулкина В.А., Захаров А.Ф. Здоровье почвы агроценозов как атрибут ее качества и устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам // Известия ТСХА. 2009. № 1. С. 13–22.
5. Kuan H.L., Hallett P.D., Griffiths B.S., Gregory A.S., Watts C.W., Whitmore A.P. The biological and physical stability and resilience of a selection of Scottish soils to stresses // European Journal of Soil Science. 2007. Vol. 58. PP. 811–821. doi: 10.1111/j.1365-2389.2006.00871.x
6. van Bruggen A.H.C., Semenov A.M., van Diepeningen A.D., de Vos O.J., Blok W.J. Relation between soil health, wave like fluctuations in microbial populations, and soil-borne plant disease management // European Journal of Plant Pathology. 2006. Vol. 115. PP. 105–122. doi: 10.1007/s10658-005-1250-8
7. Козлов А.В., Селицкая О.В. Значение микроорганизмов в поддержании устойчивости почв к воздействию антропогенных факторов // Вестник Мининского университета. 2015. № 3 (11). С. 27.
8. Колесников С.И., Ярославцев М.В., Спивакова Н.А., Казеев К.Ш. Сравнительная оценка устойчивости биологических свойств черноземов юга России к загрязнению Cr, Cu, Ni, Pb в модельном эксперименте // Почвоведение. 2013. № 2. С. 195–200. doi: 10.7868/S0032180X13020081

9. Кураков А.В., Козлова Ю.Е. Устойчивость микробного комплекса дерново-подзолистых почв к действию минеральных удобрений // Почвоведение. 2002. № 5. С. 595–600.
10. Мосина Л.В., Мерзлая Г.Е. Микробиологическая диагностика состояния системы почва – растение на сенокосах при внесении компостов на основе осадков сточных вод // Известия ТСХА. 2010. № 1. С. 18–27.
11. Сорокин Н.Д., Гродницкая И.Д., Шапченкова О.А., Евграфова С.Ю. Экспериментальная оценка устойчивости почвенного микробиоценоза при химическом загрязнении // Почвоведение. 2009. № 6. С. 701–707.
12. Чимитдоржиева И.Б., Цыдыпов В.Ц., Абашеева Н.Е. Влияние лантана на биологическую активность и экологическую устойчивость аммонифицирующих и нитрифицирующих микроорганизмов в вегетационных опытах // Агрохимия. 2009. № 3. С. 60–65.
13. Crecchio C., Gelsomino A., Ambrosoli R., Minati J.L., Ruggiero P. Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices // Soil Biology & Biochemistry. 2004. Vol. 36. PP. 1873–1883. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.05.008
14. Karthikeyan S., Wolfaardt G.M., Korber D.R., Caldwell D.E. Functional and structural responses of degradative microbial community to substrates with varying degrees of complexity in chemical stricture // Microbial Ecology. 1999. Vol. 38. PP. 215–224. doi: 10.1007/s002489900171
15. Orwin K.H., Wardle D.A. Plant species composition effects on belowground properties and the resistance and resilience of the soil microflora to a drying disturbance // Plant and Soil. 2005. Vol. 278. PP. 205–221. doi: 10.1007/s11104-005-8424-1
16. Seghers D., Kristof V., Reheul D., Bulcke R., Siciliano S.D., Verstraete W., Top E.M. Effect of long term herbicide applications on the bacterial community structure and function in an agricultural soil // Microbial Ecology. 2003. Vol. 46(2). PP. 139–146. doi: 10.1016/S0168-6496(03)00205-8
17. Бочарникова Е.А., Матыченков В.В., Матыченков И.В. Кремниевые удобрения и мелиоранты: история изучения, теория и практика применения // Агрохимия. 2011. № 7. С. 84–96.
18. Самсонова Н.Е. Кремний в растительных и животных организмах // Агрохимия. 2019. № 1. С. 86–96. doi: 10.1134/S0002188119010071
19. Матыченков И.В., Хомяков Д.М., Пахненко Е.П., Бочарникова Е.А., Матыченков В.В. Подвижные кремниевые соединения в системе почва–растение и методы их определения // Вестник Московского университета. Сер. 17. Почвоведение. 2016. № 3. С. 37–46.
20. Kulikova A.Kh., Kozlov A.V., Toigildin A.L. Influence of silicon containing preparations on agrochemical properties of sod and podzolic soil and yielding capacity of crops // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018. Vol. 9(2). PP. 432–436.
21. Козлов А.В., Куликова А.Х., Копосова Н.Н. Влияние диатомита, цеолита и бентонитовой глины на показатели физико-химического состояния дерново-подзолистой почвы // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2017. Т. 19, № 2-2. С. 275–280.
22. Козлов А.В., Куликова А.Х. Влияние высококремнистых пород на структуру, численность и ферментативную активность целлюлозосапротрофного микробного пула дерново-подзолистой почвы в условиях выращивания озимой пшеницы и картофеля // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2016. № 1 (33). С. 56–65.
23. Козлов А.В., Куликова А.Х., Уромова И.П. Влияние высококремнистых пород (диатомита, цеолита и бентонитовой глины) на активность олиготрофного и автохтонного микробного пула дерново-подзолистой почвы // Вестник Томского

- государственного университета. Биология. 2017. № 4 (40). С. 44–65. doi: 10.17223/19988591/40/3
24. Кусова Н.В., Степанова Л.П. Кипящие камни (цеолиты): список литературы. Орел : ОрелГАУ, 2005. 18 с.
  25. Наумов В.Д. География почв. Почвы России. М. : Проспект, 2016. 344 с.
  26. Экология микроорганизмов / под ред. А.И. Нетрусова. М. : Юрайт, 2015. 268 с.
  27. Муха В.Д. Естественно-антропогенная эволюция почв (общие закономерности и зональные особенности). М. : КолосС, 2004. 271 с.
  28. Практикум по микробиологии. М. : учеб. пособие для студентов вузов / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др. ; под ред. А.И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.
  29. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М. : Наука, 2005. 252 с.
  30. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М. : ИД Альянс, 2011. 352 с.
  31. Коростелева Л.А., Кощаев А.Г. Основы экологии микроорганизмов. СПб. : Лань, 2013. 240 с.
  32. van Diepeningen A.D., de Vos O.J., Korthals G.W., van Bruggen A.H.C. Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils // Applied Soil Ecology. 2006. Vol. 31. PP. 120–135. doi: 10.1016/j.apsoil.2005.03.003
  33. Zelenev V.V., van Bruggen A.H.C., Semenov A.M. Modeling wave-like dynamics of oligotrophic and copiotrophic bacteria along wheat roots in response to nutrient input from a growing root tip // Ecological Modeling. 2005. Vol. 188 (2–4). PP. 404–417. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2005.01.046
  34. Туев Н.А. Микробиологические процессы гумусообразования. М. : Агропромиздат, 1989. 239 с.
  35. Govaerts B., Mezzalama M., Unno Y., Sayre K.D., Luna-Guido M., Vanherck K., Dendooven L., Deckers J. Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity // Applied Soil Ecology. 2007. Vol. 37. PP. 18–30. doi: 10.1016/j.apsoil.2007.03.006

*Поступила в редакцию 26.10.2018 г.; повторно 09.03.2019 г.;  
принята 15.05.2019 г.; опубликована 27.06.2019 г.*

**Авторский коллектив:**

**Козлов Андрей Владимирович** – доцент, канд. биол. наук, доцент кафедры экологического образования и рационального природопользования, зав. лабораторным комплексом «Эколого-аналитическая лаборатория мониторинга и защиты окружающей среды», факультет естественных, математических и компьютерных наук, Нижегородский государственный педагогический университет имени К. Минина (Россия, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-3034-656>

E-mail: [a\\_v\\_kozlov@mail.ru](mailto:a_v_kozlov@mail.ru)

**Куликова Алевтина Христововна** – д-р с.-х. наук, профессор, зав. кафедрой почвоведения, агрохимии и агроэкологии, Факультет агротехнологий, земельных ресурсов и пищевых производств, Ульяновский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина (Россия, 432017, г. Ульяновск, б-р Новый Венец, 1).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-7327-3742>

E-mail: [agroec@yandex.ru](mailto:agroec@yandex.ru)

**Селицкая Ольга Валентиновна** – канд. биол. наук, доцент, зав. кафедрой микробиологии и иммунологии, Факультет почвоведения, агрохимии и экологии, Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева (Россия, 127750, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49).

E-mail: [selitskayaolga@gmail.com](mailto:selitskayaolga@gmail.com)

**Уромова Ирина Павловна** – д-р с.-х. наук, доцент, профессор кафедры биологии, химии и биолого-химического образования, зав. научно-образовательным центром «Биотехнология», факультет естественных, математических и компьютерных наук, Нижегородский государственный педагогический университет имени К. Минина (Россия, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-1000-3603>

E-mail: [uromova2012@yandex.ru](mailto:uromova2012@yandex.ru)

**For citation:** Kozlov AV, Kulikova AH, Selitskaya OV, Uromova IP. Stability of microbiological activity of the sod-podsolic soil when applying diatomite and zeolite. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2019;46:26-47. doi: 10.17223/19988591/46/2 In Russian, English Summary

**Andrey V. Kozlov<sup>1</sup>, Alevtina H. Kulikova<sup>2</sup>, Olga V. Selitskaya<sup>3</sup>, Irina P. Uromova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Minin Nizhny Novgorod State Pedagogical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation*

<sup>2</sup>*Stolypin Ulyanovsk State Agricultural University, Ulyanovsk, Russian Federation*

<sup>3</sup>*Russian State Agrarian University – Timiryazev Moscow Agricultural Academy, Moscow, Russian Federation*

### **Stability of microbiological activity of the sod-podsolic soil when applying diatomite and zeolite**

At present, the analysis of the state of soil biotic complex when using non-traditional materials, such as high-silicon rocks is an important problem in the field of agronomic soil science. The aim of this research was to assess the state of the basic microbial participants of the L-selection survival strategy (ammonifying and amylolytic consortia) in conjunction with hydrolase enzymatic activity of the sod-podzolic soil under high doses of diatomite and zeolite rocks with subsequent assessment of the stability of the considered part of microbiota.

We studied the effect of different doses (3, 6 and 12 t/ha) of diatomite of the Inzensky deposit (Ulyanovsk region) and zeolite of the Hotynetsky deposit (Oryol region) on the number of ammonifying and amylolytic microorganisms and on hydrolase enzymatic activity of soil in a microfield experiment (2015-2017) carried out in the sod-podzolic light loamy soil (WRB - Retisols) of Nizhny Novgorod region (56°31'13.00"N 44°06'57.37"E). Field experiments were conducted according to the generally accepted rules for small-plot field studies (the registration area of the plot was 1 m<sup>2</sup>, the location of the plot was randomized, and replication was fourfold). Analytical studies included the number of microorganisms with Koch's pour plate method using beef-extract agar (BEA) and Inorganic Salt Starch Agar (ISSA), protease enzymatic activity using the ninhydrin spectrophotometric method, invertase using the gravimetric method with Fehling's solution, the intensity of carbon dioxide gas transpiration from soil by standard gasometrical method, and the biomass of microorganisms in the soil by rehydration method. The stability of the soil microbial pool was assessed by a two-phase method, in which the inactivated state characterizes the soil capacity to preserve a certain microbial niche (microbiological resistance), and the mobilized phase describes the potential microbiological activity in the soil, that is the most possible biochemical "reserve" of the microbial consortium under study.

The results of our three-year microfield experiment with the use of diatomite showed that, on average, during a three-year microfield experiment with the use of diatomite, the number of inactivated ammonifying microorganisms maximally increased up to 42%, and that of mobilized ones up to 13% (See Table 1). A similar, but a less active pattern was observed in the mobilized samples. When using zeolite rock, we observed a tendency to optimize both phases of the ammonifying group of microorganisms.

The number of inactivated amylolytic microorganisms decreased by 34% when using diatomite and by 13% when using zeolite, and when mobilizing the soil, there was a decrease to 17% and 8% respectively. The activity of the proteolytic enzyme system of the soil was found: on average, over 3 years the activity of protease enzymes increased up to 38% due to the use of diatomite and up to 11% of zeolite rock (See Table 2). The activity of invertase enzymes began to decline in the second year of the study with an increase in the dose of each of the rocks and was prolonged to the end of the experiment. The measure of decline turned out to be more significant in the variants with diatomite material (up to 8-11%) than with zeolite (up to 3-6%). The use of both rocks reduced the value of the mineralization coefficient of the organic matter of  $C_M$  (See Fig. 1). In inactivated samples, the degree of their impact on the indicator was more significant. The smallest  $C_M$  values were established in the variants with 6 and 12 t/ha of application in the soil, where the decline reached 54% in the variants with diatomite and up to 24% with zeolite. The use of diatomite rock, especially in high doses, contributed to a decrease in the activity of microbiological processes of decomposition of organic matter in the soil (inactivated part of the microbiota), while maintaining the potential of this function (the level of the mobilized part). The application of zeolite in the soil slightly reduced the indicator under consideration, but it definitely did not contribute to an increase in potential microbiological activity in the transformation of organic components. The degree of microbiological resistance of the soil, depending on the dose of diatomite, increased by 17-27% in ammonifying function and decreased by 21-23% in amylolytic one. The index of microbiological transformation of nitrogen-containing organic matter increased up to 58-60% relative to the control group (See Fig. 2). In variants with the use of zeolite, on average over 3 years of research, we observed a similar trend but with an insignificant activity. Here, the exponent of N-microbiological resistance ( $DMS_N$ ) increased by 12-14% in variants with the 2nd and 3rd doses of rocks. The coefficient of soil microbiological cultivation  $DMC_N$  showed (See Fig. 3) that against the background of a general increase in soil microbiological activity (more than 2 times in variants with diatomite and by 12-29% in tests with zeolite) the persistence of potential microbial reserve of L-strategies significantly increased (by 19-31% in tests with diatomite and by 7-14% in variants with zeolite). We demonstrated (See Fig. 4) that in the variants with the use of diatomite rock with a gradual annual increase in carbon of the microbial mass in the soil (from 5% to 11% with D1, from 6% to 16% with D2 and from 7% to 15% with D3) the activity of carbon dioxide release from it decreased. The tests with the application of zeolite showed a similar tendency: a weak one with respect to the microbial biomass (on average, for 3 years by 4%, regardless of dose) and significantly sharp with respect to  $CO_2$  transpiration by 11-21%. Due to the above-described change in the number of basic saprotrophic soil microorganisms, its hydrolase activity, soil microbial biomass and its "respiration" under the influence of diatomite, as well as due to shifts in microbially-dependent indicators of the organic matter mineralization, microbiological stability and soil cultivation, components are subject to change under its action, are directed towards complication and are actively and directly involved in the microbial metabolism. The latter, undoubtedly, has a positive meaning in terms of active participation of the microbial pool in the formation of humic substances in the soil.

*The paper contains 4 Figures, 2 Tables and 35 References.*

**Key words:** opal-cristobalite and clinoptilolite rocks; number of saprotrophic microorganisms; glycolase enzymatic activity; microbiological stability of soil.

**Acknowledgment:** The authors are grateful to AG Pushkov, General Director of "Elithoz" LLC (Borsky district, Nizhny Novgorod Region) for the given opportunity to carry out microfield studies: a field site and high-quality crop seeds.

## References

1. Ivanov IV. Obshchiye voprosy evolyutsii pochv [General questions of soil evolution]. In: *Evolyutsiya pochv i pochvenno go pokrova. Teoriya, raznoobraziye prirodnoy evolyutsii i antropogennykh transformatsiy pochv* [Evolution of soils and soil cover. Theory, diversity of natural evolution and anthropogenic transformations of soils]. Ivanov IV and Kudayarov VN, editors. Moscow: GEOS Publ.; 2015. pp. 20-38. In Russian
2. Griffiths BS, Bonkowski M, Roy J, Ritz K. Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts. *Applied Soil Ecology*. 2001;16:49-61. doi: [10.1016/S0929-1393\(00\)00081-0](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00081-0)
3. Dobrovolyskiy GV, Nikitin ED. Ekologiya pochv [Soil Ecology]. Moscow: Moscow State University Publ.; 2012. 412 p. In Russian
4. Sokolov MS, Marchenko AI, Sanin SS, Toropova EYu, Chulkina VA, Zakharov AF. Zdorov'ye pochvy agrotsenozov kak atribut eye kachestva i ustoychivosti k bioticheskim i abioticheskim stressoram [Health of agrocenosis soil as an attribute of its quality and resistance to biotic and abiotic stressors]. *Izvestiya Timiryazevskoy Sel'skokhozyaystvennoy Akademii*. 2009;1:13-22. In Russian
5. Kuan HL, Hallett PD, Griffiths BS, Gregory AS, Watts CW, Whitmore AP. The biological and physical stability and resilience of selection of Scottish soils to stresses. *European J Soil Science*. 2007;58:811-821. doi: [10.1111/j.1365-2389.2006.00871.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2006.00871.x)
6. van Bruggen AHC, Semenov AM, van Diepeningen AD, de Vos OJ, Blok WJ. Relation between soil health, wave like fluctuations in microbial populations, and soil-borne plant disease management. *Eur J Plant Pathol*. 2006;115:105-122. doi: [10.1007/s10658-005-1250-8](https://doi.org/10.1007/s10658-005-1250-8)
7. Kozlov AV, Selitskaya OV. Value of microorganisms in maintenance of soils stability to influence of anthropogenesis factors. *Vestnik Mininskogo Universiteta = Vestnik of Minin University*. 2015;3(11):27. In Russian
8. Kolesnikov SI, Yaroslavtsev MV, Spivakova NA, Kazeev KS. Comparative assessment of the biological tolerance of chernozems in the south of Russia towards contamination with Cr, Cu, Ni, and Pb in a model experiment. *Eurasian Soil Science*. 2013;46(2):176-181. doi: [10.7868/S0032180X13020081](https://doi.org/10.7868/S0032180X13020081)
9. Kurakov AV, Kozlova YuE. Ustoychivost' mikrobnogo kompleksa dernovo-podzolistykh pochv k deystviyu mineral'nykh udobreniy [Tolerance of the microbial complex of soddy-podzolic soils to the impact of mineral fertilizers]. *Pochvovedenie = Eurasian Soil Science*. 2002;5:595-600. In Russian
10. Mosina LV, Frozen GE. Mikrobiologicheskaya diagnostika sostoyaniya sistemy pochva – rasteniye na senokosakh pri vnesenii kompostov na osnove osadkov stochnykh vod [Microbiological diagnostics of the soil-plant system condition at haymakings when introducing composts on the basis of sewage rainfall]. *Izvestiya Timiryazevskoy Sel'skokhozyaystvennoy Akademii*. 2010;1:18-27. In Russian
11. Sorokin ND, Grodnitskaya ID, Shapchenkova OA, Evgrafova SYu. Experimental assessment of the microbocenosis stability in chemically polluted soils. *Eurasian Soil Science*. 2009;42(6):701-707.
12. Chimitdorzhieva IB, Tsydygov VTs, Abasheeva NE. Vliyaniye lantana na biologicheskuyu aktivnost' i ekologicheskuyu ustoychivost' ammonifitsiruyushchikh i nitrifitsiruyushchikh mikroorganizmov v vegetatsionnykh opytakh [Effect of lanthanum on the biological activity and ecological stability of ammonifying and nitrifying microorganisms in pot experiments]. *Agrokhimiya = Agricultural Chemistry*. 2009;3:60-65. In Russian
13. Crecchio C, Gelsomino A, Ambrosoli R, Minati JL, Ruggiero P. Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices. *Soil Biology & Biochemistry*. 2004;36:1873-1883. doi: [10.1016/j.soilbio.2004.05.008](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.05.008)

14. Karthikeyan S, Wolfaardt GM, Korber DR, Caldwell DE. Functional and structural responses of degradative microbial community to substrates with varying degrees of complexity in chemical structure. *Microbial Ecology*. 1999;38:215-224. doi: [10.1007/s002489900171](https://doi.org/10.1007/s002489900171)
15. Orwin KH, Wardle DA. Plant species composition effects on belowground properties and the resistance and resilience of the soil microflora to a drying disturbance. *Plant and Soil*. 2005;278:205-221. doi: [10.1007/s11104-005-8424-1](https://doi.org/10.1007/s11104-005-8424-1)
16. Seghers D, Kristof V, Reheul D, Bulcke R, Siciliano SD, Verstraete W, Top EM. Effect of long term herbicide applications on the bacterial community structure and function in an agricultural soil. *Microbial Ecology*. 2003;46(2):139-146. doi: [10.1016/S0168-6496\(03\)00205-8](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00205-8)
17. Bocharnikova EA, Matychenkov VV, Matychenkov IV. Kremniyevyye udobreniya i melioranty: istoriya izucheniya, teoriya i praktika primeneniya [Silicon fertilizers and ameliorants: The history of study and the theory and practice of application]. *Agrokimiya = Agricultural Chemistry*. 2011;7:84-96. In Russian
18. Samsonova N.E. Silicon in soils, plant and animal organisms. *Agrokimiya = Agricultural Chemistry*. 2019;1:86-96. doi: [10.1134/S0002188119010071](https://doi.org/10.1134/S0002188119010071) In Russian
19. Matychenkov IV, Khomiakov DM, Pakhnenko EP, Bocharnikova EA, Matychenkov VV. The mobile Si-rich compounds in the soil-plant system and methods for their determination. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 17: Pochvovedenie = Moscow University Soil Science Bulletin*. 2016;3:37-46. In Russian
20. Kulikova AH, Kozlov AV, Toigildin AL. Influence of silicon containing preparations on agrochemical properties of sod and podzolic soil and yielding capacity of crops. *Research J Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2018;9(2):432-436.
21. Kozlov AV, Kulikova AH, Kuposova NN. Influence of diatomite, zeolite and bentonite clay on indicators of physical and chemical condition of cespitose-podsolic soil. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2017;19(2-2):275-280. In Russian
22. Kozlov AV, Kulikova AH. Influence of high-silicon rocks on the structure, quantity and enzymatic activity of cellulose saprotrophic microbial pool derno-podzolic soil under the conditions of winter wheat and potatoes. *Vestnik Ul'yanovskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii = Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2016;1(33):56-65. In Russian
23. Kozlov AV, Kulikova AH, Uromova IP. Effect of high-siliceous rocks (diatomite, zeolite and bentonite clay) on the activity of the oligotrophic and autochthonous microbial pool in sod-podsolic soil. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2017;40:44-65. doi: [10.17223/19988591/40/3](https://doi.org/10.17223/19988591/40/3) In Russian, English Summary
24. Kusova NV, Stepanova LP. Kipyashchiye kamni (tseolity): spisok literatury [The boiling stones (zeolites): List of references]. Orel: OrelGAU Publ.; 2005. 18 p. In Russian
25. Naumov VD. Geografiya pochv. Pochvy Rossii [Geography of soils. Soils of Russia]. Moscow: Prospekt Publ.; 2016. 344 p. In Russian
26. Netrusov AI, Bonch-Osmolovskaya EA, Gorlenko VM, Ivanov MV, Karavayko GI, Kozhevnikov PA, Kolotilova NN, Kotova IB, Maksimov VN, Nozhevnikova AN, Semenov AM, Turova TP, Yudina TG. Ekologiya mikroorganizmov [Ecology of microorganisms]. Netrusov AI, editor. Moscow: Yurayt Publ.; 2015. 268 p. In Russian
27. Muha VD. Estestvenno-antropogennaya evolyutsiya pochv (obshchiye zakonomernosti i zonal'nyye osobennosti) [Natural and anthropogenic evolution of soils (General regularities and zone features)]. Moscow: Colossus Publ.; 2004; 271 p. In Russian
28. Netrusov AI, Egorova MA, Zakharchuk LM, Kolotilova NN, Kotova IB, Semenova EV, Tatarinova NYu, Ugol'kova NV, Tsavkelova EA, Bobkova AF, Bogdanov AG, Danilova IV, Dinarieva TYu, Zinchenko VV, Ismailov AD, Kurakova AV, Maksimov VN, Mil'ko ES,

- Nikitina EP, Ryzhkova EP, Semenov AM, Khomyakova DV, Cherdyntseva TA, Yudina TG. Praktikum po mikrobiologii [Workshop on Microbiology]. Netrusov AI, editor. Moscow: Akademiya Publ.; 2005. 608 p. In Russian
29. Khaziev FK. Metody pochvennoy enzimologii [Methods of soil enzymology]. Moscow: Nauka Publ.; 2005. 252 p. In Russian
30. Dospekhov BA. Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy) [Methods of field experiment (With the basics of statistical processing of research results)]. Moscow: Alyans Publ.; 2011. 352 p. In Russian
31. Korosteleva LA, Koshchayev AG. Osnovy ekologii mikroorganizmov [Fundamentals of microbial ecology]. Saint-Petersburg: Lan Publ.; 2013. 240 p. In Russian
32. van Diepeningen AD, de Vos OJ, Korthals GW, van Bruggen AHC. Effects of organic versus conventional management on chemical and biological parameters in agricultural soils. *Applied Soil Ecology*. 2006;31:120-135. doi: [10.1016/j.apsoil.2005.03.003](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.03.003)
33. Zelenev VV, van Bruggen AHC, Semenov AM. Modeling wave-like dynamics of oligotrophic and copiotrophic bacteria along wheat roots in response to nutrient input from a growing root tip. *Ecological Modeling*. 2005;188(2-4):404-417. doi: [10.1016/j.ecolmodel.2005.01.046](https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.01.046)
34. Tuev NA. Mikrobiologicheskiye protsessy gumusoobrazovaniya [Microbiological processes of humus formation]. Moscow: Agropromizdat Publ.; 1989. 239 p. In Russian
35. Govaerts B, Mezzalama M, Unno Y, Sayre KD, Luna-Guido M, Vanherck K, Dendooven L, Deckers J. Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity. *Applied Soil Ecology*. 2007;37:18-30. doi: [10.1016/j.apsoil.2007.03.006](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.03.006)

*Received 26 October 2018; Revised 09 March 2019;  
Accepted 15 May 2019; Published 27 June 2019*

**Author info:**

**Kozlov Andrey V**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of Ecological Education and Rational Environmental Management, Head of the Laboratory Complex "Ecological and Analytical Laboratory of Monitoring and Environment Protection", Faculty of Natural, Mathematical and Computer Sciences, Minin Nizhny Novgorod State Pedagogical University, 1 Ulyanov Str., Nizhny Novgorod 603950, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-3034-6566>

E-mail: [a\\_v\\_kozlov@mail.ru](mailto:a_v_kozlov@mail.ru)

**Kulikova Alevtina H**, Dr. Sci. (Agric.), Professor, Head of the Department of Soil Science, Agrochemistry and Agroecology, Faculty of Agrotechnologies, Land Resources and Food Productions, Stolypin Ulyanovsk State Agricultural University, 1 Novyy Venets Bl., Ulyanovsk 432017, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-7327-3742>

E-mail: [agroec@yandex.ru](mailto:agroec@yandex.ru)

**Selitskaya Olga V**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Head of the Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Soil Science, Agrochemistry and Ecology, Russian State Agrarian University – Timiryazev Moscow Agricultural Academy, 49 Timiryazevskaya Str., Moscow 127550, Russian Federation  
E-mail: [selitskayaolga@gmail.com](mailto:selitskayaolga@gmail.com)

**Uromova Irina P**, Dr. Sci. (Agric.), Professor, Head of the Department of Biology, Chemistry and Biological and Chemical Education, Head of the Scientific and Educational Center "Biotechnology", Faculty of Natural, Mathematical and Computer Sciences, Minin Nizhny Novgorod State Pedagogical University, 1 Ulyanov Str., Nizhny Novgorod 603950, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-1000-3603>

E-mail: [uromova2012@yandex.ru](mailto:uromova2012@yandex.ru)