

УДК 579.64

ВЛИЯНИЕ АССОЦИАЦИИ АГРОНОМИЧЕСКИ ЦЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА МИКРОФЛОРУ ДЕГРАДИРОВАННЫХ ПОЧВ

Смирнова И.Э., Саданов А.К., Нурмуханбетова А.М., Султанова А.Ж.

*КН МОН РК «Институт микробиологии и вирусологии», Алматы,
e-mail: iesmirnova@mail.ru*

В настоящее время во многих странах мира отмечается существенная деградация сельскохозяйственных почв, особенно, деградации подвержены пастбища. Одним из наиболее перспективных решений их восстановления является использование ЭМ-технологии, которая основывается на внесении в почву ассоциаций агрономически ценных или эффективных микроорганизмов (ЭМ-ассоциации). Целью данного исследования было изучение влияния ЭМ-ассоциаций на изменение состава микрофлоры и основные физиологические группы бактерий (азотфиксирующие, целлюлолитические и фосфатмобилизующие) деградированных почв пастбищ. Установлено, что внесение ЭМ-ассоциации приводит к существенному повышению общей численности микроорганизмов, изменению численности систематических групп микроорганизмов (бактерии, актиномицеты, дрожжи и мицелиальные грибы), увеличению количественного и расширению качественного состава основных физиологических групп бактерий (азотфиксирующие, целлюлолитические и фосфатмобилизующие).

Ключевые слова: микроорганизмы, ассоциация агрономически ценных или эффективных микроорганизмов (ЭМ-ассоциация), микрофлора, деградированные почвы

EFFECT OF THE ASSOCIATION OF AGRONOMICAL VALUABLE MICROORGANISMS ON MICROFLORA OF DEGRADED SOILS

Smirnova I.E., Sadanov A.K., Nurmuhambetova A.M., Sultanova A.Z.

*Institute of Microbiology and Virology, Almaty,
e-mail: iesmirnova@mail.ru*

At the present time in many countries around the world observed a substantial degradation of agricultural soils, especially exposed to degradation of pastures. One of the most promising solutions to their restoration is the use of EM technology, which is based on the introduction of the soil associations of effective microorganisms (EM Association). The goal of this study was to investigate the effect of EM associations to change the composition of the microflora of soils degraded pastures and basic physiological groups of soil bacteria (nitrogen-fixing, cellulolytic and the phosphatmobilizing). The introduction of EM-association can't increased the total number of soil's microorganisms and number of different taxonomic groups of microorganisms (bacteria, actinomycetes, yeast and fungi). Also, the quantitative and qualitative composition of the basic physiological groups of bacteria (nitrogen-fixing, cellulolytic and the phosphate) has been increased/

Keywords: microorganisms, the association of effective microorganisms (EM Association), microflora, degraded soils

Анализ современного состояния мирового агропромышленного комплекса показывает, что во многих странах мира отмечается существенная деградация сельскохозяйственных земель. В результате этого процесса из мирового сельскохозяйственного оборота ежегодно выбывает в среднем 8–10 млн., а по максимальным оценкам – даже 15–20 млн. га продуктивных почв [4,9]. Особенно, деградации подвержены пастбищные земли, что связано с нерегулируемым выпасом скота и отсутствием контроля над состоянием пастбищ. Так, например, в Казахстане, большая часть пастбищ серьезно нарушена, исчезли ценные кормовые травы, почвы сильно истощены, потери гумуса в них составляют 25–30 %. Ветровой эрозии подвержены 60 % пастбищных земель, более 50 % почв в той или иной степени засолены, 26 % составляют пастбища, где изменения приобрели необратимый характер, то есть их самовосстановление невозможно или требует крупные вложения и длительный заповедный режим [1].

Одним из наиболее перспективных решений восстановления деградированных почв является использование ЭМ-технологии (технология эффективных или агрономически ценных микроорганизмов) [7]. При этом решающим фактором становится поддержание почвы в биологически активном состоянии и состоит во внесении в почву ассоциации агрономически ценных микроорганизмов или эффективных микроорганизмов (ЭМ).

Применение ЭМ-технологии для повышения плодородия истощенных и нарушенных почв основано на интродукции ассоциаций агрономически ценных микроорганизмов (ЭМ-ассоциаций) в виде суспензии клеток. В состав ЭМ-ассоциаций включают высокоэффективные микроорганизмы с полифункциональными свойствами. Обязательным условием является наличие основных групп бактерий: азотфиксирующих, целлюлолитических, фосфатмобилизующих и силикатных, выполняющих почво-восстановительную функцию. Применение ЭМ-ассоциаций улучшает по-

ченные процессы, способствует повышению и сохранению плодородия почв. Кроме того, микроорганизмы, входящие в состав ассоциаций, продуцируют фитогормоны, витамины, органические кислоты, антибиотки и другие биологически активные вещества, которые положительно влияют на почвенную биоту и растения фитocenozов [8,10]. Следует отметить что, несмотря на значительный интерес исследователей к вопросу о применении ЭМ-ассоциаций, в литературе мало сведений о влиянии интродукции ЭМ-ассоциаций на микрофлору деградированных почв.

Целью данного исследования было изучение влияния ЭМ-ассоциаций на изменение состава микрофлоры почв деградированных пастбищ и основных физиологических групп почвенных бактерий (азотфиксирующих, целлюлолитических и фосфатмобилизующих).

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служила созданная нами ЭМ-ассоциация, характеризующаяся высокой ростостимулирующей активностью по отношению к луговым травам пастбищ и повышающая ферментативную активность и интенсивность дыхания почв.

В опытах использовали почву, собранную на деградированных пастбищах Илийского района Алматинской области Казахстана. В вегетационные сосуды (250 мл) со 150 г почвы вносили определенное количество клеточной суспензии ЭМ-ассоциации с титром 108кл/мл. В качестве контроля использовали почву без внесения ассоциаций. Определяли общее количество микроорганизмов, численность различных систематических групп (бактерии, актиномицеты, дрожжевые организмы и мицелиальные грибы) и качественный и количественный состав основных физиологических групп бактерий (азотфиксирующих, целлюлолитических и фосфатмобилизующих).

Общее число микроорганизмов разных систематических групп (бактерии, актиномицеты, дрожжевые организмы и мицелиальные грибы) определяли по общепринятым методикам [3]. Для изучения качественного и количественного состава основных физиологических групп бактерий использовали стандартные методы [2]. Целлюлолитические микроорганизмы выделяли на среде Гетчинсона с 1% Na-КМЦ (водорастворимая Na-карбоксиметилцеллюлоза), азотфиксирующие – на средах Эшби, №79 и среде Омелянского, фосфатмобилизующие – на среде Муромцева.

При статистической обработке результатов находили средние геометрические логарифмы при основании два [6] с помощью программного обеспечения «Microsoft Excel 97».

Результаты исследования и их обсуждение

Ранее нами была создана ЭМ-ассоциация, в состав которой входили целлюлолитические бактерии рода *Bacillus*, азотфиксирующие бактерии рода *Azotobacter* и фосфатмобилизующие бактерии рода *Bacillus*. Силикатные бактерии не были включены в состав ассоциаций из-за их высокой численности в почвах дегради-

рованных пастбищ Алматинской области. ЭМ-ассоциация, характеризуется высокой ростостимулирующей активностью по отношению к луговым травам пастбищ и повышала ферментативную активность и интенсивность дыхания почв.

Модельные опыты по изучению влияния ЭМ-ассоциации на состав микрофлоры почвы проводили в лабораторных условиях в климатической камере (Constant Climate Chamber HPP-750, «Mettmert», Germany). Полученные данные по влиянию внесения ЭМ-ассоциации на микрофлору деградированных почв представлены в таблице.

Из данных таблицы хорошо видно, что общее количество микроорганизмов (ОМЧ) в деградированных истощенных почвах было крайне низким и составляло 10³КОЕ/г почвы. Численность бактерий составляла 10³КОЕ/г почвы, актиномицетов – 10² КОЕ/г почвы, мицелиальных грибов – 2,1×10³ КОЕ/г почвы. Дрожжевые организмы присутствовали в незначительном количестве и представлены единичными колониями. Эти показатели свидетельствуют о существенном обеднении почвенной микрофлоры и нарушении экологического равновесия в почвах деградированных пастбищ.

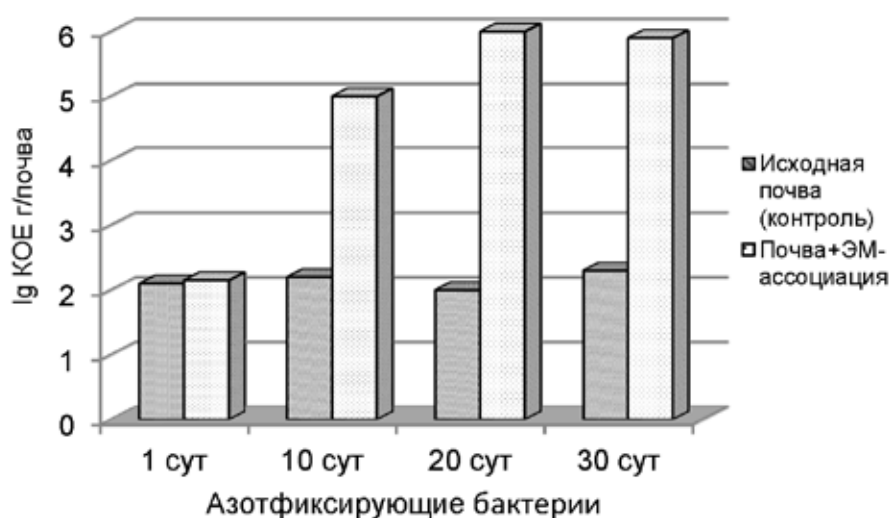
Внесение ЭМ-ассоциаций значительно активизировало микрофлору истощенных почв. Так, уже через десять суток после внесения ЭМ-ассоциаций установлено увеличение, как общего числа микроорганизмов, так и всех систематических групп микроорганизмов. Показано, что если в исходной почве численность микроорганизмов составляла 10²–10³ КОЕ/г почвы, то на 20 сутки после внесения ЭМ-ассоциации она возросла до 10⁷ КОЕ/г почвы и оставалось на этом же уровне после 30 суток опыта. Содержание бактерий увеличилось на четыре порядка, численность актиномицетов – на два порядка. Количество дрожжевых организмов, которые были представлены в деградированных почвах единичными колониями, возросло до 10⁴КОЕ/г почвы. В то же время, отмечено снижение численности мицелиальных грибов на порядок, что свидетельствует о нормализации почвенной микрофлоры.

Далее проведено изучение влияния ЭМ-ассоциации на качественный и количественный состав основных физиологических групп бактерий.

Свободноживущие азотфиксирующие бактерии присутствуют в большинстве типов почв, и их процент от общего количества микроорганизмов является индикатором ее плодородия. Результаты влияния ЭМ-ассоциации на количественный и качественный состав азотфиксирующих бактерий представлены на рис. 1.

**Динамика изменения количественного состава микрофлоры деградированных почв
после внесения ЭМ-ассоциации**

Варианты опыта	ОМЧ	Бактерии, КОЕ/г почвы	Актиноми- цеты, КОЕ/г почвы	Дрожжи, КОЕ/г почвы	Грибы, КОЕ/г почвы
1 сутки					
Исходная почва	$(1,3 \pm 0,1) \times 10^3$	$(2,4 \pm 0,2) \times 10^3$	$(3,4 \pm 0,1) \times 10^2$	един. колонии	$(2,1 \pm 0,1) \times 10^3$
Почва+ ЭМ-ассоциация	$(1,4 \pm 0,1) \times 10^3$	$(2,0 \pm 0,2) \times 10^3$	$(3,5 \pm 0,1) \times 10^2$	един. колонии	$(2,7 \pm 0,1) \times 10^3$
10 суток					
Исходная почва	$(1,4 \pm 0,2) \times 10^3$	$(2,0 \pm 0,1) \times 10^3$	$(3,0 \pm 0,1) \times 10^2$	един. колонии	$(2,3 \pm 0,2) \times 10^3$
Почва+ ЭМ-ассоциация	$(2,9 \pm 0,8) \times 10^5$	$(4,8 \pm 0,2) \times 10^5$	$(1,1 \pm 0,8) \times 10^3$	$(1,7 \pm 0,2) \times 10^2$	$(5,5 \pm 0,3) \times 10^3$
20 суток					
Исходная почва	$(1,2 \pm 0,1) \times 10^3$	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^3$	$(3,2 \pm 0,1) \times 10^2$	един. колонии	$(1,8 \pm 0,1) \times 10^3$
Почва+ ЭМ-ассоциация	$(8,7 \pm 0,1) \times 10^7$	$(5,3 \pm 0,2) \times 10^7$	$(5,1 \pm 0,2) \times 10^4$	$(2,5 \pm 0,2) \times 10^4$	$(6,1 \pm 0,2) \times 10^2$
30 суток					
Исходная почва	$(1,3 \pm 0,2) \times 10^3$	$(2,4 \pm 0,2) \times 10^3$	$(2,8 \pm 0,1) \times 10^2$	един. колонии	$(2,2 \pm 0,1) \times 10^3$
Почва+ ЭМ-ассоциация	$(9,9 \pm 0,5) \times 10^7$	$(6,8 \pm 0,3) \times 10^7$	$(5,7 \pm 0,3) \times 10^4$	$(2,3 \pm 0,1) \times 10^4$	$(5,8 \pm 0,1) \times 10^2$



*Рис. 1. Динамика изменения численности азотфиксирующих бактерий
после внесения в почву ЭМ-ассоциации*

На рис. 1 видно, что в исходной почве численность свободноживущих азотфиксирующих бактерий была низкой и составляла 102 КОЕ/г почвы, что свидетельствует о недостатке питательных веществ и условий, необходимых для развития этой группы бактерий. При внесении ЭМ-ассоциаций происходило значительное увеличение численности азотфиксирующих бактерий. Так, после десяти суток внесения ассоциации количество бактерий составляло 105 КОЕ/г почвы, после 20 суток – 106 КОЕ/г почвы, и оно сохранялось на том же уровне после 30 суток опыта. Установлено существенное изменение качественного состава азотфиксирующих бактерий. Так, если в исходной почве доминирующим был род бактерий *Azospirillum*, то при внесении ЭМ-ассоциаций выявлено повышение численности не только бактерий рода *Azotobacter*, входящих в состав ЭМ-ассоциации, но и бактерий-азотфиксаторов родов *Azomonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Agrobacterium*. Возрастание численности свободноживущих азотфиксаторов, изменение их таксономического состава и выявление других родов бактерий свидетельствует об интенсификации процессов распада органического вещества почвы, в том числе, почвенного перегноя, что способствует нормализации процессов азотфиксации и улучшению азотного почвенного обмена.

Целлюлоза составляет основную массу растительных остатков в почве и, в этой связи, роль целлюлолитических микроорганизмов в почвенных процессах исключительно велика. Их содержание является важным показателем плодородия почв.

На рис. 2 представлены результаты по влиянию ЭМ-ассоциации на состав целлюлолитических бактерий.

На рис. 2 видно, что в исходной почве численность представителей этой группы бактерий была низкой и составляла 10^3 КОЕ/г почвы. После внесения ЭМ-ассоциации численность этой группы бактерий значительно возросла. Так, через десять суток после внесения ассоциации она увеличилась на два порядка, через 20 суток – на три порядка, и оставалась на том же уровне после 30 суток опыта. Исследование качественного состава показало, что в исходной почве доминирующими были два рода целлюлолитических бактерий – *Bacillus* и *Pseudomonas*, после внесения ЭМ-ассоциаций родовой состав значительно расширился, были обнаружены бактерии рода *Bacterium*, *Cellvibrio*, *Cellulomonas*. Увеличение численности и родового разнообразия этой группы бактерий свидетельствует о значительной активации процессов разложения целлюлозосодержащих субстратов в почве. Кроме того, эти показатели указывают на усиление интенсивности процесса почвенной гумификации и восстановления биологической активности почвы.

Важным элементом почвы является фосфор, однако, несмотря на высокое общее содержание фосфора в почвах, он преимущественно находится в малоподвижных формах. Только микроорганизмы обладают способностью мобилизовать фосфаты и обогащать почвы этим элементом. Результаты влияния ЭМ-ассоциации на изменение качественного и количественного состава фосфатмобилизирующих бактерий представлены на рис. 3.

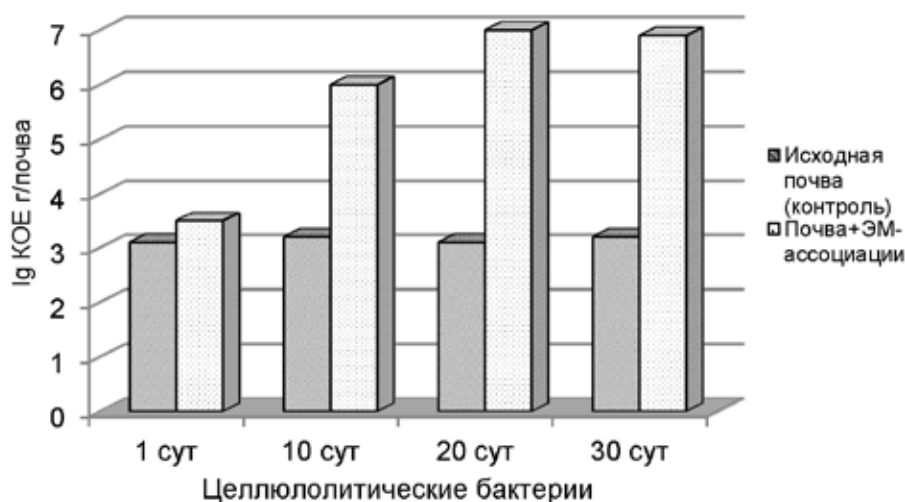


Рис. 2. Динамика изменения количества целлюлолитических бактерий после внесения в почву ЭМ-ассоциации

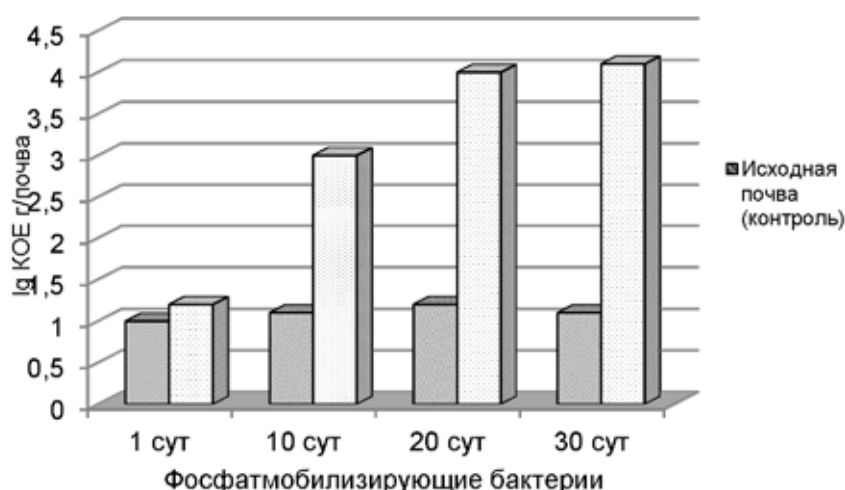


Рис. 3. Динамика изменения численности целлюлолитических бактерий после внесения в почву ЭМ-ассоциации

На рис. 3 видно, что исходная почва характеризуется крайне низкой численностью фосфатмобилизирующих бактерий, которое составляло 10^1 КОЕ/г почвы. При внесении ЭМ-ассоциаций происходит значительное увеличение численности фосфатмобилизирующих бактерий. Так, после десяти суток внесения ассоциации количество фосфатмобилизирующих бактерий составляет 10^3 КОЕ/г почвы, после 20 суток – 10^5 КОЕ/г почвы, и сохраняется на этом же уровне после 30 суток опыта. Изучение качественного состава фосфатмобилизирующих бактерий показало, что, если в исходной почве преобладал род *Bacillus*, то после внесения ЭМ-ассоциаций родовой состав фосфатмобилизаторов изменился в сторону его расширения и были обнаружены представители родов *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Bacterium* и *Agrobacterium*.

Заключение

Показано, что внесение ЭМ-ассоциации приводит к существенному повышению общей численности микроорганизмов, изменению количественного и расширению качественного состава основных физиологических групп почвенных бактерий. Повышение численности азотфиксаторов и расширение их таксономического состава свидетельствует об усилении процессов азотфиксации и улучшении азотного обмена в почвах. Увеличение численности и расширение таксономического состава целлюлолитических бактерий свидетельствует об ускорении процессов разложения целлюлозосодержащих веществ (отмершие корни, стебли, листовой опад и др.) в почве. При этом происходит улучшение структуры почвы, увеличение содержания питательных веществ, что приводит к активации

развития полезной почвенной микрофлоры и повышению ее биологической активности. Повышение численности и изменение таксономического состава фосфатмобилизирующих бактерий способствует обогащению почвы растворимыми соединениями фосфора, что играет важную роль в улучшении фосфорного питания микроорганизмов почвы и высших растений.

Можно сказать, что внесение ЭМ-ассоциаций повышает содержание микроорганизмов в почве, меняет их качественный состав; нормализует микрофлору и улучшает структуру почвы, что способствует восстановлению плодородия деградированных почв.

Список литературы

1. Абсеитов А.К. Центральная Азия: концепции, методология и новые подходы // Развитие сельскохозяйственных наук в Центральной Азии: тезисы докл. Междун. науч. конф. – Алматы, 2012. – С.21–25.
2. Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. – М.: МГУ, 1996. – 307 с.
3. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: МГУ, 1991. – 304 с.
4. Макасовский В.П. Географическая картина мира. Книга 2. Региональная характеристика мира. – 4-е изд. – М.: Дрофа, 2008. – 495 с.
5. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М.: Мир, 1975. – 295 с.
6. Condor A.F., Gonzalez P.P., Lokare C. Effective Microorganisms: Myth or reality. // Rev. Peru. Biol. – 2007. Vol. 14, № 12. – P.315–319.
7. Jamal T., Hasrum H., Anwer A.R., Saad M.S., Shariffuddin H.A. Effect of EM and fertilization on soil physical properties under sweet potato cultivation // 14-th EM-Technology: paper pres. at the Int. Conf. (Saraburi, May 15–17, 2013). – Thailand, 2013. – P. 295–302.
8. Kotlyarova E.G., Cherniavskikh V.I., Dumacheva E.V. Ecologically Safe Architecture of Agrolandscape is basis for sustainable development // Sust. Agricul. Res. – 2013. Vol. 2, № 2. – P. 11–24.
9. Mayer J., Scheid S., Widmer F., Fließbach A., Oberholzer H.-R. How effective are “Effective microorganisms (EM)”?. Results from a field study in temperate climate // Appl. Soil. Eco. – 2010. Vol.46, №2. – P. 230–239. doi:10.1016/j.apsoil.2010.08.007.