

УДК 633. 72: 631.8(470)

ВЛИЯНИЕ КОРНЕВОГО ПРИМЕНЕНИЯ КАЛЬЦИЕВОЙ СЕЛИТРЫ НА ЧИСЛЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВАХ ПОД КУЛЬТУРОЙ ЧАЯ В СУБТРОПИЧЕСКОЙ ЗОНЕ РОССИИ

Малюкова Л.С., Рогожина Е.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный
исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии
наук» г. Сочи, Россия, e-mail: MalukovaLS@mail.ru*

Исследования выполнены за счет средств гранта РФФИ и Администрации Краснодарского края № 19-416-230049.

Длительное применение в агроэкосистемах основной группы минеральных удобрений (НРК) оказывает существенное влияние на свойства почв, их питательный режим, а также обеспеченность растений элементами. В этом аспекте особый интерес представляет изучение воздействия кальция, который в системе питания чая, относящегося к ацидофильным растениям, не рассматривается как первоочередной, но при этом является базовым структурным и сигнальным элементом. В полевом опыте исследовано влияние корневого применения кальциевой селитры (как альтернативы аммиачной селитры) на численность основных таксономических групп почвенного микробоценоза: сапротрофных бактерий, актиномицетов и микромицетов, количественный учет которых осуществляли методом поверхностного посева из 10-кратных разведений на плотные селективные питательные среды. Установлено, что применение кальциевой селитры приводило к увеличению численности сапротрофных бактерий, а также изменению их морфологических характеристик. Для мицелиальных групп микроорганизмов отмечено снижение численности микромицетов, относящихся к ацидофильным микроорганизмам, и значительно более выраженное спороношение актиномицетов под влиянием удобрений с кальцием.

Ключевые слова: *чайное растение, микробоценоз, кальций, биогенные элементы, экологические условия, минеральные удобрения*

При возделывании чая в России, как и в ряде других регионов мира, внесение минеральных удобрений является одним из основных, наиболее эффективных агротехнических приемов, обеспечивающих получение высоких урожаев [14; 18, 30]. Несбалансированное, как правило 3-х компонентное, применение минеральных удобрений оказывает существенное влияние на свойства почв, их питательный режим, а также обеспеченность растений другими элементами [16, 1, 21, 8, 19]. При длительном возделывании чая прослеживаются изменения кислотно-основных и агрофизических свойств [12, 10]; макро- [9, 11] и микроэлементного состава [20, 21], гумусного состояния [2], а также биологической активности почв: ферментативной активности [28], эмиссии CO₂ [17] азотфиксирующей активности [24], численности основных групп почвенных микроорганизмов, особенно в верхних горизонтах [25, 26]. Учитывая это, важным является изучение роли более широкого спектра биогенных макро- и микроэлементов в регулировании агроэкологического статуса почв, базовым функциональным компонентом которого, является состояние микробоценоза. В этом аспекте особый интерес представляет изучение воздействия кальция, который в системе питания чая, относящегося к ацидофильным растениям,

не рассматривается как первоочередной элемент. При этом некоторые исследователи [3, 14, 31], в том числе и авторы [15, 18], отмечают положительный эффект от применения этого элемента на чайных плантациях. Так, показана эффективность применения кальция в условиях выщелоченных красноземов и подзолистых почв Грузии [3, 14]. В условиях Черноморского побережья России внесение природного кальцийсодержащего удобрения восстанавливало содержание в почве его обменных форм, что положительно сказывалось на устойчивости растений к засухе [15], и формированию урожайности [15, 18]. Также показано влияние кальция на снижение окислительных повреждений у чая при засухе посредством индуцирования антиоксидантной системы [15, 31]. Однако, при этом недостаточно изучено влияние кальциевых удобрений, в частности кальциевой селитры, на почвенный микробиоценоз субтропических почв, используемых под культуру чая, чему и посвящено данное исследование.

Исследования были проведены на плантации чая сорта Колхида 1983 г. посадки в (г. Сочи, п. Дагомыс, п. Уч-Дере), на базе полевого мелкоделяночного опыта, заложенного в 2019 г. Опыт включал 2 варианта, которые отличались формами азотных удобрений, используемых в качестве подкормки в летний период: контроль - применение аммиачной селитры (NH_4NO_3) и вариант с нитратной формы кальциевого удобрения ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$). Базовые удобрения вносили в ранневесенний период в поверхностный слой почвы в дозе N150P70K90 для каждого варианта. В летний период осуществляли подкормку азотными удобрениями в 2-х различных формах (аммиачная и кальциевая селитра в соответствии с вариантами опыта) в единой дозе N100. При этом с кальциевой селитрой в почву поступало 150 кг д.в./га Са. Площадь опытной делянки – 5 м², полевая повторность 3-х кратная. Исследования проводили на основном зональном типе почв: бурых лесных (подтип бурых лесных кислых), согласно [6]. Согласно Классификацией почв России [7], почвы относятся к агроземам структурно-метаморфическим (Anthrosols), в скобках приведено название почв в соответствии с World Reference Base for Soil Resources WRB [32]. Для исследования из верхнего корнеобитаемого слоя (10–20 см) отбирали образцы почвы (июль 2019 г.), непосредственно примыкающей к корням (ризосферный локус).

Микробиологический анализ. Количественный учет представителей основных таксономических групп сапротрофного микробного сообщества почв (бактерий, актиномицетов, микромицетов) осуществляли методом поверхностного посева из 10-кратных разведений на плотные селективные питательные среды [22, 23]. Метод, не являясь универсальным, остается одним из самых распространенных в практике исследования почв [13, 27, 29]. Согласно методике, для каждой группы микроорганизмов подбирали оптимальное разведение почвенной суспензии, позволяющее получать 10-50 КОЕ (колониеобразующих единиц) на чашке: для бактерий – 5×10^3 ; для актиномицетов и микромицетов – 50. Для определения численности сапротрофных бактериальных сообществ гумусовых и минеральных горизонтов исследуемых почв, использовали модифицированную глюкозо-пептонно-дрожжевую среду [5]. Культивировали в течение 3 суток. Численность актиномицетов (преимущественно род *Streptomyces*) определяли на минеральной среде Гаузе-1 с добавлением пенициллина (1 мг/л), цефтриаксона (25 мг/л) для подавления роста бактерий и нистатина (50 мг/л) для ограничения роста грибов, что рекомендовано в [23]. Антибиотики вносили асептически в колбы со стерильной, охлажденной до 45°C средой. Культивировали 7 - 10 дней.

Микромицеты культивировали на среде Чапека, подкисленной стерильной молочной кислотой в концентрации 4 мг/л [23]. Среда предназначена для роста быстрорастущих форм микромицетов, «сахаролитических» грибов. Молочная кислота обеспечивает подавление роста прокариот (бактерий и актиномицетов) и

вносится асептически в стерильную, охлажденную до 45°C среду. Культивировали 5-7 суток.

Учет численности микроорганизмов проводили в 5-ти кратной лабораторной повторности, расчет их величин выполнен на вес сухой почвы (105°C, 8 ч). Морфологию бактериальных колоний изучали с помощью стереоскопического микроскопа Альтами СМ 07-45Т при увеличении x45, колонии стептомицетов идентифицировали по морфологическим признакам, используя световой микроскоп марки Imager. M2 (Германия) при увеличении x45.

Численность представителей разных таксономических групп почвенного микробоценоза в период исследования соответствовала уровню, установленному ранее для данного типа почв в условиях чайной плантации [25]: бактерии – 10^6 КОЕ/г абс. сух. почвы; актиномицеты – 10^4 КОЕ/г абс. сух. почвы и микромицеты 10^3 – 10^4 КОЕ/г абс. сух. почвы (рис. 1).

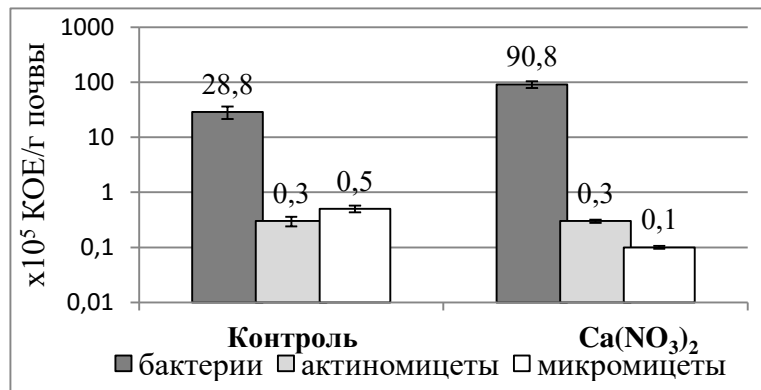


Рис.1 Численность представителей основных таксономических групп сапротрофных микроорганизмов бурых лесных кислых почв чайной плантации в вариантах опыта

Исследуемые микробные группы являлись сапротрофными микроорганизмами, играющими важную роль в разложении свежего органического вещества, поступающего в почву. На фоне внесения кальциевой селитры наблюдалось увеличение численности представителей сапротрофных бактерий в 3 раза (рис.1), что не приводило к существенному изменению структуры бактериального микробного комплекса, однако свидетельствовало о стимуляции роста представителей этой таксономической группы, возможно с изменением доминирования нескольких видов (рис.2).

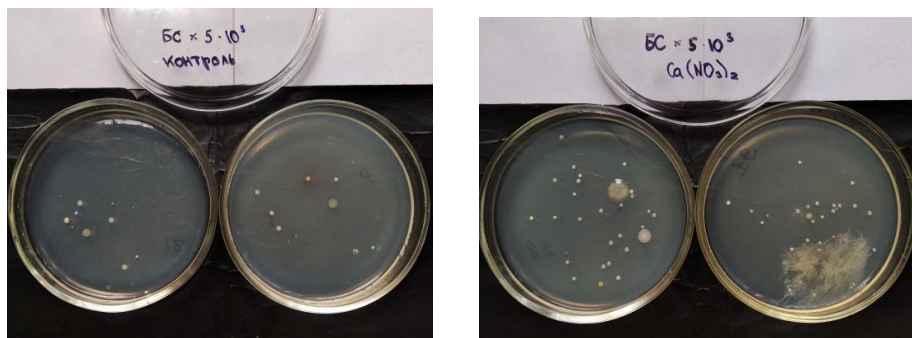


Рис. 2 Колонии бактерий на богатой органической среде (BC) – глюкозо-пептонно-дрожжевой: А – контроль; Б – Ca(NO₃)₂

Микроскопирование (x45) показало, что в сравнение с контролем, доминирующие бактериальные колонии в варианте с кальциевой селитрой

морфологически отличались (более мелкие формы, правильно округлые, полупрозрачные, поверхность гладкая, жирно-блестящая, влажная, слегка выпуклая; края ровные, структура гомогенная, консистенция слизистая) (рис. 3), что может быть связано с изменением их видового состава, о чем пишут и другие исследователи при изучении влияния кальцийсодержащих веществ [4].

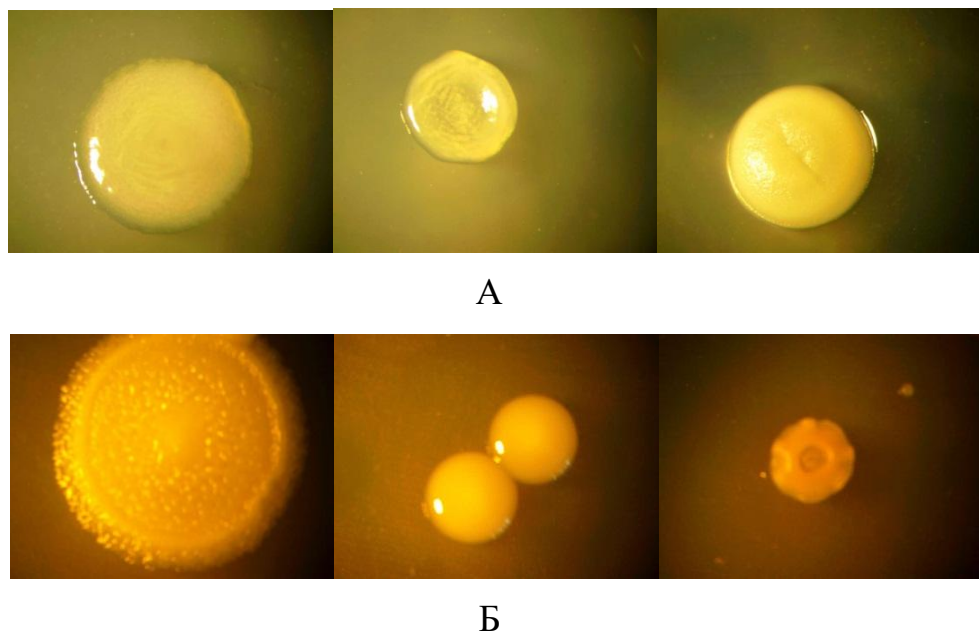


Рис.3 Морфология колоний бактерий (x45) на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде, культивированных из почв А – контрольного варианта; Б – с кальциевой селитрой $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Численность актиномицетов (в основном род *Streptomyces*) в почве, на фоне применения кальциевой селитры была на уровне контроля (рис.1, 4). Однако при этом выявлено их морфологическое отличие от контроля, в частности более активное спороношение, что может быть следствием изменения состава доминирующих видов (рис. 5 Б).

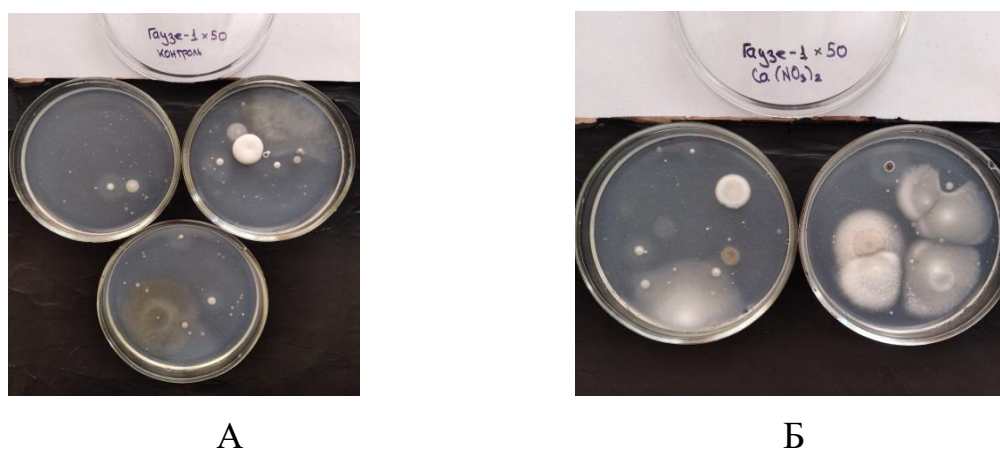


Рис. 4 Колонии актиномицетов на минеральной среде Гаузе-1: А – контроль; Б – $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

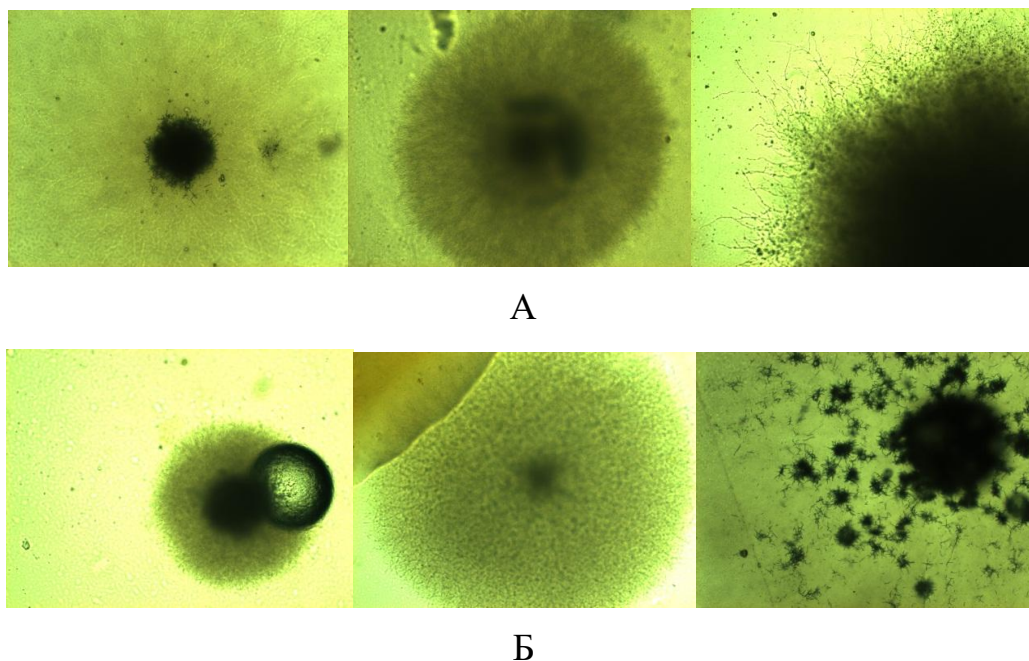


Рис. 5 Морфология колоний актиномицетов (x45) на среде Гаузе-1: А – контроль; Б – $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Так, исследования Н.Ф. Гомоновой и др. [4] показали, что под влиянием кальцийсодержащих веществ (известь) на фоне НРК, происходило изменение комплекса почвенных мицелиальных прокариот (актиномицетов) за счет состава доминирующих видов и расширения видового спектра каждой секции и серии. Объяснение этому явлению может служить известная кальциефильность мицелиальных прокариотов, улучшающая прорастание спор и рост мицелия.

Численность микромицетов под влиянием кальциевой селитрой снижалась в 5 раз (рис.1, б), что объясняется преимущественным развитием в кислых почвах ацидофильных видов, численность которых лимитируется кислотностью почвенного раствора.

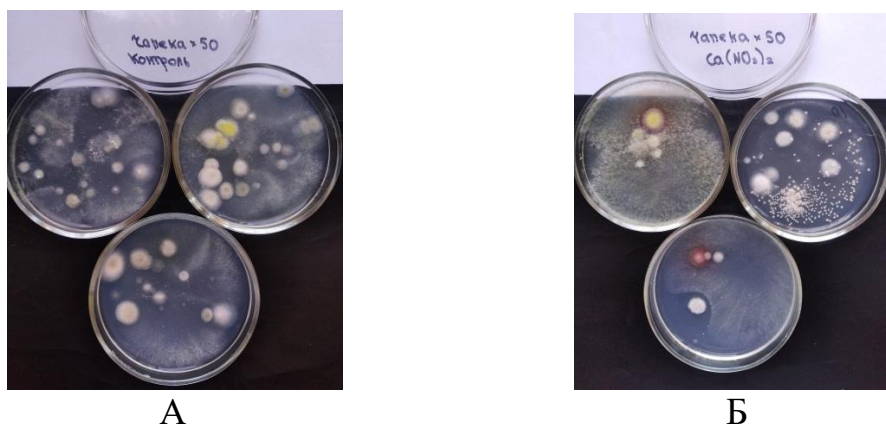


Рис.6 Колонии микромицетов на подкисленной среде Чапека: А – контроль; Б – $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Таким образом, установлено, что применение кальциевой селитры на почвах чайной плантации, как альтернативы аммиачной селитры, оказывает существенное влияние на почвенный микробоценоз. Отмечается тенденция увеличения численности сапротрофных бактерий и изменения их морфологии, что может предполагать изменение доминирования видов. Для мицелиальных групп отмечено

снижение численности микромицетов, относящихся к ацидофильным микроорганизмам и значительно более выраженное спороношение актиномицетов под влиянием удобрений с кальцием.

Библиографический список

1. Беседина Т.Д. Агрогенная трансформация почв влажных субтропиков России под культурой чая. – Краснодар: КубГАУ, 2004– 169 с.
2. Владыченский А.С., Малюкова Л.С., Козлова Н.В. Гумусное состояние бурых лесных кислых почв и его изменение при интенсивном возделывании культуры чая в условиях субтропической зоны РФ // Вестник Моск. ун-та. Сер. Почвоведение. – 2007. – № 4. – С. 10–16.
3. Годзиашвили Б.А. Влияние химической мелиорации длительно удобряемого краснозема на рост и развитие чайных саженцев // Субтроп. культуры. — 2010. — № 1–4. — С. 148–151.
4. Гомонова Н.Ф., Скворцова И.Н., Зенова Г.М. Результаты длительного применения различных видов и сочетаний удобрений на дерново-подзолистых почвах // Почвоведение. – 2007. – № 4. – С. 498–504
5. Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н., Лысак Л.В. Методы выделения и идентификации почвенных бактерий. М.: Изд-во МГУ, 1989. – 72 с.
6. Классификация и диагностика почв СССР. Москва: Колос, 1977. 224 с.
7. Классификация почв России // Составители: Л.Л. Шишов, В.Д. Тонконогов, И.И. Лебедева, М.И. Герасимова М.: Почвенный институт им. В.В. Докучаева РАСХН. 2008. С. 57–61.
8. Козлова Н.В. Состояние бурых лесных кислых почв чайных плантаций при длительном применении минеральных удобрений в субтропиках России: дис. ...канд. биол. наук. – Москва, 2008. – 200 с.
9. Козлова Н.В., Керимзаде В.В. Динамика азотного фонда бурых лесных почв влажных субтропиков России в многофакторном полевом опыте с удобрениями на культуре чая // Плодоводство и ягодоводство России. – 2018 – Т. 53. – С. 138-146. – ISSN 2073-4948.
10. Козлова Н.В., Керимзаде В.В. Скорость агрогенной ацидизации бурых лесных почв чайных плантаций в условиях влажных субтропиков России // Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – № 51. – С. 259-267. – ISSN 2073-4948.
11. Козлова Н.В., Керимзаде В.В. Фосфатный режим бурых лесных кислых почв субтропиков РФ при эксплуатации чайных плантаций с различной нагрузкой удобрениями // Плодоводство и ягодоводство России. – 2018. – Т. 54. – С. 246-253. – ISSN 2073-4948.
12. Козлова Н.В., Малюкова Л.С. Влияние длительного применения минеральных удобрений на кислотно-основное состояние бурых лесных кислых почв чайных плантаций субтропиков России // Агрохимия. – 2007. – №9. – С. 1–7.
13. Круглов Ю.В. Микробное сообщество почвы: физиологическое разнообразие и методы исследования (обзор) // Сельскохозяйственная биология. –2017. –№1. – С. 46–59.
14. Культура чая в СССР / М.К. Дараселия и др.; отв. ред. Р.Д. Панцхава. — Тбилиси: Мецниереба, 1989. — 558 с.
15. Малюкова Л.С., Притула З.В., Козлова Н.В., Керимзаде В.В., Великий А.В. О формировании устойчивости у растений чая (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) при недостаточном водообеспечении на фоне корневого внесения кальция в виде природного удобрения // Сельскохозяйственная биология, 2016. - т. 5. - №5. - С. 673-679.

16. Малюкова Л.С., Аргунова В.А., Юткина И.В., Губарева А.А. Влияние длительного применения минеральных удобрений на химический состав бурой лесной кислой почвы под чайной плантацией в условиях влажных субтропиков России // *Агрохимия*. – 1999. – № 10. – С. 33–40.
17. Малюкова Л.С., Керимзаде В.В., Великий А.В. Влияние различных видов и доз минеральных удобрений на дыхательную активность почв чайных плантаций // *Плодоводство и ягодоводство России: сб. науч. работ ВСТИСП*. – М., 2015. – Т. 43. – С. 132–138
18. Малюкова Л.С., Козлова Н.В., Великий А.В. Влияние мезо- и микроудобрений на урожай чайного листа и плодородие бурых лесных кислых почв чайных плантаций Черноморского побережья России // *Проблемы агрохимии и экологии*, 2012. — № 1. — С. 18–21.
19. Малюкова Л.С., Козлова Н.В., Струкова Д.В., Рогожина Е.В. Некоторые механизмы реализации научных принципов создания устойчивых агроэкосистем в субтропическом земледелии // *Биоресурсы, биотехнологии, экологически безопасное развитие агропромышленного комплекса: сб. науч. тр.* – Сочи: ВНИИЦиСК, 2007. – Вып. 40. – С. 232–248.
20. Малюкова Л.С., Малинина М.С. Особенности поведения металлов (Mn, Zn, Cu) в бурой лесной кислой почве под чайной плантацией в условиях влажных субтропиков России // *Агрохимия*. – 2001. – № 3. – С. 62–68.
21. Малюкова, Л.С. Состояние микроэлементов (Mn, Cu, Zn) в бурых лесных почвах чайных плантаций Черноморского побережья Краснодарского края». Москва, 1997, Москва: автореф. дис... канд. биол. наук. 30 с.
22. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. – 303 с.
23. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
24. Рогожина Е.В., Костина Н.В., Малюкова Л.С. Оценка азотфиксирующей способности почв садовых агроценозов субтропической зоны России // *Вестник Московского университета. Почвоведение*. – 2011. – № 1. – С. 35–38.
25. Рогожина Е.В. Структурно-функциональное состояние микробного комплекса бурых лесных кислых почв влажно-субтропической зоны России при длительном агрогенном воздействии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Петропавловск-Камчатский, 2019. 24 с.
26. Рогожина Е.В., Малюкова Л.С. Групповой состав и функциональная активность комплекса ризосферных микроорганизмов культуры чая в условиях субтропической зоны России // *Субтропическое растениеводство и южное садоводство: сборник науч. тр. Сочи: ВНИИЦиСК, –2009. Вып. 42. Т. 2. – С. 159-168.*
27. Стома Г. В., Манучарова Н. А., Белокопытова Н. А. Биологическая активность микробных сообществ в почвах некоторых городов России // *Почвоведение*. – 2020. – № 6. – С. 703–715
28. Струкова Д.В. Биологическая активность бурых лесных почв агроценозов чая, персика, фундука при длительном применении минеральных удобрений в условиях черноморского побережья России: дис. ... канд. биол. наук. – Сочи, 2015. – 140 с.
29. Cardoso EJB.N., Vasconcellos RLF., Bini D., Miyauchi MYH., Santos C.A., Alves P.R.L., Paula A.M., Nakatani A.S., Pereira J.M., Nogueira M.A. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the

- effects of use and management on soil health // Sci. Agric. 2013. № 70. Pp. 274–289.
30. Li J., Agron M.Sc. The effect of plant mineral nutrition on yield and quality of green tea (*Camellia sinensis* L.) under field conditions // Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Б Kiel, 2005. - 181 p.
 31. Upadhyaya H., Dutta B.K., Sahoo L., Panda S.K. Comparative effect of Ca, K, Mn and B on post-drought stress recovery in tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. Am. J. Plant Sci., 2012, №3: P. 443-460 (doi: 10.4236/ajps.2012.34054).
 32. Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO. Rome. 2014. 181 p.