

<https://doi.org/10.3176/biol.1983.1.06>

УДК 631.416.1+631.427.22+631.465

*Лийс МУРДАМ, Оолу РЫЫС, Луй СИРП, Мария АКСЕЛЬ,
Яан ЛНИВ, Тийу АРУМЯЕ, Нелла ВАРДЬЯС*

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТАЮЩИХ ДОЗ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛУГОВОЙ ПОЧВЫ

Численность почвенных микроорганизмов претерпевает довольно сильные флюктуативные изменения в течение всего года (Рахно, 1964; Рахно и др., 1971). Несмотря на это, каждую исследуемую почву характеризует относительно стабильный средний уровень различных физиологических групп микроорганизмов (Мурдам, Рыыс, 1979) и определенная амплитуда изменений их численности (Тен Хак Мун, Крысанова, 1979). Различные функциональные компоненты почвенного микробоценоза находятся в состоянии естественного динамического равновесия, которое может быть сдвинуто под влиянием антропогенных факторов. Это приводит к изменению соотношения процессов, наблюдаемых в почве. После прекращения антропогенного воздействия постепенно восстанавливается первоначальная численность всех групп микроорганизмов (Тролл и др., 1979). В условиях интенсивного земледелия, в первую очередь при использовании высоких доз минеральных удобрений, особенно азотных, почвы постоянно находятся под сильной антропогенной нагрузкой. Количество применяемого в сельском хозяйстве азота из года в год увеличивается. В период с 1965 по 1975 гг. в СССР поставка сельскому хозяйству азота в форме минеральных удобрений возросла более чем втрое (от 10,3 до 33,6 кг/га пашни) (Народное хозяйство..., 1976). По данным П. М. Смирнова (1977), доля азота удобрений в урожае составляет в среднем 50%. Предполагается, что половина его, в конечном счете, подвергается денитрификации (Ковда, 1979).

Нами была предпринята попытка установить характер влияния долговременного применения минеральных удобрений при возрастающих дозах азота на среднюю численность основных групп почвенных микроорганизмов, нитратредуктазную, нитритредуктазную, уреазную и каталазную активности культурных лугов и на содержание соединений минерального азота в них. Также старались оценить влияние долговременного применения возрастающих доз азотных удобрений на биологические свойства луговых почв, в том числе на свойства, связанные с денитрификацией неиспользованного азота удобрений.

Материал и методика

Анализы проведены в 1979—1981 гг. с дерново-глеевой насыщенной почвой культурных лугов из опытной базы «Куузику» Эстонского НИИ земледелия и мелиорации. Исследованная почва долгое время обрабатывалась удобрениями в следующем сочетании: 1) контроль (без удобре-

ния), 2) $P_{90}K_{120}$, 3) $N_{60}P_{90}K_{120}$, 4) $N_{120}P_{90}K_{120}$, 5) $N_{240}P_{90}K_{120}$, 6) $N_{340}P_{90}K_{120}$. Каждый вариант имел три повторности. Первые четыре варианта обработки были начаты в 1956 г., а остальные в 1965 г. Применяли аммиачную селитру, суперфосфат и калий хлористый. Фосфор и калий вносили в почву осенью, а азот в дозах 60 и 120 кг/га весной. При использовании азота в дозах 240 и 340 кг/га 60% вносили в почву весной до всхода растений, 40% — летом после первого укоса.

Почвенные образцы для анализа брали с глубины 2—15 см в июне 1979 г., в июле 1980 г. и с мая по ноябрь 1981 г. один раз в месяц. В свежих почвенных образцах определяли численность микроорганизмов, содержание минерального азота и реакцию почвы. Ферментативную активность почвы измеряли в воздушно-сухих образцах спустя примерно месяц после их взятия.

Численность микроорганизмов определяли методом разведений: аммонифицирующие бактерии — в среде X_3 (Рахно, 1964), нитрифицирующие — в жидкой среде Виноградского, денитрифицирующие — в среде Гильтая, аэробные целлюлозоразлагающие — в среде Гетчинсона и грибы — на среде Чапека. Обменный аммоний определяли в вытяжке 1 н. KCl методом дистилляции в 0,01 н. H_2SO_4 , фиксированный аммоний — экстракцией в смеси 1 н. HF и 1 н. HCl по Я. М. Бремнеру (Bremner, 1959), нитратный азот — колориметрически с салицилатом натрия. Нитратредуктазную и нитритредуктазную активности почвы устанавливали по частично модифицированной методике А. Ш. Галстяна (1974) — реакцию проводили не в колбах с боковыми кранами и притертыми стеклянными пробками, а в пробирках, которые были помещены в микроанаэростат. Нитратредуктазную активность выражали в миллиграммах нитратного азота, восстановленного за 24 ч при температуре 30° С на 100 г абсолютно сухой почвы, нитритредуктазную активность (в тех же условиях) — в миллиграммах нитритного азота. Уреазазную активность почвы определяли с несслеризацией выскобленного из мочевины аммония колориметрически и выражали в миллиграммах аммиачного азота на 100 г абсолютно сухой почвы за 24 ч при 37°. Каталазную активность почвы определяли газометрически и выражали в миллилитрах кислорода, выделенного за 3 мин на 5 г почвы.

Результаты и обсуждение

Данные о влиянии долговременного применения минеральных удобрений на среднюю численность основных физиологических групп почвенных микроорганизмов представлены на рис. 1. По этим данным видно, что внесение в почву $P_{90}K_{120}$ и азотных удобрений, как правило, снижало среднюю (для периода проведения анализов) численность аммонифицирующих и аэробных целлюлозоразлагающих бактерий, грибов и актиномицетов по сравнению с таковой в почве без удобрения. Исключение составляли нитрифицирующие и денитрифицирующие бактерии, численность которых под влиянием максимально примененных доз азота (340 кг/га) повышалась соответственно в 1,7 и 1,3 раза по сравнению с их численностью в контрольной почве. Что касается аэробных целлюлозоразлагающих бактерий, то их численность была максимальной в контрольном варианте и минимальной в варианте, в котором использовалось 60 кг азота на гектар. Численность аммонифицирующих бактерий и актиномицетов, наоборот, была ниже в почве, обработанной максимальной дозой азота. Наиболее заметное снижение численности нитрифицирующих бактерий и грибов зафиксировано при применении $P_{90}K_{120}$ без азота.

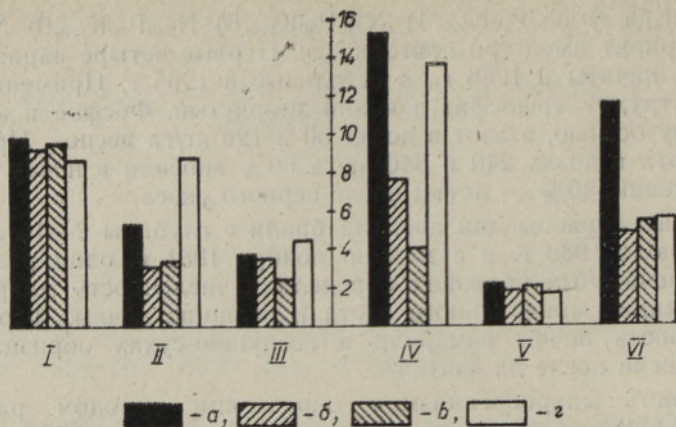


Рис. 1. Средняя численность микроорганизмов на 1 г абс. сухой почвы. I — аммонифицирующие (10^8), II — нитрифицирующие (10^8), III — денитрифицирующие (10^7), IV — аэробные целлюлозоразлагающие бактерии (10^9), V — актиномицеты (10^6) и VI — грибы (10^3); а — контроль, б — $P_{90}K_{120}$, в — $N_{60}P_{90}K_{120}$, г — $N_{340}P_{90}K_{120}$.

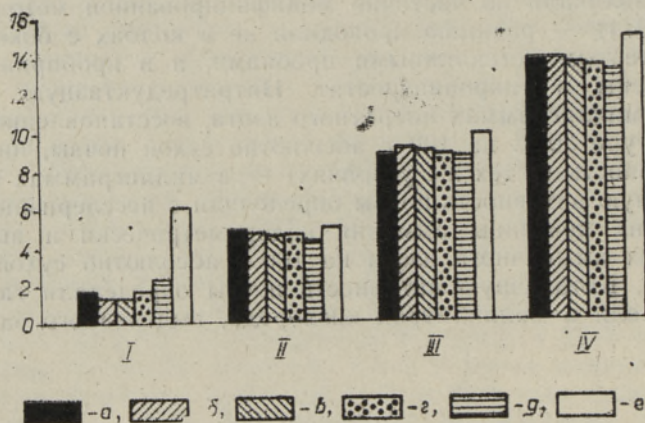


Рис. 2. Среднее содержание соединений азота в почве (мг N/100 г абс. сухой почвы). I — нитраты, II — обменный аммоний, III — фиксированный аммоний, IV — обменный + фиксированный аммоний; а — контроль, б — $P_{90}K_{120}$, в — $N_{60}P_{90}K_{120}$, г — $N_{120}P_{90}K_{120}$, д — $N_{240}P_{90}K_{120}$, е — $N_{340}P_{90}K_{120}$.

Содержание аммиачного азота мало различалось в разных опытных вариантах (рис. 2). Отмечалась тенденция к снижению содержания обменного и фиксированного аммония в почвах, удобренных средними дозами азота, что указывает на возможность уменьшения содержания почвенного азота при долговременном применении минеральных удобрений. Важно отметить, что содержание аммония в почве под влиянием внесения азота в дозе 240 кг/га снижалось, а при дозе 340 кг/га повышалось по сравнению с содержанием его в удобренной почве.

Долговременное применение минеральных удобрений наиболее значительно влияло на уровень нитратов в почве. Содержание их в вариантах $P_{90}K_{120}$ и $N_{60}P_{90}K_{120}$ было одинаковым, но в 1,3 раза заниженным по сравнению с таковым в контрольной почве. При увеличении коли-

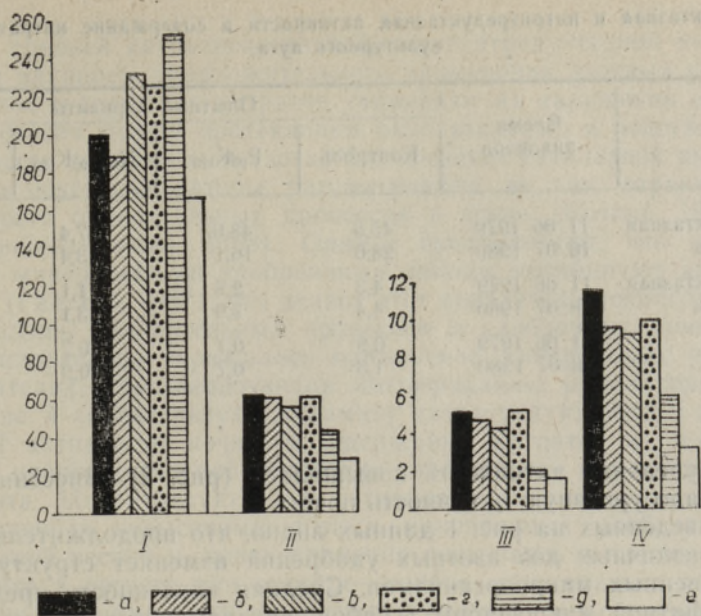


Рис. 3. Ферментативная активность почвы (средняя по всем анализам). I — уреазная (мг N/100 г абс. сухой почвы), II — нитратредуктазная (мг N/100 г абс. сухой почвы), III — нитритредуктазная (мг N/100 г абс. сухой почвы), IV — каталазная (мл O₂/5 г почвы за 3 мин); а — контроль, б — P₉₀K₁₂₀, в — N₆₀P₉₀K₁₂₀, г — N₁₂₀P₉₀K₁₂₀, д — N₂₄₀P₉₀K₁₂₀, е — N₃₄₀P₉₀K₁₂₀.

чества азота в удобрениях, увеличивалось содержание нитратов в почве — в вариантах с 240 кг N/га в 1,3 раза и с 340 кг N/га в 3,6 раза. Судя по тому, что содержание аммиачного азота сравнительно мало различалось в почвах разных опытных вариантов, и численность нитрифицирующих бактерий в варианте с 340 кг N/га была высокой, неиспользованный растениями аммоний подвергался нитрификации. Это обуславливало накопление нитратов в почве. Так как нитраты легко подвергаются вымыванию, можно предположить, что в почвах, удобренных высокими дозами азота, их образовалось намного больше, чем нами было установлено.

Внесение в почву азота в количествах 60, 240 и 340 кг/га на фоне P₉₀K₁₂₀-удобрений подавляло среднюю нитратредуктазную, нитритредуктазную и каталазную активность почв культурных лугов, причем одновременно с повышением количества азота в удобрениях (рис. 3). Среднюю нитратредуктазную, уреазную и каталазную активности также подавляло внесение P₉₀K₁₂₀. Нитратредуктазная и нитритредуктазная активность почвы, получившей 120 кг N/га, была на уровне таковой контрольной почвы. В однократных анализах в июне 1979 г. и в июле 1980 г. зафиксировано отсутствие нитратредуктазной активности почвы, получившей 340 кг N/га (таблица). В период с мая по ноябрь 1981 г. нитратредуктазная активность почвы ни разу не снижалась до нуля (рис. 4). Это говорит о том, что влияние одних и тех же доз удобрений зависит от совокупности почвенных, климатических и, возможно, еще каких-либо условий. В один период времени они усиливают, а в другой — ослабляют влияние исследуемого фактора.

Противоположно нитратредуктазной и нитритредуктазной активности под влиянием внесения в почву азота в количествах от 60 до

Нитратредуктазная и нитритредуктазная активности и содержание нитратов в почве культурного луга

Показатели	Время анализов	Опытные варианты			
		Контроль	P ₉₀ K ₁₂₀	N ₆₀ P ₉₀ K ₁₂₀	N ₃₄₀ P ₉₀ K ₁₂₀
Нитратредуктазная активность	11.06 1979	45,6	48,6	37,4	0,00
	18.07 1980	28,0	16,1	13,4	0,00
Нитритредуктазная активность	11.06 1979	4,3	2,5	1,1	2,7
	18.07 1980	4,4	3,9	3,1	5,0
Нитраты	11.06 1979	0,9	0,7	0,7	3,2
	18.07 1980	1,3	0,7	0,9	6,4

240 кг/га уреазная активность повышалась (рис. 3). Внесение 340 кг N/га снижало уреазную активность почвы.

Из приведенных на рис. 1 данных видно, что продолжительное применение различных доз азотных удобрений изменяет структуру сообществ почвенных микроорганизмов. Средняя численность представителей сапрофитной микрофлоры (грибов, актиномицетов и аммонифицирующих бактерий), как правило, снижалась при применении исследуемых доз минеральных удобрений. Максимальная доза азота (340 кг/га) увеличивала численность микроорганизмов, ответственных за протекание таких важных процессов превращения азота в почве, как нитрификация и денитрификация. Количественные изменения компонентов сообществ почвенных микроорганизмов, безусловно, отражаются на функционировании этих сообществ, что выражается в изменении биохимических свойств почвы, в частности ферментативной активности.

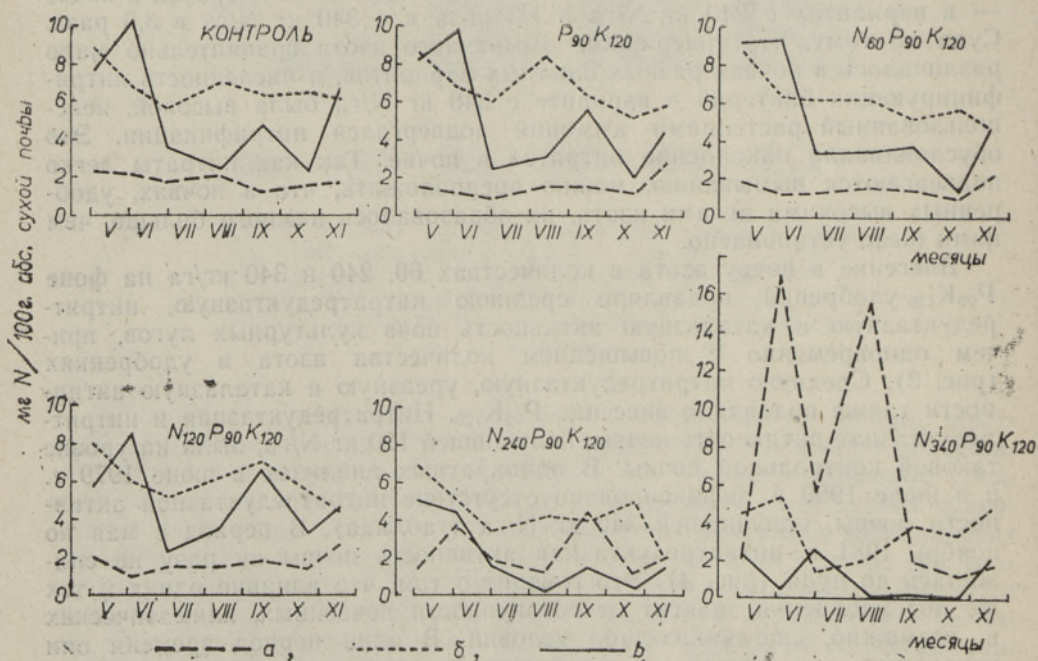


Рис. 4. Динамика содержания нитратов (а), нитратредуктазной (б; значения б даны в 10-кратном уменьшении) и нитритредуктазной активности почвы (а).

Снижение средней нитратредуктазной и нитритредуктазной активности почвы под влиянием продолжительного применения азотных удобрений и повышение содержания нитратов указывают на нарушения естественного равновесия между протеканием окислительных и восстановительных процессов превращения азота. Что касается каталазной активности почвы, то некоторые авторы рассматривают ее как характеристику интенсивности окислительных процессов в почве (Козлов, 1961; Курбатов, Двойнишникова, 1968). Однако предполагают, что введенные в почву с минеральными удобрениями анионы ингибируют активность каталазы (Галстян, 1957), что делает этот показатель непригодным для характеристики окислительных процессов в удобренных почвах. Особенно чувствительно отражалось применение минеральных удобрений на показателях, характеризующих нитрификацию и денитрификацию. Данные рис. 4 характеризуют динамику нитратредуктазной и нитритредуктазной активности почвы и содержания нитратов в почве, подвергнутой продолжительной обработке удобрениями при возрастающих дозах азота. Нитратредуктазная активность в почвах, удобренных или удобренных невысокими дозами минеральных удобрений, была максимальной весной и, кратковременно повышаясь в некоторых вариантах опыта в августе или октябре—ноябре, снижалась в летне-осенний период. Максимальная нитритредуктазная активность почвы установлена в мае и июне. Динамика нитритредуктазной активности почвы часто была противоположной динамике нитратредуктазной активности. Однако общий ход их во всех вариантах опытов был похож, кроме варианта $N_{340}P_{90}K_{120}$, где динамика нитратредуктазной активности резко отличалась от динамики нитритредуктазной активности, так как нитритредуктазная активность с августа по ноябрь практически не наблюдалась. Уровень нитратредуктазной и нитритредуктазной активностей почвы проявлял тенденцию к снижению одновременно с повышением количества азота в удобрениях. Исключение составлял вариант $N_{120}P_{90}K_{120}$, в котором нитратредуктазная и нитритредуктазная активности почвы были на уровне таковых контрольной почвы (рис. 3 и 4).

При сравнении данных, полученных после первого анализа в мае 1981 г., по всем вариантам было отмечено, что нитратредуктазная и нитритредуктазная активности снижались до внесения удобрений. Это показывает, что внесенные в почву в предыдущий год минеральные удобрения оказывали длительное ингибирующее влияние на названные активности.

Динамика содержания нитратов в почвах, не получивших удобрения, или получивших $P_{90}K_{120}$, $N_{60}P_{90}K_{120}$ и $N_{120}P_{90}K_{120}$, была одинаковой, что указывает на нормальный ход трансформации нитратов в почвах. Начиная с дозы азота 240 кг/га содержание нитратов в почве увеличивалось (рис. 2). Отмечены заметные изменения в его динамике, и при дозе 340 кг N/га зафиксированы резкие пики увеличения количества нитратов (рис. 4).

Судя по тому что в почве варианта $N_{120}P_{90}K_{120}$ содержание нитратов не изменилось, а нитратредуктазная и нитритредуктазная активности повысились до уровня их в контрольной почве (рис. 2 и 3), дозу азота 120 кг/га можно считать как бы переходной, при которой почвенный микробоценоз способен обеспечивать неизменное содержание нитратов в почве. Дозы азота 240 кг/га и больше нарушают регуляторные механизмы, обеспечивающие нормальное соотношение между нитрификацией и денитрификацией. Нитратредуктазная и нитритредуктазная активности почвы были заметно ниже, нитритредуктазная активность почвы иногда снижалась до нуля (рис. 4), среднее содержание нитратов в почве увеличивалось (рис. 2 и 4), в динамике содержания нитратов обнаруживались заметные колебания (рис. 4). В почве, удобрен-

ной $N_{340}P_{90}K_{120}$, отмечалось явное нарушение нормального хода денитрификации. Динамика нитратредуктазной и нитритредуктазной активностей и содержание нитратов сильно отличались от таковых в почвах других опытных вариантов, ферментативная активность почвы была минимальной, а содержание нитратов максимальным.

Приведенные данные показывают, что высокие дозы азотных удобрений не только оказывают деструктивное влияние на структуру естественных микробоценозов почвы, но и вызывают заметные нарушения в их функционировании, которое осуществляется через энзиматический аппарат микробных клеток. Несмотря на гомеостаз микроорганизмов, обеспечивающий противостояние вмешательству человека в жизнь почвы, способность обитателей почвы адаптироваться к постоянной антропогенной нагрузке ограничена. Оказалось, что доза 120 кг азота на гектар на фоне $P_{90}K_{120}$ максимальная, с которой может справиться микрофлора почвы. После внесения в почву этой дозы азота нитратредуктазная и нитритредуктазная активности были на том же уровне, что и в неудобренной почве, что обеспечивало сохранение на исходном уровне также содержания нитратов.

Хотя систематическое внесение в почву 340 кг N/га (в наших опытах максимальной дозы) повышало численность денитрифицирующих бактерий, способность почвы катализировать протекание первого и второго этапов денитрификации была довольно скромной, т. е. нитратредуктазная и нитритредуктазная активности были очень низки. Заметное снижение нитратредуктазной и нитритредуктазной активностей почвы обнаружено уже при применении 240 кг азота на гектар. Это свидетельствует о том, что высокие дозы азота вызывают нарушения в нитратредуктазной системе. Обусловленная в основном внутриклеточными ферментами микроорганизмов способность почвы восстанавливать нитраты и нитриты (определена по Галстяну) установлена нами раньше (Мурдам и др., 1978).

Таким образом, проблему трансформации неиспользованного растениями азота удобрений при применении высоких доз нельзя рассматривать только с точки зрения потерь азота в посредничестве диссимилятивной денитрификации или в результате механического вымывания нитратов и нитритов, увеличивающихся пропорционально повышению содержания азота в удобрениях. Неиспользованный азот удобрений нитрифицируется, о чем свидетельствует неизменное содержание аммония в удобренных почвах. Содержание нитратов в почве повышается, а денитрифицирующая способность почвы подавляется, причем тем сильнее, чем больше содержание азота в минеральных удобрениях. В результате этого подавлено или приостановлено и обезвреживание нитратов и нитритов, не удерживаемых почвой и вымываемых в грунтовые воды или открытые водоемы.

Авторы выражают глубокую благодарность академику И. Г. Эйхфельду за проявляемую им постоянную заботу и интерес к стационарным комплексным почвенно-биологическим исследованиям.

ЛИТЕРАТУРА

- Галстян А. Ш. Влияние удобрений на активность каталазы почвы. — Докл. АН АрмССР, 1957, 25, 261—265.
- Галстян А. Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван, 1974.
- Ковда В. А. Современное состояние круговорота азота в биосфере. — В кн.: Круговорот и баланс азота в системе почва—удобрение—растение—вода. М., 1979, 5—8.
- Козлов К. А. Биологическая активность почв Восточной Сибири и ее связь с плодородием почвы. — В кн.: Межвузовская научно-отчетная конференция «Университеты — сельскому хозяйству». М., 1961, 20—22.

- Курбатов И. М., Двойнишникова Е. И. Каталазная активность как показатель общей биологической активности почвы. — В кн.: Сборник докладов симпозиума по ферментам почвы. Минск, 1968, 100—107.
- Мурдам Л. А., Рахно П. Х., Рыбис О. О., Сирп Л. К., Щербакова Т. А. Влияние высушивания и хранения почвенных образцов на их ферментативную активность. — В кн.: Микробиологические основы повышения плодородия почвы. Таллин, 1978, 130—135.
- Мурдам Л. А., Рыбис О. О. Влияние типа почвы, культуры ячменя и минеральных удобрений на численность микроорганизмов и ферментативную активность почвы. — В кн.: Биодинамика и плодородие почвы. Таллин, 1979, 44—51.
- Рахно П. Х. Сезонная количественная динамика почвенных бактерий и факторы, обуславливающие ее. Таллин, 1964.
- Рахно П., Аксель М., Сирп Л., Руйс Х. Динамика численности почвенных микроорганизмов и соединений азота в почве. Таллин, 1971.
- Народное хозяйство СССР в 1975 г. Статистический ежегодник. Москва, 1976.
- Смирнов П. М. Проблемы азота в земледелии и результаты исследований с ^{15}N . — Агрехимия, 1977, 1, 3—25.
- Тен Хак Мун, Крысанова В. П. Экологический анализ динамики микробсообществ в почве. — В кн.: Биодинамика и плодородие почвы. Таллин, 1979, 34—39.
- Троль В. О., Аксель М. Ю., Рыбис О. О., Сирп Л. К. Изменение динамики почвенной микрофлоры при систематическом внесении технологической сточной воды. — В кн.: Биодинамика и плодородие почвы. Таллин, 1979, 176—182.
- Bremner J. M. Determination of fixed ammonium in soil. — J. Agr. Sci., 1959, 52, 2.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
26/VIII 1982

Эстонский научно-исследовательский
институт земледелия и мелиорации

Liis MURDAM, Oolu RÕOS, Lui SIRP, Maria AKSEL,
Jaan LIIV, Tiit ARUMÄE, Nella VARDJAS

SUURENEVATE LÄMMASTIKVÄETISEANNUSTE MÕJU ROHUMAAMULLA BIOLOOGILISTELE OMADUSTELE

16 ja 25 aastat kestnud väetiskatsete põhjal on esitatud andmeid mineraalväetiste mõju kohta rohumaamulla bioloogilistele omadustele. Uuriti väetissegude $\text{P}_{90}\text{K}_{120}$, $\text{N}_{60}\text{P}_{90}\text{K}_{120}$, $\text{N}_{120}\text{P}_{90}\text{K}_{120}$, $\text{N}_{240}\text{P}_{90}\text{K}_{120}$ ja $\text{N}_{340}\text{P}_{90}\text{K}_{120}$ mõju ammonifitseerivate, nitrifitseerivate, denitrifitseerivate ja aeroobsete tselluloosi lagundavate bakterite, seente ning aktinomütsetide arvukusele, mulla nitraatreduktaasele, nitritreduktaasele, ureaasele ja katalaasele aktiivsusele ning nitraatide,ioonvahetus- ja fikseeritud ammooniumi sisaldusele.

Katseandmed näitavad, et mineraalväetiste pikaajaline kasutamine muudab mulla mikroobikoosluse struktuuri: saprofüütse mikrofloora (ammonifitseerivad ja aeroobsed tselluloosi lagundavad bakterid, seened, aktinomütseedid) arvukus langes, kuna nitrifitseerivate ja denitrifitseerivate bakterite arvukus vähenes väikeste lämmastikukoguste, kuid suurenes maksimaalkoguse (340 kg/ha) puhul. 240 ja 340 kg lämmastikku ha kohta kutsus esile häireid nitrifikatsioon- ja denitrifikatsiooniprotsesside tasakaalus. Mulla ammooniumisisaldus muutus väetamisele vähe, seega väetiste ammoonium oletatavasti nitrifitseerus. Kuigi denitrifitseerivate bakterite arvukus tõusis, langes mulla nitraatreduktaasne ja nitritreduktaasne aktiivsus, mistõttu nitraatide taandamine oli takistatud ning nitraadid akumulerusid keskkonnas.

INFLUENCE OF INCREASING NITROGEN DOSES ON BIOLOGICAL QUALITIES OF GRASSLAND SOILS

The influence of prolonged application of $P_{90}K_{120}$, $N_{60}P_{90}K_{120}$, $N_{120}P_{90}K_{120}$, $N_{240}P_{90}K_{120}$ and $N_{340}P_{90}K_{120}$ on 1) the number of ammonifying, nitrifying, denitrifying and aerobic cellulose-decomposing bacteria, soil fungi and actinomycetes, 2) the content of nitrate, KCl-extractable and fixed ammonium and 3) soil nitratereductase, nitrereductase, urease and catalase activities were studied on the basis of 16- and 25-year-old fertilizing experiments with grassland soils.

Prolonged fertilizing resulted in changes in the structure of soil microbial cenosis. The number of ammonifying bacteria and aerobic cellulose-decomposing bacteria, soil fungi and actinomycetes dropped. The number of nitrifying and denitrifying bacteria dropped only as a result of the application of small doses of nitrogen, but increased under the influence of 340 kg nitrogen per hectare.

240 and 340 kg nitrogen per hectare caused shifts in nitrification and denitrification balance in soil. Ammonium content in fertilized soils has shown only little changes indicating at the possible nitrification of fertilizer ammonium. Nevertheless, the number of denitrifying bacteria increased under the maximum nitrogen dose: soil nitratereductase and nitrereductase activities dropped and caused nitrate accumulation in the environment.