

Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2014. Вып. 73.

УДК 631.635

ИЗМЕНЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕЛИЧИНЫ АГРЕГАТОВ ГУМУСОВОГО ГОРИЗОНТА МИГРАЦИОННО- МИЦЕЛЯРНОГО ЧЕРНОЗЕМА

**© 2014 г. Е. С. Василенко, О. В. Кутовая,
А. К. Тхакахова, А. С. Мартынов**

*Почвенный институт им. В.В. Докучаева Россельхозакадемии,
119017, Москва, Пыжевский пер., 7, стр. 2
e-mail: langobard@mail.ru*

Показано, что количество микроорганизмов и интенсивность почвенно-биологических процессов в агрегатах миграционно-мицелярного постагрогенного чернозема связано с их размерами. Трансформация органических веществ, особенно разложение сложных органических соединений микроорганизмами активнее происходит в мелких агрегатах < 1 мм. Количество активных форм микроорганизмов углеродного цикла увеличивается от крупных агрегатов к мелким. Активность микрофлоры азотного цикла повышается от мелких к агрономически ценным агрегатам (1,0–5,0 мм) и снова снижается к более крупным агрегатам. Предложено ввести понятие «биологически ценные» агрегаты, связанное с активностью микроорганизмов в структурных отдельностях размером 1,0–5,0 мм.

Ключевые слова: микробный пул, биологическая активность, почвенные агрегаты, почвенно-биологические процессы.

Почвенные агрегаты являются уникальным продуктом почвообразования, в них протекают практически все микропроцессы, характерные для горизонта или почвы в целом (Хан и др., 2007). Агрегаты являются стабильными функционирующими образованиями, которые рассматриваются как самоорганизующиеся и саморегулирующиеся структурные единицы почвы (Трофимов, 1997). Агрегаты делят почву на многочисленные микрозоны, в которых могут создаваться резко отличающиеся условия (Звягинцев и др., 2005). Каждый почвенный агрегат является комплексом одновременно существующих микросред для разви-

тия и жизнедеятельности почвенных микроорганизмов. Место расположения микроорганизмов в разных частях агрегата во многом определяет тип их метаболизма (Hattori, 1988).

Целью работы было определить биологическую активность агрегатов разной величины в миграционно-мицелярном постагрогенном черноземе Каменной Степи, а также интенсивность и направленность почвенно-биологических процессов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Образец гумусового горизонта чернозема миграционно-мицелярного квазиглееватого глинистого (чернозема типичного) ненарушенного сложения размером 25×25×35 см был взят на территории НИИСХ ЦЧП им. В.В. Докучаева (Каменная Степь) на участке косимой степи рядом с лесополосой № 40, разр. Т-0066 (Хитров и др., 2007). Высушивание почвы при микробиологическом посеве на элективные среды дает искаженные, как правило, заниженные результаты численности микроорганизмов. Количество бактерий уменьшается в 5–10 раз, меняется качественный состав микроорганизмов (Звягинцев и др., 2005). Поэтому рассев на агрегаты производили из свежих образцов естественной влажности. Почва была рассеяна на ситах: 0,25 мм; 0,5 мм; 1 мм; 2 мм; 3 мм; 5 мм; 7 мм, предварительно стерилизованных 70%-ным этиловым спиртом.

В аналитическом центре Почвенного института им. В.В. Докучаева в каждой размерной фракции были определены следующие агрохимические показатели: рН водной и солевой почвенных суспензий (Воробьева, 1998); содержание обменных кальция и магния по Шолленбергу, концентрация Ca^{2+} и Mg^{2+} на атомно-абсорбционном спектрометре ААС-3 (Руководство по лабораторным ..., 1990); содержание обменного калия по Масловой, концентрация калия на пламенном фотометре Flafo-4 (Воробьева, 1998); подвижные соединения фосфора по Чирикову спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Specol-220 (Агрохимические методы ..., 1975).

О биологической активности почв судили на основе определения численности эколого-трофических групп микроорганизмов, которое проводили методом посева на твердые питательные среды (мясопептонный агар – МПА, крахмалоаммиачный агар –

КАА, голодный агар – **ГА**, среда Чапека для культивирования микромицетов) (Теппер и др., 2005) и методом предельных разведений (Практикум по микробиологии ..., 1976) на жидкие среды (среда Виноградского для культивирования анаэробных азотфиксаторов, среда **ГНД** (Ильина, Фомина, 1983) – для микроорганизмов группы нитратного дыхания). Активность азотобактера оценивали по обрастанию почвенных комочков на среде Эшби (Теппер и др., 2005).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количественное распределение агрегатов по размерам и их агрохимические показатели представлены в таблице. По ряду показателей не обнаружена зависимость между химическим составом и размером агрегатов: рН водной и солевой вытяжек, содержание Са и Mg во всех структурных отдельностях оставались примерно равными. Однако выявлена достоверная разница по содержанию водорастворимых форм фосфора и калия. Зафиксировано повышение их содержания от мелких агрегатов к крупным. От 5,72 до 7,72 мг/100 г почвы фосфора и от 19,86 до 24,64 мг/100 г почвы калия.

Некоторые агрохимические показатели агрегатов разных размеров гумусового горизонта миграционно-мицелярного постагрогенного чернозема Каменной Степи

Размер агрегатов, мм	Содержание агрегатов, %	рН		Ca ²⁺	Mg ²⁺	P ₂ O ₅	K ₂ O
		водный	солевой	мг-экв/100 г		мг/100 г	
< 0,25	1,9	6,29	5,56	33,53	6,76	5,7	Не опр.
0,25–0,5	3,4	6,26	5,50	33,36	6,72	6,6	19,9
0,5–1	4,0	6,25	5,48	32,75	6,67	6,5	20,2
1–2	10,7	6,25	5,48	33,23	6,74	6,7	21,7
2–3	8,6	6,27	5,49	33,94	6,73	6,7	24,6
3–5	16,0	6,16	5,51	33,02	6,68	6,7	23,9
5–7	14,8	6,22	5,52	33,84	6,58	6,9	24,6
>7	40,6	6,23	5,51	33,96	6,67	7,72	23,83

Фосфор – биогенный элемент, имеет большое значение в энергетике клетки, входит в состав аденозинфосфорных кислот (АТФ, АДФ, АМФ), а также нуклеиновых кислот, фосфолипидов и коферментов. Содержание фосфора в микробной биомассе составляет примерно 30 мг Р/г клеток. От присутствия источников фосфора в среде зависит микробная активность (Современная микробиология, 2005).

Калий участвует в обменных процессах при синтезе аминокислот и белков. Контролируемое накопление K^+ в клетках микроорганизмов является основным путем регуляции клеточного тurgора. В результате поглощения клеткой калия образуется трансмембранный градиент рН (Современная микробиология, 2005).

Таким образом, увеличение содержания этих элементов на 25–35% в почве может стать причиной изменения не только численности и активности микроорганизмов, но и повлиять на структурные изменения в сообществе.

Для оценки направленности почвенно-биологических процессов, происходящих в различных агрегатах, была изучена структура микробного сообщества. Характеристика микробиологической активности агрегатов гумусового горизонта участка косямой степи чернозема типичного представлена на рис. 1–4.

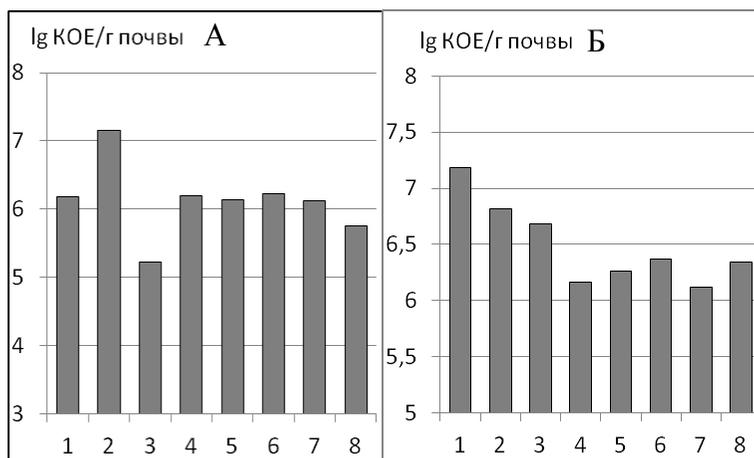


Рис. 1. Численность микроорганизмов-аммонификаторов (А) и общая численность амилолитиков (Б) в различных агрегатах. Здесь и далее: размер агрегатов: 1 – <0,25 мм; 2 – 0,25–0,5 мм; 3 – 0,5–1 мм; 4 – 1–2 мм; 5 – 2–3 мм; 6 – 3–5 мм; 7 – 5–7 мм; 8 – >7 мм.

Микроорганизмы-аммонификаторы (среда МПА) трансформируют органическое вещество, которое поступает в почву в виде растительных остатков и отмерших корней. Природное плодородие черноземов обусловлено аккумулирующей деятельностью естественной растительности и микроорганизмов (Королева и др., 2013), в основном, гетеротрофной группы.

Распределение аммонификаторов по агрегатам ровное (рис. 1А). Исключение составляют агрегаты размером 0,25–0,5 (максимум 7,6 lg КОЕ/г почвы) и 0,5–1,0 (минимум 5,22 lg КОЕ/г почвы). Возможно, это связано с микроразличиями в распределении экзогенного органического вещества. Процесс разложения белковых веществ происходит достаточно активно независимо от размера агрегатов, однако присутствие экстремальных локусов не исключено. Кроме того, микроорганизмы, разлагая свежее органическое вещество, способствуют образованию водонепроницаемых агрегатов почвы (Хан, 1969).

Наибольшее количество микроорганизмов, использующих минеральные формы азота для построения собственных клеток (среда КАА), отмечено в мелких агрегатах ($< 0,25$ мм). По мере увеличения размера агрегатов от 0,25 до 2 мм их количество уменьшается, в более крупных агрегатах численность прокариот остается практически на одном уровне (рис. 1Б). Эти микроорганизмы, являясь активными иммобилизаторами легкодоступного углерода, могут участвовать в процессах разложения органических соединений растительного происхождения. Можно предположить, что в мелких агрегатах эти процессы протекают несколько активнее за счет большей их поверхности и, соответственно, за счет улучшенной возможности использования кислорода, необходимого для окисления органических веществ.

Актиномицеты, которые также учитывали на среде КАА, обладают набором разнообразных ферментов, благодаря которым могут разрушать и образовывать сложные органические вещества (Кучаева, 1974). Актиномицеты доминируют на поздних стадиях микробной сукцессии, когда создаются условия для использования труднодоступных субстратов (Зенова, 1992).

Численность актиномицетов максимальна в мелких агрегатах (от $< 0,25$ до 1 мм), далее, в агрегатах более крупных размеров, уменьшается и наблюдается варьирование их численности, не

позволяющее установить зависимость (рис. 2А). Максимальная численность отмечена в агрегатах размером 0,5–1,0 мм (6,12 lg КОЕ/г почвы), минимальная – во фракции 3,0–5,0 мм (4,9 lg КОЕ/г почвы). Вероятно, это связано с тем, что актиномицеты являются прокариотами, требовательными к содержанию кислорода. В условиях хорошей аэрации (мелкие агрегаты) сложные органические вещества почвы минерализуются ими до простых соединений. Внутри более крупных агрегатов свободный кислород частично использован аэробными микроорганизмами, поэтому развитие актиномицетов в крупных агрегатах несколько снижено по сравнению с их численностью в мелких агрегатах размером от 1 мм и меньше. Неравномерное снижение численности актиномицетов в более крупных агрегатах может быть объяснено микроразнообразием почвы – качеством, которое характерно для почвы в целом.

Олиготрофы – микроорганизмы, не требовательные к элементам питания, учитывались на среде ГА. Наблюдается четкая зависимость снижения численности олиготрофов при увеличении размера агрегатов (рис. 2Б). Так как наличие олиготрофов является показателем заключительного этапа разложения органических веществ, и их численность увеличивается в тех зонах, где минерализация растительных остатков практически завершена, и органи-

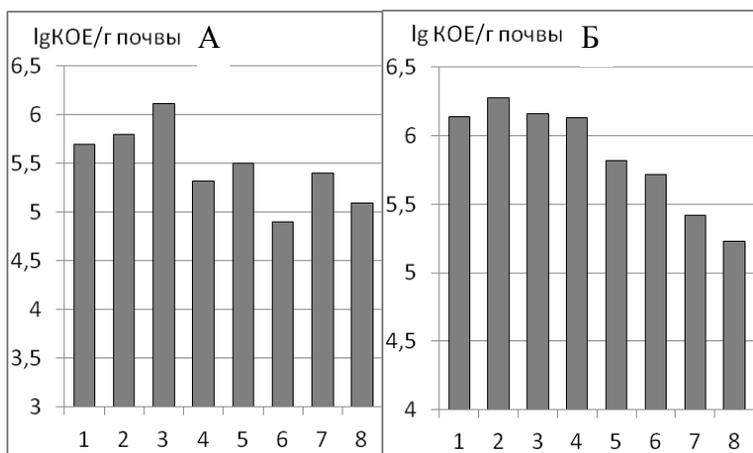


Рис. 2. Численность актиномицетов (А) и олиготрофных микроорганизмов (Б) в различных агрегатах.

ческие вещества находятся в низких концентрациях (Заварзин, Колотилова, 2001), можно предположить что, в мелких агрегатах ряд сукцессионных процессов завершен в бóльшей степени, чем в агрегатах крупных размеров.

Микроскопические грибы – основные деструкторы растительных остатков, учитывались на среде Чапека. Наибольшее количество грибных зачатков (рис. 3А) содержится в самых мелких агрегатах <0,25 мм, затем их численность постепенно уменьшается, в агрегатах средних размеров стабилизируется на уровне 3,5–4,2 lg КОЕ/г почвы и, затем, снова резко сокращается на два порядка в крупных агрегатах (5,0–> 7 мм) до 2,25 lg КОЕ/г почвы. Микромицеты чрезвычайно чувствительны к аэрации, анаэробных форм среди них практически не встречается, поэтому развитие микроскопических грибов в крупных агрегатах снижено до минимума по причине уменьшения площади поверхности агрегата и создания внутри него анаэробных зон. Вероятно, на рост микромицетов оказывает влияние не только фактор аэрации, но также и более свободный доступ к экзогенным органическим веществам в мелких агрегатах.

Увеличенное содержание гумусовых веществ в наиболее мелких фракциях разных типов почв отмечено многими исследователями: в тонкодисперсных фракциях микроагрегатов дерново-

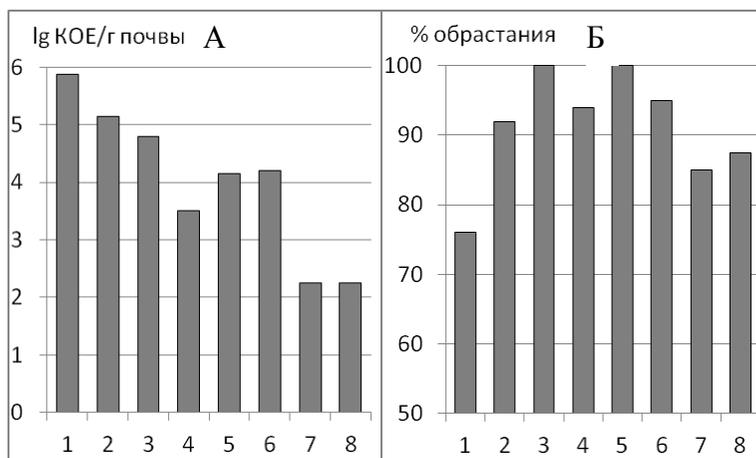


Рис. 3. Численность микромицетов (А) и активность бактерий рода *Azotobacter* (Б) в различных агрегатах.

подзолистой почвы (Куваева, Фрид, 2001), в илистой фракции черноземов (Когут с соавт., 1998; Милановский, 2009). Отмечено, что в микроагрегатах образуются зрелые гуматы гидрофобной природы, непосредственно участвующие в формировании водопропрочных агрегатов (Куваева, 2012). Повышенное содержание гумуса может быть связано с деятельностью почвенных микроскопических грибов, численность которых в наших исследованиях, зарегистрированная в микроагрегатах $< 0,25$ мм, на 4 порядка больше, чем в агрегатах крупнее 5 мм. Накопление гумусовых веществ идет за счет темноокрашенного мицелия микромицетов, содержащего меланиновые пигменты, которые, как известно, имеют прогумусовый характер и могут участвовать в процессе гумусообразования (Beare et al., 1995).

Процессы, связанные с превращениями азота являются важными как для развития микрофлоры почвы, так и для растений, произрастающих на ней. Были рассмотрены процессы накопления и потери азота из почвы. Наличие аэробной фиксации азота оценивали по встречаемости в почве бактерий рода *Azotobacter*. Критерием их численности являлась доля обрастания почвенных частиц на среде Эшби.

Из мелких агрегатов ($< 0,25$ мм) азотобактер выделялся в меньшем количестве по сравнению с более крупными (рис. 6). Это может быть связано с содержанием питательных элементов в этих агрегатах, особенно фосфора, количество которого в них минимально (5,72 мг $P_2O_5/100$ г). Численность, распространение и активность свободноживущего диазотрофа – бактерий рода *Azotobacter*, зависит от таких почвенных характеристик, как реакция среды, водно-воздушный режим, содержание фосфора и микроэлементов в почве.

Однако в крупных агрегатах (>5 мм) активность диазотрофов снижается снова. Лимитирующим фактором в этом случае является, во-первых, возникновение анаэробных зон внутри почвенных агрегатов при потреблении кислорода микроорганизмами на поверхности агрегатов, превышающую скорость его диффузии (Smith, 1980); во-вторых, наличие в почве легкодоступных минеральных форм азота, азотфиксирующая способность аэробного диазотрофа в этом случае не проявляется.

Таким образом, максимальная активность *Azotobacter* зафиксирована в агрегатах средних размеров от 0,25 до 5 мм. Вероятно, именно за счет этих микроорганизмов формируются водопропрочные свойства агрегатов черноземов (Белюченко, Славгородская, 2013; Зборишук с соавт., 2007; Чевердин, 2009), поскольку азотобактер, а также сопутствующие ему дрожжи из рода *Lipomyces* (выделяются также на среде Эшби) продуцируют в большом количестве полисахаридную слизь, которая является склеивающим агентом в почве и значительно повышает водопропрочность почвенных агрегатов (Кононенко, 1959).

Активность анаэробных азотфиксаторов (рис. 4А) максимальна (5,13 lg КОЕ/г почвы) в агрегатах 0,5–2,0 мм. В почвенных агрегатах других размеров она снижена до 2,35 lg КОЕ/г почвы.

Денитрификация – последнее звено биохимического цикла азота, в котором связанный микроорганизмами азот вновь превращается в атмосферный резерв в виде N_2 .

Активность денитрификаторов оценивали на среде ГНД, используя интегральный показатель – эмиссию газа и помутнение среды (рис. 4Б). Количество микроорганизмов, восстанавливающих нитраты, увеличивается от мелких агрегатов к средним и становится максимальным в агрегатах размером 1,0–2,0 и 3,0–5,0 мм, затем, в более крупных, снова снижается.

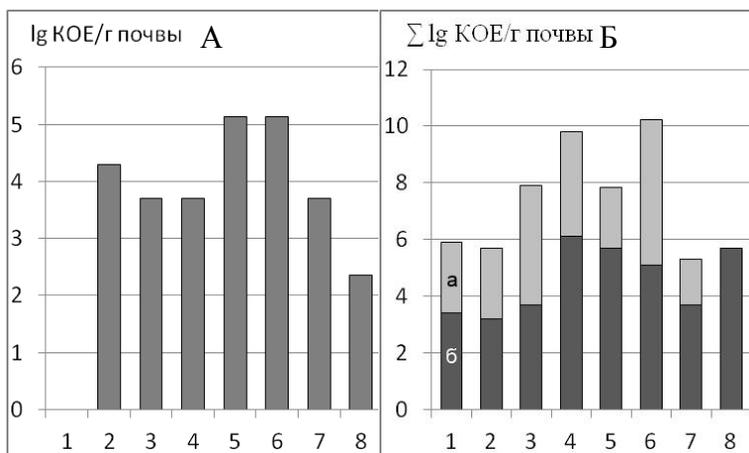


Рис. 4. Активность анаэробных азотфиксаторов (А) и активность денитрификаторов (Б: а – эмиссия газа, б – изменение цвета) в различных агрегатах.

Денитрификация протекает при разложении органического вещества почвы в условиях недостатка атмосферного кислорода микроорганизмами, восстанавливающих окисные формы неорганических веществ – нитратов. Внутри почвенных агрегатов крупнее 1 мм складываются анаэробные условия, достаточные для протекания денитрификации (Степанов и др., 1997). Снижение процесса денитрификации в более крупных агрегатах, возможно, связано с меньшей доступностью органического вещества микроорганизмам группы нитратного дыхания.

Рассматривая почвенные агрегаты разных размеров как отдельно взятые биологически активные образования, можно сказать, что среди них выделяются агрегаты средних размеров, так называемые, агрономически ценные агрегаты, обеспечивающие плодородие почвы. Условно принято, что размер агрономически ценных агрегатов колеблется в пределах от 0,25 до 10 мм (Вершинин, 1958; Кульман и др., 1961; Edwards, 1967). Однако, за исключением незначительного увеличения объема крупных пор, физические свойства практически не меняются с изменением размера агрегатов крупнее 5 мм. Поэтому возможно принять за агрономически ценные агрегаты размерами от 0,25 до 5 мм (Воронин, 1986).

В агрономически ценных агрегатах (0,25–5 мм) большинство почвенно-биологических процессов происходит более или менее равномерно. Это следует из относительного постоянства численности аммонификаторов, амилолитиков, актиномицетов, микромицетов. Кроме того, в этих агрегатах наблюдается резкое увеличение численности микроорганизмов азотного цикла (азотфиксация, денитрификация). Поэтому почвенные агрегаты этой размерной группы могут быть названы «биологически ценными».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Размер агрегатов является одним из факторов, определяющих и численность различных эколого-трофических групп микроорганизмов, и интенсивность почвенно-биологических процессов, происходящих в миграционно-мицелярном постагрогенном черноземе.

Можно допустить, что трансформация органических веществ, особенно, разрушение сложных органических соединений, более интенсивно происходит в мелких агрегатах (< 1 мм), за счет наибольшей численности микроорганизмов углеродного цикла.

Одним из факторов, влияющим на накопление гумусовых веществ в микроагрегатах, отмеченное многими исследователями, может быть деятельность пигментированных микромицетов, численность которых в агрегатах мелких размеров значительно больше. Процессы азотного цикла, значимые для развития растений, наиболее интенсивно протекают в агрегатах средних размеров – агрономически ценных агрегатах (1,0–5,0 мм); за счет наибольшей численности diaзотрофов может также повышаться водопрочность этих агрегатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агрохимические методы исследования почв. М.: Наука, 1975. 656 с.
2. *Белюченко И.С., Славгородская Д.А.* Изменение агрегатного состава чернозема обыкновенного при внесении органоминерального компоста // Доклады РАСХН. 2013. №4. С. 23–25.
3. *Вершинин П.В.* Почвенная структура и условия ее формирования. М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1958. 188 с.
4. *Воробьева Л.А.* Химический анализ почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1998. 272 с.
5. *Воронин А.Д.* Основы физики почв. М.: Изд-во Моск. ун-та. 1986. 224 с.
6. *Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н.* Введение в природоведческую микробиологию. М.: Книжный дом Университет, 2001. 256 с. С. 192–210.
7. *Зборищук Ю.Н., Рымарь В.Т., Чевердин Ю.И.* Состояние черноземов обыкновенных Каменной Степи. М., 2007. 160 с.
8. *Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М.* Биология почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2005. 445 с.
9. *Зенова Г.М.* Почвенные актиномицеты. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1992. 76 с.
10. *Ильина Т.К., Фомина О.М.* Авторское свидетельство № 113328а от 30.06.83. «Питательная среда для культивирования почвенных микроорганизмов».
11. *Козут Б.М., Травникова Л.С., Титова Н.А., Куваева Ю.В., Ярославцева Н.В.* Влияние длительного применения удобрений на

- соединение органического вещества в легких и илистых фракциях черноземов // *Агрохимия*. 1998. № 5. С. 13–20.
12. Кононенко Е.В. Роль дрожжей из рода *Lipomyces* в почвенных процессах // *Почвоведение*. 1959. № 6.
 13. Королева И.Е., Лебедева И.И., Гребенников А.М. Гумусное и азотное состояние целинных пахотных черноземов // *Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева*. 2013. Вып. 71. С. 27–35.
 14. Куваева Ю.В. Групповой состав гумуса фракций тонкодисперсной фазы дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы в длительном опыте // *Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева*. 2012. Вып. 70. С. 18–42.
 15. Куваева Ю.В., Фрид А.С. Динамика органического вещества тонкодисперсных частиц дерново-подзолистых почв в длительных опытах // *Почвоведение*. 2002. № 1. С. 52–61.
 16. Кульман А., Климес-Чмик А. Исследования динамики водопропрочности почвенных агрегатов // *Почвоведение*. 1961. № 3. С. 23–35.
 17. Кучаева А.Г. Лучистые грибки. Порядки актиномицеты (*Actinomycetales*) и актинопланы (*Actinoplanales*) // *Жизнь растений*. М.: Просвещение, 1974. Т. 1. С. 273–288.
 18. Милановский Е.Ю. Гумусовые вещества почв как природные гидрофобно-гидрофильные соединения. М.: ГЕОС, 2009. 186 с.
 19. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976. 307 с.
 20. Руководство по лабораторным методам исследования ионно-солевого состава нейтральных и щелочных минеральных почв / Под ред. Н.Б. Хитрова и А.А. Понизовского. М.: ВАСХНИЛ, Почвенный институт им. В.В. Докучаева, 1990. 236 с.
 21. Современная микробиология. Прокариоты / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля (в 2-х томах). М.: Мир, 2005. Т. 1. 656 с. Т. 2. 496 с.
 22. Степанов А.Л., Манучарова Н.А., Полянская Л.М. Продуцирование закиси азота бактериями в почвенных агрегатах // *Почвоведение*. 1997. № 8. С. 973–976.
 23. Теплер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2005. 256 с.
 24. Трофимов С.Я. О динамике органического вещества в почвах // *Почвоведение*. 1997. № 9. С. 1081–1086.

25. Хан Д.В. Органо-минеральные соединения и структура почвы. М.: Наука, 1969. 142 с.
26. Хан К.Ю., Поздняков А.И., Сон Б.К. Строение и устойчивость почвенных агрегатов // Почвоведение. 2007. № 4. С. 450–456.
27. Хитров Н.Б., Лебедева И.И., Чевердин Ю.И., Чижикова Н.П., Ямнова И.А. Морфологические свойства почв Каменной Степи // Каменная Степь: проблемы изучения почвенного покрова. М.: Почв. ин-т им. В.В. Докучаева, 2007. С. 36–71.
28. Чевердин Ю.И. Физическое состояние пахотных горизонтов черноземов Каменной Степи // Плодородие. 2009. №4. С. 44–46.
29. Beare M.H., Coleman D.C., Crossley D.A., Hendrix P.F., Odum E.P. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling // Plant and Soil. 1995. V. 170. № 1. P. 5–22.
30. Edwards A.P., Bremner J.M. Microaggregates in soil // J. Soil Sci. 1967. V. 18. P. 64–73.
31. Hattori T. Soil aggregates as microhabitats for microorganisms // Rep. Inst. Agric. Res. Tohoku. Univ. 1988. V. 37. P. 23–26.
32. Smith K.A. A model of the extent of anaerobic zones in aggregated soil, and its potential application to estimates of denitrification // J. Soil Sci. 1980. V. 31. P. 263–277.

CHANGES IN THE INTENSITY OF SOIL-BIOLOGICAL PROCESSES CAUSED BY DIFFERENT-SIZED AGGREGATES OF MIGRATIONARY-MYCELIAL CHERNOZEMS

**© 2014 Ye. S. Vasilenko, O. V. Kutovaya,
A. K. Tkhakakhova, A. S. Martynov**

*V.V. Dokuchaev Soil Science Institute, 119017 Moscow, Pyzhevskii 7, bld. 2
e-mail: langobard@mail.ru*

The intensity of soil-biological processes reveals changes in different-sized aggregates of post-agrogenic migrational-mycellary chernozems. Transformation of the organic matter and its decomposition by microorganisms in particular becomes more active in fine aggregates (<1 mm), the microflora activity in the carbon cycle increases in aggregates from fine to coarse ones. The activity of microorganisms in the nitrogen cycle shows increase from fine to agronomically valuable aggregates (1.0–5.0 mm) being further decreased towards coarse aggregates. In agronomically valuable aggregates the major soil-biological processes prove to be stable or the amount of microorganisms gets increased, that – is why they may be considered as biologically valuable ones.

Keywords microbial pool, biological activity, soil aggregates, soil-biological processes.

Soil aggregates as a unique soil formation product reveal almost all the micro-processes taking place in the horizon or the very soil [25]. They are stable functioning formations to be considered as self-organizing and self-governing soil structure units [24]. The soil is divided by these aggregates into numerous microzones with quite different conditions [8]. Every soil aggregate is a complex of simultaneously existing microhabitats for the development and vital activity of soil microorganisms, the latter being found in different parts of the aggregate in dependence on the type of their metabolism [31].

This study is aimed to evaluate the biological activity of different-sized aggregates as well as the intensity and trend of soil-biological

processes in migrational-mycellary post-agrogenic chernozem at the territory of Kamennaya Steppe.

OBJECTS OF RESEARCH AND METHODS

A soil sample of 25×25×35 cm in size was taken from the humus horizon of the quasi-gleyic clayey migrational-mycellary chernozem (typical chernozem) at the experimental territory of Research Institute of Agriculture in Kamennaya Steppe. The soil profile T-006 was located in the area of the mown steppe near the forest shelter No.40 [27]. As a rule, the results about the population of microorganisms seem to be distorted and understated due to soil drying for microbiological seeding in elective media. In this case the amount of bacteria is declined by 5–10 times, the qualitative composition of microorganisms shows changes as well [8]. In view of this, in the present study the raw soil samples with natural moisture were used and passed through 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5 mm sieves, preliminary sterilized by ethyl alcohol (70%).

To study agrochemical properties of every fraction, the following procedures have been performed in laboratory of V.V. Dokuchaev Soil Science Institute: pH in water and salt extracts [4], the content of exchangeable Ca and Mg after Shellenberg, concentration of Ca^{2+} and Mg^{2+} by atomic-absorption spectrometer AAS-3, the content of exchangeable potassium using Maslova method, the potassium concentration in flame photometer Flafo-4; mobile compounds of phosphorus were analyzed by spectrophotometer (Specol-220).

When studying the biological activity in soil, it seemed reasonable to determine the population of ecologic-trophic groups of microorganisms as resulted from seeding in solid nutrient media (meat-and-peptone agar – MPA, starch-and-ammonia agar – SAA, hunger agar – HA, Czapek's medium for cultivating the micromycetes) [23], Vinogradsky medium for cultivating anaerobic nitrogen fixers [10], the medium GND for microorganisms of the nitrate respiration group). The overgrown soil clots in Eshbi medium permitted to evaluate the azotobacter activity [23].

RESULTS AND DISCUSSION

The quantitative distribution of different-sized aggregates and their agrochemical properties are presented in Table. Some indices re-

veal no dependence between the chemical composition and the aggregate size: pH, the Ca and Mg content in all the structure units. However, there is a difference in the content of soluble forms of phosphorus and potassium, being higher in fine aggregates as compared to coarse ones (from 5.72 to 7.72 mg/100g of P and from 19.86 to 24.64 mg/100g of K).

Table. Some agrochemical indices of different-sized aggregates in the humus horizon of migrational-mycellary post-agrogenic chernozem

Size of aggregates, mm	Content of aggregates, %	pH		Ca ²⁺	Mg ²⁺	P ₂ O ₅	K ₂ O
		water	salt	me/100 g		mg/100 g	
< 0.25	1.9	6.29	5.56	33.53	6.76	5.7	He опр.
0.25–0.5	3.4	6.26	5.50	33.36	6.72	6.6	19.9
0.5–1	4.0	6.25	5.48	32.75	6.67	6.5	20.2
1–2	10.7	6.25	5.48	33.23	6.74	6.7	21.7
2–3	8.6	6.27	5.49	33.94	6.73	6.7	24.6
3–5	16.0	6.16	5.51	33.02	6.68	6.7	23.9
5–7	14.8	6.22	5.52	33.84	6.58	6.9	24.6
>7	40.6	6.23	5.51	33.96	6.67	7.72	23.83

Phosphorus is a biogenic element. It is of great importance in the cell energy, being included into the composition of adenosinediphosphoric acid (ADA, AMA) as well as in nucleic acids, phospholipides and co-ferments. The content of phosphorus in the microbic biomass accounts for 30 mg of P/g cells. The activity of microbes depends on the present P source in the medium [21].

Potassium is also active in exchangeable processes of synthesizing the aminoacids with albumin. The controlled K⁺ accumulation in cells of microorganisms is the main way for regulating the cellular turgor. A transmembrane gradient pH is formed as resulted from potassium absorption by cell.

Thus, the increase in the content of these elements by 25–35% can be a reason for changing not only the population and activity of microorganisms; it has an influence on changes in the community's structure.

To evaluate a trend of soil-biological processes in different aggregates, the structure of microbial community was studied. Characteristics of the microbiological activity are given in Figs.1–4.

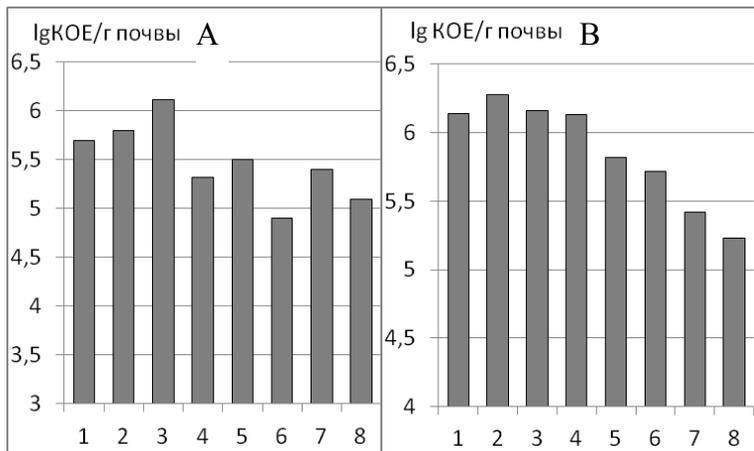


Fig.1. Population of microorganisms – ammonifiers (A) and the total population of amilolitics (B) in different aggregates. The aggregate size is 1 – <0.25 mm; 2 – 0.25–0.5 mm; 3 – 0.5–1 mm; 4 – 1–2 mm; 5 – 2–3 mm; 6 – 3–5 mm; 7 – 5–7 mm; 9 – >7 mm.

Microorganisms – ammonifiers are capable to transform the organic substances represented by plant residues and dead roots. The natural fertility of chernozems is conditioned by accumulation of natural vegetation and microorganisms of heterotrophic group in particular [13]

Distribution of ammonifiers is equal in aggregates with the exception of those 0.25–0.5 mm in size (maximum is 7.6 lg KOE/g of soil) and 0.5–1.0 mm (minimum – 5/22 lg KOE/g of soil) (Fig.1A). Probably it is connected with microzonal distribution of the exogenic organic matter. The decomposition process of albumin-containing substances occurs intensively independently on the aggregate size, however, the presence of extreme locuses is not excluded. Besides, microorganisms decomposing the fresh organic matter are conducive to the formation of water-stable aggregates in soil [25].

The major amount of microorganisms that use the mineral forms of nitrogen for creating the own cells (KAA medium) is observed in fine aggregates (<0.25 mm). The higher is the size of aggregates (from 0.25 to 2 mm), the smaller is their quantity; in coarse aggregates the population of procariots remains at the same level (Fig.1B). Being considered as active immobilizers of readily available carbon, these microorganisms can take part in decomposition of organic compounds. One should assume that these processes seem to be more active in fine aggregates due to their great surface and possible use of oxygen so necessary for oxidizing the organic substances.

Actinomycetes that have been also taken into account in KAA medium have a set of various ferments capable to destroy and form complicated organic substances [17]. They are prevailed at the latest stages of microbial succession when the conditions prove to be favorable for using the hardly available substrates [9].

Population of actinomycetes is maximum in fine aggregates (from <0.25 to 1 mm), in coarse aggregates their amount is decreased and the population is varying to determine their dependence (Fig. 2A). Their maximum is in aggregates of 0.5–1.0 mm in size (6.12 lg KOE/g soil) and minimum in the fraction of 3.0–5.0 mm (4.9 lg KOE/g soil). Probably, it is explained by the fact that the actinomycetes are procariots requiring the oxygen for their existence. Under conditions of good aeration (fine aggregates) they mineralize the complicated organic substances and transform them into simple compounds in soil. In more coarse aggregates the free oxygen is partially used by aerobic microorganisms; that is why the development of actinomycetes in coarse aggregates seems somewhat decreased as compared to their population in fine aggregates of 1 mm in size. Uneven decreasing the population of actinomycetes in coarse aggregates can be explained by available microzones in soil as a quality so characteristic of the soil.

Oligotrophic microorganisms that have no need in nutrients were studied in a hunger medium. There exists a clearly expressed dependence between the decreasing population of these microorganisms and increasing their size (Fig.2B). The presence of oligotrophs is an indicator of the final stage in decomposing the organic substances and their population increases in zones, where the plant residues are completely decomposed. In view of this, it is possible to assume that in fine aggre-

gates the succession processes are completely finished as compared to those in aggregates of coarse size.

Microscopic fungi that destroy the plant residues to a considerable extent have been studied in Czapek's medium. The major amount of fungi is observed in fine aggregates (<0.25 mm). It is decreased in

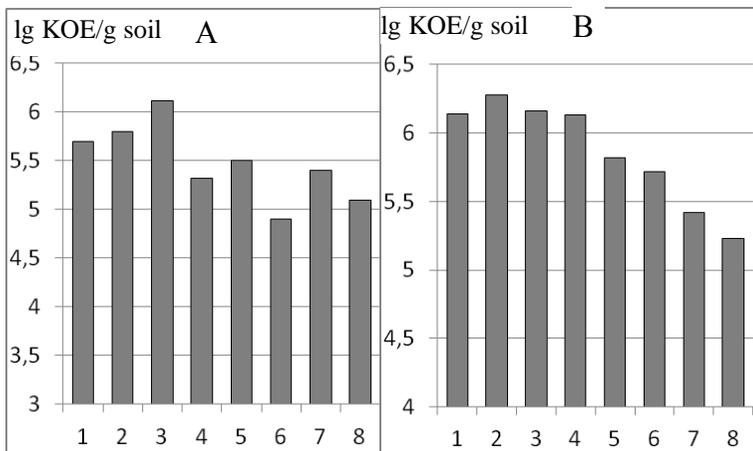


Fig.2. Population of actinomycetes (A) and oligotrophic microorganisms (B) in different aggregates.

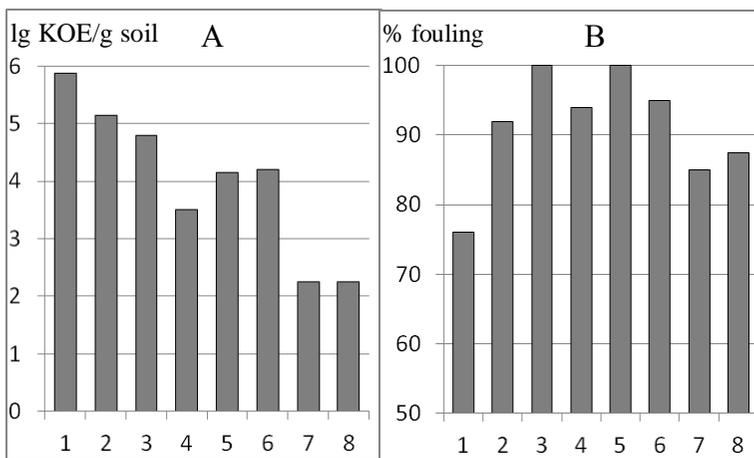


Fig.3. Population of micromycetes (A) and activity of *Azotobacter* bacteria (B) in different aggregates.

dependence on their size; in middle-sized aggregates they are stable at a level of 3.5–4.2 lg KOE/g soil, being strongly decreased by two orders in coarse aggregates (5.0–>7 mm) to 2.25 lg KOE/g soil. Micromycetes are very sensitive to aeration, their anaerobic forms are practically absent in them. By this reason, the development of microscopic fungi in coarse aggregates decreases to the minimum due to declining the aggregate surface and creating anaerobic zones in this aggregate. Probably, the micromycetes growth is affected not only by aeration but also the available exogenic organic matter in fine aggregates.

A number of publications contains the data about the increased content of humus substances in fine fractions of different soil types, for instance, in fine-dispersed fractions of microaggregates in soddy podzolic soil [15], in the clay fraction of chernozems [11; 18]. It is worth emphasizing that in microaggregates the humates by hydrophobic nature are developed taking an active part in the formation of water-stable aggregates [14]. The increased humus content can be associated with the activity of soil microscopic fungi, the population of which in fine microaggregates (<0.25 mm) is higher by 4 orders as compared to coarse aggregates (5 mm and more). The accumulation of humus substances occurs due to dark-colored mycelium of micromycetes containing melaninic pigments that are known to have a humus character and take part in the humus formation [29].

The processes associated with nitrogen transformation are very important for the development of soil microflora and for plants grown on soil. Under consideration were the processes of nitrogen accumulation and loss in soil. The presence of aerobic nitrogen fixation was evaluated by the amount of *Azotobacter* bacteria. The overgrown soil clots in Eshbi medium was a criterion for their population.

In fine aggregates (< 0.25 mm) *Azotobacter* is present to a lesser extent as compared to that in coarse aggregates. This is connected with the content of nutrients in these aggregates, especially phosphorus, the amount of which is minimal (5.72 mg/100 g P₂O₅). Population, distribution and activity of the free living diazotroph – *Azotobacter* bacteria – depend on such soil characteristics as pH, the water-air regime, content of phosphorus and microelements in soil. However, in coarse aggregates (> 5 mm) the activity of diazotrophs seems decreased again. In this case a limiting factor is that, on the one hand, anaerobic zones ap-

pear in soil aggregates when the oxygen is used by microorganisms at the aggregate surface exceeding the rate of its diffusion [32] and, on the other hand, the presence of readily available mineral forms of nitrogen in soil; the nitrogen fixing capability of aerobic diazotroph is absent.

Thus, the highest activity of *Azotobacter* was fixed in middle-sized aggregates (0.25–5 mm). Probably just these microorganisms help to develop water-stable properties of aggregates in chernozems [2, 7, 28], because *Azotobacter* and accompanying *Lipomyces* yeast produce a great amount of polysaccharide mucus to be a sticking agent in soil to increase the water stability of soil aggregates [12].

The activity of anaerobic nitrogen fixers (Fig.4A) is maximal (5.13 lg KOE/g soil) in aggregates of 0.5–2.0 mm in size. In soil aggregates of the other size it is decreased to 2.35 lg KOE/g soil.

Denitrification is the last chain in biochemical cycle of nitrogen, in which the nitrogen fixed by microorganisms is transformed again into the atmospheric reserve in the kind of N_2 .

The activity of denitrifiers was evaluated in GND medium using an integral index – gas emission and in muddy medium (Fig.4B). The quantity of microorganisms restoring nitrates is increased in aggregates

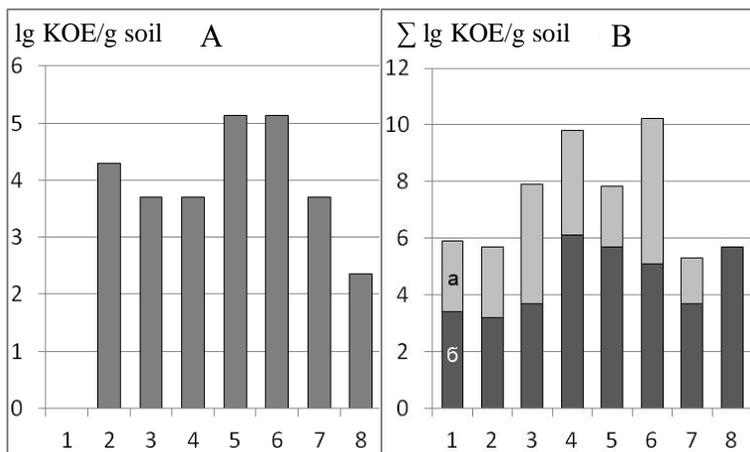


Fig.4. Activity of anaerobic nitrogen fixers (A) and activity of denitrifiers (B: *a* – gas emission, *b* – change in color) in different aggregates.

from fine to middle size, becomes maximal in aggregates of 1.0–2.0 and 3.0–5.0 mm being decreased again in coarse aggregates.

Denitrification proceeds under conditions of atmospheric oxygen deficit in soil when the organic matter is decomposed by microorganisms capable to restore nitrates as oxide forms of inorganic substances. In soil aggregates of more than 1 mm in size anaerobic conditions are developed which are sufficient for denitrification [22]. The denitrification decrease in more coarse aggregates is probably explained by the fact that the organic matter is available for microorganisms of nitrate respiration group to a lesser extent.

Considering the different-sized soil aggregates as separate biologically active formations, one should conclude that the middle-sized aggregates, the so-called agronomically valuable aggregates play a primary role in the soil fertility. The size of such aggregates is varying from 0.25 to 10 mm [3, 16, 30]. However, it is known that the soil physical properties display no changes with changing the aggregates, the size of which is more than 5 mm. By this reason, the aggregates of 0.25 to 5 mm in size may be considered as agronomically valuable ones [5]. In such aggregates the majority of soil-biological processes occur evenly because of relatively constant population of ammonifiers, amilolitics, actinomycetes and micromycetes. Besides, in these aggregates the population of microorganisms of nitrogen cycle (nitrogen fixation, denitrification) is sharply increased. By this reason, the soil middle-sized aggregates may be recognized as biologically valuable ones.

CONCLUSION

The aggregate size is one of factors determining the population of different ecologic-trophic groups of microorganisms and intensity of soil-biological processes in migrational-mycellary post-agrogenic chernozem. One should assume that transformation of organic substances especially destruction of complicated organic compounds occur more intensively in fine aggregates (< 1 mm) due to the increased population of microorganisms of carbon cycle. One of the factors affecting the humus accumulation in microaggregates is the activity of pigmented micromycetes, the population of which is higher in fine aggregates. Processes of nitrogen cycle so important for the plant growth and development are intensive in middle-sized aggregates as agronomically

valuable ones (1.0–5.0 mm); due to a higher population of diazotrophs the water stability of these aggregates becomes increased as well.

REFERENCES

1. Agrochemical methods of soil investigations. Moscow, Nauka, 1975. 656 p.
2. *Белюченко И.С., Славгородская Д.А.* Изменение агрегатного состава чернозема обыкновенного при внесении органо-минерального компоста // Доклады РАСХН. 2013. №4. С. 23–25.
3. *Вершинин П.В.* Почвенная структура и условия ее формирования. М.–Л.: Изд-во АН СССР, 1958. 188 с.
4. *Воробьева Л.А.* Химический анализ почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1998. 272 с.
5. *Воронин А.Д.* Основы физики почв. М.: Изд-во Моск. ун-та. 1986. 224 с.
6. *Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н.* Введение в природоведческую микробиологию. М.: Книжный дом Университет, 2001. 256 с. С. 192–210.
7. *Зборищук Ю.Н., Рымарь В.Т., Чевердин Ю.И.* Состояние черноземов обыкновенных Каменной Степи. М., 2007. 160 с.
8. *Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М.* Биология почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2005. 445 с.
9. *Зенова Г.М.* Почвенные актиномицеты. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1992. 76 с.
10. *Ильина Т.К., Фомина О.М.* Авторское свидетельство № 113328а от 30.06.83. «Питательная среда для культивирования почвенных микроорганизмов».
11. *Когут Б.М., Травникова Л.С., Титова Н.А., Куваева Ю.В., Ярославцева Н.В.* Влияние длительного применения удобрений на соединение органического вещества в легких и илистых фракциях черноземов // Агрохимия. 1998. № 5. С. 13–20.
12. *Конonenko Е.В.* Роль дрожжей из рода *Lipotusces* в почвенных процессах // Почвоведение. 1959. № 6.
13. *Королева И.Е., Лебедева И.И., Гребенников А.М.* Гумусное и азотное состояние целинных пахотных черноземов // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2013. Вып. 71. С. 27–35.
14. *Куваева Ю.В.* Групповой состав гумуса фракций тонкодисперсной фазы дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы в длитель-

- ном опыте // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2012. Вып. 70. С. 18–42.
15. *Куваева Ю.В., Фрид А.С.* Динамика органического вещества тонкодисперсных частиц дерново-подзолистых почв в длительных опытах // Почвоведение. 2002. № 1. С. 52–61.
 16. *Кульман А., Климес-Чмик А.* Исследования динамики водопрочности почвенных агрегатов // Почвоведение. 1961. № 3. С. 23–35.
 17. *Кучаева А.Г.* Лучистые грибы. Порядки актиномицеты (Actinomycetales) и актинопланы (Actinoplanales) // Жизнь растений. М.: Просвещение, 1974. Т. 1. С. 273–288.
 18. *Милановский Е.Ю.* Гумусовые вещества почв как природные гидрофобно-гидрофильные соединения. М.: ГЕОС, 2009. 186 с.
 19. Практикум по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976. 307 с.
 20. Руководство по лабораторным методам исследования ионно-солевого состава нейтральных и щелочных минеральных почв / Под ред. Н.Б. Хитрова и А.А. Понизовского. М.: ВАСХНИЛ, Почвенный институт им. В.В. Докучаева, 1990. 236 с.
 21. Современная микробиология. Прокариоты / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля (в 2-х томах). М.: Мир, 2005. Т. 1. 656 с. Т. 2. 496 с.
 22. *Степанов А.Л., Манучарова Н.А., Полянская Л.М.* Продуцирование закиси азота бактериями в почвенных агрегатах // Почвоведение. 1997. № 8. С. 973–976.
 23. *Теплер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И.* Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2005. 256 с.
 24. *Трофимов С.Я.* О динамике органического вещества в почвах // Почвоведение. 1997. № 9. С. 1081–1086.
 25. *Хан Д.В.* Органо-минеральные соединения и структура почвы. М.: Наука, 1969. 142 с.
 26. *Хан К.Ю., Поздняков А.И., Сон Б.К.* Строение и устойчивость почвенных агрегатов // Почвоведение. 2007. № 4. С. 450–456.
 27. *Хитров Н.Б., Лебедева И.И., Чевердин Ю.И., Чижикова Н.П., Ямнова И.А.* Морфологические свойства почв Каменной Степи // Каменная Степь: проблемы изучения почвенного покрова. М.: Почв. ин-т им. В.В. Докучаева, 2007. С. 36–71.
 28. *Чевердин Ю.И.* Физическое состояние пахотных горизонтов черноземов Каменной Степи // Плодородие. 2009. №4. С. 44–46.

29. *Beare M.H., Coleman D.C., Crossley D.A., Hendrix P.F., Odum E.P.* A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling // *Plant and Soil*. 1995. V. 170. № 1. P. 5–22.
30. *Edwards A.P., Bremner J.M.* Microaggregates in soil // *J. Soil Sci.* 1967. V. 18. P. 64–73.
31. *Hattori T.* Soil aggregates as microhabitats for microorganisms // *Rep. Inst. Agric. Res. Tohoku. Univ.* 1988. V. 37. P. 23–26.
32. *Smith K.A.* A model of the extent of anaerobic zones in aggregated soil, and its potential application to estimates of denitrification // *J. Soil Sci.* 1980. V. 31. P. 263–277.