

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 579.266:631.465:631.823

doi: 10.17223/19988591/40/3

А.В. Козлов¹, А.Х. Куликова², И.П. Уромова¹

¹Нижегородский государственный педагогический университет
имени Козьмы Минина, г. Нижний Новгород, Россия

²Ульяновский государственный аграрный университет
имени П.А. Столыпина, г. Ульяновск, Россия

Влияние высококремнистых пород (диатомита, цеолита и бентонитовой глины) на активность олиготрофного и автохтонного микробного пула дерново-подзолистой почвы

Описаны закономерности изменения численности олиготрофных и автохтонных бактерий в дерново-подзолистой легкосуглинистой почве, вариабельности ее оксидоредуктазного ферментного комплекса, а также содержания в почве специфического органического вещества (гумуса), происходящие под пролонгированным действием природных кремнийсодержащих материалов – диатомита, цеолита и бентонитовой глины. Установлено стабилизирующее действие пород на численность олиготрофов и ингибирующее действие на представителей автохтонной экологической ниши, а также положительное влияние на активность полифенолоксидаз в почве. Показано, что данные лабораторных экспериментов по бактериальной деградации вещества изучаемых пород подтверждают закономерности, выявленные в полевых исследованиях. За счет снижения активности пероксидаз и стабилизации активности полифенолоксидаз в почве, а также в условиях некоторого перераспределения родового (видового) разнообразия олиготрофной и автохтонной частей почвенного микробиома выявленные взаимосвязи и полученные данные по сохраняемости специфического органического вещества (гумуса) почвы свидетельствуют о том, что диатомит, цеолит и бентонитовая глина являются стабилизаторами микробного статуса почвенно-биотического комплекса в части процессов трансформации гумусовых веществ в почве.

Ключевые слова: полифенолоксидазная и пероксидазная активность; специфическое органическое вещество; природные кремнийсодержащие материалы; стабилизация микробиологии трансформации гумуса.

Введение

Одним из актуальных направлений современных исследований в области почвоведения, в том числе и в его прикладных аспектах, является изучение состояния почвенно-биотического комплекса (ПБК) в условиях его взаимодей-

ствия с альтернативными источниками элементов питания для сельскохозяйственных культур и почвоулучшителями при внесении таковых в пахотный горизонт в высоких (мелиоративных) дозах. Нужно отметить, что многие из них обладают достаточно пролонгированным действием в почве, что вызывает еще больший интерес к изучению изменений в ПБК.

Современные авторы описывают положительные результаты влияния таких веществ, как природные породы различного генезиса, объединенные содержанием в своем составе значительного количества подвижного кремния, на урожайность культурных растений и оптимизацию свойств почв в различных почвенно-климатических зонах [1–6]. Однако в исследованиях недостаточно сведений, которые бы характеризовали процессы, протекающие в коллоидной системе почв, и в особенности с микробиотой, под действием данных материалов [7, 8].

Бактериальная система почвы включает различные экологические функциональные группы, взаимосвязь между которыми осуществляется на основе специфики потребления ресурсов питания и биохимических механизмов регуляции процессов разложения микроконкреций минералов, а также сложных высокомолекулярных органических веществ до простых компонентов, основанных на определенных гомеостатических механизмах, которые и обеспечивают устойчивость ее работы. При этом функционирование всей почвенной микробиоты складывается из последовательности потребления пищевого субстрата, от которой в итоге будут зависеть направленность и биохимическая активность трансформации органосодержащих компонентов и, как следствие, их качественный результат. При этом микробиотическая трансформация неорганической части почвы всегда сопутствует минерализации ее органических веществ [9].

Каждая микробная ассоциация, видовые популяции которой отвечают за определенный процесс, обладает специфическими физиологическими характеристиками, которые и обеспечивают ей то или иное положение в едином биотическом микросообществе почвы. При этом все ассоциаты микробного пула последовательно функционируют согласно универсальной концепции множественности экологических стратегий природных популяций жизни, соответствующих различным типам естественного отбора [10, 11].

Главными ассоциациями «медленной» части бактериального цикла трансформации вещества в почве являются представители олиготрофной и автохтонной групп микроорганизмов – К- и R-стратеги. В превращении органического вещества почвы и растительных остатков их активное развитие наблюдается после типичных зимогенных гидролитиков (L-стратегия развития) и, по сути, представляет собой основной этап утилизации почвенных органических матриц на конечной стадии их превращения в компоненты гумуса и его производных [12, 13].

В связи с тем, что современные исследования практически не касаются изучения изменений в ПБК почвы, протекающих при ее взаимодействии

с кремнийсодержащими материалами, и в особенности в ее олиготрофной и гумустрансформирующей микробных ассоциациях, целью настоящей статьи явились отслеживание таких изменений в условиях дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы нечерноземной зоны и выявление направления развития бактериальных ассоциаций К- и R-стратегов в почве с последующим анализом микробного статуса ПБК в контакте с диатомовой, цеолитовой породами и бентонитовой глиной.

Материалы и методики исследования

Исследования проведены в микрополевом опыте на базе картофелеводческого предприятия ООО «Элитхоз» Борского района Нижегородской области в 2015–2016 гг. и в моделируемых лабораторных экспериментах на базе научно-образовательного центра «Биотехнология» и лабораторного комплекса «Эколого-аналитическая лаборатория мониторинга и защиты окружающей среды» при Нижегородском государственном педагогическом университете имени Козьмы Минина (г. Нижний Новгород).

Микрополевой опыт включал контрольный вариант и 9 вариантов с внесением в пахотный слой разных доз диатомита Инзенского (Ульяновская область), цеолита Хотынецкого (Орловская область) и бентонитовой глины Зырянского (Курганская область) месторождений: контроль – вариант без внесения высококремнистых пород (Control), диатомит из расчета 3 тонны на 1 гектар (Diatomite-1), диатомит – 6 т/га (Diatomite-2), диатомит – 12 т/га (Diatomite-3), цеолит – 3 т/га (Zeolite-1), цеолит – 6 т/га (Zeolite-2), цеолит – 12 т/га (Zeolite-3), бентонитовая глина – 3 т/га (Bentonite-1), бентонитовая глина – 6 т/га (Bentonite-2), бентонитовая глина – 12 т/га (Bentonite-3). Обобщенный химический состав изучаемых материалов [14] приведен в табл. 1.

Почва опытного поля – дерново-подзолистая среднедерновая неглубокоподзоленная неоглеенная легкосуглинистая (по [15, 16] – тип дерново-элювозем типичный АУ-ЕL-D (C)), которая характеризуется со следующими агрохимическими показателями: обменная кислотность 4,8 ед. pH_{KCl} (среднекислая), содержание гумуса 1,21% (низкое), подвижных соединений фосфора и калия (по Кирсанову) 86 и 110 мг/кг почвы соответственно (средняя обеспеченность), актуального и потенциального кремния (по Матыченкову) 16 и 213 мг/кг (средний уровень дефицита в балансе). В августе 2014 г. участки разбивали на делянки и в гумусо-аккумулятивный горизонт почвы вносили исследуемые породы в соответствии со схемой исследования.

В 2015 г. на делянках опытного поля выращивали озимую пшеницу сорта *Московская 39*. Сорт районирован по Волго-Вятскому региону, среднеспелый, характеризуется устойчивостью к пыльной и твердой головне и септориозу, однако восприимчив к бурой ржавчине и мучнистой росе. Мука из семян данного сорта характеризуется высокими хлебопекарными качествами, а сам сорт считается ценным [17].

Таблица 1 [Table 1]

**Обобщенный химический состав природных
кремнийсодержащих материалов**
[Generalized chemical composition of natural siliceous materials]

Порода [Rock]	Ионообмен- ная емкость, мг-экв./100 г [Ion-exchange capacity, mg-equiv./100 g]	Элемент в оксидной форме (% на абсолютно сухое вещество) [Element in oxide form (% for absolute dry matter)]				
		SiO ₂	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO
Диатомит [Diatomite] – валовая форма, % [- total form, %]	80	83,1	0,05	1,25	0,52	0,48
– подвижная форма, мг/кг [- mobile form, mg/kg]		12 200	37	350	10	39
Цеолит [Zeolite] – валовая форма, % [- total form, %]	48	56,6	0,23	1,82	13,30	1,90
– подвижная форма, мг/кг [- mobile form, mg/kg]		7 950	260	250	4 800	1 600
Бентонит [Bentonite] – валовая форма, % [- total form, %]	150	52,3	0,12	0,92	5,50	3,20
– подвижная форма, мг/кг [- mobile form, mg/kg]		10 500	165	87	46	14

В 2016 г. на этих же делянках выращивали ячмень сорта *Велес*. Сорт также районирован по Волго-Вятскому региону, характеризуется средней спелостью, слабой поражаемостью пыльной головней, темно-бурой пятнистостью – на уровне стандарта. Сорт пивоваренный, ценный [17].

Опыты проведены со строгим соблюдением методических требований [18]. Учетная площадь делянки 1 м², расположение делянок рендомизированное, повторность – четырехкратная.

Погодные условия в 2015 г. характеризовались несущественным количеством осадков, а сам год в целом более жаркий по сравнению со средними климатическими нормами региона. Метеоусловия 2016 г., наоборот, не отличались дефицитом осадков, а температура воздуха колебалась в пределах нормы с небольшим ее превышением в августе.

Почвенные образцы отбирали непосредственно после уборки культур и анализировали в течение первой недели после отбора. В них определяли численность олиготрофных и автохтонных микроорганизмов, активность оксидоредуктазных ферментов – пероксидазы и полифенолоксидазы, а также содержание органического углерода (гумуса). При этом численность микроорганизмов определяли с помощью посева на плотные питательные

среды (метод Коха) с разделением почвы по Пастеру [19]. Для учета общего количества олиготрофных микроорганизмов использовали «голодный» агар (ГА), численности и родового разнообразия автохтонных бактерий – нитритный агар Теппер (НАТ). Пероксидазную и полифенолоксидазную ферментативную активность почвы определяли пирокатехиновыми титриметрическими методами по К.А. Козлову [20]. Микробиологические анализы проводили со свежими образцами почвы, просеянными через сито с диаметром ячеек 5 мм. Содержание органического углерода (гумуса) определяли в воздушно-сухой почве, просеянной через сито с диаметром ячеек в 0,25 мм, по методу окисления органических веществ серно-хромовой смесью (метод И.В. Тюрина в модификации Б.А. Никитина [21]) со спектрофотометрическим окончанием на спектрофотометре ПЭ-5400 ВИ (ООО «Экротех», Россия).

Взаимодействие природных кремнийсодержащих пород с бактериальными культурами аналогичных групп микроорганизмов изучали в серии моделируемых лабораторных экспериментов.

Накопительную культуру комплекса олиготрофных бактерий получали путем засева жидкого варианта стерильного «голодного» агара (разбавление исходной среды в 20 раз), а культуру автохтонных бактерий – жидкого варианта стерильного нитритного агара Теппер навеской подготовленной почвы и культивированием бактериальных биомасс в термостате в течение 7 суток при температуре +25...27°C [22].

Затем производили засев испытуемых пород полученными бактериальными комплексами. Опыты ставили в стерильных конических колбах на 100 мл, в которые асептически помещали по 40 мл селективной жидкой питательной среды и 1,000±0,001 г высушенной кремнийсодержащей породы, после чего полученную систему асептически засевали 10 мл суспензии 7-суточной накопительной культуры выращенных бактериальных комплексов.

Засеянные колбы помещали в термостат ТСО-1/80 СПУ (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия) и культивировали при +25...27°C в течение 30 суток; 2 раза в сутки содержимое колб встряхивали в течение 1 часа на шейкере ПЭ-6300 (ООО «Экротех», Россия). Через определенные интервалы времени (в 1-й, 3-й, 5-й, 7-й, 10-й, 12-й, 15-й, 20-й, 25-й и 30-й дни культивирования) определяли микробиологические и биохимические показатели содержимого колб. В системе «порода–культура» определяли полифенолоксидазную и пероксидазную ферментативную активность, а также встречаемость некоторых родов и видов бактерий; повторность опытов четырехкратная.

Определение биохимической активности бактериальной суспензии нитритного агара Теппер проводили по прописям определения ферментативной активности почвы с переложением методик на чистую биомассу бактерий (культуральную жидкость) без гомогенизирования бактериальных клеток аналогичными пирокатехиновыми титриметрическими методами по К.А. Козлову [20].

Родовое и видовое разнообразие бактериальных комплексов в почве полевого и системе «порода–культура» лабораторного опытов определяли по встречаемости роста клеток на НАТ и их идентификации по культуральным, физиологическим и биохимическим признакам [23–26], в том числе при помощи световой и люминесцентной микроскопии на микроскопе «БиоТех-330-LED2-Tr» (ООО «Стат», Россия) с акридиновым оранжевым [19]. Структуру родового (видового) разнообразия микроорганизмов оценивали по традиционной схеме доли присутствия доминантов (более 30% одного рода от общего числа выросших клеток), субдоминантов (20–30%), группы среднего обилия (5–20%) и минорных компонентов микробиоценоза (менее 5%) [25]. Коэффициент биохимической трансформации гумусовых компонентов в почве по Муромцеву K_M рассчитывали как численное отношение полифенолоксидазной активности почвы к ее пероксидазной активности.

Математическая обработка полученных данных проведена по В.Ю. Урбаху [27] и Б.А. Доспехову [18] и методами вариационной статистики в виде расчетов среднего арифметического, стандартного отклонения, коэффициента вариации и критерия Фишера с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007.

Результаты исследования и обсуждение

К-отбор (экологическая стратегия насыщения) в целом характеризует почвенную систему микроорганизмов с признаками равновесия различных популяций и максимально возможной их плотностью. Микроорганизмы К-стратегии развития обладают высокой конкурентоспособностью, поддерживают свою численность за счет максимального использования ресурсов, поэтому эволюционно они приспособились к жизни в условиях низких концентраций питательных веществ вслед за активной деятельностью гидролитиков и копиотрофов. Микроорганизмы К-отбора в почве представлены олиготрофными группировками, которые характеризуются длительной жизнью и активностью в почве, поскольку являются основными утилизаторами органического вещества на конечной стадии его превращения. Олиготрофную микрофлору количественно учитывают на средах с низкой концентрацией азота и углерода, тем самым оценивают результат микробного оборота жизненно важных элементов питания для растений и устойчивость почвенно-биотического комплекса как основы среды обитания фито-, зоо- и микробиоценозов.

Р-отбор (экологическая стратегия эксплуатации) приводит к массовому развитию популяций микрофлоры в почве, но при появлении благоприятных условий для ее существования. В почвах такие популяции следуют за активным ростом гидролитиков и олиготрофов, поставляющих им продукты питания от разложения сложных органических соединений, поскольку сами популяции Р-отбора практически не обладают гидролитической фермент-

ной системой. Они слабо адаптированы к условиям обостренной конкуренции и резко снижают свою численность при действии неблагоприятных условий. К такой микрофлоре относятся копиотрофные микроорганизмы, не продуцирующие ферменты гидролиза, а также автохтонная часть микробного пула почвы, образующая окислительно-восстановительный комплекс энзимов, способный к трансформации гумуса.

Оценка состояния каждой из этих групп в ПБК, основанная на измерении численности и ферментативной активности, показывает не только степень развития микробиологических процессов, агрономически важным следствием которых является пополнение почвенной среды доступными формами биогенных элементов, но и направленность преобразования органической части почвенного профиля, что значимо при оценке экологической устойчивости всего почвенно-биотического комплекса. Данные табл. 2 отражают степень влияния различных доз кремнийсодержащих материалов на численность бактериальных К- и R-стратегов в почве полевого опыта.

Таблица 2 [Table 2]

**Влияние кремнийсодержащих материалов на численность
микроорганизмов дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы**
[Effect of siliceous materials on the number of microorganisms in sod-podsolic light loamy soil]

Вариант [Variant]	Численность олиготрофных микроорганизмов, $\times 10^5$ КОЕ/г почвы [Oligotrophic microorganisms, $\times 10^5$ colony-forming unit/g of soil]				Численность автохтонных микроорганизмов, $\times 10^5$ КОЕ/г почвы [Autochthonous microorganisms, $\times 10^5$ colony-forming unit/g of soil]			
	2015 г.		2016 г.		2015 г.		2016 г.	
	m $\pm$ SD	V, %	m $\pm$ SD	V, %	m $\pm$ SD	V, %	m $\pm$ SD	V, %
Control	0,26 $\pm$ 0,02	12,2	0,41 $\pm$ 0,02	5,4	0,96 $\pm$ 0,03	6,5	1,29 $\pm$ 0,03	5,1
Diatomite-1	0,29 $\pm$ 0,02	12,3	0,38 $\pm$ 0,01	6,5	0,95 $\pm$ 0,03	7,2	1,03 $\pm$ 0,06	11,6
Diatomite-2	0,29 $\pm$ 0,01	5,9	0,34 $\pm$ 0,01	8,0	0,92 $\pm$ 0,02	3,7	0,96 $\pm$ 0,04	9,0
Diatomite-3	0,31 $\pm$ 0,01	3,1	0,33 $\pm$ 0,02	8,0	0,90 $\pm$ 0,03	5,9	0,94 $\pm$ 0,01	2,5
Zeolite-1	0,27 $\pm$ 0,02	12,1	0,40 $\pm$ 0,01	4,2	0,94 $\pm$ 0,02	5,3	1,14 $\pm$ 0,03	4,6
Zeolite-2	0,28 $\pm$ 0,01	8,7	0,39 $\pm$ 0,01	2,5	0,94 $\pm$ 0,03	5,3	1,01 $\pm$ 0,02	4,1
Zeolite-3	0,30 $\pm$ 0,01	3,2	0,37 $\pm$ 0,01	5,8	0,93 $\pm$ 0,01	2,8	0,97 $\pm$ 0,02	5,1
Bentonite-1	0,32 $\pm$ 0,01	7,0	0,37 $\pm$ 0,01	6,0	0,90 $\pm$ 0,03	7,1	0,90 $\pm$ 0,02	5,1
Bentonite-2	0,33 $\pm$ 0,02	6,8	0,32 $\pm$ 0,02	6,0	0,88 $\pm$ 0,01	2,5	0,83 $\pm$ 0,03	7,4
Bentonite-3	0,35 $\pm$ 0,01	3,7	0,30 $\pm$ 0,01	3,2	0,87 $\pm$ 0,02	4,1	0,78 $\pm$ 0,03	7,5
F _f (F _t = 2,27)	4,99	—	14,94	—	2,08	—	18,67	—

Примечание. Здесь и далее: m $\pm$ SD – средняя арифметическая $\pm$ стандартное отклонение; V – коэффициент вариации (%); F_f – расчетный критерий Фишера в сравнении вариантов при статистическом уровне значимости p < 0,05; F_t = 2,27 – теоретический критерий Фишера при n₁ = 9 и p < 0,05.

[Note. Here and hereinafter: m $\pm$ SD - Arithmetic mean $\pm$ Standard Deviation; V - Variation factor (%); F_f - Settlement Fisher's ratio test in comparison of variants at statistical significance value of p < 0.05; F_t = 2.27 - Theoretical Fisher's ratio test at n₁ = 9 and p < 0.05].

Необходимо отметить, что первый год взаимодействия вещества внесенных пород с почвой оказался неоднозначным как по степени, так и по на-

правленности изменений. В частности, численность олиготрофных бактерий в почве (*Oligothrophic microorganisms*) увеличивалась только к третьей дозе всех пород (до 19% на варианте с диатомитом, до 15% – с цеолитом и до 35% – с бентонитовой глиной) в первый год исследования, однако на второй год она снижалась, и практически в равносильной мере первого года – до 20%, 10% и до 27% по аналогичным вариантам третьей дозы каждой из пород.

Количество автохтонных бактерий в почве (*Autochthonic microorganisms*) имело тенденцию уменьшения в оба года исследования, которое только усилилось ко второму году: примерно в одинаковой степени (на 27 и 25%) на вариантах с максимальной дозой диатомовой и цеолитовой пород, а также на 40% – на аналогичном варианте с бентонитом. В среднем за годы исследований с увеличением дозы материала мера снижения количества автохтонных микроорганизмов в почве выстроилась в ряд «цеолит–диатомит–бентонит» и соответственно составила 16, 19 и 27%.

За два года исследований под действием кремнийсодержащих пород установлены стабилизация олиготрофной микробной ниши в почве и снижение активности микроорганизмов, участвующих в минерализации гумусовых компонентов почвы. Нужно отметить, что неодинаковая степень уменьшения численности рассматриваемых групп бактерий в почве по годам исследования, по-видимому, обусловлена как различными погодными условиями вегетационных периодов двух лет, так и пролонгированностью взаимодействия внесенных материалов с почвой [28].

Развитие бактерий К- и R-отбора в почве сопровождается выделением ими в почвенную систему оксидоредуктазных ферментов – полифенолоксидаз и пероксидаз.

Пероксидаза (донор: H_2O_2 – оксидоредуктаза, НКФ 1.11.1.7) – двухкомпонентный фермент, катализирующий реакции окисления фенольных производных различного происхождения с помощью перекиси водорода или иных органических перекисей до хинонов и их производных. В почвах пероксидаза принимает участие в трансформации ароматических веществ и гумусовых матриц.

Полифенолоксидаза (донор: кислородоредуктаза, НКФ 1.10.3.1) – медьсодержащий фермент, который катализирует реакции окисления полифенолов за счет кислорода воздуха. В почвах полифенолоксидаза участвует в превращении органических соединений ароматического ряда в хиноны, которые при дальнейшей конденсации с аминокислотами и пептидами образуют первичные молекулы гуминовых кислот.

Влияние кремнийсодержащих материалов на рассматриваемый ферментный комплекс почвы в более активной степени сказалось на ее полифенолоксидазной активности (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствовали о влиянии варианта с третьей дозой диатомита, а также вариантов со всеми рассматриваемыми дозами бентонитовой глины на усиление активности полифенолоксидаз дерново-

подзолистой почвы (Polyphenoloxidase activity) уже в первый год исследований – повышение активности на 6% от диатомовой, а также от 6 до 11% от бентонитовой пород. На второй год хоть и минимальным из всех материалов, но статистически достоверным оказалось и положительное действие цеолита – от 9 до 15% в зависимости от дозы материала. Влияние диатомита и бентонита на второй год действия только усилилось: увеличение активности полифенолоксидазных ферментов в почве варьировало от 12 до 18% на вариантах с различными дозами диатомовой породы и от 15 до 24% – с различными дозами бентонитовой глины.

Таблица 3 [Table 3]

**Влияние кремнийсодержащих материалов на ферментативную
активность дерново-подзолистой легкосуглинистой почвы**
[Effect of siliceous materials on enzymatic activity of sod-podsolic light loamy soil]

Вариант [Variant]	Активность полифенолоксидазы [Polyphenoloxidase activity, ml 0.01 N of I ₂ solution/g of soil]				Активность пероксидазы [Peroxidase activity, ml 0.01 N of I ₂ solution/g of soil]			
	2015 г.		2016 г.		2015 г.		2016 г.	
	m ± SD	V, %	m ± SD	V, %	m ± SD	V, %	m ± SD	V, %
Control	4,14±0,04	1,9	5,23±0,04	1,4	5,71±0,10	3,6	6,12±0,06	2,0
Diatomite-1	4,29±0,04	2,1	5,86±0,05	1,8	5,66±0,17	5,9	6,18±0,05	1,7
Diatomite-2	4,36±0,05	2,2	6,11±0,06	2,1	5,60±0,13	4,8	6,01±0,06	2,1
Diatomite-3	4,39±0,15	6,7	6,19±0,08	2,5	5,59±0,12	4,3	5,88±0,07	2,2
Zeolite-1	4,17±0,11	5,5	5,69±0,11	3,9	5,68±0,14	4,9	6,10±0,10	3,3
Zeolite-2	4,20±0,07	3,5	5,92±0,14	4,6	5,62±0,15	5,5	6,04±0,10	3,2
Zeolite-3	4,23±0,06	3,0	6,02±0,15	5,0	5,60±0,15	5,4	6,01±0,08	2,7
Bentonite-1	4,40±0,04	1,9	5,99±0,06	2,1	5,74±0,13	4,4	6,14±0,05	1,7
Bentonite-2	4,56±0,05	2,2	6,36±0,15	4,7	5,63±0,14	4,9	5,91±0,07	2,2
Bentonite-3	4,61±0,08	3,4	6,48±0,09	2,8	5,60±0,13	4,8	5,80±0,07	2,4
F _f (F _t = 2,27)	4,28	–	11,12	–	0,13	–	3,02	–

Активность ферментов пероксидаз в почве (Peroxidase activity) имела тенденцию ингибирования в первый год и статистически снижалась от третьей дозы диатомита и бентонита (в среднем по максимальной дозе пород на 4%) на второй год. В целом за два года пероксидазная активность почвы была на одном уровне со значением контрольных вариантов. Необходимо отметить, что стабилизация почвенных пероксидаз и относительная активизация полифенолоксидаз под действием кремнийсодержащих материалов могут способствовать оптимизации состояния гумусовых веществ самой почвы [6, 29].

Для того чтобы оценить потенциальное влияние рассматриваемых пород на численность олиготрофных и автохтонных бактерий, а также на их ферментативную активность без участия собственно почвенного вещества, и в первую очередь его органической части, нами поставлена серия лабораторных экспериментов по изучению микробиологического отклика рас-

смаатриваемых бактерий и состояния системы их метаболизма от вещества кремнийсодержащих материалов.

На рис. 1 представлена динамика численности живых клеток олиготрофов и автохтонов в системе «порода–культура» в условиях 30-дневной экспозиции выдержки их взаимодействия.

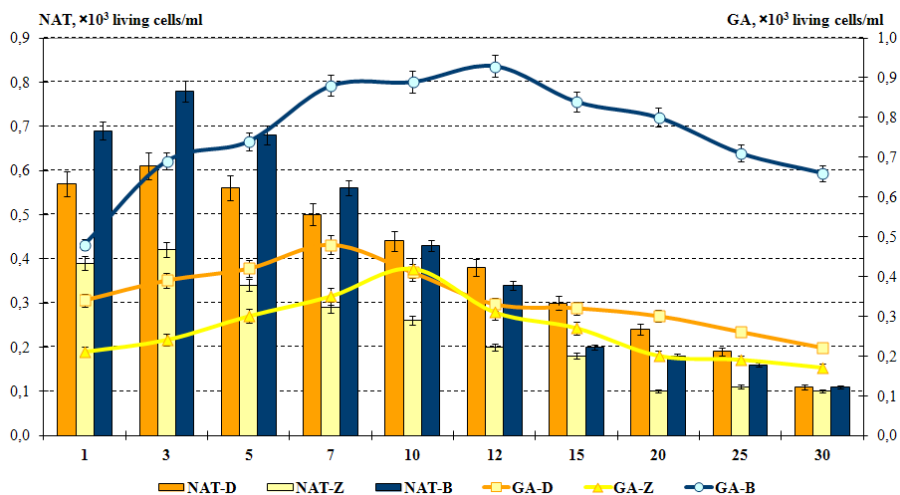


Рис. 1. Динамика численности живых клеток автохтонных (НАТ) и олиготрофных (ГА) бактерий при биохимической деградации кремнийсодержащих пород в условиях лабораторного эксперимента.

По горизонтали: день учета численности клеток; по вертикали: NAT, $\times 10^3$ living cells/ml и GA, $\times 10^3$ living cells/ml – численность живых клеток в мл суспензии; NAT-D, NAT-Z, NAT-B и GA-D, GA-Z, GA-B – численность живых клеток на нитритном агаре Тетпер и «голодном» агаре при взаимодействии с диатомитом, цеолитом и бентонитом соответственно

[Fig. 1. Population dynamics of autochthonous (NAT) and oligotrophic (GA) bacteria live cells during biochemical degradation of siliceous rocks in a laboratory experiment.

On the X-axis: 1...30 - Day of counting the number of cells; NAT-D, NAT-Z, NAT-B and GA-D, GA-Z, GA-B - Number of live cells on nitrite agar Tepper and on "starvation" agar during interaction with diatomite, zeolite and bentonite, respectively; on the Y-axis 1 and 2: NAT, $\times 10^3$ live cells/ml and GA, $\times 10^3$ live cells/ml - Number of live cells in ml of suspension]

В результате проведенных исследований выявили снижение численности автохтонных микроорганизмов относительно исходного титра в системах со всеми рассматриваемыми материалами. Максимальное количество бактерий присутствовало на 3-й день при культивировании бактериальной массы с диатомитом и бентонитом ($0,61$ и $0,78 \times 10^5$ живых клеток/мл соответственно), после чего наблюдали спад жизнеспособности биомассы. Аналогичная, но малочисленная закономерность отслеживалась и в отношении цеолитовой породы.

В системах «порода–культура» при культивировании олиготрофов до 7–12-го дня экспозиции наблюдали увеличение количества живых клеток (до $0,48$, $0,42$ и $0,93 \times 10^5$ живых клеток/мл соответственно в системе с диатомитом, цеолитом и бентонитовой глиной), после чего шло незначительное снижение показателей. Нужно отметить, что если в случае с автохтонными бактериями, культивируемыми на нитритном агаре Теппер, жизнеспособность биомассы угнеталась (количество клеток к концу экспозиции взаимодействия оказалось много ниже исходного титра), то в опытах с олиготрофами их численность на завершении выравнивалась с исходными значениями.

Оксидоредуктазная активность культуральной жидкости эксперимента с автохтонными бактериями имела аналогичные между породами закономерности, но различные направления изменений в зависимости от определяемого фермента (рис. 2).

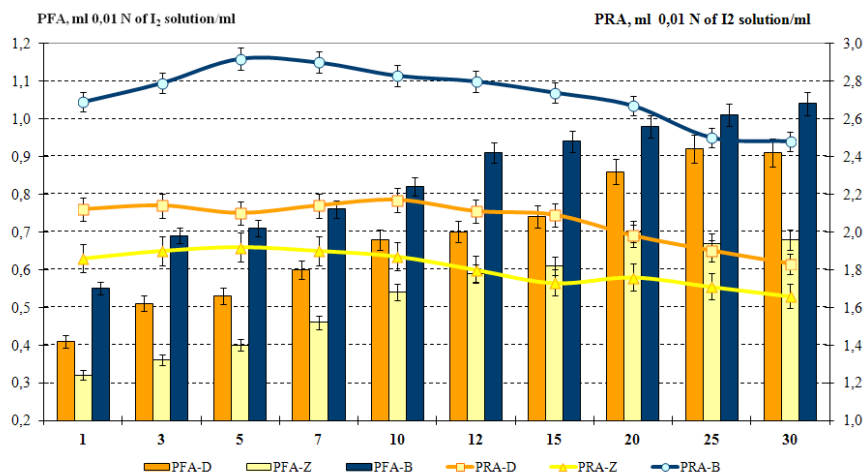


Рис. 2. Динамика полифенолоксидазной (ПФА) и пероксидазной (ПРА) активности бактериальной суспензии автохтонных микроорганизмов при биохимической деградации кремнийсодержащих пород в условиях лабораторного эксперимента. По горизонтали: день учета активности ферментов; по вертикали: ПФА, ml 0,01 N of I₂ solution/ml и ПРА, ml 0,01 N of I₂ solution/ml – количество ml 0,01 Н раствора I₂ на мл суспензии; ПФА-D, ПФА-Z, ПФА-B и ПРА-D, ПРА-Z, ПРА-B – полифенолоксидазная и пероксидазная активность бактериальной суспензии при взаимодействии с диатомитом, цеолитом и бентонитом соответственно [Fig. 2. Polyphenoloxidase (PFA) and peroxidase (PRA) activity dynamics of bacterial suspension of autochthonous microorganisms during biochemical degradation of siliceous rocks in a laboratory experiment. On the X-axis: 1...30 - Day of recording enzyme activity; PFA-D, PFA-Z, PFA-B and PRA-D, PRA-Z, PRA-B - Polyphenoloxidase and peroxidase activity of bacterial suspension during interaction with diatomite, zeolite and bentonite, respectively; on the Y-axis 1 and 2: PFA, ml 0,01 N of I₂ solution/ml and PRA, ml 0.01 N of I₂ solution/ml - ml 0.01 N of I₂ solution/ ml of suspension]

Так, полифенолоксидазная активность стабильно повышалась до 30-го дня опытов: до 0,92, 0,70 и 1,04 мл 0,01 Н раствора I_2 /мл на варианте с диатомовой, цеолитовой и бентонитовой породами соответственно. Активность пероксидазы, наоборот, держалась на уровне более 2,0 мл 0,01 Н раствора I_2 /мл при деградации диатомита до 20-го дня, на уровне 1,9–1,8 мл 0,01 Н раствора I_2 /мл при деградации цеолита до 12-го дня и на уровне около 3,0 мл 0,01 Н раствора I_2 /мл при деградации бентонитовой глины до 12-го дня эксперимента, после чего шел плавный спад активности данного фермента в системах.

Нужно отметить, что бактериальная деградация кремнийсодержащих материалов, происходящая в постановочных экспериментах, способствовала стабилизации условий жизнеобеспечения для К-стратегов, выделенных из дерново-подзолистей почвы, – олиготрофов, и ингибировала жизнедеятельность R-стратегов – автохтонных бактерий. Ферментный комплекс систем «порода–культура» активизировался в отношении полифенолоксидаз, и в особенности от взаимодействия культур с диатомитом и бентонитовой глиной. Аналогичные закономерности ранее отслежены в полевом опыте.

Из [30–34] известно, что изменение встречаемости бактериальных представителей некоторых родов (видов) микроорганизмов в почве может свидетельствовать об изменении направленности трансформации специфического органического вещества почвы и предгумусовых соединений. Более того, встречаемость некоторых родов специфических олиготрофов, а также видов актиномицетов рода *Nocardia* может служить существенным идентификационным признаком таких закономерностей [23, 35–37]. В почве полевого опыта и культуральной жидкости лабораторных экспериментов нами выявлено определенное распределение встречаемости некоторых олиготрофных и автохтонных бактерий в зависимости от вариантов исследования, которое показано в табл. 4.

Проведенные исследования в целом по двум годам показали некоторое уменьшение встречаемости в почве клеток таких бактерий, как *Micromonospora* и *Arthrobacter*, на варианте с диатомитом, *Bactoderma* и *Micromonospora* – на варианте с цеолитом, а также *Arthrobacter* и *Micromonospora* – на варианте с бентонитовой глиной. Количество псевдомонад в почве вело себя неоднозначно как в зависимости от породы, так и в зависимости от ее дозы, встречаемость нокардий – также в зависимости от изучаемых материалов. В частности, количество вида *Rubra* переходило из группы среднего обилия либо в минорные компоненты (вариант с дозами цеолита), либо отсутствовало (варианты с диатомитом и бентонитом). Встречаемость вида *Corallina* имело аналогичную тенденцию, но более выраженную на второй год исследований. Вид *Mucosum* снижался в общей доле идентифицированных клеток, но в менее выраженной степени, чего нельзя сказать про вид *Symbiotica*, встречаемость которого нетипична для микробного пула почв нечерноземной зоны.

Таблица 4 [Table 4]

**Распределение встречаемости некоторых олиготрофных
и автохтонных микроорганизмов в дерново-подзолистой
легкосуглинистой почве под действием кремнийсодержащих материалов**
[Occurrence of some oligotrophic and autochthonous microorganisms
in sod-podsolic light loamy soil under the influence of siliceous materials]

Genus (species) of the microorganism	Вариант [Variant]									
	Con- trol	D ₁	D ₂	D ₃	Z ₁	Z ₂	Z ₃	B ₁	B ₂	B ₃
2015 г. – полевой эксперимент [2015 - Field experiment]										
Arthrobacter	++	+++	+	+	+	+	+	++	+	+
Bactoderma	+	++	++	+	++	++	++	++	+	+
Micromonospora	0	+	0	+	+	++	++	+	++	0
Pseudomonas	++	++	++	0	+++	++	+	+	+	0
Nocardia:										
– Noc. Rubra	++	0	+	0	++	++	+	0	0	0
– Noc. Corallina	+++	+++	++	+	+++	+++	++	++	++	+
– Noc. Mucosum	++	++	+++	++	++	++	++	++	+	+
– Noc. Symbiotica	0	0	+	+++	0	+	+	+	++	+++
2016 г. – полевой эксперимент [2016 - Field experiment]										
Arthrobacter	++	++	+	0	+	0	+	+	0	0
Bactoderma	+	+++	++	++	0	++	++	++	+	+
Micromonospora	+	0	+	0	+	++	0	+	0	0
Pseudomonas	+++	+++	+++	+	++++	+++	++	++	++	+
Nocardia:										
– Noc. Rubra	++	0	0	0	+	0	+	0	0	0
– Noc. Corallina	+	++	+	0	++	+	0	+	0	0
– Noc. Mucosum	+++	+++	+++	++++	++	+++	++	+++	++	+
– Noc. Symbiotica	+	+	+	++	0	++	+++	+++	+++	++++
2017 г. – лабораторный эксперимент [2017 - Laboratory experiment]*										
Arthrobacter	+++		++			++			+	
Bactoderma	+		++			+			++	
Micromonospora	++++		+++			+++			+++	
Pseudomonas	+++		++			++			+	
Nocardia:										
– Noc. Rubra	++++		+			++			0	
– Noc. Corallina	+++		0			+			0	
– Noc. Mucosum	+++		++			+			+	
– Noc. Symbiotica	0		+			0			++	

Примечание. Genus (species) of a microorganism – род (вид) микроорганизма; Control – контроль, D₁–D₃, Z₁–Z₃, B₁–B₃ – варианты с различными дозами диатомита, цеолита и бентонита соответственно; встречаемость: ++++ – доминантная (более 30% одного рода (вида) микроорганизма от общего числа выросших клеток); +++ – субдоминантная (20–30%); ++ – среднего обилия (5–20%); + – минорных компонентов (менее 5%); 0 – отсутствие роста рода (вида) микроорганизма на питательной среде; * – встречаемость рода (вида) микроорганизма указана по дню выявления максимальной численности всех живых клеток в бактериальной суспензии.

[Note. D₁–D₃, Z₁–Z₃, B₁–B₃ - Variants with various doses of diatomite, zeolite and bentonite, respectively; Occurrence: ++++ Dominant (more than 30% of one microorganism genus (species) of the total number of grown cells); +++ Subdominant (20-30%); ++ Average abundance (5-20%); + Minor components (less than 5%); 0 - Lack of microorganism genus (species) growth on culture medium; * Occurrence of the microorganism genus (species) is specified by the day when the maximum number of all live cells was detected in bacterial suspension].

В отношении вида *Symbiotica* установлено стабильное повышение встречаемости, более или менее выраженное для всех рассматриваемых по-

род, – до среднего обилия в почве на варианте с цеолитом, субдоминантного обилия – на варианте с диатомитом и доминантного – на варианте с бентонитовой глиной.

Поскольку нокардии видов *Rubra* и *Corallina* доминируют в почвах с сильным преобладанием процессов минерализации гумуса над его синтезом, по данным изменениям можно судить о том, что снижение их встречаемости в зависимости от изучаемых материалов свидетельствует как минимум об ингибировании процессов деградации гумусовых компонентов в удобренной почве при ее использовании в качестве субстрата для выращивания сельскохозяйственных культур. Весьма отчетливое увеличение встречаемости вида *Symbiotica*, типичного для почв, в которых выражен дерновый процесс, может свидетельствовать о стабилизации процессов гумусообразования и его сохранения в почве.

Оценка встречаемости родов (видов) автохтонных бактерий в условиях лабораторного эксперимента по потенциальной бактериальной деградации кремнийсодержащих пород подтвердила тенденции, отслеженные в условиях полевого опыта.

Для того чтобы оценить общую направленность микробиологической функции трансформации гумусовых компонентов почвы, которая изменяется под действием кремнийсодержащих материалов, необходимо рассмотреть варьирование интегрального микробиотического показателя – коэффициента биохимической трансформации гумусовых компонентов по Муромцеву (табл. 5), поскольку именно он вычленяет накопление и активность полифенолоксидазных ферментов в общем оксидоредуктазном комплексе почвы, отвечающих за синтез гумусовых соединений.

Таблица 5 [Table 5]

Изменение коэффициента биохимической трансформации гумусовых компонентов по Муромцеву (K_M) в дерново-подзолистой легкосуглинистой почве под действием кремнийсодержащих материалов
[Change in the coefficient of biochemical transformation of humic components according to Muromtsev (K_M) in sod-podsolic light loamy soil under the influence of siliceous materials]

K_M , у.е. [C_M , conventional unit]	Вариант [Variant]									
	Control	D ₁	D ₂	D ₃	Z ₁	Z ₂	Z ₃	B ₁	B ₂	B ₃
2015	0,73	0,76	0,78	0,79	0,73	0,75	0,76	0,77	0,81	0,82
2016	0,85	0,95	1,02	1,05	0,93	0,98	1,00	0,98	1,08	1,12
Среднее за 2 года исследований [Average for 2 years]	0,79	0,85	0,90	0,92	0,83	0,86	0,88	0,87	0,94	0,97

Установлено, что коэффициент Муромцева имел положительное направление изменения по отношению к контролю, стабильно повышался по всем рассматриваемым вариантам и при этом наиболее существенно – до 2-й дозы материала: на 0,11 усл. ед. в отношении диатомита, на 0,07 усл. ед. в отношении цеолита и на 0,15 усл. ед. в отношении бентонита. Отсюда следует, что взаимодействие изучаемых пород с дерново-подзолистой почвой способствует стабилизации ее микробного пула и его ферментативной активности при трансформации гумусовых соединений, что, в свою очередь, повышает сохраняемость специфического органического вещества в плодородном слое.

В табл. 6 приведены данные по содержанию специфического органического вещества (гумуса) в дерново-подзолистой почве и его вариации в зависимости от вида и дозы природного кремнийсодержащего материала, которые подтверждают ранее описанные закономерности в изменении микробиологических и биохимических показателей почвы.

Таблица 6 [Table 6]

**Изменение содержания специфического органического вещества (гумуса)
в дерново-подзолистой почве в условиях взаимодействия
с кремнийсодержащими материалами**
[Change in specific organic matter content (humus) in sod-podsolic soil
during interaction with siliceous materials]

Вариант [Variant]	Содержание гумуса в почве [Humus content in soil], %			
	2015 г.		2016 г.	
	m ± M	V, %	m ± M	V, %
Control	1,21±0,01	2,0	1,24±0,01	2,0
Diatomite-1	1,22±0,01	1,4	1,26±0,01	1,6
Diatomite-2	1,23±0,01	1,5	1,27±0,01	1,3
Diatomite-3	1,26±0,02	2,2	1,27±0,02	1,7
Zeolite-1	1,21±0,01	1,5	1,25±0,01	2,1
Zeolite-2	1,22±0,01	1,2	1,26±0,02	2,1
Zeolite-3	1,22±0,01	1,7	1,26±0,01	1,0
Bentonite-1	1,23±0,02	2,7	1,27±0,02	1,7
Bentonite-2	1,26±0,01	1,0	1,29±0,01	1,3
Bentonite-3	1,27±0,01	1,3	1,29±0,01	1,7
F _i (F _i = 2,27)	5,20	–	2,28	–

Выявлено, что в целом по микрополевому опыту критерий Фишера оказался выше теоретического значения как в первый год исследования, так и на второй год, что говорит о наличии существенной разницы между вариантами исследования по отношению к контролю. Поскольку в течение двух лет исследования содержание гумуса в почве не уменьшается, а привнос свежего азотсодержащего органического вещества в пахотный горизонт отсутствует, можно говорить о прямом стабилизирующем действии изучаемых материалов на содержание специфического органического вещества

в гумусо-аккумулятивном слое почвы. Кроме того, данное действие несколько усилилось на второй год исследований, в особенности на вариантах с диатомитом и бентонитовой глиной, что, очевидно, объясняется позитивным пролонгированным взаимодействием высококремнистых пород с веществом почвы [34].

Сопоставляя полученные нами данные нужно отметить, что поскольку используемые материалы не содержат в своем составе органических компонентов, являются носителями сложных минеральных адсорбционно-каталитических и ионообменных центров, но при этом, как показано, активно участвуют в изменении численности микроорганизмов-органотрофов и оксидоредуктазной ферментативной активности почвы, по-видимому, вещество данных пород вступает в физико-химическое и биохимическое взаимодействие с промежуточным и специфическим органическим веществом самой почвы, а также участвует в активизации процессов биохимической переработки первичных органических компонентов (растительные остатки, детрит) в предгумусовые матрицы. Данные закономерности в значительной степени согласуются с выводами N. Jajgava с соавт. (2003), H. Xiubin и H. Zhanbin (2001), P.J. Leggoa (2006) и B. Eyheraguibel с соавт. (2008).

Заключение

Проведенные исследования в условиях микрополевого опыта показали оптимизирующее влияние природных кремнийсодержащих материалов (диатомита, цеолита и бентонитовой глины) на совокупность показателей состояния бактериальных ассоциаций К-отбора (олиготрофов), а также ингибирующее действие на некоторые бактерии R-отбора (автохтонных представителей) дерново-подзолистой почвы полевого опыта. Результаты лабораторных экспериментов, в которых не участвовало собственно почвенное органическое вещество, статистически подтвердили закономерности, выявленные в полевых испытаниях. За счет снижения активности пероксидаз и стабилизации активности полифенолоксидаз в почве, а также в условиях некоторого перераспределения родового (видового) разнообразия олиготрофной и автохтонной частей почвенного микробиома выявленные взаимосвязи и полученные данные по сохраняемости специфического органического вещества (гумуса) почвы позволяют расценивать диатомит, цеолит и бентонитовую глину как стабилизаторы микробного статуса ПБК в части процессов трансформации гумусовых веществ в почве.

Литература

1. Agafonov E.V., Khovanskii M.V. Effect of bentonite on the fertility of an ordinary chernozem // Eurasian Soil Science. 2014. Vol. 47, № 5. P. 478–482.
2. Козлов А.В., Куликова А.Х., Уромова И.П. Биологическая активность дерново-подзолистой почвы и продуктивность агрофитоценозов в зависимости от применения

- высокремнистых пород в качестве почвенных кондиционеров // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Сер. Естественные науки. 2017. № 11 (260), вып. 39. С. 155–166.
3. Лобода Б.П., Багдасаров В.Р., Фицура Д.Д. Влияние удобрения на основе цеолитсодержащих трепелов Хотынецкого месторождения на урожайность и качество картофеля // Агрохимия. 2014. № 3. С. 28–35.
 4. Матыченков И.В., Пахненко Е.П. Изменение содержания подвижных фосфатов почвы при внесении активных форм кремния // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2013. № 3 (23). С. 24–28.
 5. Pirzad A., Mohammadzadeh S. Zeolite use efficiency variation under water deficit stress in grass pea and lentil // Журнал Сибирского федерального университета. Сер. Биология. 2016. № 9 (3). С. 291–303.
 6. Janjgava N., Kardava M., Androni Kashvili T., Khazavadze N. Efficiency of natural zeolites and organic zeolite fertilizers in garlic growing // Bulletin Georgian Academy Science. 2003. № 168 (2). PP. 305–308.
 7. Бочарникова Е.А., Матыченков В.В., Матыченков И.В. Кремниевые удобрения и мелиоранты: история изучения, теория и практика применения // Агрохимия. 2011. № 7. С. 84–96.
 8. Козлов А.В., Куликова А.Х., Яшин Е.А. Роль и значение кремния и кремнийсодержащих веществ в агроэкосистемах // Вестник Мининского университета. 2015. № 2 (10). С. 23.
 9. Torsvik V., Ovrees L. Microbial diversity and function soil: from genes to ecosystem // Current opinion in Microbiology. 2002. Vol. 5. P. 240–245.
 10. Арчегова И.Б., Панюков А.Н., Кузнецова Е.Г., Ковалева В.А. Роль биологического фактора в процессе формирования почвы в таежной зоне // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 3, Биология. 2016. № 2. С. 127–139.
 11. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М. : Изд-во МГУ, 2005. 445 с.
 12. Матаруева И.А. Микробиологические закономерности формирования гумусных запасов дерново-подзолистых почв. Кострома : Изд-во КГСХА, 2005. 190 с.
 13. Targulian V.O., Goryachkin S.V. Soil memory: types of record, carriers, hierarchy and diversity // Revista Mexicana de Ciencias Geologicas. 2004. Vol. 21. PP. 1–8.
 14. Дистанов У.Г. Минеральное сырье. Опал-кристаллитовые породы : справочник. М. : Геоинформарк, 1998. 27 с.
 15. Наумов В.Д. География почв. Почвы России. М. : Проспект, 2016. 344 с.
 16. Шишов Л.Л., Тонконогов В.Д., Лебедева И.И., Герасимова М.И. Классификация и диагностика почв России. Смоленск : Ойкумена, 2004. 342 с.
 17. Шабина И.С., Вилков В.С., Кузнецова Л.П. Характеристика основных сортов сельскохозяйственных культур, рекомендованных для возделывания в Волго-Вятском регионе. Нижний Новгород : Юнион Принт, 2010. 150 с.
 18. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М. : ИД Альянс, 2011. 352 с.
 19. Практикум по микробиологии : учеб. пособие для студентов вузов / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук и др. ; под ред. А.И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.
 20. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М. : Наука, 2005. 252 с.
 21. Мамонтов В.Г., Гладков А.А. Практикум по химии почв. М. : ФОРУМ : ИНФРА-М, 2015. 272 с.
 22. Безбородов А.М., Квеситадзе Г.И. Микробиологический синтез. СПб. : Проспект Науки, 2011. 144 с.
 23. Теппер Е.З. Микроорганизмы рода *Nocardia* и разложение гумуса // Агрохимия. 1981. № 5. С. 156–157.

24. Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Лысак Л.В., Зенова Г.М. Физикохимия и биология торфа. Методы оценки численности и разнообразия бактериальных и актиномицетных комплексов торфяных почв. Томск : Изд-во Том. гос. пед. ун-та, 2010. 97 с.
25. Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н. Методы оценки и бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. М. : МАКС Пресс, 2003. 120 с.
26. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. London, New York : Springer, 2010. Vol. 4. 949 p.
27. Урбах В.Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. М. : Изд-во Академии наук СССР, 1963. 324 с.
28. Xiubin H., Zhanbin H. Zeolite application for enhancing water infiltration and retention in loess soil // Resources, conservation and recycling. 2001. Vol. 34. PP. 45–52.
29. Leggo P.J., Ledesertb B., Christies G. The role of clinoptilolite in organo-zeolite systems used for phytoremediation // Science of the total environment. 2006. Vol. 363. PP. 1–10.
30. Добровольский Г.В., Никитин Е.Д. Экология почв. М. : Изд-во МГУ, 2012. 412 с.
31. Семенов В.М., Когут Б.М. Почвенное органическое вещество. М. : ГЕОС, 2015. 233 с.
32. Lehmann J., Kleber M. The contentious nature of soil organic matter // Nature. 2015. Vol. 528, № 7580. PP. 60–68.
33. Paterson E., Sim A. Soil-specific response functions of organic matter mineralization to the availability of labile carbon // Global Change Biology. 2013. Vol. 19, № 5. PP. 1562–1571.
34. Eyheraguibel B., Silvestre J., Morard P. Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize // Bioresource Technology. 2008. № 99. PP. 4206–4212.
35. Аристовская Т.В. Микробиология процессов почвообразования. Л. : Наука, 1980. 187 с.
36. Мальцева Н.Н., Гордиенко С.А., Изжеурова В.В. Использование гуминовых кислот олигонитрофильными микроорганизмами // Почвоведение. 1974. № 12. С. 84–89.
37. Масько А.А., Щербакова Т.А., Галушко Н.А., Кленицкая И.А. О характере иммобилизации полифенолоксидазы почвой // Почвоведение. 1992. № 5. С. 60–65.

*Поступила в редакцию 31.08.2017 г.; повторно 31.10.2017 г.;
принята 17.11.2017 г.; опубликована 26.12.2017 г..*

Авторский коллектив:

Козлов Андрей Владимирович – канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры экологического образования и рационального природопользования, заведующий лабораторным комплексом «Эколого-аналитическая лаборатория мониторинга и защиты окружающей среды» Нижегородского государственного педагогического университета имени Козьмы Минина (Россия, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1).

E-mail: a_v_kozlov@mail.ru

Куликова Алевтина Христофоровна – д-р с.-х. наук, профессор, заведующая кафедрой почвоведения, агрохимии и агроэкологии Ульяновского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина (Россия, 432017, г. Ульяновск, б-р Новый Венец, 1).

E-mail: agroec@yandex.ru

Уромова Ирина Павловна – д-р с.-х. наук, доцент, профессор кафедры биологии, химии и биолого-химического образования, заведующая научно-образовательным центром «Биотехнология» Нижегородского государственного педагогического университета имени Козьмы Минина (Россия, 603950, г. Нижний Новгород, ул. Ульянова, 1).

E-mail: uromova2012@yandex.ru

For citation: Kozlov AV, Kulikova AH, Uromova IP. Effect of high-siliceous rocks (diatomite, zeolite and bentonite clay) on the activity of the oligotrophic and autochthonous microbial pool in sod-podsolic soil. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology.* 2017;40:44–65. doi: 10.17223/19988591/40/3 In Russian, English Summary

Andrey V. Kozlov¹, Alevtina H. Kulikova², Irina P. Uromova¹

¹Minin Nizhny Novgorod State Pedagogical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

²Stolypin Ulyanovsk State Agricultural University, Ulyanovsk, Russian Federation

**Effect of high-siliceous rocks (diatomite, zeolite and bentonite clay)
on the activity of the oligotrophic and autochthonous microbial pool
in sod-podsolic soil**

At present, a relevant issue in soil science is analysis of soil–biotic complex condition in connection with using natural siliceous materials as fertilizers and ameliorants. In this regard, the aim of this research was to study soil microbial status using the example of microorganisms of oligotrophic and autochthonous ecological niches, as the main representatives of K- and R-life support strategies, which are responsible for transformation of soil organic matter, including humus.

In microfield experiments (2015–2016), launched in sod-podsolic soil of Nizhny Novgorod Region, we investigated the effect of various doses of three natural siliceous materials - diatomite of the Inzensky field (Ulyanovsk region), zeolite of the Hotynetsky field (Oryol region), and bentonite clay of the Zyrian field (Kurgan region) on oxidoreductase enzymatic activity of the soil, and on the number of oligotrophic and autochthonous microorganisms in it, as well as humus content (See Table 1 for chemical composition of natural siliceous materials used in the experiment). In lab experiments, we carried out dynamic tests on potential biochemical degradation of rock matter by the accumulative cultures of bacterial complexes, isolated from the soil. We launched field experiments according to standard rules of carrying out microplot field studies (registration area of a plot - 1 m², arrangement of plots - randomized, replication - quadruple). The number of bacterial cells was determined by Koch's method using nitrite agar Tepper and "starvation" agar. Enzymatic activity was determined by pyrocatechol titrimetric methods; identification of genus (species) diversity of bacteria - according to cultural, physiological and biochemical characteristics, including by light and luminescent microscopy with acridine orange; content of specific organic matter (humus) in soil - by its oxidation with sulfur-chromium mixture and spectrophotometric measuring.

Under conditions of a two-year field experiment (See Table 2), we observed an insignificant decrease in the number of oligotrophic bacteria in soil (from the maximum dose of all rocks, on average, up to 6%), and also an essential decrease in the quantity of autochthonous microorganisms (up to 16–19% in variants with the greatest dose of zeolite and diatomite, respectively; up to 27% in the similar variant with bentonite clay). Polyphenoloxidase activity of soil (See Table 3) increased up to 9% in case of zeolite use, up to 13% - in case of diatomite use, and up to 18% of the maximum dose of bentonite. Peroxidase activity of soil tended to be slightly inhibited. In laboratory experiments on potential bacterial degradation of rock matter (See Figure 1), we revealed similar regularities– the number of autochthonous bacteria steadily decreased by the end of the experiment (to 0.11×10^5 live cells/ml), but the number of viable cells of oligotrophic microorganisms was stabilized with reference values (on average, to 0.22 , 0.17 and 0.66×10^5 of live cells/ml in three rocks).

We established a positive effect of the matter of siliceous materials on the accumulative culture polyphenoloxidase activity of autochthonous microorganisms (See Figure 2), as well as redistribution of genus (species) occurrence of their identified cells (See Table 4). Here, we observed a reduction in the number of *Nocardia Rubra* (from 30% to 5%) and *Nocardia Corallina* (from 20% to 5% of the total number of

grown cells), as well as an increase in *Nocardia Symbiotica* occurrence (up to 20% in the variant with zeolite, up to 30% in the variant with diatomite and more, than 30% in the variant with bentonite clay). Similar regularities are also revealed during two years of field tests on siliceous materials. On the basis of all obtained data and positive dynamics of humus biochemical transformation coefficient (See Table 5) and its content in soil (See Table 6) it can be asserted that the interaction of the studied rocks with sod-podsolic soil promotes stabilization of its microbial pool of K- and the R-life support strategies and its enzymatic activity during transformation of humic compounds, which, in its turn, increases the retention of specific organic matter in the fertile layer. The revealed interrelations allow us to regard diatomite, zeolite and bentonite clay as stabilizers of the microbial status of the soil-biotic complex concerning the processes of humic substances transformation in soil.

The article contains 2 Figures, 6 Tables and 37 References.

Key words: polyphenoloxidase and peroxidase activity; specific organic matter; natural siliceous materials, stabilization of humus transformation microbiology.

References

1. Agafonov EV, Khovanskii MV. Effect of bentonite on the fertility of an ordinary chernozem. *Eurasian Soil Science*. 2014;47(5):478-482. doi: [10.1134/S1064229314050020](https://doi.org/10.1134/S1064229314050020)
2. Kozlov AV, Kulikova AH, Uromova IP. Biological activity of the cespitose-podsolic soil and productivity agrophytocenosis in dependence from use of high-siliceous breeds as soil conditioners. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2017;39(11(260)):155-166. In Russian, English Summary
3. Loboda BP, Bagdasarov VR, Fitsuro DD. Effect of fertilizers based on zeolites and zeolite-containing tripolites from the Khotynetsky deposit on the yield and quality of potatoes. *Agrokhimiya = Agricultural chemistry*. 2014;3:28-35. In Russian
4. Matychenkov IV, Pakhnenko EP. Change of the content of mobile phosphates of soil when introducing active forms of silicon. *Vestnik Ulyanovskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii = Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2013;3(23):24-28. In Russian
5. Pirzad A, Mohammadzadeh S. Zeolite use efficiency variation under water deficit stress in grass pea and lentil. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Seriya: Biologiya = Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2016;9(3):291-303. doi: [10.17516/1997-1389-2016-9-3-291-303](https://doi.org/10.17516/1997-1389-2016-9-3-291-303)
6. Janjgava N, Kardava M, Khazaradze N. Efficiency of natural zeolites and organic zeolite fertilizers in garlic growing. *Bull Georgian Acad Sci*. 2003;168(2):305-308.
7. Bocharnikova EA, Matychenkov VV, Matychenkov IV. Silicon fertilizers and ameliorants: The history of study and the theory and practice of application. *Agrokhimiya = Agricultural Chemistry*. 2011;7:84-96. In Russian
8. Kozlov AV, Kulikova AH, Yashin EA. Role and value of silicon and siliceous substances in agroecosystems. *Vestnik Mininskogo universiteta = Vestnik of Minin University*. 2015;2(10):23. In Russian
9. Torsvik V, Ovreas L. Microbial diversity and function soil: from genes to ecosystem. *Current opinion in Microbiology*. 2002;5:240-245. PMID: [12057676](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12057676/)
10. Archegova IB, Panyukov AN, Kuznetsova EG, Kovaleva VA. On the role of biological factor in soil formation of the taiga zone. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Series 3. Biology*. 2016;2:127-139. doi: [10.21638/11701/spbu03.2016.210](https://doi.org/10.21638/11701/spbu03.2016.210)
11. Zvyagintsev DG, Babyeva IP, Zenova GM. *Biologiya pochv [Soil Biology]*. Moscow: Moscow State University Publ.; 2005. 445 p. In Russian
12. Matarueva IA. *Mikrobiologicheskie zakonomernosti formirovaniya gumusnykh zapasov*

- dernovo-podzolistykh pochv [Microbiological regularities of humus stocks formation in sod-podsolic soils]. Kostroma: KGSKhA Publ.; 2005. 190 p. In Russian
13. Targulian VO, Goryachkin SV. Soil memory: Types of record, carriers, hierarchy and diversity. *Revista Mexicana de Ciencias Geologicas*. 2004;21(1):1-8.
 14. Distanov UG. Mineral'noe syr'e. Opal-kristobalitovye porody: spravochnik [Mineral raw materials. Opal-cristobalite rocks: Reference book]. Moscow: Geoinformark Publ.; 1998. 27 p. In Russian
 15. Naumov VD. Geografiya pochv. Pochvy Rossii [Geography of soils. Soils of Russia]. Moscow: Prospekt Publ.; 2016. 344 p. In Russian
 16. Shishov LL, Tonkonogov VD, Lebedeva II, Gerasimova MI. Klassifikatsiya i diagnostika pochv Rossii [Classification and diagnostics of soils of Russia]. Smolensk: Oykumena Publ.; 2004. 342 p. In Russian
 17. Shabina IS, Vilkov VS, Kuznetsova LP. Kharakteristika osnovnykh sortov sel'skokhozyaystvennykh kul'tur, rekomen-dovannykh dlya vozdeleyvaniya v Volgo-Vyatskom regione [Characteristics of crop main varieties, recommended for cultivation in the Volga-Vyatka region]. Nizhny Novgorod: Yunion Print Publ.; 2010. 150 p. In Russian
 18. Dospekhov BA. Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy) [Methods of field experiment (With the basics of statistical processing of research results)]. Moscow: Alyans Publ.; 2011. 352 p. In Russian
 19. Netrusov AI, Egorova MA, Zakharchuk LM, Kolotilova NN, Kotova IB, Semenova EV, Tatarinova NYu, Ugol'kova NV, Tsavkelova EA, Bobkova AF, Bogdanov AG, Danilova IV, Dinarieva TYu, Zinchenko VV, Ismailov AD, Kurakov AV, Maksimov VN, Mil'ko ES, Nikitina EP, Ryzhkova EP, Semenov AM, Khomyakova DV, Cherdyntseva TA, Yudina TG. Praktikum po mikrobiologii [Workshop on Microbiology]. Netrusov AI, editor. Moscow: Akademiya Publ.; 2005. 608 p. In Russian
 20. Khaziev FK. Metody pochvennoy enzimologii [Methods of soil enzymology]. Moscow: Nauka Publ.; 2005. 252 p. In Russian
 21. Mamontov VG, Gladkov AA. Praktikum po khimii pochv [Workshop on soil chemistry]. Moscow: FORUM Publ., INFRA-M Publ.; 2015. 272 p. In Russian
 22. Bezborodov AM, Kvesitadze GI. Mikrobiologicheskii sintez [Microbiological synthesis]. St. Petersburg: Prospekt Nauki Publ.; 2011. 144 p. In Russian
 23. Tepper EZ. Mikroorganizmy roda *Nocardia* i razlozhenie gumusa [Microorganisms of *Nocardia* genus and humus decomposition]. *Agrokhimiya = Agricultural Chemistry*. 1981;5:156-157. In Russian
 24. Dobrovolskaya TG, Golovchenko AV, Lysak LV, Zenova GM. Fizikokhimiya i biologiya torfa. Metody otsenki chis-lennosti i raznoobraziya bakterial'nykh i aktinomitsennykh kompleksov torfyanykh pochv [Physical chemistry and biology of peat. Methods of number and variety assessment of bacterial and actinomycete complexes of peat soils]. Tomsk: Tomsk State Pedagogical University Publ.; 2010. 97 p. In Russian
 25. Lysak LV, Dobrovolskaya TG, Skvortsova IN. Metody otsenki bakterial'nogo raznoobraziya pochv i identifikatsii pochvennykh bakteriy [Methods of bacterial variety assessment of soils and identification of soil bacteria]. Moscow: MAKSS Press Publ.; 2003. 120 p. In Russian
 26. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Krieg NR, Staley JT, Brown DR, Hedlund BP, Paster BJ, Ward NL, Ludwig W, Whitman WB, editors. London, New York: Springer; 2010. Vol. 4. 949 p. doi: [10.1007/978-0-387-68572-4](https://doi.org/10.1007/978-0-387-68572-4)
 27. Urbakh VYu. Matematicheskaya statistika dlya biologov i medikov [Mathematical statistics for biologists and health professionals]. Moscow: Izdatel'stvo Akademii nauk SSSR Publ.; 1963. 324 p. In Russian
 28. Xiubin H, Zhanbin H. Zeolite application for enhancing water infiltration and retention in

- loess soil. *Resources, Conservation and Recycling*. 2001;34:45-52. doi: [10.1016/S0921-3449\(01\)00094-5](https://doi.org/10.1016/S0921-3449(01)00094-5)
29. Leggoa PJ, Ledesertb B, Christies G. The role of clinoptilolite in organo-zeolite systems used for phytoremediation. *Science of the Total Environment*. 2006;363:1-10. doi: [10.1016/j.scitotenv.2005.09.055](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.055)
30. Dobrovolskiy GV, Nikitin ED. *Ekologiya pochv* [Soil Ecology]. Moscow: Moscow State University Publ.; 2012. 412 p. In Russian
31. Semenov VM, Kogut BM. *Pochvennoe organicheskoe veshchestvo* [Soil organic matter]. Moscow: GEOS Publ.; 2015. 233 p. In Russian
32. Lehmann J, Kleber M. The contentious nature of soil organic matter. *Nature*. 2015;528(7580):60-68. doi: [10.1038/nature16069](https://doi.org/10.1038/nature16069)
33. Paterson E, Sim A. Soil-specific response functions of organic matter mineralization to the availability of labile carbon. *Global Change Biology*. 2013;19(5):1562-1571. doi: [10.1111/gcb.12140](https://doi.org/10.1111/gcb.12140)
34. Eyheraguibel B, Silvestre J, Morard P. Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. *Bioresource Technology*. 2008;99:4206-4212. doi: [10.1016/j.biortech.2007.08.082](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.082)
35. Aristovskaya TV. *Mikrobiologiya protsessov pochvoobrazovaniya* [Microbiology of soil formation processes]. Leningrad: Nauka Publ.; 1980. 187 p.
36. Malytseva NN, Gordienko SA, Izzheurova VV. Ispol'zovanie guminovykh kislot oligonitrofil'nymi mikroorganizmami [Use of humic acids of oligonitrophilic microorganisms]. *Pochvovedenie*. 1974;12:84-89. In Russian
37. Mas'ko AA, Shcherbakova TA, Galushko NA, Klenitskaya IA. O kharaktere immobilizatsii polifenoloksidazy pochvoy [On the character of polyphenoloxidase immobilization by soil]. *Pochvovedenie*. 1992;5:60-65. In Russian

Received 31 August 2017; Revised 31 October 2017;
Accepted 17 November 2017; Published 26 December 2017

Authors info:

Kozlov Andrey V, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of Ecological Education and Rational Environmental Management, Head of the Laboratory complex "Ecological and Analytical Laboratory for Environmental Monitoring and Protection", Minin Nizhny Novgorod State Pedagogical University, 1 Ulyanov Str., Nizhny Novgorod 603950, Russian Federation.

E-mail: a_v_kozlov@mail.ru

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

E-mail: agroec@yandex.ru

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

E-mail: uromova2012@yandex.ru