

multifactor field experiment: the final stage of the investigations with fertilizers application (2005–2011); later, after 7–8 years of experiment conservation and the non-use of fertilizers (2019–2020). It is shown that nitrogen fertilizers (200–600 kg A.D./ha (with PK)) made tea yield on average 2.5–3 times higher than in the options without nitrogen. During the experiment conservation, the differences between the variants were leveled, and the yield was equally low on the entire experimental site. In the conditions of 2019, with untypically wet and cool summer period, it averaged 26 ± 3.2 c/ha, while in 2020, with a long summer drought it was 12 ± 2.4 c/ha, which turned out to be 2.2 and 3 times lower than in the fertilized plantation part in the experiment with minor-nutrient element (annual background N240P70K90). At the same time, the productivity potential of full-aged tea plantations (cv. Kolkhida), realized under optimal mineral nutrition and favorable weather conditions, was 5–10 times higher (100–120 c/ha).

Key words: tea, Kolkhida cultivar, yield, mineral fertilizers, extensive cultivation, afteraction of fertilizers.

УДК 633.72: 631.8(470)

doi: 10.31360/2225-3068-2020-75-140-149

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

Малюкова Л. С., Рогожина Е. В.

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

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

а также изменению их морфологических характеристик. Для мицелиальных групп микроорганизмов отмечено снижение численности микромицетов, относящихся к ацидофильным микроорганизмам, и значительно более выраженное спороношение актиномицетов под влиянием удобрений с кальцием.

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

При возделывании чая в России, как и в ряде других регионов мира, внесение минеральных удобрений является одним из основных, наиболее эффективных агротехнических приёмов, обеспечивающих получение высоких урожаев [14, 18, 30]. Несбалансированное, как правило 3-компонентное, применение минеральных удобрений оказывает существенное влияние на свойства почв, их питательный режим, а также обеспеченность растений другими элементами [16, 1, 21, 8, 19]. При длительном возделывании чая прослеживаются изменения кислотно-основных и агрофизических свойств [12, 10]; макро- [9, 11] и микроэлементного состава [20, 21], гумусного состояния [2], а также биологической активности почв: ферментативной активности [28], эмиссии CO₂ [17] азотфиксирующей активности [24], численности основных групп почвенных микроорганизмов, особенно в верхних горизонтах [25, 26]. Учитывая это, важным является изучение роли более широкого спектра биогенных макро- и микроэлементов в регулировании агроэкологического статуса почв, базовым функциональным компонентом которого является состояние микробоценоза. В этом аспекте особый интерес представляет изучение воздействия кальция, который в системе питания чая, относящегося к ацидофильным растениям, не рассматривается как первоочередной элемент. При этом некоторые исследователи [3, 14, 31], в том числе и авторы [15, 18], отмечают положительный эффект от применения этого элемента на чайных плантациях. Так, показана эффективность применения кальция в условиях выщелоченных краснозёмов и подзолистых почв Грузии [3, 14]. В условиях Черноморского побережья России внесение природного кальцийсодержащего удобрения восстанавливало содержание в почве его обменных форм, что положительно сказывалось на устойчивости растений к засухе [15], и формирование урожайности [15, 18]. Также показано влияние кальция на снижение окислительных повреждений у чая при засухе посредством индуцирования антиоксидантной системы [15, 31]. Однако при этом недостаточно изучено влияние кальциевых удобрений, в частности кальциевой селитры, на почвенный микробоценоз субтропических почв, используемых под культуру чая, что и является **целью данного исследования**.

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

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

Микромицеты культивировали на среде Чапека, подкисленной стерильной молочной кислотой в концентрации 4 мг/л [23]. Среда предназначена для роста быстрорастущих форм микромицетов, «сахароли- тических» грибов. Молочная кислота обеспечивает подавление роста прокариот (бактерий и актиномицетов) и вносится асептически в стерильную, охлажденную до 45 °С среду. Культивировали 5–7 суток.

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

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

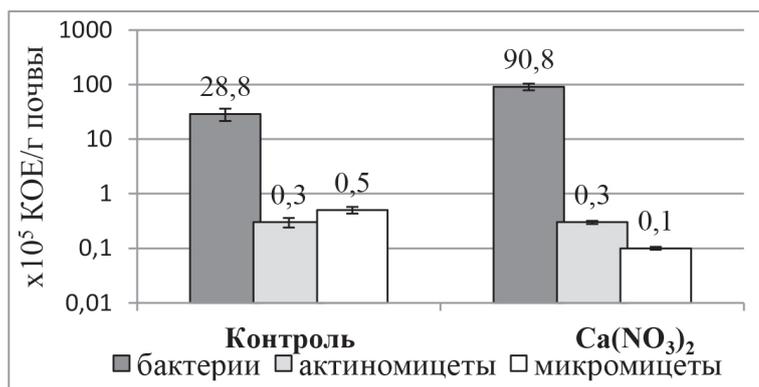


Рис. 1. Численность представителей основных таксономических групп сапротрофных микроорганизмов бурых лесных кислых почв чайной плантации в вариантах опыта

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

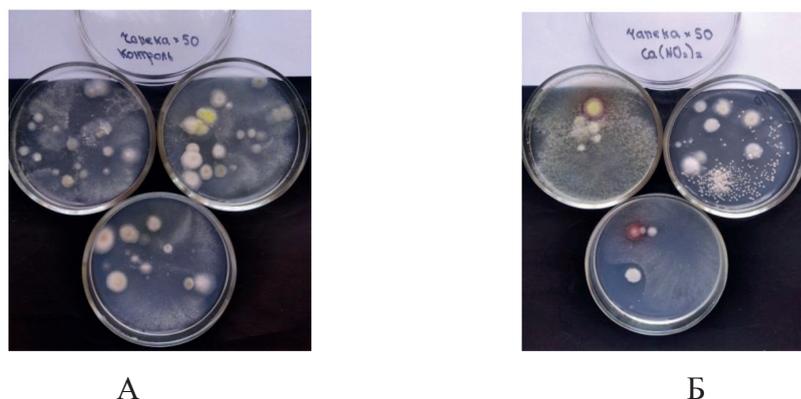


Рис. 2. Колонии бактерий на богатой органической среде (БС) – глюкозо-пептонно-дрожжевой: А – контроль; Б – $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Микроскопирование ($\times 45$) показало, что в сравнение с контролем, доминирующие бактериальные колонии в варианте с кальциевой селитрой морфологически отличались (более мелкие формы, правильно округлые, полупрозрачные, поверхность гладкая, жирно-блестящая, влажная, слегка выпуклая; края ровные, структура однородная, консистенция слизистая) (рис. 3), что может быть связано с изменением их видового состава, о чём пишут и другие исследователи при изучении влияния кальцийсодержащих веществ [4].

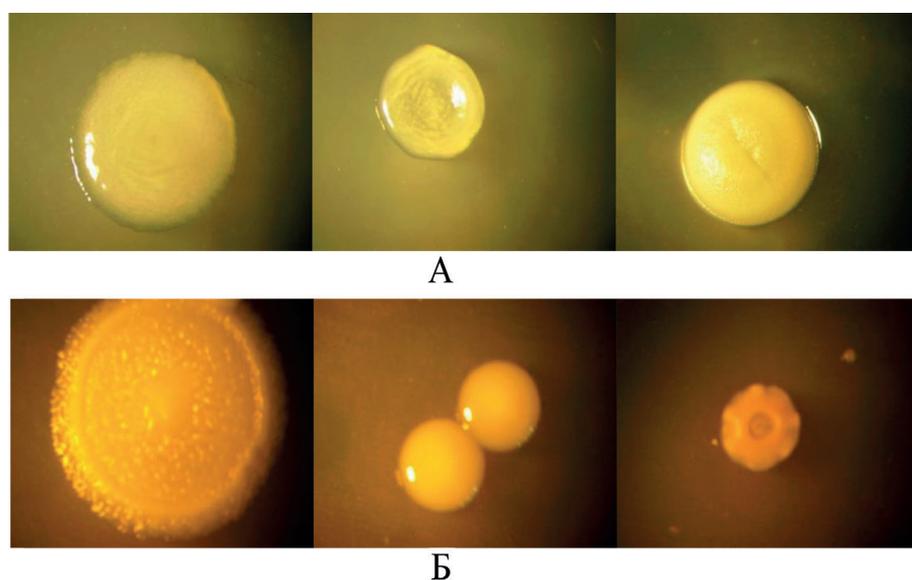


Рис. 3. Морфология колоний бактерий ($\times 45$) на глюкозо-пептонно-дрожжевой среде, культивированных из почв: А – контрольного варианта; Б – с кальциевой селитрой $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

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

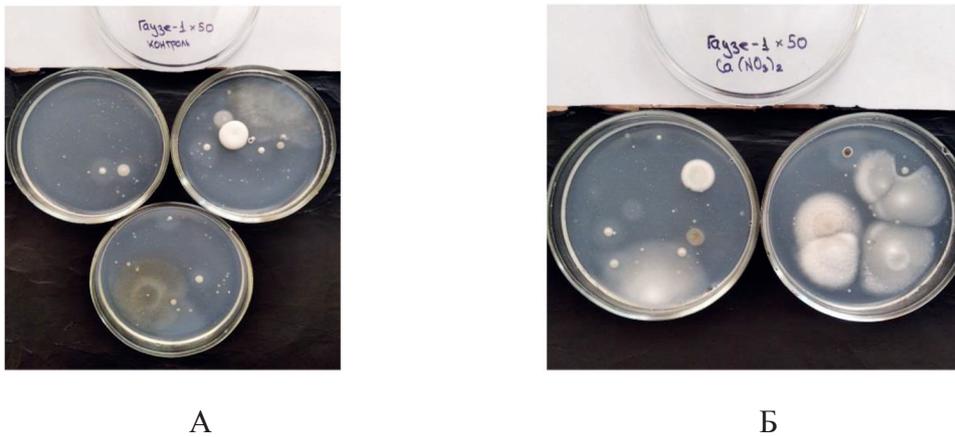


Рис. 4. Колонии актиномицетов на минеральной среде Гаузе-1:
А – контроль; Б – Ca(NO₃)₂

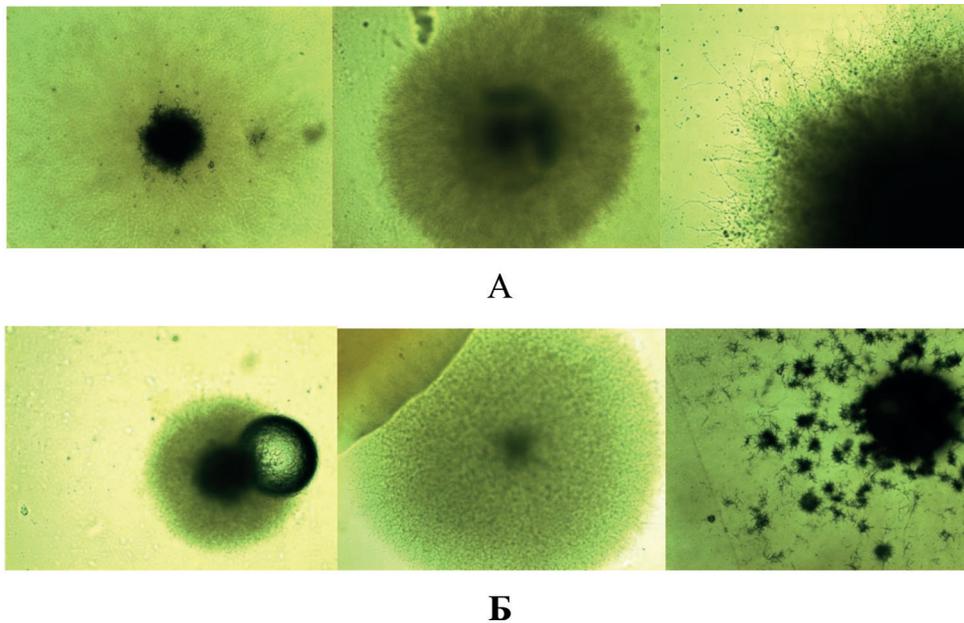


Рис. 5. Морфология колоний актиномицетов (×45) на среде Гаузе-1:
А – контроль; Б – Ca(NO₃)₂

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

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

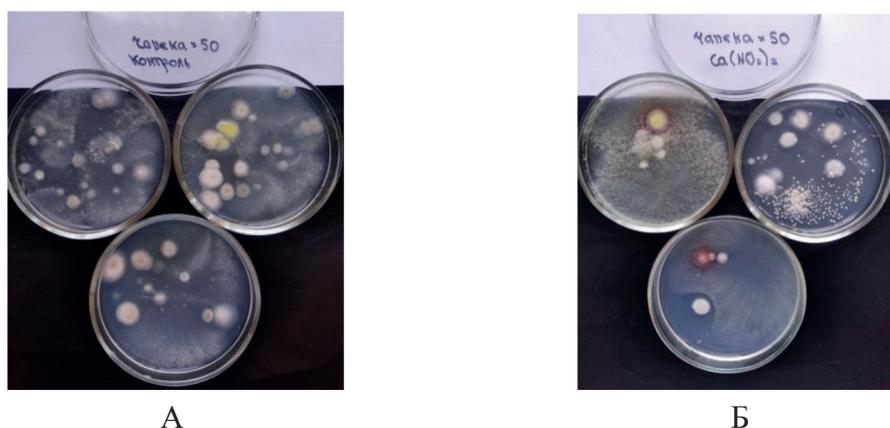


Рис. 6. Колонии микромицетов на подкисленной среде Чапека:
А – контроль; Б – $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

Закключение. Таким образом, установлено, что применение кальциевой селитры на почвах чайной плантации, как альтернативы аммиачной селитры, оказывает существенное влияние на почвенный микробиоценоз. Отмечается тенденция увеличения численности сапротрофных бактерий и изменения их морфологии, что может предполагать изменение доминирования видов. Для мицелиальных групп отмечено снижение численности микромицетов, относящихся к ацидофильным микроорганизмам и значительно более выраженное спороношение актиномицетов под влиянием удобрений с кальцием.

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

Библиографический список

1. Беседина Т.Д. Агрогенная трансформация почв влажных субтропиков России под культурой чая. – Краснодар: КубГАУ, 2004. – 169 с.
2. Владыченский А.С., Малюкова Л.С., Козлова Н.В. Гумусное состояние бурых лесных кислых почв и его изменение при интенсивном возделывании культуры чая в условиях субтропической зоны РФ // Вестник Моск. ун-та. Сер. Почвоведение. – 2007. – № 4. – С. 10-16.
3. Годзишвили Б.А. Влияние химической мелиорации длительно удобряемого краснозема на рост и развитие чайных саженцев // Субтроп. культуры. – 2010. – № 1-4. – С. 148-151.
4. Гомонова Н.Ф., Скворцова И.Н., Зенова Г.М. Результаты длительного применения различных видов и сочетаний удобрений на дерново-подзолистых почвах // Почвоведение. – 2007. – № 4. – С. 498-504. – ISSN 0032-180X.
5. Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н., Лысак Л.В. Методы выделения и идентификации почвенных бактерий. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 72 с.
6. Классификация и диагностика почв СССР. – М.: Колос, 1977. – 224 с.
7. Классификация почв России // сост.: Л.Л. Шишов, В.Д. Тонконогов, И.И. Лебедева, М.И. Герасимова. – М.: Почвенный институт им. В.В. Докучаева РАСХН, 2008. – С. 57-61.
8. Козлова Н.В. Состояние бурых лесных кислых почв чайных плантаций при длительном применении минеральных удобрений в субтропиках России: дис. ...канд. биол. наук. – М., 2008. – 200 с.
9. Козлова Н.В., Керимзаде В.В. Динамика азотного фонда бурых лесных почв влажных субтропиков России в многофакторном полевом опыте с удобрениями на культуре чая // Плодоводство и ягодоводство России. – 2018 – Т. 53. – С. 138-146. – ISSN 2073-4948.
10. Козлова Н.В., Керимзаде В.В. Скорость агрогенной ацидизации бурых лесных почв чайных плантаций в условиях влажных субтропиков России // Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – № 51. – С. 259-267. – ISSN 2073-4948.
11. Козлова Н.В., Керимзаде В.В. Фосфатный режим бурых лесных кислых почв субтропиков РФ при эксплуатации чайных плантаций с различной нагрузкой удобрениями // Плодоводство и ягодоводство России. – 2018. – Т. 54. – С. 246-253. – ISSN 2073-4948.
12. Козлова Н.В., Малюкова Л.С. Влияние длительного применения минеральных удобрений на кислотно-основное состояние бурых лесных кислых почв чайных плантаций субтропиков России // Агрохимия. – 2007. – № 9. – С. 1-7. – ISSN 0002-1881.
13. Круглов Ю.В. Микробное сообщество почвы: физиологическое разнообразие и методы исследования: обзор // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – № 1. – С. 46-59. – ISSN 0131-6397.
14. Культура чая в СССР / М.К. Дараселия и др.; отв. ред. Р.Д. Панцхава. — Тбилиси: Мецниереба, 1989. – 558 с.
15. Малюкова Л.С., Пригула З.В., Козлова Н.В., Керимзаде В.В., Великий А.В. О формировании устойчивости у растений чая (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) при недостаточном водообеспечении на фоне корневого внесения кальция в виде природного удобрения // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 5. – № 5. – С. 673-679. – ISSN 0131-6397.
16. Малюкова Л.С., Аргунова В.А., Юткина И.В., Губарева А.А. Влияние длительного применения минеральных удобрений на химический состав бурой лесной кислой почвы под чайной плантацией в условиях влажных субтропиков России // Агрохимия. – 1999. – № 10. – С. 33-40. – ISSN 0002-1881.
17. Малюкова Л.С., Керимзаде В.В., Великий А.В. Влияние различных видов и доз минеральных удобрений на дыхательную активность почв чайных плантаций // Плодоводство и ягодоводство России. – 2015. – Т. 43. – С. 132-138. – ISSN 2073-4948.

18. Малюкова Л.С., Козлова Н.В., Великий А.В. Влияние мезо- и микроудобрений на урожай чайного листа и плодородие бурых лесных кислых почв чайных плантаций Черноморского побережья России // Проблемы агрохимии и экологии. – 2012. – № 1. – С. 18-21. – ISSN 2072-0386.
19. Малюкова Л.С., Козлова Н.В., Струкова Д.В., Рогожина Е.В. Некоторые механизмы реализации научных принципов создания устойчивых агроэкосистем в субтропическом земледелии // Биоресурсы, биотехнологии, экологически безопасное развитие агропромышленного комплекса: сб. науч. тр. – Сочи: ВНИИЦиСК, 2007. – Вып. 40. – С. 232-248.
20. Малюкова Л.С., Малинина М.С. Особенности поведения металлов (Mn, Zn, Cu) в бурой лесной кислой почве под чайной плантацией в условиях влажных субтропиков России // Агрохимия. – 2001. – № 3. – С. 62-68. – ISSN 0002-1881.
21. Малюкова, Л.С. Состояние микроэлементов (Mn, Cu, Zn) в бурых лесных почвах чайных плантаций Черноморского побережья Краснодарского края): автореф. дис... канд. биол. наук. – М., 1997. – 30 с.
22. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 303 с.
23. Практикум по микробиологии: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.
24. Рогожина Е.В., Костина Н.В., Малюкова Л.С. Оценка азотфиксирующей способности почв садовых агроценозов субтропической зоны России // Вестник Московского университета. Почвоведение. – 2011. – № 1. – С. 35-38.
25. Рогожина Е.В. Структурно-функциональное состояние микробного комплекса бурых лесных кислых почв влажно-субтропической зоны России при длительном агрогенном воздействии: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Петропавловск-Камчатский, 2019. – 24 с.
26. Рогожина Е.В., Малюкова Л.С. Групповой состав и функциональная активность комплекса ризосферных микроорганизмов культуры чая в условиях субтропической зоны России // Субтропическое растениеводство и южное садоводство: сборник науч. тр. – Сочи: ВНИИЦиСК, 2009. – Вып. 42. – Т. 2. – С. 159-168.
27. Стома Г.В., Манучарова Н.А., Белокопытова Н.А. Биологическая активность микробных сообществ в почвах некоторых городов России // Почвоведение. – 2020. – № 6. – С. 703-715. – ISSN 0032-180X.
28. Струкова Д.В. Биологическая активность бурых лесных почв агроценозов чая, персика, фундука при длительном применении минеральных удобрений в условиях Черноморского побережья России: дис. ... канд. биол. наук. – Сочи, 2015. – 140 с.
29. Cardoso EJB.N., Vasconcellos RLF., Bini D., Miyauchi MYH., Santos C.A., Alves P.R.L., Paula A.M., Nakatani A.S., Pereira J.M., Nogueira M.A. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health // Sci. Agric. – 2013. – № 70. – P. 274-289.
30. Li J., Agron M.Sc. The effect of plant mineral nutrition on yield and quality of green tea (*Camellia sinensis* L.) under field conditions // Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades Б Kiel, 2005. – 181 p.
31. Upadhyaya H., Dutta B.K., Sahoo L., Panda S.K. Comparative effect of Ca, K, Mn and B on post-drought stress recovery in tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] // Am. J. Plant Sci., – 2012. – Vol. 3. – P. 443-460. – doi: 10.4236/ajps.2012.34054.
32. Working Group WRB. World Reference Base for Soil Resources 2014. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps // World Soil Resources Reports. – Rome: FAO, 2014. – Vol. 106. – 181 p.

**THE INFLUENCE
OF CALCIUM NITRATE FERTILIZATION ON THE NUMBER
OF MICROORGANISMS IN SOILS UNDER TEA PLANT
IN THE SUBTROPICAL ZONE OF RUSSIA**

Malyukova L. S., Rogozhina Ye. V.

*Federal Research Centre
the Subtropical Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences,
Sochi, Russia, e-mail: MalukovaLS@mail.ru*

Long-term use of the main group of mineral fertilizers (NPK) in agroecosystems has a significant impact on soils' properties, their nutritional regime, as well as on the availability of plant elements. In this aspect, it is of particular interest to study the effects of calcium which is not considered as a priority, but is a basic structural and signaling element in nutrition system of a tea plant that relates to acidophilic plants. In the field experiment, calcium nitrate applied on roots (as an alternative to ammonium nitrate) effected on the number of the main taxonomic groups of soil microbiocenosis: saprotrophic bacteria, actinomycetes and micromycetes, quantitative accounting of which was carried out by surface seeding from 10-fold dilutions on dense selective nutrient media. It was found that calcium nitrate led to an increase in the number of saprotrophic bacteria and caused changes in their morphological characteristics. As for mycelial groups of microorganisms, there was recorded a decrease in the number of micromycetes belonging to acidophilic microorganisms, as well as a significantly more pronounced sporulation of actinomycetes under the influence of fertilizers with calcium.

Key words: tea plant, microbiocenosis, calcium, biogenic elements, ecological conditions, mineral fertilizers.

УДК 001.8:631.41+631.48

doi: 10.31360/2225-3068-2020-75-149-158

**ВЛИЯНИЕ ЦИНКОСОДЕРЖАЩИХ УДОБРЕНИЙ
НА ИЗМЕНЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ В РИЗОСФЕРЕ ЧАЯ
(*CAMELLIA SINENSIS* L.) СОРТА 'КОЛХИДА'
В УСЛОВИЯХ СУБТРОПИЧЕСКОЙ ЗОНЫ РОССИИ**

Рогожина Е. В.

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

В агроэкоценозе чайной плантации в условиях Сочинского Черноморского побережья проведено сравнительное изучение кислотности бурых лесных кислых почв в ризосфере растений чая и внекорневой зоне на фоне N240P70K90 (контроль) и при внесении сульфата цинка в дозе 4,3 кг д.в./га (на фоне N240P70K90).