

ОПЫТ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ИНДИКАЦИИ АГРОИСТОЩЕНИЯ ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО

М.Р. Чекин

(научные руководители – профессор **О.А. Макаров** д.б.н., доцент **Л.А. Поздняков**, к.б.н.)
МГУ им. М.В. Ломоносова, e-mail: mrchekin@soil.msu.ru

Рассмотрена возможность использования микробиологических показателей с целью оценки деградированности чернозема выщелоченного по критериям агроистощения. В качестве объектов исследования выбраны почвы двух агрохозяйств Пензенской области с различным содержанием гумуса, обменного калия, подвижного фосфора и значением кислотности. В отобранных образцах были определены следующие микробиологические показатели: базальное дыхание почвы, интенсивность актуальной и потенциальной денитрификации, активность азотфиксации и эмиссии метана, биомасса микроорганизмов по субстрат-индуцированному дыханию, метаболический коэффициент qCO_2 , общая численность прокариот и численность метаболически активных бактерий и архей. По результатам дискриминантного анализа выявлена комбинация микробиологических показателей, с помощью которой можно определить средний балл деградации почв от агроистощения. Наиболее чувствительными показателями стали - интенсивность азотфиксации и активная микробная биомасса. Установлено, что по мере увеличения степени деградации почв удельная интенсивность азотфиксации падает в то время, как изменения активной биомассы имеют волнообразный характер, что определяет ее как предшественника качественного изменения микробной системы.

Ключевые слова: деградация почв, микробиологические показатели, азотфиксация, активная микробная масса, дискриминантный анализ.

EXPERIENCE OF MICROBIOLOGICAL INDICATION OF AGRODEPLETION OF LEACHED CHERNOZEM

M.R. Chekin (scientific supervisors – Dr.Sci. professor **O.A. Makarov**, Ph.D., ass. professor **L.A. Pozdnyakov**)
Lomonosov Moscow State University, e-mail: mrchekin@soil.msu.ru

The article considers the possibility of using microbiological indicators to assess the degradation of leached chernozem according to the criteria of agro-purification. The soils of two agricultural farms of the Penza region with different humus content, exchangeable potassium, mobile phosphorus and acidity values were selected as objects of research. The following microbiological indicators were determined in the selected samples: basal respiration of the soil, the intensity of actual and potential denitrification, the activity of nitrogen fixation and methane emission, the biomass of microbes by substrate-induced respiration, the «metabolic» coefficient qCO_2 , the total number of prokaryotes and the number of metabolically active bacteria and archaea. According to the results of the discriminant analysis, a combination of microbiological indicators has been identified, with the help of which it is possible to determine the average score of soil degradation from agro-exhaustion. The most sensitive indicators were the intensity of nitrogen fixation and active microbial biomass. It was found that as the degree of soil degradation increases, the specific intensity of nitrogen fixation decreases, while changes in active biomass have a wave-like character, which defines it as a precursor to qualitative changes in the microbial system.

Keywords: soil degradation, microbiological indicators, nitrogen fixation, active microbial mass, discriminant analysis.

На территории России расположено около 50% мировых запасов черноземов – богатейших почв, на которых ведется сельскохозяйственная деятельность [1]. Сельскохозяйственное использование почвы приводит к изменению ее морфологических,

физических и химических показателей [2]. Антропогенное воздействие оказывает негативное влияние и на почвенную биоту [3]. Существующие подходы к оценке деградации почвы делают акцент на изменение агрохимических и физических свойств почвы,

однако практически не учитывают биологическую деградацию [4, 5]. Изменение состояния микробного сообщества в результате распашки приводит к трансформации микробиологических процессов, что в свою очередь может влиять на химические свойства почвы, в частности, на содержание органического вещества и общего азота в почве [6].

Микробиологическая активность и численность микроорганизмов служат объективными показателями качества почвы. Характеристика «здоровья» почвы – это важный элемент функционального почвоведения, который описывает различные процессы в почвах [7, 8]. Агроэкосистемы испытывают значительную антропогенную нагрузку, которая приводит к уменьшению плодородия и изменению состояния почвенного микробиоценоза [9]. Несмотря на обилие предложенных показателей для определения качества почвы [8] и приоритет молекулярно-генетических подходов для биоиндикации состояния микробных сообществ, требуются менее сложные и менее дорогостоящие, но достаточно эффективные методы, позволяющие получить сведения о биологической деградации почвы. С помощью таких подходов, использующих в своей основе математические и статистические инструменты, становится возможным выявить и оценить показатели состояния микробиоценоза почвы и их взаимосвязь с деградацией от агроистощения [10].

Цель исследования – выявление наиболее чувствительных микробиологических показателей, которые можно использовать для оценки деградированности чернозема выщелоченного по критериям агроистощения.

Методика. Объектами исследования были образцы чернозема выщелоченного, отобранные в агрохозяйствах, расположенных на территории Кузнецкого района Пензенской области, проанализированные ранее на содержание гумуса, обменного калия, подвижного фосфора и кислотности почвы в количестве 25 штук [11]. В рамках данной работы были определены такие микробиологические показатели, как: базальное дыхание (БД) почвы, интенсивность актуальной и потенциальной денитрификации, скорость потенциальной азотфиксации и эмиссии метана, биомасса микроорганизмов по субстрат-индуцированному дыханию (СИД), метаболический коэффициент (qCO_2), общая численность прокариот и численность метаболически активных бактерий и архей. Микробиологические процессы определяли в трехкратной повторности, численность микроорганизмов – в двукратной.

СИД почвы оценивали по скорости начального максимального дыхания микроорганизмов после обогащения почвы глюкозой [12]. Навеску увлажненной до 60% полной влагоемкости (ПВ) почвы (5 г) помещали во флакон объемом 15 мл, добавляли раствор глюкозы (0.2 мл; концентрация 10 мг/г

почвы), герметично закрывали и фиксировали время. Обогащенный образец почвы/подстилки инкубировали (5-7 ч при 22°C), затем отбирали пробу воздуха из флакона и анализировали ее с помощью газового хроматографа. Точную продолжительность инкубации каждого образца учитывали в дальнейших расчетах. Скорость СИД выражали в мкг CO_2 -С/г сухой почвы в час [13].

БД определяли по скорости выделения CO_2 почвой за 24 ч ее инкубации при 22°C и 60% ПВ. Определение проводили так же, как и для СИД, только вместо раствора глюкозы в почву добавляли воду. Скорость базального дыхания выражали в мкг CO_2 -С/г сухой почвы в час [13].

qCO_2 рассчитывали, как отношение скорости базального дыхания к углероду микробной биомассы [13]. Расчет углерода микробной биомассы проводили с помощью формулы (1), предложенной J.P.E. Anderson [12]:

$$C_{\text{мик}} (\text{мкг С/г почвы}) = \text{СИД} (\text{мкл } CO_2/\text{г почвы в час}) \times 40,04 + 0,37 \quad (1)$$

Для определения актуальной активности азотфиксации навески почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы, герметично закрывали резиновыми пробками и при помощи шприца вводили 1 мл ацетилена. Флаконы инкубировали в термостате при температуре 25°C в течение часа, после чего шприцем из каждого флакона отбирали пробу газовой фазы объемом 1 мл и анализировали на газовом хроматографе «Кристалл – 2000» (длина колонки 1 м, диаметр 3 мм, наполнитель Porapak N 80/100, температура колонки 60°C, температура детектора 160°C, температура испарителя 100°C, расход газа-носителя (N_2) 50 мл/мин, воздуха – 280 мл/мин, водорода – 28 мл/мин). Определение проводили в трехкратной повторности. Активность азотфиксации выражали в нг C_2H_4 /г почвы x час [14].

Для определения потенциальной активности денитрификации навески почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы, увлажняли до 60% от ПВ. Затем вносили глюкозу (из расчета 2,5 мг/г воздушно-сухой почвы), нитрат калия (0,3 мг/г почвы) и добавляли 3 мл стерильной воды, флаконы закупоривали резиновой пробкой. Для создания микроаэрофильных условий, воздух из флаконов вытесняли аргоном в течение 60 сек., затем шприцем вводили 1 мл ацетилена для ингибирования редуцтазы закиси азота. Флаконы тщательно встряхивали и помещали в термостат при 25°C на сутки, после чего проводили измерение концентрации закиси азота.

Определение актуальной денитрификации. Навеску свежей почвы (5 г) помещали в пенициллиновые флаконы. Герметично закрывали резиновыми пробками и в течение 1 мин. продували аргоном, вводили 1 мл ацетилена и инкубировали при температуре 25°C. Измерение концентрации закиси азота проводили на третьи-пятые сутки. Определение

активности денитрификации проводили в трехкратной повторности. Активность денитрификации выражали в $\text{нг N}_2\text{O/г}\cdot\text{час}$ [15].

Определение эмиссии метана. Навески почвы (5 г), просеянной через сито (1 мм) помещали в пенициллиновые флаконы, увлажняли стерильной водой до влажности 60% от полной влагоемкости. Флаконы укупоривали резиновой пробкой и помещали в термостат при температуре 25°C на семь суток. Определение проводили в трехкратной повторности. Эмиссию метана выражали в $\text{нг CH}_4/\text{г}\cdot\text{почвы}$ [16].

Анализ газов проводили на газовом хроматографе «Кристалл – 5000» с детектором электронного захвата (ДЭЗ) и пламенноионизационным детектором (ПИД) для определения закиси азота и эмиссии метана соответственно. Характеристика прибора: длина колонки 1 м, диаметр 3 мм, наполнитель Porapak N 80/100, температура колонки 50°C, температура детектора 240°C, испарителя – 100°C, расход газа-носителя (N_2) 90 мл/мин.

Общую численность бактерий в почвенной суспензии определяли по общепринятой методике [17] с помощью красителя акридина оранжевого (АО) с использованием люминесцентного микроскопа Zeiss Axioskop 2 plus (Германия).

Процедура определения метаболически активных клеток бактерий и архей с использованием молекулярного метода гибридизации *in situ* (метод FISH) включала в себя десорбцию клеток от почвенных частиц, фиксацию клеток, нанесение фиксированного образца на поверхность предметного стекла, гибридизацию со специфичными пробками и микроскопирование [18, 19]. Десорбцию клеток осуществляли путем обработки почвенной суспензии ультразвуком. Фиксацию клеток проводили с помощью формальдегида. Для гибридизации использовали рРНК-специфичные олигонуклеотидные пробы [20, 21]. Условия гибридизации и промывания различались в зависимости от используемой пробы. В течение гибридизации образцы инкубировали при температуре 46°C в герметичных сосудах, насыщенных парами воды, формамида и гибридизационного буфера. Этап промывки проходил при более высокой температуре (49°C) и осуществлялся

для удаления избыточных молекул специфичной пробы, чтобы избежать неспецифического связывания. Стекла с готовыми препаратами анализировали с помощью микроскопа ZEISS Axioskop 2 plus (Германия) со светофильтрами Filter set 15 для $\text{Cu}3$ -меченых зондов. Количество метаболически активных микробных клеток в образцах определяли путем учета количества гибридизованных с зондами клеток в 50 полях зрения микроскопа на одной ячейке, с последующим расчетом численности на 1 г почвы по формуле (2) [22]:

$$N = S_{1an}/VS_2c \quad (2),$$

где: N – число клеток в 1 г почвы; a – число клеток в одном поле зрения (усредненное по всем препаратам); S_1 – площадь препарата, мкм^2 ; n – показатель разведения почвенной суспензии, мл; V объем капли, наносимой на стекло, мл; S_2 – площадь поля зрения микроскопа, мкм^2 ; c – навеска почвы, г.

Дискриминантный анализ микробиологических показателей был проведен с помощью программного обеспечения Stat Soft STATISTICA 10. В анализе в качестве классов, группирующих образцы почв, были выбраны среднеарифметические значения степени деградации чернозема выщелоченного рассчитанные по уменьшению содержания гумуса, обменного калия, подвижного фосфора и изменения кислотности почвы по сравнению с эталонной почвой, рассчитанные в соответствии с «Методическими рекомендациями...» [23]. В качестве эталона выступили характеристики паспорта чернозема выщелоченного, описанные в монографии В.И. Савича и др. [24].

Результаты и их обсуждение. Дискриминантный анализ (вариант с последовательным включением в анализ показателей) показал возможность разделения образцов почв по степени деградации на основании исследованных микробиологических параметров: Wilks' – Lambda = 0,003 approx. F (35,57) = 4,6755, $p < 0,00001$ (табл. 1). Базальное дыхание, метаболический коэффициент и потенциальная денитрификация были признаны не значимыми для диагностики степени деградации. Средний процент правильной классификации составил 85% (табл. 2). Анализ недостаточно хорошо различает друг от друга среднюю степень деградации в диапазоне баллов 1,5-1,75.

1. Микробиологические показатели, отобранные в ходе анализа для определения степени деградации и их значимость для ее определения

Показатель	Wilks' – Lambda	Partial – Lambda	F-remove	p-level	Toler.	1-Toler. – (R-Sqr.)
Биомасса микроорганизмов по СИД	0,02	0,19	10,86	0,00	0,32	0,68
Активность азотфиксации	0,02	0,18	11,76	0,00	0,08	0,92
Численность архей FISH	0,01	0,51	2,46	0,09	0,19	0,81
Общая численность бактерий (АО)	0,01	0,36	4,68	0,01	0,08	0,92
Эмиссия метана	0,01	0,33	5,24	0,01	0,48	0,52
Общая численность FISH	0,01	0,62	1,62	0,22	0,16	0,84
Актуальная денитрификация	0,01	0,66	1,36	0,30	0,47	0,53

Примечание. Полужирным шрифтом обозначены показатели с $p < 0,05$.

2. Процент правильной классификации горизонтов почв по микробиологическим показателям на основании дискриминантного анализа

Степень деградации, баллы	% правильной классификации	Степень деградации					
		1,25	1	1,75	2,25	2	1,5
		p = 0,08*	p = 0,08	p = 0,2	p = 0,1	p = 0,2	p = 0,2
1,0	100	0	2	0	0	0	0
1,25	100	2	0	0	0	0	0
1,5	86	0	0	1	0	0	6
1,75	40	0	0	2	0	0	3
2,0	100	0	0	0	0	6	0
2,25	100	0	0	0	3	0	0
В среднем % правильной классификации	84	2	2	3	3	6	9

* p – уровень значимости.

3. Коэффициенты для классификационных функций, позволяющие определить степень деградации горизонтов чернозема выщелоченного

Показатель	Степень деградации					
	1,25	1	1,75	2,25	2	1,5
	p = 0,08*	p = 0,08	p = 0,2	p = 0,1	p = 0,2	p = 0,2
Биомасса микроорганизмов по СИД	15,7	22,7	11,3	5,3	7,1	11,6
Активность азотфиксации	-0,3	0,6	-0,2	-1,0	-0,9	-0,1
Численность архей FISH	-325,1	-699,6	-312,6	-123,5	-92,6	-322,3
Общая численность (АО)	13,1	-47,9	11,1	69,1	62,1	10,1
Эмиссия метана	233,2	555,0	160,2	-278,3	-268,2	166,3
Общая численность FISH	350,5	459,8	298,3	243,7	276,1	307,2
Актуальная денитрификация	0,6	0,7	0,4	0,3	0,3	0,4
Константа	-166,5	-196,7	-113,1	-136,7	-154,6	-122,4

* p – уровень значимости.

4. Значимость дискриминантной функции

Номер дискриминантной функции	Eigen value	Процент от объясненной дисперсии	Canonial – R	Wilks' – Lambda	Chi-Sqr.	df	p-level
1	22,30	83	0,98	0,00	99,53	35,00	0,00000004
2	3,01	11	0,87	0,08	44,43	24,00	0,01
3	0,97	5	0,70	0,32	20,11	15,00	0,17
4	0,48	1	0,57	0,62	8,27	8,00	0,41
5	0,08	0,1	0,27	0,93	1,35	3,00	0,72

В итоге были предложены следующие коэффициенты для классификационных функций (табл. 3), которые после дополнительной экспериментальной проверки, могут быть рекомендованы для определения степени деградации почв по агрохимическим показателям.

Для того, чтобы найти уравнения для классификации, содержащие меньшее количество микробиологических показателей и поэтому более удобные для практического применения, а также имеющие биологический смысл, были найдены дискриминантные функции. Значимыми оказались две дискриминантные функции: 1 и 2 (табл. 4).

На основании взаиморасположения почвенных образцов в плоскости, образованной дискриминантными функциями (ДФ) 1 и 2 было установлено (рис. 1), что имеются два биологических фактора, которые коррелируют со степенью деградации по показателям агроистощения. ДФ1 позволяет выявить три

диапазона степеней деградации почвы: < 1; 1,25-1,75; 2,0-2,25. ДФ2 позволяет дополнительно разделить балл деградации 1,25 от 1,5-1,75 (если значения ДФ2 меньше 1,5, то образец следует отнести к среднему баллу деградации 1,25 и, соответственно, наоборот) и 2 балла от 2,25 (если значения ДФ2 меньше 0, то образец следует отнести к среднему баллу деградации 2 и наоборот). Значения коэффициентов для дискриминантных функций представлены в таблице 5.

Дискриминантные функции можно использовать для биоиндикации степени деградации горизонтов чернозема выщелоченного, также, как и классификационные функции, но с меньшей точностью классификации. Однако они имеют одно преимущество: используя их, можно определить степень деградации с помощью простых и наиболее распространенных методов – газовой хроматографии и люминесцентной микроскопии. На основании таблицы 5

удалось упростить алгебраическое выражение ДФ1 и 2, оставив в формуле наиболее значимые члены, а также дать им биологическое объяснение. Поэтому были предложены упрощенные варианты ДФ1 и 2. ДФ1 = $18,348 + 1,1294 \cdot (\text{Потенциальная азотфиксация} - \text{общая численность прокариот (АО)})$, $r = 0,73$; $p = 0,00002$; $r^2 = 0,54$ (рис. 2). ДФ2 = $7,3673 - 0,5826 \cdot (\text{биомасса по СИД} + \text{численность прокариот по FISH})$, $r = -0,60$; $p = 0,001$; $r^2 = 0,36$ (рис. 3).

Этим упрощенным формулам, отражающим биологические факторы, связанные с деградацией почв, можно дать биологическое объяснение. Разность:

«Потенциальная азотфиксация – Общая численность прокариот (АО)» можно интерпретировать как удельную азотфиксирующую активность прокариот, которая падает по мере деградации агрохимических показателей горизонта чернозема. Сумма биомассы по СИД и численность прокариот по FISH отражают активную (а не общую) биомассу микроорганизмов (клетки, реагирующие на внесение глюкозы дыхательным откликом или содержащие много рРНК). Если СИД учитывает и грибы, и бактерии, то второе слагаемое только прокариот, что подчеркивает значимость именно активной биомассы прокариот. По мере

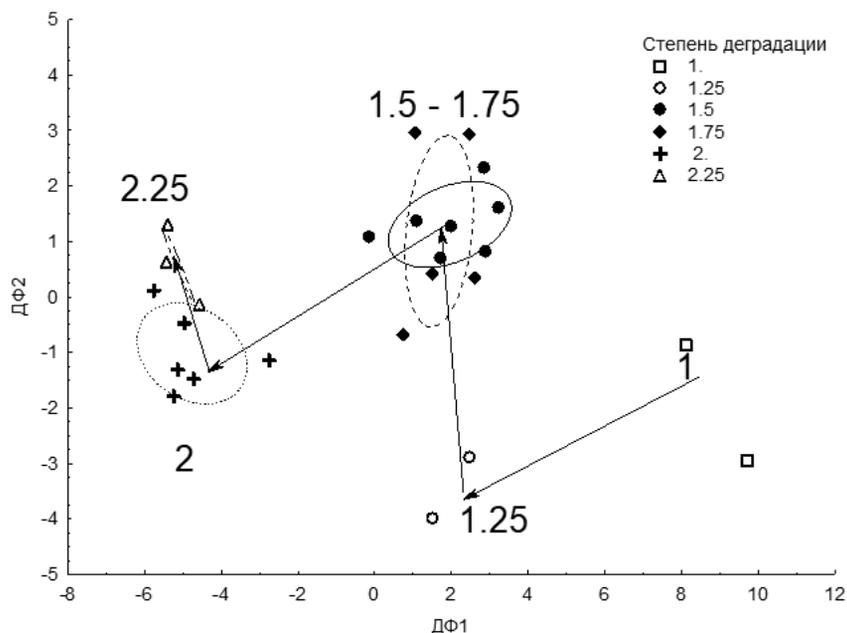


Рис. 1. Взаиморасположения почвенных образцов в плоскости образованной дискриминантными функциями (ДФ) 1 и 2. Корреляционный эллипсы ограничивают область 95% вероятности нахождения на плоскости образцов почвы той или иной степени деградации. Стрелками показано направление последовательного увеличения степени деградации.

5. Значения коэффициентов для дискриминантных функций

Микробиологический параметр	ДФ 1	ДФ 2
Биомасса микроорганизмов по СИД	1,04	-0,96
Активность азотфиксации	0,11	0,03
Численность архей FISH	-38,46	8,20
Общая численность (АО)	-8,05	-0,11
Эмиссия метана	62,36	-2,08
Общая численность FISH	11,06	-14,99
Актуальная денитрификация	0,02	-0,03
Константа	0,00	9,97

6. Стандартизированные коэффициенты ДФ 1 и 2

Микробиологический показатель	ДФ 1	ДФ 2
Биомасса микроорганизмов по СИД	1,23	-1,14
Активность азотфиксации	3,11	0,90
Численность архей FISH	-1,30	0,28
Общая численность (АО)	-2,88	-0,04
Эмиссия метана	1,13	-0,04
Общая численность FISH	0,83	-1,12
Актуальная денитрификация	0,52	-0,75

Примечание. Наиболее значимые члены выделены полужирным шрифтом.

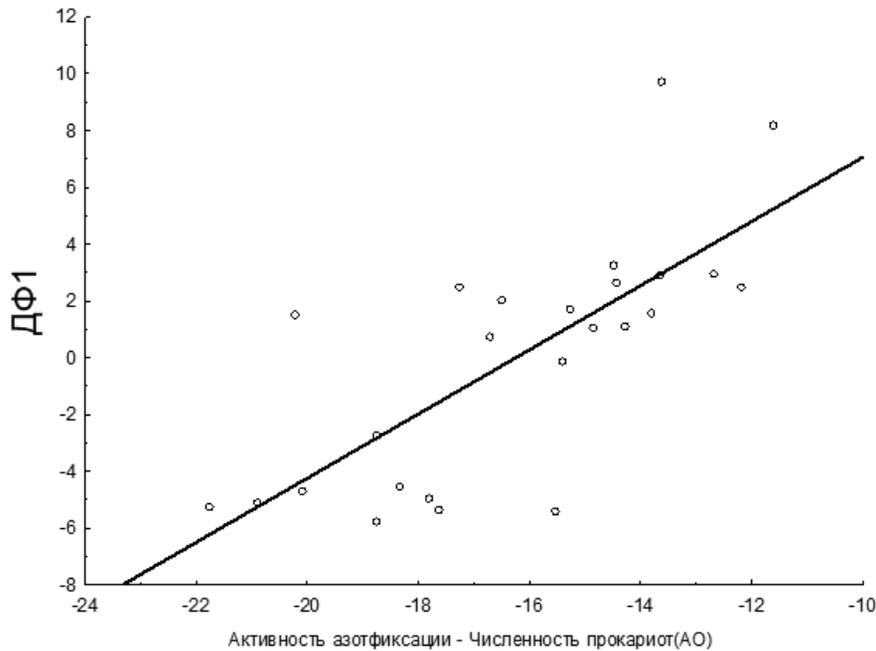


Рис. 2. Корреляция между ДФ1 и разностью потенциальной азотфиксации и общей численностью прокариот (АО)

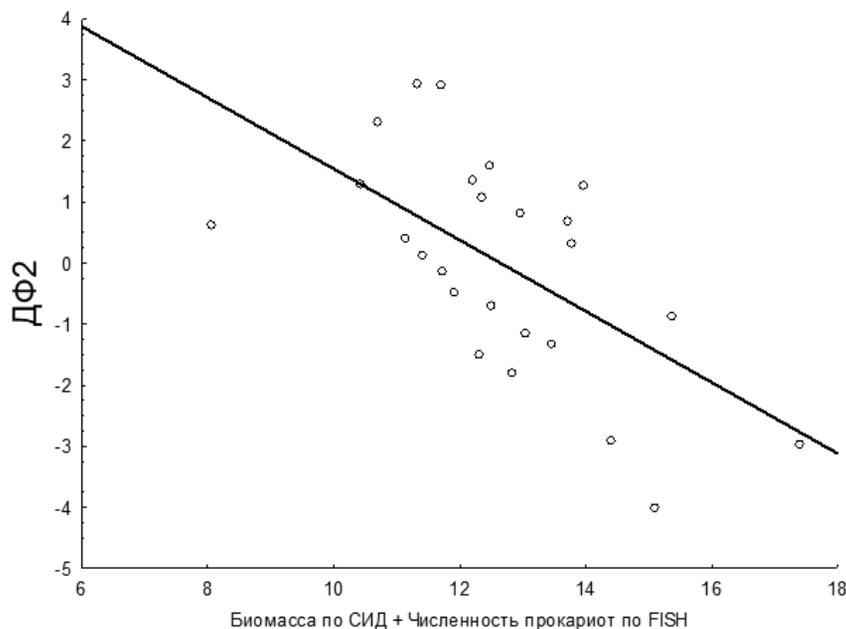


Рис. 3. Корреляция между ДФ2 и суммой биомассы микроорганизмов по СИД с численностью прокариот по FISH

увеличения деградации величина активной биомассы периодически падает, предвзявая собой существенную перестройку микробной системы в определенных диапазонах степеней деградации, за счет которой она резко восстанавливается, а волнообразные колебания активной биомассы свидетельствуют об изменении агрохимических свойств почвы, что в итоге указывает на увеличение степени деградации.

Таким образом, для биоиндикации среднего балла деградации пахотного и гумусово-аккумулятивного горизонтов чернозема выщелоченного по показателям агроценоза (уменьшение

содержания гумуса, обменного калия, подвижного фосфора и изменение кислотности почвы по сравнению с эталонной почвой) предлагается использовать комбинацию двух эмпирически выведенных микробиологических показателей – удельную азотфиксирующую активность прокариот и активную микробную биомассу с акцентом на активную биомассу прокариот. По мере увеличения степени деградации почв удельная азотфиксационная активность закономерно падает, а вот изменения активной биомассы имеют волнообразный характер (видимо, она выступает как предшественник

качественного изменения микробной системы). Отмеченные микробиологические показатели измеряются при помощи газохроматографических и люминесцентно-микроскопических методов. Из предложенных методов наиболее трудоемким и сложным в освоении является определение

численности метаболически активных прокариот (FISH), однако он требуется только для уточнения степени деградации, тогда как общую ситуацию в основном можно описать при помощи наиболее простых и распространенных методов: газовой хроматографии и люминесцентной микроскопии.

Автор выражает благодарность к.б.н. н.с. кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ Андрею Владимировичу Якушеву за помощь в статистическом анализе данных.

Работа выполнена в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды», Программы создания и функционирования карбонового полигона Московской области «Чашниково», а также в рамках НИР «Почвенные микробиомы: геномное разнообразие, функциональная активность, география и биотехнологический потенциал» (номер ЦИТИС: 121040800174-6).

Литература

1. Даденко Е.В., Мясникова М.А., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая активность чернозема обыкновенного при длительном использовании под пашню // Почвоведение, 2014, № 6. – С. 724-724.
2. Добровольский Г.В. Деградация и охрана почв. – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 654 с.
3. Balota E.L., Colozzi Filho A., Andrade D.S., Dick R.P. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol // Soil and Tillage Research, 2004, V. 77, № 2. – P. 137-145.
4. Ferris H., Tuomisto H. Unearthing the role of biological diversity in soil health // Soil Biology and Biochemistry, 2015, V. 85. – P. 101-109.
5. Li R., Khafipour E., Krause D.O., Entz M.H., Kievit T.R., Dilantha Fernando W.G. Pyrosequencing reveals the influence of organic and conventional farming systems on bacterial communities // PLoS One, 2012, V. 7, № 12. e51897. doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0051897>.
6. Стахурлова Л.Д., Свистова И.Д., Щеглов Д.И. Биологическая активность как индикатор плодородия черноземов в различных биоценозах // Почвоведение, 2007, № 6. – С. 769-774.
7. Кожевин П.А. Показатели почвенного «здоровья» в оценке почв (обзор) // Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение, 2023, № 2. – С. 16-25.
8. Fierer N., Wood S.A., de Mesquita C.P.B. How microbes can, and cannot, be used to assess soil health // Soil Biology and Biochemistry, 2021, V. 153. – P. 108-111.
9. Savin I., Prudnikova E., Chendev Y., Bek A., Kucher D., Dokukin P. Detection of changes in arable chernozemic soil health based on landsat TM archive data // Remote Sensing, 2021, V. 13, № 12. – P. 2411.
10. Семенов А.М., Соколов М.С. Концепция здоровья почвы: фундаментально-прикладные аспекты обоснования критериев оценки // Агрохимия, 2016, № 1. – С. 3-16.
11. Макаров О.А., Марахова Н.А., Красильникова В.С., Крючков Н.Р., Чекин М.Р., Абдулханова Д. Р. Опыт оценки ущерба от деградации почв и земель муниципальных образований Российской Федерации // Земледелие, 2022, № 4. – С. 3-7.
12. Anderson J.P.E., Domsch K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils // Soil biology and biochemistry, 1978, T. 10, № 3. – С. 215-221.
13. Ананьева Н.Д., Сусьян Е.А., Гавриленко Е.Г. Особенности определения углерода микробной биомассы почвы методом субстрат-индуцированного дыхания // Почвоведение, 2011, № 11. – С. 1327-1333.
14. Эмер Н.Р., Семенов А.М., Зеленов В.В., Зинякова Н.Б., Костина Н.В., Голиченков М.В. Ежесуточная динамика численности и активности азотфиксирующих бактерий на участках залежной и интенсивно возделываемой почвы // Почвоведение, 2014, № 8. – С. 963-970.
15. Эмер Н.Р., Костина Н.В., Голиченков М.В., Нетрусов А.И. Динамика активности денитрификации и аммонификации в залежной и интенсивно возделываемой серой лесной почве (Тульская область) // Почвоведение, 2017, № 4. – С. 449-456.
16. Новиков В.В., Степанов А.Л., Поздняков А.И. Микробная трансформация метана, диоксида углерода и закиси азота в окультуренных торфяных почвах / Болота и биосфера: материалы VII Всероссийской с международным участием научной школы (Томск, 13-15 сентября 2010 г.). – Томск: Изд-во ТГПУ, 2010. – С. 215-217.
17. Звягинцев Д.Г., Асеева И.В., Бабьева И.П., Мирчинк Т.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 224 с.
18. Манучарова Н.А. Идентификация метаболически активных клеток прокариот в почвах с применением молекулярно-биологического флюоресцентно-микроскопического метода анализа fluorescence in situ hybridisation (FISH). Учебное пособие. – М.: Изд-во МГУ, 2008. – 24 с.
19. Amann R.I., Ludwig W., Schleifer K.H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation // Microbiological reviews, 1995, V. 59, № 1. – P. 143-169.
20. Amann R., Ludwig W. Ribosomal RNA-targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology // FEMS microbiology reviews, 2000, T. 24, № 5. – С. 555-565.
21. Daims H., Brühl A., Amann R., Schleifer K.H., Wagner M. The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set // Systematic and applied microbiology, 1999, V. 22, № 3. – P. 434-444.
22. Семенов М.В., Манучарова Н.А., Степанов А.Л. Распределение метаболически активных представителей прокариот (архей и бактерий) по профилям чернозема и бурой полупустынной почвы // Почвоведение, 2016, № 2. – С. 239-248.
23. Методические рекомендации по выявлению деградированных и загрязненных земель: утв. Роскомземом от 28.12.1994, Минсельхозпродом России от 26.01.1995, Минприроды России от 15.01.1995. – Режим доступа: справочно-правовая система «КонсультантПлюс».
24. Савич В.И., Амергузин Х.А., Карманов И.И., Булгаков Д.С., Федорин Ю.В., Карманова Л.А. Оценка почв. – Астана: Фолиант, 2003. – 554 с.