

УДК 631.46:631.5:633.63

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ МІКРОБНОГО КОМПЛЕКСУ ЧОРНОЗЕМУ ТИПОВОГО В АГРОЦЕНОЗІ БУРЯКА ЦУКРОВОГО

Ю.П. МОСКАЛЄВСЬКА ННЦ «Інститут землеробства НААН»

М.В. ПАТИКА, С.П. ТАНЧИК, доктори сільськогосподарських наук

Національний університет біоресурсів і природокористування України

Представлено результати досліджень якісного та кількісного складу мікробного комплексу, який трансформує органічні речовини чорнозему типового при вирощуванні буряка цукрового за різних систем землеробства. З'ясовано, що застосування біологічної системи землеробства створює оптимальні умови для функціональної спрямованості системи ґрунт - мікроорганізми - рослина протягом онтогенезу культури

Ключові слова: *мікроорганізми, буряк цукровий, чорнозем типовий, система землеробства, обробіток ґрунту, метагеном*

Ґрунт і формування його структури зумовлені функціями складних біологічних систем, представлених складними поліморфічними середовищами, в яких існує та розвивається коровий біом мікроорганізмів. Так, за сучасними науковими уявленнями, ґрунтова біота є основним фондом генетичного різноманіття світу, значну частину якого займають мікроорганізми [1, 5].

Пул мікробного комплексу ґрунту зумовлює основні екологічні функції, дослідження біоіндикаційних змін яких свідчить про процеси ґрунтоутворення, родючість, саморегульовальну здатність та кругообіг речовин [2]. Саме завдяки мікробіоті забезпечується поліфункціональність ґрунтових процесів, відбувається стабілізація метаболічної рівноваги в екосистемах [1, 5, 9]. Так, через значне заселення середовища, мікроорганізми дуже чутливі до змінних умов довкілля, а висока швидкість накопичення біомаси дає можливість оперативно виявити ті з них, які виникають під впливом екологічних факторів.

Це дозволяє прогнозувати можливі шляхи зміни функціональної спрямованості ґрунтів під впливом агрозаходів та дає можливість науково-обґрунтовано застосовувати системи землеробства, що забезпечить збереження і відновлення ґрунтової родючості, а також високу продуктивність агроєкосистем у цілому [2, 9].

Слід відзначити, що, незважаючи на значну увагу дослідників до різноманіття та функціонування біоценозів ґрунту, на сьогодні недостатньо розкрито питання щодо особливостей зміни якісних та кількісних показників життєдіяльності мікробних угруповань [1, 2, 5, 9]. Тому, дослідження структури і складу мікробного комплексу ґрунту необхідне для розуміння того, як впливають фактори навколишнього середовища, ґрунтові властивості, агротехнічні заходи, різні системи удобрення на біологічні процеси ґрунту.

Мета досліджень – виявити якісні та кількісні показники мікробного комплексу чорнозему типового за різних систем землеробства в агроценозі буряку цукрового.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження мікробних ценозів ґрунту проводили на базі стаціонарного дослідження кафедри землеробства та гербології ВП НУБіП України «Агрономічна дослідна станція» в зоні Лісостепу в зерно-буряковій 10-пільній сівозміні в 2012-2014 рр. Зразки ґрунту з верхнього орного кореневмісного горизонту (0-20 см) та ризосфери буряку цукрового (*Beta vulgaris*) відбирали в основні фази онтогенезу культури.

Схемою дослідження передбачено застосування трьох систем землеробства (СЗ) на фоні двох заходів основного обробітку ґрунту (ОГ): 1) промислова СЗ – (контроль) – (внесення на 1 га сівозмінної площі $N_{92}P_{100}K_{108}$, 12 т гною, інтенсивне застосування хімічних засобів захисту рослин) + поверхневий ОГ (проведення обробітку дисковими знаряддями на глибину 8-10 см під усі культури сівозміни); 2) промислова СЗ + диференційований обробіток – (проведення за ротацію сівозміни 6 разів різноглибинної оранки, 2 рази поверхневого обробітку під пшеницю озиму після гороху і кукурудзи на силос та 1 раз – плоскорізного обробітку під ячмінь); 3) екологічна СЗ (внесення на 1

га сівозмінної площі $N_{46}P_{49}K_{55}$, 24 т органічних добрив (12 т гною, 6 т нетоварної частини врожаю (соломи), 6 т маси поживних сидератів, застосування хімічних та біологічних препаратів за критерієм еколого-економічного порогу наявності шкідливих організмів) + поверхневий ОГ; 4) екологічна СЗ + диференційований ОГ; 5) біологічна СЗ (внесення на 1 га сівозмінної площі 24 т/га органічних добрив, застосування біологічних засобів захисту рослин) + поверхневий ОГ; 6) біологічна СЗ + диференційований ОГ [7].

Чисельність мікроорганізмів основних фізіологічних груп визначали методом висіву ґрунтової суспензії на тверді поживні середовища [3]. Вивчення морфотипів виділених ізолятів здійснювали відповідно до загальноприйнятих методик за культурально-морфологічними властивостями [8]. Мікроскопіювання фіксованих препаратів домінуючих форм мікроорганізмів, попередньо виділених у чисті культури, проводили з використанням імерсії на світловому мікроскопі з фотонасадкою-об'єктивом зі збільшенням $\times 100$ [6, 8]. Філотипове різноманіття ґрунтового комплексу визначали молекулярно-біологічним методом піросеквенування [5, 10]. Різноманіття мікробних комплексів ґрунту оцінювали, використовуючи екологічні характеристики: індекси Сімпсона, Бергера-Паркера, Шеннона [4]. Статистичну обробку результатів досліджень проводили в Ms Excel.

Результати досліджень. Дослідженнями мікробіоти чорнозему типового під посівами буряку цукрового (в ризосфері та орному шарі) виявлено, що співвідношення та чисельність різних фізіологічних груп мікроорганізмів зумовлюється фенофазою, кількістю внесених органічних і мінеральних добрив та способом обробітку ґрунту.

Так, у фазу сходів чисельність мікробіоти в ґрунті була найнижчою і змінювалась у межах 4,7-16,8 млн. КУО/1 г. а.с.г. (амоніфікувальні, нітрифікувальні, олігонітрофільні, фосфатмобілізівні, оліготрофні, педотрофні мікроорганізми). З середини і до кінця вегетації кількість прокаріот зростала в 1,1-3,7 рази (5,1-40,0 млн.). Кількість стрептоміцетів була значно нижчою – 0,2-

2 млн. і протягом вегетації не змінювалась. Чисельність мікроміцетів (18,6-39,8 тис.) та целюлозоруйнівних мікроорганізмів (14,3-81,3 тис.) від початку до середини вегетації буряка цукрового була на одному рівні; в період повної стиглості культури число мікроміцетів зросло у 1,2-3,4 раза, а целюлозолітиків знизилось в 2,1-4,2 раза. Протягом онтогенезу культури на фоні застосування біологічної й екологічної СЗ за рахунок використання органічної речовини (гній, поживні рештки, сидерати) створюються сприятливі умови для оптимального функціонування мікробного ценозу ґрунту, що проявляється в збільшенні їх чисельного складу.

Біогенність мікробного комплексу ґрунту зростала впродовж вегетації культури і найбільшою була наприкінці її онтогенезу, при цьому загальна чисельність мікробіоти в ризосфері була вищою, ніж в орному горизонті в середньому на 31,8 % (рис. 1). Загалом, вищі показники загальної чисельності мікроорганізмів чорнозему типового протягом вегетації буряку цукрового виявлені при застосуванні біологічної СЗ (141,2-455,4 тис. КОУ/1 г. а.с.г.). За екологічної СЗ чисельність знижувалась на 17,8 %, промислової СЗ – на 18,6 %. Застосування поверхневого ОГ сприяло зростанню біогенності мікробного комплексу ґрунту впродовж онтогенезу в середньому на 10,7 %, порівняно з диференційованим.

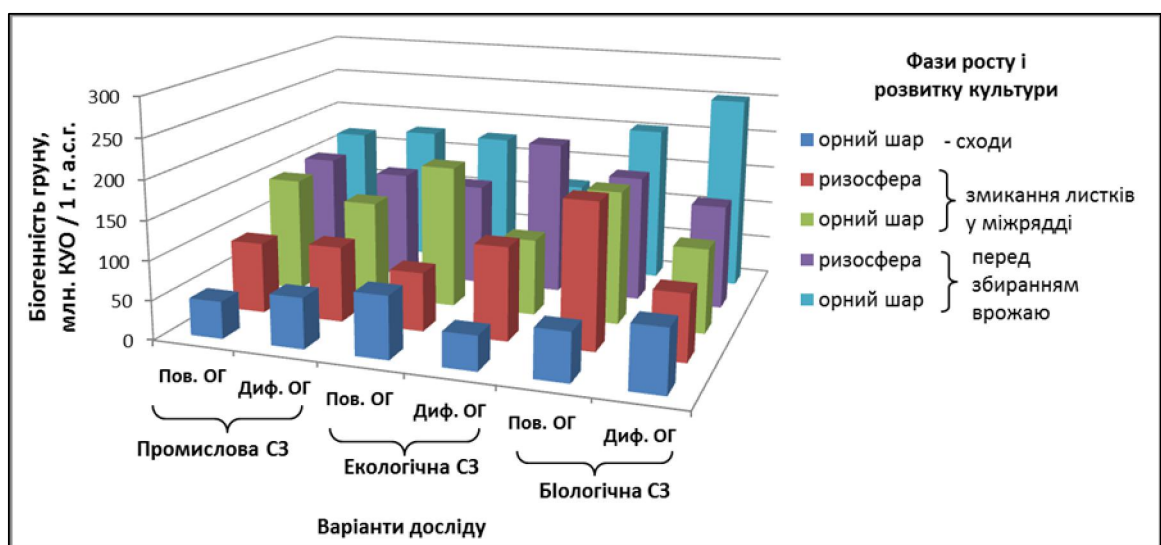


Рис. 1. Загальна чисельність мікроорганізмів (біогенність) чорнозему типового

Аналіз якісного складу мікрофлори чорнозему типового показав, що досліджувані варіанти відрізняються між собою як за кількістю виявлених морфотипів, так і за структурою розподілу домінуючих форм мікроорганізмів. Так, у фазу сходів, як і протягом всього онтогенезу, більше різноманіття сформувалось при використанні біологічної та екологічної СЗ, за яких кількість морфотипів бактерій була більшою порівняно з промисловою СЗ на 27,5 і 24,5%, мікроміцетів - відповідно на 61,8 і 50,0 %. У фазу змикання листків у міжрядді число морфотипів зростало, але відбувся перерозподіл структури мікробного ценозу: загальна кількість морфотипів бактерій за біологічної СЗ залишалася найбільшою (зростала на 36,9 % порівняно з початком вегетації), а мікроміцетів - зменшувалась (на 66,7 %). Наприкінці вегетації буряка цукрового якісний склад бактеріальної і грибною мікрофлори збільшувався відповідно на 4,2-40,0% та 25,6-40,8 %. Варто відзначити, що кількісний склад морфотипів бактерій у чорноземі типовому був у 2 рази вищим за склад мікроміцетів. Застосування поверхневого ОГ сприяло збільшенню якісного різноманіття бактерій і мікроміцетів.

Розподіл домінуючих представників мікрофлори протягом вегетації був нерівномірний: кількість бактерій збільшувалась, а мікроміцетів – зменшувалась. Це зумовлено особливостями культури і свідчить про формування гомеостатичних мікробних ценозів у чорноземі типовому.

За морфологічними ознаками встановлено, що домінуючі форми бактеріальної мікрофлори представлені прозорими й забарвленими коками (переважно поодинокими) і паличками (поодинокими, бактеріями та бацилами, які розміщуються парами та ланцюжками) різного розміру та форми, зустрічались також часто стрептоміцети, які мали нитчасту форму, характерну для родів *Nocardia* та *Streptomyces* (рис. 2). Найпоширенішими домінуючими морфотипами бактеріальної мікрофлори були представники: *Bacillus* (16-22 % за всіх СЗ), *Clostridium* (на фоні поверхневого ОГ: 12 % - промислова СЗ, 15 % - екологічна СЗ, 17 % - біологічна СЗ; 14 % - екологічна СЗ+ диференційований ОГ), *Micrococcus* (на фоні поверхневого ОГ: 16 % - промислова СЗ, 14 % -

екологічна СЗ), *Pseudomonas* (19-24 % за всіх СЗ), стрептоміцет *Nocardia* (14 % - екологічна СЗ + диференційований ОГ, 17 % - біологічна СЗ + поверхневий ОГ).

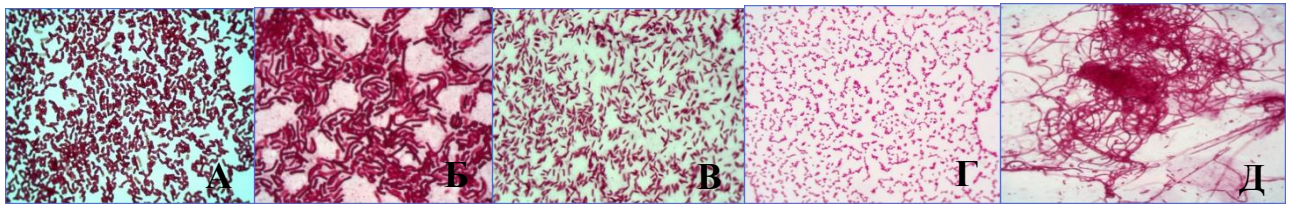


Рис. 2. Домінуючі морфотипи бактеріальної мікрофлори ($\times 100$):
 А – *Bacillus*, Б – *Clostridium*, В – *Micrococcus*, Г – *Pseudomonas*, Д - *Nocardia*

Аналіз мікробного метагеному чорнозему типового на рівні домену показав, що абсолютну більшість становлять бактерії. Дослідження мікробіому на рівні мікробних порядків показало абсолютне домінування *Burkholderiales* (38,7-45,7 %) та *Pseudomonadales* (20,1-31,4 %) з незначним варіюванням за досліджуваними системами землеробства. На рівні родин розподіл представників мікробного ценозу за варіантами досліду характеризувався головним чином зміною співвідношення основних бактеріальних таксонів. Серед них домінуючими були представники родин *Alcaligenaceae* (37,9-44,8 %) і *Pseudomonadaceae* (20,1-34,1 %), субдомінуючими – *Gaiellaceae* (2,3-5,7 %), *Nitrososphaeraceae* (2,4-4,2 %), порядок *Solirubrobacterales* (родина не ідентифікована) (2,0-4,8 %), часто зустрічались - *Solirubrobacteraceae* (0,4-1,2 %), *Micrococcaceae* (0,5-1,0 %), порядок *Rhodospirillales* (0,4-0,9) та ін. (рис. 3).

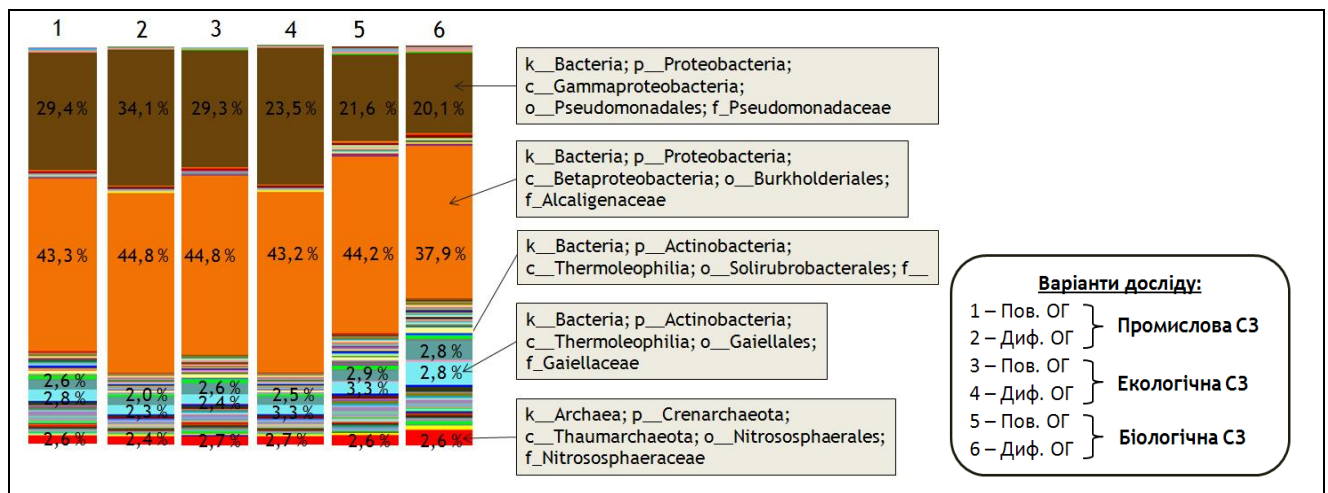


Рис. 3. Метагеном прокариотного комплексу чорнозему типового в агроценозі буряка цукрового

За величиною індексу Шеннона встановлено, що в ґрунті на початку і в середині вегетації створилися більш сприятливі умови для функціонування мікробіоти за біологічної СЗ, про що свідчить вище біорізноманіття мікрофлори (на 1,2-20,5% більше, ніж за промислової СЗ). Застосування поверхневого ОГ за рахунок локалізації органічних решток і добрив у верхньому шарі ґрунту, також сприяло зростанню бактеріального різноманіття на 5,2-6,0%, порівняно з диференційованим ОГ. Між показниками індексів Сімпсона та Шеннона існувала чітко виражена обернена залежність, що свідчить про сформовані системи мікробних ценозів. Збільшення величини індекса Бергера-Паркера, як і індекса Сімпсона, свідчить про зменшення різноманіття і збільшення ступеня домінування одного виду. Між індексом Бергера-Паркера та індексами Сімпсона ($r = + 0,8-0,93$) і Шеннона ($r = - 0,94$) був виявлений також тісний кореляційний зв'язок, що підтверджувало попередньо отримані дані. Тобто, найбільше різноманіття бактеріальної і грибною мікрофлори чорнозему типового з найменшим ступенем домінування одного виду в агроценозі буряку цукрового було при застосуванні біологічної СЗ.

Висновки

1. Агрозаходи та фенофази буряка цукрового суттєво впливають на функціонування мікробного ценозу в орному шарі чорнозему типового та в ризосфері культури, що проявляється у диференціації їх кількісного складу і структури.

2. Поверхневий ОГ сприяє зростанню кількості мікробіоти на 10,7 %, порівняно з диференційованим.

3. Застосування промислової СЗ призводить до зниженням чисельності мікробного комплексу чорнозему типового на 18,6 % та біорізноманіття на 27,5% (порівняно з біологічною СЗ).

4. Біологічна СЗ (екологічна СЗ дещо меншою мірою) сприяє збільшенню чисельності на 17,8-18,6 % і біорізноманіття мікробіоти на 1,2-20,5 % (порівняно з промисловою СЗ), розширення трофічних зв'язків мікробного ценозу та, в кінцевому результаті, формування гомеостатичних мікробних біомів ґрунтових екосистем.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Изучение биоразнообразия комплекса прокариотных микроорганизмов подзолистых почв / В. А. Думова, Н. В. Патыка, Ю. В. Круглов и др. // Мікробіологія і біотехнологія. – 2009. - № 6. – С. 60-65
2. Марчик Т. П. Численность, биомасса и эколого-трофическая структура микробных ценозов дерново-карбонатных почв / Т.П. Марчик, С.Е. Головатый // Веснік Гродзенскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя Янкі Купалы. - Серыя 5. Эканоміка. Сацыялогія. Біялогія. – 2012. - № 1 (125).– С. 107-118
3. Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учеб. Пособие /Под ред. Д. Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.
4. Одум Ю. Основы экологии / под. ред. Н. П. Наумова. - М.: Мир, 1975. - 733 с.
5. Патыка Н. В. Особенности филогенетических профилей прокариотических микроорганизмов подзолистых почв / Н. В. Патыка, Ю. В. Круглов, В. Ф. Патыка // Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – Т.41. - № 3. – С. 248-254
6. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / Под. ред. Г. С. Муромцева, пер. с. венгр. И. Ф. Куренного / Й. Сэги. – М.: Колос, 1983. – 296 с.
7. Танчик С. П. Екологічна система землеробства в Лісостепу України. Методичні рекомендації для впровадження у виробництво /С. П. Танчик, О. А. Демідов, Ю. П. Манько. – К.: Видавничий центр НУБІП України, 2011. – 39 с.
8. Теппер Е. З. Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер, В. К. Шильникова, Г. И. Переверзева. — М.: Колос, 1972. – 239 с.
9. Шерстобоева Е. В. Биоиндикация экологического состояния почв /

- Е. В. Шерстобоева, Я. В. Чабанюк, Л. И. Федак // Сільськогосподарська мікробіологія: міжвід. темат. наук. зб. – Чернігів. – 2008. – №. 7. – С.48-56
10. Sequencing Method Manual for GS Junior Titanium Series [Текст] / Method Manual. – 454 Life Sciences Corp., A Roche Company Branford, 2012 – 26 p.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ МИКРОБНОГО КОМПЛЕКСА ЧЕРНОЗЕМА ТИПИЧНОГО В АГРОЦЕНОЗЕ СВЕКЛЫ САХАРНОЙ

Москалевская Ю.П., Патыка Н.В., Танчик С.П.

Представлены результаты исследований качественного и количественного состава микробного комплекса, который трансформирует органическое вещество чернозема типичного при выращивании свеклы сахарной в различных системах земледелия. Установлено, что применение биологической системы земледелия создает оптимальные условия для функциональной направленности системы почва - микроорганизмы - растение в течении онтогенеза культуры

Ключевые слова: *микроорганизмы, свекла сахарная, чернозем типичный, система земледелия, обработка почвы, метагеном*

THE FEATURES OF MICROBIAL COMPLEX FORMATION OF TYPICAL CHERNOZEM IN SUGAR-BEET AGROCENOSISES

Moskalevska Yu.P., Patyka M.V., Tanchyk S.P.

The results of studies of qualitative and quantitative structure of the microbial complex which transforms the organic matter of typical chernozem with sugar beets cultivation at the application of different agrarian systems are submitted. It is established that the application of biological agrarian system creates the optimal conditions for functional orientation of system soil - microorganisms – plant during the crop ontogeny

Keywords: *microorganisms, sugar beets, typical chernozem, agrarian systems, soil tillage, metagenome*