

**М.В. Патика¹, О.Ю. Колодяжний¹, І.І. Ібатуллін¹,
Т.І. Патика¹, Ю.П. Борко²**

¹ Національний університет біоресурсів і природокористування України,

вул. Героїв Оборони, 13, Київ, 03041, Україна

² ННЦ «Інститут землеробства НААН»,

вул. Машинобудівників 2-Б, смт. Чабани, Києво-Святошинський район, Київська область, 08162, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ПРОСТОРОВО- ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ СТРУКТУРИ МІКРОБНОГО БІОМУ ГРУНТУ ТА ЙОГО АКТИВНІСТЬ ЗА ТРАНСФОРМАЦІЇ РОСЛИННИХ РЕШТОК

Мета. Комплексна оцінка впливу способів внесення соломи злакових культур на формування просторово-функціональної структури мікробного угруповання ґрунту та вивчення «корового» метагеному прокаріот, що беруть участь у трансформації рослинних решток у ґрунті. **Методи.** Чисельність мікроорганізмів по профілю ґрунту визначали методом посіву ґрунтових суспензій на агаризовані поживні середовища. Аналіз метагеномного складу та філотипової структури прокаріотного комплексу виконували методом T-RFLP. Активність функціонування мікробного угруповання визначали за швидкістю емісії CO₂ та залишковим вмістом соломи у ґрунті флотаційним методом. Фенологічні спостереження за ростом і розвитком рослин здійснювали за методиками держкомісії з сортовипробування. **Результати.** Вивчено вплив способів внесення соломи на особливості формування мікробного біому по ґрунтовому профілю та його функціональну структуру. За результатами фрактального аналізу показано розподіл чисельності мікроорганізмів у профілі ґрунту. Проаналізовано метагеномний склад прокаріотного комплексу, що формується при трансформації органічної речовини в ґрунті. Визначено біометричні параметри росту рослин ячменю у вегетаційному досліді, які демонструють ефективність формування рослинно-мікробної взаємодії на фоні мінерального живлення. **Висновки.** Внесення соломи в ґрунт як органічного добрива має сприятливий ефект на формування мікробного угруповання та підвищення його функціональної активності. Суттєве збільшення філотипового різноманіття метагеному прокаріот при внесенні соломи на глибину 0 – 5 см відбувалось за рахунок представників філи *Proteobacteria*, що свідчить про активну їх участь у процесі трансформації органічних речовин. Встановлено позитивний вплив препарату Екстракон щодо пришвидшення трансформації внесеної соломи та покращення формування рослинно-мікробної взаємодії.

Ключові слова: мікробний біом, метагеном прокаріот, просторово-функціональна структура, T-RFLP-аналіз, біорізноманіття, трофічні зв'язки, активність мікробного угруповання, солома.

«На земной поверхности нет химической силы, более постоянно действующей, а потому и более могущественной по своим конечным последствиям, чем живые организмы, взятые в целом», – писав В.І. Вернадський. «Жива речовина» – біогеохімічний фактор планетарного масштабу, під впливом якого перетворюється як навколишнє абіотичне середовище, так і самі живі організми [2]. Розвиваючи теорію

В.І. Вернадського, можна стверджувати, що жива речовина формує складні, різноманітні біологічні системи. Тому завданням сучасної біології в цілому і мікробіології, зокрема, є комплексне вивчення механізмів та особливостей формування таких систем з метою подальшого біотехнологічного використання їх продуктів і компонентів.

Ґрунт є найбільш складною, гетерогенною та структурованою біокосною системою Землі, з одночасно існуючою безліччю мікросередовищ та екологічних ніш, що значно відрізняються за умовами (доступністю поживних елементів, вологістю, доступом та формами кисневих сполук, структурою та текстурою пор та ін.) [3]. Завдяки цьому ґрунт дає можливість для розвитку найрізноманітніших груп мікроорганізмів з відповідною, певним чином спрямованою, функціональною активністю, саме які обумовлюють трансформацію рослинних решток та перетворення органічних речовин, процеси ґрунтоутворення та формування родючості [15].

Усі трофічні ланки ґрунтоутворюючого процесу пов'язані з його органічною речовиною. У формі органічних і органо-мінеральних сполук у ґрунті акумулюються величезні запаси енергії, вуглецю та інших біогенних елементів, які обумовлюють поживний режим ґрунту та рослин [1]. Перетворення у ґрунті органічної речовини рослинних решток є однією з ключових умов модерації та існування трофічних ланцюгів, оптимізації властивостей та режимів ґрунту, а також формування та можливості підвищення продуктивності сільськогосподарських культур [6].

Перетворення вуглецевмісних сполук (целюлози, кореневих ексудатів та ін.) є найбільшим за масштабами природним процесом, головну роль в якому виконують ґрунтові мікроорганізми [14]. Тому глибоке пізнання всіх процесів, що відбуваються в системі ґрунт – мікроорганізми – рослина і можливість раціонально управляти ними є основним завданням ґрунтової мікробіології, ґрунтознавства, екології та біотехнології. У зв'язку з тим, що ґрунтова мікробіота характеризується широким ступенем різноманіття та просторово-функціональної організації, методично вона є надзвичайно складним об'єктом дослідження.

Останнім часом для вивчення мікробних ценозів ґрунту все більше використовують сучасні молекулярно-біологічні методи, засновані на аналізі нуклеїнових кислот, виділених із зразків ґрунту («тотальна» ДНК, РНК). Впровадження цих методів істотно розширило можливості масштабного вивчення біорізноманіття, видової та функціональної структур змішаних культур і асоціацій мікроорганізмів незалежно від можливості їх культивування на поживних середовищах [5, 12]. Але питання про зв'язок біорізноманіття та функціонування мікробних комплексів залишається відкритим, що обумовлено поліфункціональністю мікроорганізмів: зміна таксономічного складу мікробного угруповання не обов'язково свідчить про зміну функціональної активності [3, 14]. Також недостатньо вивчена роль складу і структури мікробценозу, який бере участь в трансформації рослинних решток, зокрема соломи злакових, та вплив домінуючих його представників при подальшому вирощуванні сільськогосподарських культур.

Мета роботи полягала в комплексній оцінці впливу способів внесення соломи злакових культур на формування просторово-функціональної

структури мікробного угруповання ґрунту та вивчення «корового» метабеному прокаріот, що беруть участь у трансформації рослинних решток у ґрунті.

Матеріали та методи. Модельні та вегетаційні досліді проводили з добре окультуреним дерново-підзолистим ($C_{\text{гум.}} - 4,02\%$, $N_{\text{заг.}} - 0,316\%$, $pH_{\text{сол.}} - 5,63$, $P_2O_5 - 37$ мг/100 г, $K_2O - 9,6$ мг/100 г) ґрунтом. Перший етап передбачав компостування подрібненої на шматки (1–2 см) соломи жита (зольність – 3,4%, $N - 0,25 \pm 0,02$, $C/N - 195$) за обробки препаратом Екстракон (торфоподібний органо-мінеральний субстрат, що містить консорціум ґрунтових мікроорганізмів – *Sporocytophaga mixococcoides*, *Trichoderma viridae* (у співвідношенні 4:1), *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Bacillus subtilis*, *B. sphaericus*, *B. megaterium* (у співвідношенні 6:6:3:1:2.) відповідно до рекомендацій розробника (3 кг/га) [10]. Відповідно 0,3 г препарату гомогенізували у 100 мл водопровідної H_2O та обприскували підготовлену солому. Солому вносили по 3г/кг ґрунту у пластикові посудини трьома способами, що відповідають основним типам обробітку ґрунту: поверхнево (No-till), 0–5 см (дискування), 9–12 см (оранка). Загальним контролем слугував ґрунт без внесення соломи. Компостування здійснювалось у лабораторних умовах за температури 20–22°C, вологості – 50–55% протягом 2-х місяців. Другий етап досліджень передбачав вирощування рослин ячменю *Hordeum sativum* (сорт Незабудка) у вегетаційному досліді за схемою, що наведена у таблиці 1.

Таблиця 1

Схема вегетаційного досліді з вирощування ячменю за різних способів внесення соломи у ґрунт

	Фон мінерального живлення	Способи внесення соломи		
Без препарату	$N_0P_0K_0$	поверхнево	0–5 см	9–12 см
	$N_{45}P_{45}K_{45}$	поверхнево	0–5 см	9–12 см
	$N_{60}P_{60}K_{60}$	поверхнево	0–5 см	9–12 см
Екстракон	$N_0P_0K_0$	поверхнево	0–5 см	9–12 см
	$N_{45}P_{45}K_{45}$	поверхнево	0–5 см	9–12 см
	$N_{60}P_{60}K_{60}$	поверхнево	0–5 см	9–12 см

Мікробіологічний аналіз зразків ґрунту виконували на 60-у добу (на пізніх стадіях розкладання, коли йде деструкція більш важкодоступних сполук) і після закінчення другого етапу досліді. Вивчення чисельності основних фізіологічних груп мікроорганізмів та загальної чисельності бактерій і мікроміцетів у профілі ґрунту здійснювали методом посіву ґрунтових суспензій на агаризовані поживні середовища [7, 9]. Загальну чисельність бактерій визначали на середовищі Звягінцева, мікроміцетів – на середовищі Чапека [7].

Аналіз метагеномного складу та філотипової структури прокаріотного комплексу виконували методом T-RFLP (terminal restriction fragment length polymorphism) [16]. Виділення тотальної ДНК ґрунтових організмів, її очищення від гумінових кислот здійснювали згідно методичних рекомендацій [11]. Ампліфікація фрагменту гена 16S рРНК проводилась із використанням універсального флуоресцентно-міченого праймера *EU3* (63f (WellRed)/1494r) в ампліфікаторі Thermal Cycler T100 (Bio-Rad, США). Рестрикція ампліфікату здійснювалась протягом 12 год при температурі 37°C синтетичними ендонуклеазами *HaeIII* та *MspI*. Для розділення та аналізу отриманих фрагментів ДНК використовували обладнання та реактиви фірми «Beckman Coulter» (США). Інтенсивність флуоресценції детектували в автоматичному секвенаторі Beckman CEQ 8000 [6]. Для аналізу T-RFLP профілів на відповідність ймовірним таксономічним кандидатурам використовували програму Fragment Sorter. На основі ідентифікованих філотипів по гену 16S рРНК проводили філогенетичний аналіз з побудовою дендрограм методом «найближчих зв'язків» (NJ) за допомогою комп'ютерної програми Vector NTI [16].

Активність функціонування мікробного угруповання визначали за швидкістю емісії CO₂ (мг С-CO₂/кг добу) і сумарній активній мікробній біомасі (бактерії+мікрміцети) методом субстрат-індукованого дихання (газовий хроматограф Цвет (РФ); детектор – катарометр, газ-носій – гелій). Ступінь трансформації соломи визначали за її залишковим вмістом у ґрунті флотаційним методом в 0,5 н Na₂SO₄ [4].

Фенологічні спостереження за ростом і розвитком рослин здійснювали за методиками держкомісії з сортовипробування [8]. Для оцінки продуктивності рослин ячменю використовували показники довжини стебла, довжини коренів, маси стебел, маси колоса.

Статистичну обробку результатів здійснювали в FragSort, Mega 6, MS Excel 10.0 і STAT_0B2.

Результати та обговорення. Відомо, що легкодоступні органічні речовини трансформуються г-стратегами у перші два тижні після внесення органіки в ґрунт. Ця група мікроорганізмів досить чутлива до факторів впливу зовнішнього середовища [13]. Тому оцінка структури мікробного угруповання за різних способів внесення соломи у ґрунт проводилась на пізніх стадіях розкладу, коли трансформуються більш важкодоступні сполуки. У цей період розклад соломи здійснюється здебільшого к-стратегами, угруповання яких є більш стійким до факторів впливу.

Фрактальний аналіз загальної чисельності бактерій та мікрміцетів за профілем ґрунту показав суттєву диференціацію їх кількості у першому (2 місяці компостування) та другому (вирощування рослин) етапах досліду (рис. 1). Варто зазначити, що мікрміцети більш чутливі до внесення соломи, ніж бактерії. Їх чисельність у більшості варіантів підвищувалася у 1,5 – 2,0 рази в шарі ґрунту, де була внесена солома. Позитивний вплив на кількість мікрміцетів мав препарат Екстракон. У першому етапі в шарі ґрунту 0 – 6 см їх чисельність була найвищою за внесення соломи шляхом дискування із застосуванням мікробного консорціуму та становила 41,25±2,12 у порівнянні з 24,46±1,38 тис. КУО/г ґрунту в контролі. У шарі 6 – 12 см найвища їх чисельність – 34,81±2,12 тис. – також відмі-

чалась у варіанті з препаратом та відповідно за внесення соломи шляхом заорювання на 9 – 12 см. При цьому у ґрунті без внесення соломи вона становила $22,63 \pm 3,48$ тис. Таким чином, отримані результати підтверджують літературні дані щодо провідної ролі мікроміцетів на пізніх стадіях трансформації соломи.

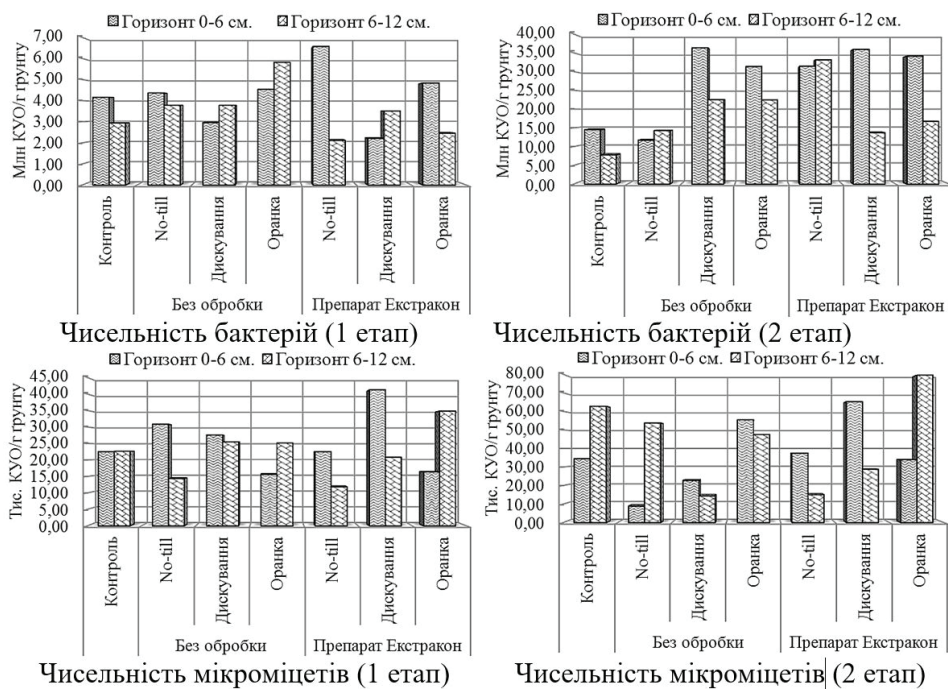


Рис. 1. Фрактальний аналіз чисельності мікроорганізмів у профілі ґрунту за різних способів внесення соломи злакових культур.

Чисельність бактерій після компостування соломи протягом 2-х місяців (1 етап дослідження) була більш варіабельною та характеризувалась менш чіткою диференціацією за варіантами дослідження у порівнянні з мікроміцетами. Попри це, отримані дані свідчать про накопичення та міграцію по профілю ґрунту доступних поживних речовин для активізації бактеріальної мікрофлори, що пов'язано з формуванням трофічних ланцюгів. Так, у варіантах, що відповідають системі No-till та дискування без застосування біопрепарату, їх чисельність у шарах 0 – 6 та 6 – 12 см була майже однаковою та становила $3,78 - 4,36$ і $2,96 - 3,78$ млн КУО/г відповідно до способу внесення соломи. Найвища чисельність бактерій виявлена у верхньому шарі ґрунту за внесення соломи поверхнево з обробкою мікробним консорціумом Екстракон ($6,54 \pm 0,42$ млн). Це свідчить про пріоритетне заселення агентів препарату на органічні рештки та формування відповідних трофічних зв'язків, що спостерігаються у структурі чисельності основних фізіологічних груп (таб. 2). Дещо нижчою вона була за внесення соломи шляхом заорювання у шарі ґрунту 6 – 12 см та становила $5,81 \pm 0,28$ млн, що підтверджує позитивний вплив органічної речовини на активізацію мікробного угруповання ґрунту.

Другий етап дослідження характеризувався значним збільшенням чисельності бактерій (у 5 – 10 разів залежно від варіанту дослідження), особливо у верхньому шарі ґрунту 0 – 6 см. Це підтверджує беззаперечну роль куль-

тури рослини та її корневих ексудатів у формуванні мікробного угруповання ґрунту. При цьому за рахунок надходження у кореневмісний шар ґрунту легкодоступних органічних сполук чисельність вирівнювалась та становила від 31,33 до 36,33 млн КУО/г, за виключенням варіанту No-till без застосування препарату (11,71 – 14,23 млн). Позитивний ефект дії консорціуму Екстракон зберігався для системи No-till, чисельність бактерій була високою по всьому профілю ґрунту (31,39 – 33,10 млн). При цьому їх кількість у контрольному варіанті становила $14,52 \pm 0,99$ млн у шарі 0 – 6 см та $7,79 \pm 0,70$ млн – у шарі 6 – 12 см.

Таблиця 2

Чисельність мікроорганізмів основних фізіологічних груп у ґрунті за різних способів внесення соломи

Варіант досліджу		Чисельність мікроорганізмів, млн (* – тис.) КУО/г абсолютно сухого ґрунту				
		Амоніфікувальні	Використовують мінеральний азот	Оліготрофні	Педотрофні	*Целлозолоруйнівні
Без препарату	Контроль (без соломи)	8,2±0,8	8,7±0,9	15,1±1,2	20,1±1,8	43,1±6,9
	No-till	17,3±0,6	38,2±1,4	33,7±3,9	34,7±2,9	65,1±7,9
	Дискування	19,6±0,3	23,0±1,6	10,0±0,4	14,9±1,3	135,4±8,6
	Оранка	13,6±0,9	16,5±1,4	9,1±0,7	11,8±1,1	58,3±8,2
Екстракон	No-till	13,3±0,4	19,0±1,1	16,2±1,1	20,4±1,4	93,5±7,9
	Дискування	14,4±0,4	12,1±1,3	19,4±1,2	27,4±3,8	157,1±8,0
	Оранка	8,0±0,3	17,3±1,1	8,8±0,4	9,6±0,9	76,6±7,9

Аналіз структури чисельності за основними фізіологічними групами мікроорганізмів, що представлений у таблиці 2, вказує на позитивний вплив внесення соломи на формування мікробного біому ґрунту. При цьому збільшувалась кількість амоніфікувальних, амілолітичних, оліготрофних та педотрофних мікроорганізмів у другому етапі досліджу, коли в ґрунт надходили додаткові поживні речовини корневих ексудатів.

З літературних джерел відомо, що для свого функціонування амілолітичні бактерії використовують мінеральні форми азоту [9]. Солома ж злакових культур характеризувалася широким співвідношенням C/N – 195. Тому значне збільшення чисельності цих мікроорганізмів, ймовірно, може сприяти перетворенню доступних мінеральних форм азоту ґрунту в органічні, що мобілізуються в клітинній біомасі бактерій. Застосування

препарату Екстракон обумовило зниження чисельності мікроорганізмів, що використовують мінеральні форми азоту, та сприяло збільшенню кількості целюлозоруйнівних мікроорганізмів на 12 – 43% за різних способів внесення соломи. Збільшення їх чисельності спостерігали від $93,5 \pm 7,9$ тис. за поверхневого внесення до $157,1 \pm 8,0$ тис. КУО/г за дискування. Їх активність проявлялася у ступені розкладання соломи по завершенню досліду (рис. 3). Висока чисельність оліготрофної та педотрофної мікрофлори, що активізується на пізніх етапах трансформації органічної речовини, може сприяти завершенню мінералізації важкодоступних органічних сполук рослинних решток та брати участь у їх гуміфікації.

Вченими встановлено, що варіабельність чисельності мікроорганізмів у ґрунті не може свідчити про зміну якісного біорізноманіття, яке відповідає за функціональну спрямованість мікробного угруповання в цілому [3]. Для вивчення особливостей впливу органічної речовини на формування мікробоценозу ґрунту необхідно оцінити структуру якісного складу мікробіому, що бере участь у перетворенні рослинних решток. Аналіз метагеному та філотипової структури прокариот молекулярно-біологічними методами підтвердив вплив глибини внесення соломи на формування біорізноманіття прокариотного комплексу при її трансформації в ґрунті (рис. 2). У ґрунті без внесення соломи різноманіття прокариот представлено філами *Proteobacteria*, *Planctomycetes*, *Acidobacteria*, *Firmicutes* та налічувало лише 22 домінуючі філотипи, серед яких 71% склали мікроорганізми, що не культивуються. Суттєве зростання різноманіття ґрунтового метагеному виявлено при внесенні соломи на глибину 0 – 5 см шляхом дискування. При трансформації соломи в ґрунті значно зростає кількість представників філи *Proteobacteria*, що свідчить про активну їх участь у процесі трансформації органічних речовин. Внесення соломи на глибину 0 – 5 см сприяло розширенню мікробного угруповання даної філи до 13 порядків прокариот (*Desulfovibrionales*, *Rhizobiales*, *Rhodospirillales*, *Burkholderiales*, *Chromatiales*, *Oceanospirillales*, *Pseudomonadales*, *Legionellales*, *Chromatiales*, *Pasteurellales*, *Enterobacteriales*, *Vibrionales*, *Alteromonadales*), що об'єднували 87 філотипів. Частка прокариот, що не культивуються на поживних середовищах, становила 20%.

Збільшення філотипового різноманіття прокариот при внесенні соломи свідчило про підвищення функціональної активності мікробіому в цілому.

Активність функціонування мікробного ценозу за швидкістю емісії CO_2 на 1 етапі досліду в контрольному варіанті ґрунту становила $8,8 \pm 0,1$ мг $\text{C-CO}_2/\text{кг}$ за добу (рис. 3). Внесення соломи сприяло збільшенню «дихання ґрунту» на кінець першого етапу до $13,4 \pm 0,8$ за поверхневого способу, $17,7 \pm 1,6$ – дискування, $13,8 \pm 0,8$ – оранка. Застосування консорціуму мікроорганізмів, що є основою препарату Екстракон, підсилювало активність мікробного угруповання до 2,5 раза у порівнянні з контролем. Швидкість емісії CO_2 становила від 21,2 до 22,0 мг $\text{C-CO}_2/\text{кг}$ за добу залежно від способу внесення соломи.

Під час росту і розвитку рослин у ґрунт із корневими ексудатами надходить значна кількість легкодоступних поживних речовин, що сприяють збільшенню різноманіття, розподілу чисельності мікроорганізмів та обумовлюють їх активність у кореневмісному шарі ґрунту. Таким чином, формування рослинно-мікробних систем значно посилює «дихання ґрунту».

У контрольному варіанті емісія вуглекислого газу становила $33,4 \pm 4,1$ мг $C-CO_2$ /кг за добу. У варіантах із застосуванням препарату Екстракон інтенсивність виділення двоокису вуглецю суттєво не змінювалась, що свідчить про мобілізацію карбону в ґрунті. При цьому спостерігалася активність мікробного угруповання за залишковим вмістом соломи та позитивний вплив на ростові показники рослин (рис. 4.) За внесення соломи без препарату відбувалось незначне збільшення «дихання ґрунту».

Ступінь трансформації соломи за залишковим вмістом її в ґрунті на кінець досліду (внесено 300 мг соломи/100 г) мінімальним був у варіанті No-till без препарату, де залишок становив 64,4%. При заробці соломи в ґрунт її залишкова кількість зменшувалася до 51,6%. Застосування мікробного препарату підсилило ступінь трансформації соломи до 1,4 раза. Найменший залишок соломи – 36,1% – спостерігали при внесенні на глибину, що відповідає дискування.

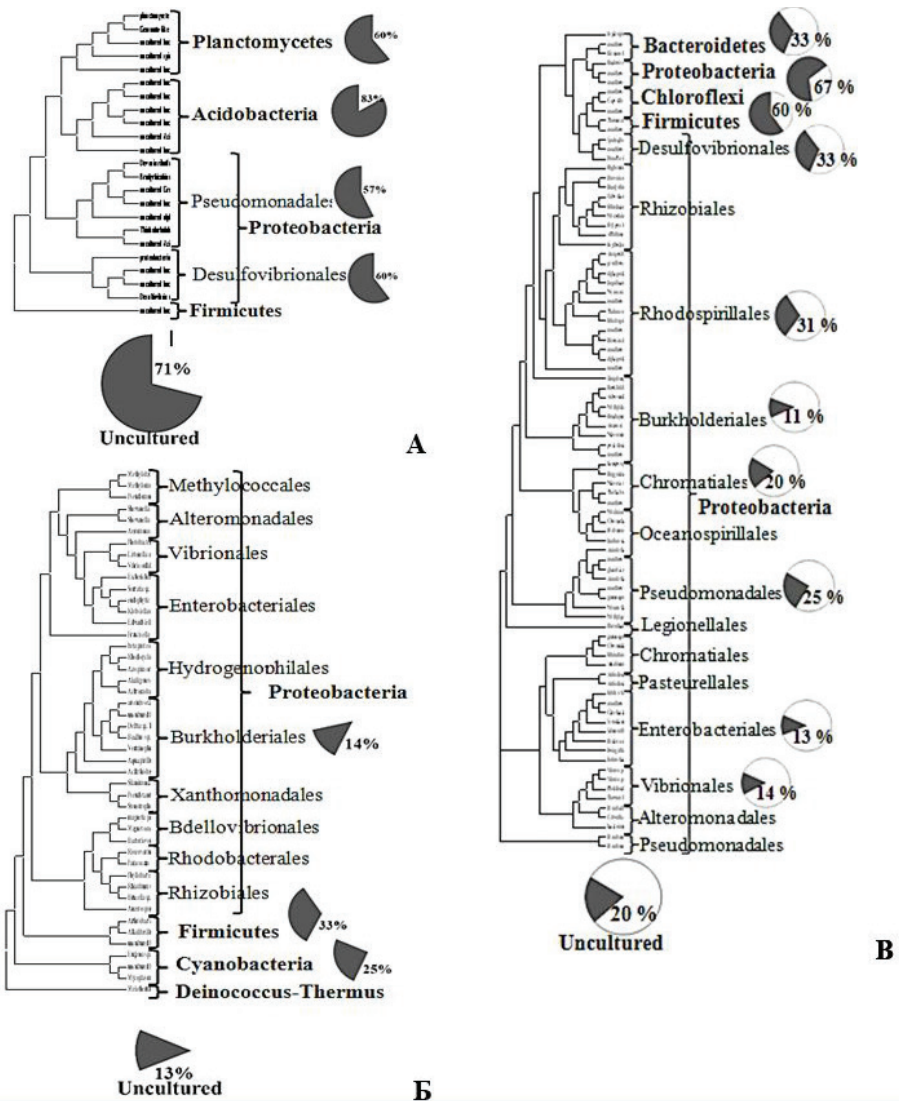


Рис. 2. Вплив способів внесення соломи на формування філотипової структури бактерій у ґрунті (А – контроль (без соломи); Б-внесення соломи на глибину 9 – 12 см; В – внесення соломи на глибину 0 – 5 см).

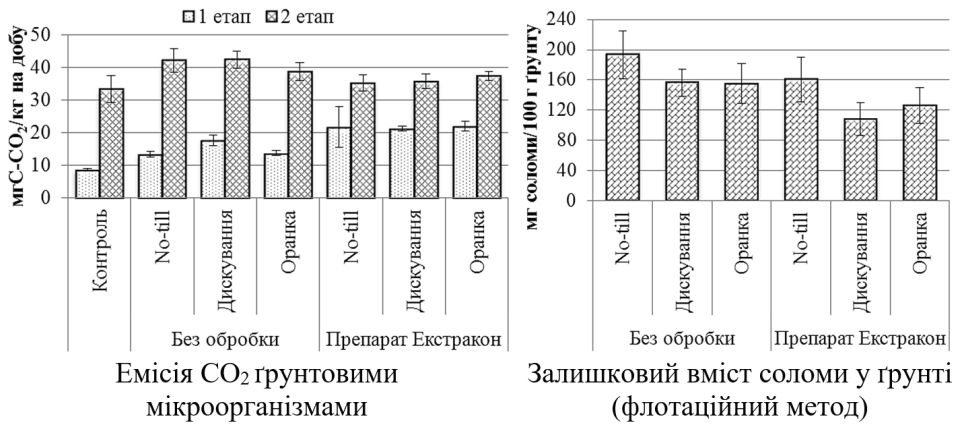


Рис. 3. Показники мікробної активності за різних способів внесення соломи у ґрунт (1 етап – компостування протягом 2-х місяців; 2 етап – вирощування рослин в досліджуваному ґрунті).

Формування та функціонування відповідного мікробного угруповання важливо розглядати з огляду системи «ґрунт – мікроорганізми – рослина», оскільки мікрофлора ґрунту безпосередньо чи опосередковано впливає на формування родючості ґрунту та доступність біогенних елементів для живлення рослин. Інтегральним показником ефективності функціонування біологічних систем, зокрема агрофітоценозів, є формування продуктивних показників вирощуваних рослин. При дослідженні впливу способів внесення соломи в ґрунт за мінерального фону $N_0P_0K_0$, $N_{45}P_{45}K_{45}$, $N_{60}P_{60}K_{60}$ виявлено різницю біометричних показників росту рослин ячменю залежно від варіантів (рис. 4).

Довжина стебла рослин у варіанті без соломи та мінерального живлення становила 32,7 см (контроль). За відсутності мінеральних елементів статистично значуще збільшення висоти надземної частини рослин спостерігали у варіантах досліді із застосуванням мікробного препарату (41,9 – 42,8 см), при цьому вплив глибини внесення соломи був не суттєвим. На фоні мінеральних добрив позитивний ефект Екстракону підсилювався, максимальна довжина стебла становила 47,6 см у варіанті дискування + препарат на фоні $N_{60}P_{60}K_{60}$. За внесення соломи шляхом дискування без застосування мікробного препарату вона становила 41,9 см. Значуща прибавка маси стебел до контролю (1,5 г) у варіантах без мінеральних добрив була зафіксована за внесення соломи шляхом заорювання із застосуванням Екстракону (3,6 г). Внесення мінеральних добрив сприяло збільшенню маси стебел у 2,0 – 3,7 рази залежно від варіантів у порівнянні з контролем. Вплив глибини внесення соломи при цьому не спостерігали.

Аналогічні результати було отримано при аналізі довжини коренів. Суттєвий статистично значущий позитивний вплив спостерігали за застосування препарату Екстракон, ефект якого підсилювався на фоні мінеральних добрив.

Маса колоса у контрольному варіанті становила 2,2 г та збільшувалась до 6,6 г на фоні $N_{60}P_{60}K_{60}$ у варіантах із застосуванням мікробного препарату. Фактор глибини внесення соломи у ґрунт був не значущий у межах однакової дози внесення мінеральних добрив.

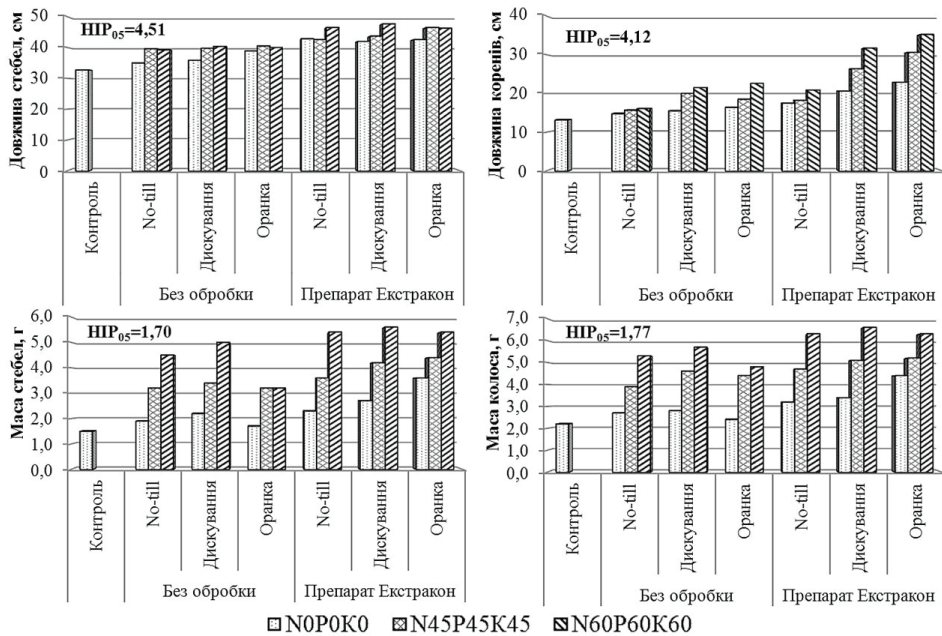


Рис. 4. Біометричні показники рослин ячменю у вегетаційному досліді за різних способів внесення соломи.

Таким чином, за результатами досліджень впливу внесення соломи та препарату Екстракон на формування кількісної, якісної структури та функціонування мікробних угруповань ґрунту встановлено, що збільшення чисельності мікроміцетів у 1,5 – 2,0 рази відбувалось у шарі ґрунту, де була внесена солома. При цьому застосування мікробного консорціуму для активізації трансформації соломи мало позитивний ефект та сприяло збільшенню чисельності мікроміцетів до 41,25 тис. у верхньому шарі ґрунту 0 – 6 см у порівнянні з 24,46 тис. у контрольному ґрунті та до 34,81 тис. у шарі 6 – 12 см (контроль – 22,63 тис. КУО/г). В середньому ефективність препарату Екстракон у порівнянні з відповідними варіантами без обробки становила від 38 до 50% залежно від глибини внесення соломи. Отримані результати свідчать про накопичення та міграцію по профілю ґрунту легкодоступних поживних речовин під час трансформації соломи для активізації бактеріальної мікрофлори.

Встановлено беззаперечну роль вирощуваної культури у формуванні чисельності бактеріальної мікрофлори ґрунту. Відзначали збільшення чисельності бактерій у 5 – 10 разів залежно від варіанту досліді. При цьому варто відмітити позитивний вплив внесення соломи на чисельність амоніфікувальних, амілолітичних, оліготрофних та педотрофних мікроорганізмів. Спостерігали вирівнювання та оптимізацію структури чисельності фізіологічних груп мікробіоти у варіантах із застосуванням препарату Екстракон. Висока чисельність оліготрофної та педотрофної мікрофлори свідчила про мінералізацію важкодоступних органічних сполук рослинних решток.

За результатами молекулярно-біологічних досліджень показано суттєве зростання різноманіття метагеному прокариот при внесенні соломи на глибину 0 – 5 см шляхом дискування за рахунок представників філи *Proteobacteria*, що свідчить про активну їх участь у процесі трансформації органічних речовин. Збільшення чисельності та різноманіття якісного складу мікроорганізмів за внесення соломи в ґрунт свідчило про підвищення функціональної активності мікробіому в цілому. Це відобразалося у збільшенні швидкості емісії CO₂ до 2,5 раза у порівнянні з контролем, зокрема у варіантах із застосуванням препарату Екстракон. Слід відмітити значне посилення «дихання ґрунту» на етапі вирощування рослин за рахунок надходження легкодоступних поживних речовин у складі корневих ексудатів.

Встановлено залежність трансформації соломи від глибини її внесення в ґрунт. Застосування мікробного препарату Екстракон підсилило ступінь трансформації соломи до 1,4 раза, при цьому найменший залишок соломи 36,1% спостерігали при внесенні її на глибину 0 – 5 см шляхом дискування, що узгоджується з високою функціональною активністю мікробіому.

За результатами досліджень не виявлено статистично значущого впливу глибини внесення соломи у ґрунт на продуктивні показники рослин ячменю, що пов'язано із особливостями будови кореневої системи та самих рослин. Посилення росту та розвитку рослин відбувалось, головним чином, у варіантах із застосуванням мікробного препарату на фоні внесення мінеральних добрив N₆₀P₆₀K₆₀.

Отже, внесення соломи в ґрунт як органічного добрива має сприятливий ефект на формування мікробного угруповання та підвищення його функціональної активності. Але для підвищення ефективності функціонування та оптимізації мікробного угруповання, направлено на пришвидшення трансформації поживних решток, доцільно застосовувати мікробні препарати на основі консорціуму целюлозоруйнівних та гетеротрофних мікроорганізмів, що забезпечують активізацію мікробіоти на всіх етапах перетворення органічної речовини. Консорціуми мікроорганізмів є важливою ланкою великого кругообігу речовин, функціонування яких, поєднуючись у єдину систему, постійно забезпечує процеси життя у ґрунті.

Публікація містить результати досліджень, проведених за грантом Президента України за конкурсним проектом Ф74/26040 Державного фонду фундаментальних досліджень

*Н.В. Патыка¹, А.Ю. Колодяжный¹, И.И. Ибатуллин¹,
Т.И. Патыка¹, Ю.П. Борко²*

¹ *Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
ул. Героев Оборона, 13, Киев, 03041, Украина*

² *ННЦ «Институт земледелия НААН»,
ул. Машиностроителей 2-Б, с. Чабаны, Киевская область, 08162, Украина*

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПРОСТРАНСТВЕННО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ МИКРОБНОГО БИОМА ПОЧВЫ И ЕГО АКТИВНОСТЬ ПРИ ТРАНСФОРМАЦИИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОСТАТКОВ

Резюме

Цель. Комплексная оценка влияния различных способов внесения соломы злаковых культур на формирование пространственно-функциональной структуры микробного сообщества почвы и изучение «корового» метагенома прокариот, участвующих в трансформации растительных остатков в почве. **Методы.** Численность микроорганизмов по профилю почвы определяли методом посева почвенных суспензий на агаризованных питательных средах. Анализ метагеномного состава и филотипической структуры прокариотного комплекса выполняли методом T-RFLP. Активность функционирования микробного сообщества определяли по скорости эмиссии CO₂ и остаточному содержанию соломы в почве флотационным методом. Фенологические наблюдения за ростом и развитием растений осуществляли по методикам госкомиссии по сортоиспытанию. **Результаты.** Изучено влияние способов внесения соломы на особенности формирования микробного биома по почвенному профилю и его функциональную структуру. По результатам фрактального анализа показано распределение численности микроорганизмов по профилю почвы. Проанализирован метагеномный состав прокариотного комплекса, который формируется при трансформации органического вещества в почве. Определены биометрические параметры роста растений ячменя в вегетационном опыте, демонстрирующие эффективность формирования растительно-микробного взаимодействия на фоне минерального питания. **Выводы.** Внесение соломы в почву в качестве органического удобрения оказывает благоприятное воздействие на формирование микробного сообщества и повышение его функциональной активности. Существенное увеличение филотипического разнообразия метагенома прокариот при внесении соломы на глубину 0 – 5 см происходило за счет представителей фила *Proteobacteria*, что свидетельствует об активном их участии в процессе трансформации органических веществ. Установлено положительное влияние препарата Экстракон на ускорение трансформации внесённой соломы и улучшение формирования растительно-микробного взаимодействия.

Ключевые слова: микробный биом, метагеном прокариот, пространственно-функциональная структура, T-RFLP-анализ, биоразнообразие, трофические связи, активность микробного сообщества, солома.

M.V. Patyka¹, O.Yu. Kolodiazhnyi¹, I.I. Ibatullin¹,

T.I. Patyka¹, Yu. P. Borko²

¹ National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
13 Heroyiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine

² NSC «Institute of Agriculture of NAAS»,
2-B Mashynobudivnykiv St., Chabany, Kyievo-Svyatoshynsky district,
Kyiv region, 08162, Ukraine

FEATURES OF FORMATION THE SPATIAL-FUNCTIONAL STRUCTURE OF MICROBIAL BIOME OF SOIL AND ITS ACTIVITY AT THE TRANSFORMATION OF PLANT RESIDUES

Summary

Aim. Complex assessment of influence on the formation of spatial and functional structure of soil microbial communities ways of making the straw cereals crops and study “core” prokaryotes metagenome, that involved in the transformation of plant residues in soil. **Methods.** The number of microorganisms in the soil profile was determined by seeding of soil suspensions on agar nutrient media. Analysis of metagenomic composition and phylotypical structure of prokaryotic complex was executed by T-RFLP method. Functional activity of microbial communities was determined behind the speed of emission of CO₂ and residual content straw in the soil by flotation method. Phenological observation of plant growth and development was carried out behind methodics of State variety trials. **Results.** Impact of ways the straw making on features of microbial biome formation in the soil profile and its functional structure was studied. It was shown distribution of the number of microorganisms in soil profile by the results of fractal analysis. Metagenomic composition of prokaryotic complex that formed during the transformation of organic matter in the soil was analysed. They were determined biometric parameters of the barley plants growth in vegetative experiment that demonstrates the effectiveness of the plant-microbial interactions formation on the background of mineral nutrition. **Conclusions.** Adding straw into the soil as organic fertilizer has a favourable effect on the formation of microbial community and enhancing its functional activity. Significant increase of phylotypical diversity of prokaryotes metagenome by adding straw to a depth of 0 – 5 cm occurred at the expense to members of phylum *Proteobacteria*. It testifies to their active participation in the transformation of organic matter. Positive influence of the biopreparation Ekstrakon for accelerates the transformation of straw and improvement of the plant-microbial interactions formation was established.

Keywords: microbial biome, metagenome of prokaryotes, spatial-functional structure, T-RFLP-analysis, biodiversity, trophic chains, activity of microbial communities, straw.

1. *Александрова Л.Н.* Органическое вещество почвы и процессы его трансформации. – Наука, 1980. – 287 с.
2. *Вернадский В.И.* Живое вещество. – М.: Наука, 1978. – 358 с.
3. *Гадзало Я.М., Патыка Н.В., Заришняк А.С.* Агробиология ризосферы растений: монография. – К.: Аграрна наука, 2015. – 386 с.
4. *Зенова Г.М., Степанова А.Л., Лихачева А.А., Манучарова Н.А.* Практикум по биологии почв: Учебное пособие. – М.: Издательство МГУ, 2002. – 120 с.
5. *Колодяжний О.Ю., Андронов С.С., Патика М.В.* Молекулярно-біологічне оцінювання прокаріотного комплексу чорнозему типового за вирощування пшениці

- озимої // Збірник наукових праць ННЦ «Інститут землеробства НААН» – 2014. – № 1-2. – С. 61 – 67.
6. Колодяжний А.Ю., Патыка Н.В., Орлова О.В. Особенности формирования метагенома и функциональной структуры микробного комплекса при внесении соломы в почву // Научно-практический журнал «Збалансоване природокористування». – 2014. – № 2. – С. 61 – 68.
 7. Лабутова Н.М. Методы изучения почвообитающих микроорганизмов: [учеб. пособие]. – СПбГУ, 2008. — С. 13–16.
 8. Методика державного сортопробування сільськогосподарських культур. – К.: Алефа, 2000. – 100 с.
 9. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Колотилова Н.Н., Котова Б.И., Семенова Е.В. Практикум по микробиологии: [учеб. пособие] –М.: Издат. центр «Академия», 2005. – 608 с.
 10. Патыка М.В. Консорціум ґрунтових мікроорганізмів для трансформації органічних речовин в гумусоподібну субстанцію та активізації трофічних зв'язків у системі «ґрунт-рослина» та спосіб отримання на його основі біологічного препарату. Пат. 112403 UA C2 – № a201602547, заявл. 15.03.2016; опубл. 25.08.2016. – Бюл. № 16. – 8 с.
 11. Патыка М.В., Танчик С.П., Колодяжний О.Ю., Іванюк М.Ф., Круглов Ю.В., Мельничук М.Д., Патыка Т.І. Формування біорізноманіття та філотипової структури еубактеріального комплексу чорнозему типового при вирощуванні пшениці озимої // Доповіді НАН України. – 2012. – № 11. – С. 163–171.
 12. Патыка Н.В., Колодяжний О.Ю., Ибатуллин И.И. Оценка метагенома и детекция функционально значимых полиморфизмов прокариот почвы с использованием метода пиросеквенирования // Микробиол. журн. – 2016. – Т. 78, № 2. – С. 43–51.
 13. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G. Microbial diversity and soil functions // European Journal of Soil Science. – 2003. – V. 54. – P. 655 – 670.
 14. Patyka N.V., Bublik N.A., Patyka T.I., Kitaev O.I. Rhizospheric trophic chain: the role and stability in soil processes and ecosystems // Analytical Chemistry from Laboratory to Process Line. – Canada: Apple Academic Press, Inc, 2016. – P. 279 – 287.
 15. Schmidt T.M., Waldron C. Microbial Diversity in Soils of Agricultural Landscapes and Its Relation to Ecosystem Function // The Ecology of Agricultural Landscapes: Long-Term Research on the Path to Sustainability. – New York: Oxford University Press, 2015. – P. 135 – 157.
 16. Schütte U. M., Abdo Z., Bent S.J., Shyu C., Williams C.J., Pierson J.D., Forney L.J. Advances in the use of terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis of 16S rRNA genes to characterize microbial communities // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – P. 365–380.

Отримано 29.11.2016