

УДК 631.461:631.445.4  
© 2012

*О.Л. Тонха,*  
кандидат сільсько-  
господарських наук

Національний  
університет біоресурсів  
і природокористування  
України

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНА ОЦІНКА ПРОКАРІОТНОГО КОМПЛЕКСУ ЧОРНОЗЕМУ ТИПОВОГО**

*Проведено молекулярно-генетичну оцінку прокаріотного комплексу чорнозему типового, відзначено його зміни під впливом різних обробітків та удобрення ґрунту. Доведено, що обробітки ґрунту, впливаючи на надходження і розподіл поживних речовин і добрив, фізико-хімічні і фізичні його параметри, змінюють показники і будову філотипового різноманіття ґрунтових мікроорганізмів.*

Структура мікробних співтовариств, за визначенням А.А. Роде [2], є складовою детальної характеристики ґрунтів і зумовлює швидкість перебігу ґрунтових процесів. Чисельність мікроорганізмів у ґрунті коливається не лише протягом року, а й упродовж незначних проміжків часу залежно від його температури, вологості, стану рослинного покриву тощо. Обробіток ґрунту та удобрення є вагомим фактором, який впливає на мікробіологічну активність. Як і інші ланки системи землеробства, вони мають на меті: підвищити ефективну родючість ґрунту й створити найсприятливіші умови для росту та розвитку рослин. Водночас багато проблем сучасного землеробства пов'язані з обробітком ґрунту. Більші витрати енергії, прискорена мінералізація гумусу, розвиток ерозійних і дефляційних процесів, ущільнення ґрунту тощо багато в чому пов'язані з інтенсивним характером його обробітку [1]. Ґрунтообробні знаряддя, розпушуючи верхній шар ґрунту, залежно від ступеня інтенсивності впливу, змінюють практично всі властивості. Нині визначено вплив різних агротехнічних факторів, таких, як обробіток та удобрення, на біологічну активність ґрунту [1]. Однак теоретичні принципи обробітку ґрунту й використання добрив із застосуванням новітніх молекулярно-генетичних методів дотепер вивчено недостатньо.

На думку D.H. Buckley [3], в 1 г ґрунту міститься близько 4000 видів мікроорганізмів, основна маса яких нездатна рости на живильних середовищах, які використовують нині для культивування мікроорганізмів. Тому важливо оцінити молекулярно-генетичними методами біомасу прокаріотів чорноземних ґрунтів та їхні зміни під впливом різних обробітків та удобрення.

**Мета досліджень** — дослідити молекулярно-генетичними методами вплив різних обробітків ґрунту та удобрення на біомасу прокаріотів за кількістю ПЛР продукту.

**Методика досліджень.** Дослідження проводили на основі стаціонарного дослідження кафедри

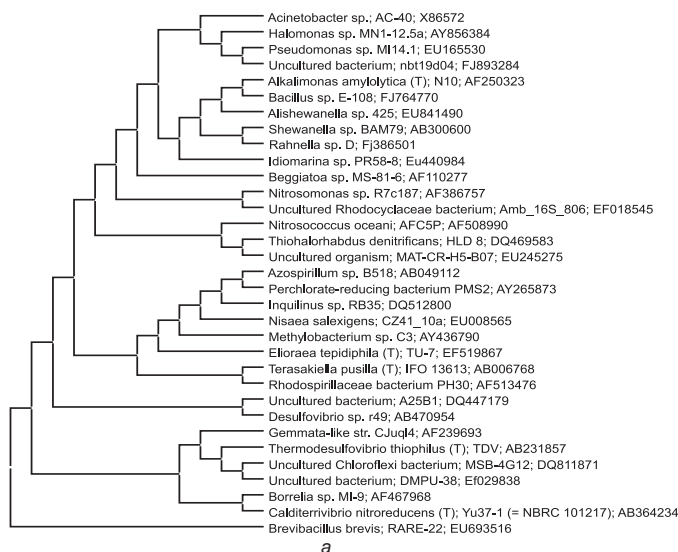
ґрунтознавства та охорони ґрунтів Національного університету біоресурсів і природокористування України на чорноземі типовому середньосуглинковому малогумусному на лесі в травні 2010 р. Уміст гумусу в орному шарі дослідного ґрунту становив  $3,57 \pm 0,13$ , підорному —  $3,52 \pm 0,14$ . Реакція ґрунтового середовища у верхніх горизонтах рН водної витяжки — 6,7–6,9. Вивчали такі обробітки ґрунту: оранку на глибину 25–27 см; мілкий плоскорізний обробіток на 25–27 см; глибокий плоскорізний обробіток на глибину 10–12 см.

На фоні обробітку досліджували 2 системи удобрення (кількість добрив на 1 га сівозміної площі): без добрив (контроль); солома 2,4 т/га+ сидерати+N<sub>24</sub>.

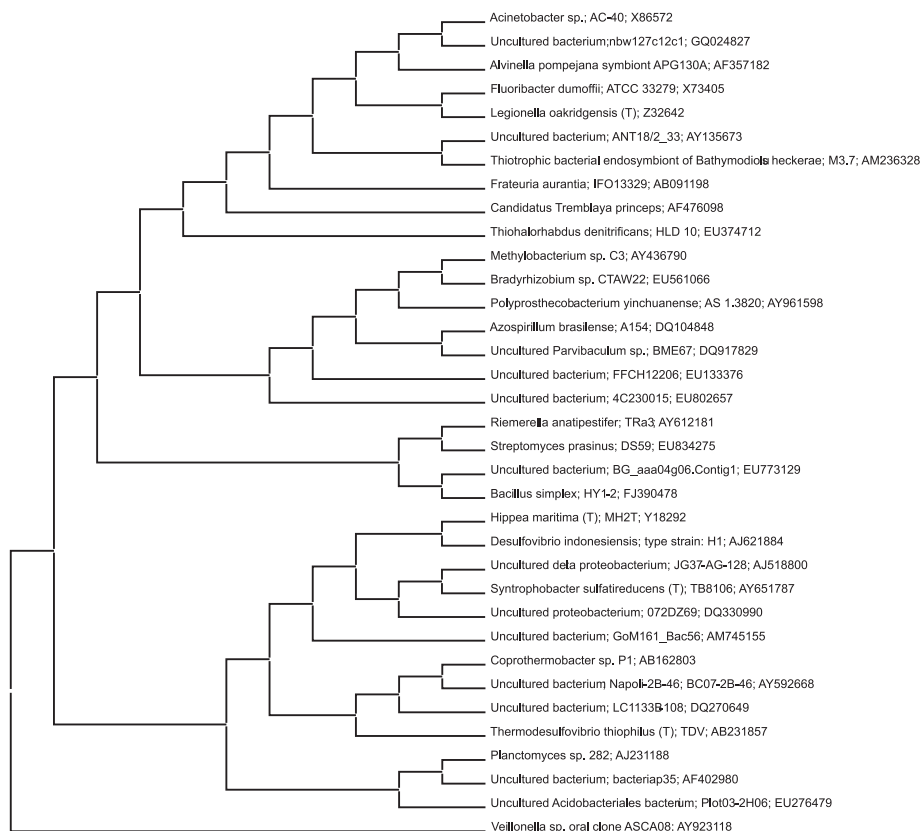
Ґрунтово-біологічні дослідження проводили в період активної вегетації рослин (травень 2010 р.) у шарі ґрунту 0–20, 20–40 см. Відбір, підготовку та зберігання зразків ґрунту для дослідження аеробної мікробіоти в лабораторних умовах проводили згідно з ДСТУ ISO10381 — 6–2001. Відпрацьовано оригінальну методику екстракції тотальної ДНК мікроорганізмів, за основу якої було взято метод J.J. Doyle, J.L. Doyle [4].

Для видової класифікації фрагментів tRFLP використовували програму TRFLP Fragsort. Крім цього, аналізували нуклеотидні послідовності та перевіряли їх ідентичність з відповідними послідовностями 16S rPHK (база даних GenBank). Аналіз результатів секвенування здійснювали за допомогою програми Vector NTI Advance.

**Результати досліджень.** Аналіз профілів, побудованих за методом tRFLP, показує різноманітність філогенезу ґрунтових мікроорганізмів різних варіантів обробітку (рисунки). Топологія розподілу прокаріотних генотипів ґрунтового мікробного комплексу в шарі 0–20 см на мілкому плоскорізному обробітку, представлена на дендрограмі, свідчить про наявність 8-ми основних кластерів, які відповідають доміную-



a



b

Генетична різноманітність прокаріотних генотипів у чорноземі типовому на мілкому плоско-різному обробітку у варіанті удобрення солома 2,4 т/га + сидерати + N<sub>24</sub> (a – у шарі 0–20 см; б – 20–40 см)

чим генотипам, що належать до представників 33 видів, 18% з яких некультивовані.

Шар 20–40 см характеризується 5-ма основними кластерами, 35-ма видами, 37% бактерій з яких некультивовані. Тобто кількість прокаріотів і найпоширеніші види значно не відрізняються при мілкому плоскорізному обробітку за шарами ґрунту.

Мікробний комплекс прокаріотів на оранці характеризується наявністю 7-ми основних кластерів, які відповідають домінуючим генотипам, що належать до представників 57 видів, 40% з яких некультивовані. Шар 20–40 см характеризується 8-ма основними кластерами, 33-ма видами, 21% бактерій з яких некультивовано.

Оранка зумовлює диференціацію за кількістю мікроорганізмів: верхній шар 0–20 см у 1,7 раза більше містить видів бактерій, ніж нижній 20–40 см. Кількість домінуючих генотипів прокаріотів на 73% більша на оранці порівняно з мілким плоскорізним обробітком.

Мікробний комплекс глибокого плоскорізного обробітку характеризується наявністю 7-ми основних кластерів, які відповідають домінуючим генотипам, що належать до представників 98 видів, 31% з яких некультивовані. Шар 20–

40 см на глибокому плоскорізному обробітку характеризується наявністю 5 кластерів, представлених 93 видами, 37% з яких некультивовані.

На всіх обробітках ґрунту були наявні роди прокаріотів, що беруть участь у трансформації органічних сполук, кругообігу азоту, фосфору, калію, сірки, вуглецю та ін.: *Acinetobacter*; *Halomonas*; *Bacillus*; *Beggiatoa*; *Nitrosomonas*; *Nisaea*; *Elioraea*; *Desulfovibrio*; *Thermodesulfovibrio*.

Глибокі обробітки (оранка, глибокий плоскорізний обробіток) характеризувалися наявністю *Pectobacterium* (2 види на оранці, 5 — глибокому плоскорізному); *Modicisalibacter*; *Chromohalobacter*; *Candidatus Kuenenia*; *Nitrospira*; *Hippea*; *Desulfobacca*.

Обробітки без обернення скиби (мілкий і глибокий плоскорізний) сприяли розвитку *Pseudomonas*; *Thiohalorhabdus*; *Dechlorimonas*; *Borrelia*; *Denitrobacterium*; *Deferribacteres*.

Філогенетичний аналіз дендрограм, побудованих на основі отриманих даних профілів методом tRFLP, свідчить про ширшу й складнішу побудову філотипового різноманіття ґрунтових мікроорганізмів на глибокому плоскорізному обробітку в шарах 0–20 і 20–40 см.

## Висновки

Обробітки ґрунту, впливаючи на надходження і розподіл поживних решток і добрив, фізико-хімічні і фізичні параметри ґрунту, змінюють показники і будову філотипового різноманіття ґрунтових мікроорганізмів. Кількість домінуючих генотипів прокаріотів за глибокого плоскорізного обробітку в 1,7 раза

більша, ніж за оранки, мілкого плоскорізного — 2,9 раза.

Оранка, на відміну від плоскорізних обробіток, зумовлює диференціацію за кількістю мікроорганізмів: верхній шар 0–20 см у 1,7 раза більше містить видів бактерій, ніж нижній 20–40 см.

## Бібліографія

1. Мишустин Е.Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия/Е.Н. Мишустин. — М.: Наука, 1972. — 342 с.
2. Роде А.А. Режим почвенно-грунтовых вод, подзолистых, подзолисто-болотных и болотных почв/А.А. Роде//Труды Почв. ин-та им. В.В. Докучаева, 1950. — Т. 32.

3. Buckley D.H. The structure of microbial communities in soil and the lasting impact of cultivation/D.H. Buckley, T.M. Schmidt//Microbial Ecology. — 2001. — № 42. — P. 11–21.
4. Doyle J.J. Isolation of plant DNA from fresh tissue /J.J. Doyle, J.L. Doyle//Focus. — 1987. — № 12. — P. 13–15.