

УДК 631.46:631.5:633.63

Ю.П. Москалевська, аспірант

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

М.В. Патики, доктор сільськогосподарських наук

ННЦ «ІНСТИТУТ ЗЕМЛЕРОБСТВА НААН»

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНЕ ФОРМУВАННЯ МЕТАГЕНОМУ ПРОКАРІОТ РИЗОСФЕРИ БУРЯКІВ ЦУКРОВИХ В ЧОРНОЗЕМІ ТИПОВОМУ

Ґрунт є головним джерелом біологічного різноманіття живих організмів, а мікроорганізми, як його основний генофонд, мають широке видове і функціональне різноманіття, формують ґрунтовий покрив і його структуру та обумовлюють важливу функціональну роль в кругообігу речовин і енергії [7].

Як частина біоценозу, мікроорганізми постійно знаходяться у взаємодії з усіма його компонентами і, в першу чергу, з рослинами, які, продукуючи кореневі екsudати в процесі онтогенезу, зумовлюють інтенсивний розвиток мікробіоти в ризосфері [3]. Значний вплив на функціонування цілісної системи «рослини – мікроорганізми – ґрунт» в сучасних умовах аграрного виробництва відіграють агротехнічні заходи. Вони впливають на трофічні зв'язки різних потоків речовин і енергії, в т.ч. мікробні процеси трансформації вуглець-вмісних сполук, функціональну активність мікробіоти та напрям мікробіологічних процесів, що часто призводить до втрати цілісності системи та зміни закономірних процесів її функціонування [3, 6, 7, 9].

Незважаючи на важливість і різноманіття функцій ризосферних мікроорганізмів, даних про закономірності, які обумовлюють формування мікробного комплексу ризосфери буряка цукрового (однієї з стратегічних культур України) та особливості мікробних метаболічних процесів трансформації сполук вуглецю в ґрунті при застосуванні різних агрозаходів, і фактори їх управління ними, накопичено недостатньо. Тому дослідження даного питання має важливе теоретичне і практичне значення, вивчення якого дозволить поглибити знання про формування метагеному прокариот, трофічних зв'язків та функціонування мікробного комплексу вцілому за дії різних агрозаходів [3, 7]. Це дасть змогу, на основі отриманих теоретичних знань, збільшити продуктивність та зберегти гомеостаз агроєкосистем за рахунок науково обґрунтованого використання природного потенціалу мікробно-рослинних взаємодій.

© Ю.П. Москалевська, М.В. Патики, 2014

Мета статті – дослідити вплив систем землеробства та способів основного обробітку ґрунту на формування метагеному та функціонування мікробного комплексу, який обумовлює трофічні вуглецеві потоки в ризосфері буряка цукрового чорнозему типового.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження мікробіоти ризосфери буряка цукрового (*Beta vulgaris*) проводили на базі стаціонарного польового досліді кафедри землеробства та гербології ВП НУБіП України (Агрономічна дослідна станція) в зоні Лісостепу в зерно-буряковій 10-пільній сівозміні в період активної вегетації культури (фаза змикання листків у міжрядді) у 2012-2014 рр.

Схема досліді передбачала вивчення мікробного комплексу ґрунту за застосування 3 систем землеробства (СЗ) на фоні 2 способів основного обробітку ґрунту (ОГ), всього 6 варіантів досліді: 1) промислова СЗ (внесення на 1 га сівозмінної площі 300 кг NPK мінеральних добрив, 12 т гною, інтенсивне застосування хімічних заходів захисту рослин) + поверхневий ОГ (обробіток ґрунту дисковими знаряддями на глибину 8-10 см під усі культури сівозміни), контроль; 2) промислова СЗ + диференційований ОГ (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 150 кг NPK мінеральних добрив, 24 т органічних добрив, у т.ч. 12 т гною, 6 т нетоварної частини врожаю, 6 т маси поживних сидератів), застосування хімічних і біологічних препаратів захисту рослин за критерієм еколого-економічного порогу наявності шкідливих організмів) + поверхневий ОГ; 4) екологічна СЗ + диференційований ОГ; 5) біологічна СЗ (внесення 24 т органічних добрив, застосування біологічних засобів захисту рослин) + поверхневий ОГ; 6) біологічна СЗ + диференційований ОГ [8].

Філотипове різноманіття ґрунтового комплексу визначали молекулярно-біологічним методом піросеквенування [1,11]. Чисельність мікроорганізмів, які беруть участь у кругообігу основних вуглецевих сполук – за Звягінцевим [5], активність мікробних ферментів фенолоксидаз - за Галстяном в модифікації Чундереві [4], інвертаз – за Купревичем і Щербаковою [9]. Вміст загального вуглецю - методом Тюріна в модифікації Сімакова [2], лабільний вуглець – за Шульцом і Кершенсом [10], коефіцієнт гуміфікації – за Муромцевим [9]. Статистичну обробку результатів досліджень проводили в Ms Excel.

Результати дослідження. Аналіз метагеному мікробного комплексу чорнозему типового показав, що переважну більшість складають бактерії (25 філ - *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Armatimonadetes*, *BRC1*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Elusimicrobia*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *GAL15*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae*, *OP3*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *SR1*, *TM6*, *TM7*, *Verrucomicrobia*, *WS3*, *WS4*, *WYO*), меншу частку складала археї (2 філа – *Crenarchaeota* та *Euryarchaeota*). Домінуючими формами серед виявлених філ були *Proteobacteria* (65,7-83,6%) та *Actinobacteria* (9,3-20,5%). На рівні порядків було виявлено 154 таксони, 45 з яких належали до неідентифікованих послідовностей. На рівні порядків розподіл представників мікробного ценозу по варіантах досліду характеризувався головним чином зміною співвідношення основних бактеріальних таксонів. Серед них домінуючими були представники порядків: *Pseudomonadales* та *Burkholderiales*, субдомінуючими – *Rhodospirillales*, *Solirubrobacterales*, *Gaiellales*, *Acidimicrobiales*, *Nitrososphaerales* (рис. 1).

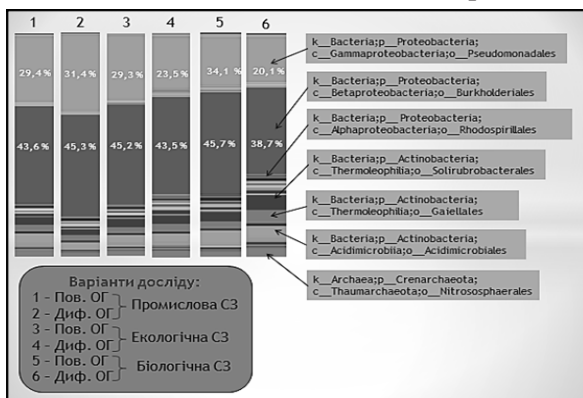


Рис. 1. Метагеном прокариотного комплексу чорнозему типового в ризосфері буряка цукрового, 2014 р.

Примітка: Пов. ОГ – поверхневий ОГ, Диф. ОГ - диференційований ОГ

Установлено, що видове біорізноманіття (на основі піросеквенування) за екологічним індексом Шеннона було високим і варіювало в межах 3,86-4,91. Найвищим показник був за застосування біологічної СЗ на фоні диференційованого ОГ (4,91), найнижчим – за промислової СЗ в поєднанні з диференційованим ОГ (3,86). При цьому рівень біорізноманіття зростав у напрямі від промислової до

біологічної СЗ. Це вказує на те, що внесення значної кількості мінеральних добрив призводить до спрощення трофічних зв'язків та зниження біорізноманіття мікробного комплексу ґрунту, а використання органічних добрив сприяє підтриманню та збереженню еколого-трофічних зв'язків і високої функціональної активності мікробіоти.

Чисельність мікроорганізмів, які визначають трофічні вуглецеві потоки в період активної вегетації буряку цукрового варіювала залежно від дози, виду внесених добрив, засобів захисту рослин та способу основного обробітку ґрунту (рис. 2).

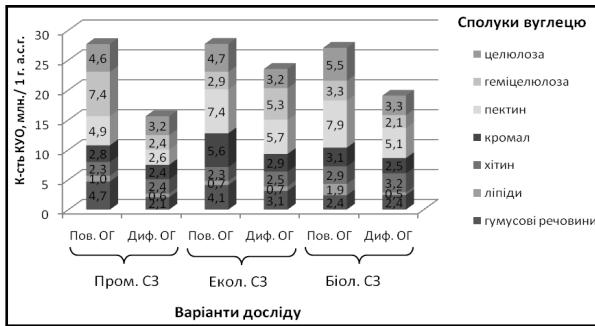


Рис. 2. Чисельність мікроорганізмів ризосфери буряка цукрового, які визначають трофічні вуглецеві потоки в ґрунті, 2012-2013 рр.

Примітка: Пов. ОГ – поверхневий ОГ, Диф. ОГ - диференційований ОГ, Пром. СЗ – промислова СЗ, Екол. СЗ – екологічна СЗ, Біол. СЗ – біологічна СЗ

Так, кількість мікроорганізмів, які трансформують целюлозу становила 3,2-5,5 млн КУО/ 1 г а.с.г. Застосування біологічної СЗ на фоні поверхневого ОГ сприяє зростанню їх кількості до 5,5 млн, а промислової СЗ на фоні диференційованого ОГ, навпаки, зниженню до 3,2 млн. Чисельність мікробіоти, яка використовує в якості субстрату геміцелюлозу варіювала в межах 2,1-7,4 млн. Установлено, що, крім бактерій, значну роль в перетворенні геміцелюлози відіграють стрептоміцети, частка яких серед виявлених мікроорганізмів становила 36,1-59,7%. За застосування промислової СЗ в поєднанні з поверхневим ОГ інтенсивність трансформації геміцелюлози є найвищою.

Серед пектин-трансформуючої мікробіоти, чисельність якої була найбільшою - 2,6-7,9 млн, основну частку займали бактерії (71,3-

85,5 %), значно меншу – стрептоміцети (8,5-16,4 %) і мікроміцети (3,2-16,7 %). Кількість мікроорганізмів, що беруть участь у кругообігу крохмалю варіювала в межах 2,4-5,6 млн. Застосування екологічної СЗ, за рахунок оптимізації органо-мінерального удобрення, сприяє в більшій мірі активізації діяльності пектин та крохмаль трансформуючої мікрофлори, порівняно з екологічною та промисловою СЗ. Чисельність мікроорганізмів, які перетворюють хітин та ліпіди була дещо меншою і становила 2,3-2,9 млн та 0,5-1,9 млн відповідно. Застосування біологічної СЗ, що передбачає лише внесення органіки, сприяло оптимізації функціонування хітин- та ліпід-трансформуючих мікроорганізмів за рахунок збільшення їх числа на 26,2-69,8 %, порівняно з іншими системами землеробства. Кількість мікроорганізмів, що беруть участь у кругообігу гумусових речовин, варіювала в межах 2,1-4,7 млн. За застосування екологічної СЗ кількісний склад мікробіоти, що перетворює гумусові сполуки зростає на 7,5-50,0 %, ніж за решти СЗ. Установлено, що застосування поверхневого ОГ завдяки локалізації рослинних решток у верхньому кореневмісному шарі сприяє активізації функціонування мікробіоти, що трансформує целюлозу, геміцелюлозу, пектин, крохмаль, ліпіди та гумусові речовини на 46,1-96,0 % порівняно з диференційованим ОГ.

Установлено, що вміст органічного вуглецю, який накопичується в ґрунті в процесі життєдіяльності складових агроєкосистем, становив 2,67-2,87 %. Вміст лабільного вуглецю, доступного для ґрунтових мікроорганізмів, варіював у межах 257,04-303,95 мг/кг (табл. 1). Виявлений тісний кореляційний зв'язок ($r = 0,95$) між показниками вказує на їх високу взаємозалежність. Установлено, що застосування біологічної СЗ сприяє зростанню запасів органічного та лабільного вуглецю на 1,1-5,1 %, порівняно з промисловою та екологічною СЗ, а використання поверхневого ОГ сприяє збереженню запасів вуглецю (лабільного і органічного) у верхньому шарі ґрунту на 4,6-10,0 % більше ніж за диференційованого ОГ.

Таблиця 1. Вміст органічного і лабільного вуглецю в чорноземі типовому залежно від агрозаходів, 2012-2013 рр.

Вміст вуглецю	Варіант дослідю					
	Промислова СЗ		Екологічна СЗ		Біологічна СЗ	
	пов. ОГ	диф. ОГ	пов. ОГ	диф. ОГ	пов. ОГ	диф. ОГ
Сорг., %	2,87	2,67	2,81	2,71	2,84	2,76
Слаб. мг/кг	303,95	257,04	277,17	258,36	288,03	274,61

Каталіз гідролітичного розкладу вуглецевмісних речовин ароматичного ряду з перетворенням їх на гумусні сполуки відображає рівень ферментативної інвертазної активності ґрунту, який варіював у межах 11,7-18,1 мг глюкози/1 г/24 год. Варіанти дослідів, в яких застосовували екологічну та біологічну СЗ на фоні диференційованого ОГ, характеризувались слабкою мікробною активністю ферменту, решта варіантів – середньою (рис. 3). Застосування поверхневого ОГ сприяло зростанню активності інвертази на 25,2 % порівняно з диференційованим ОГ.

Серед ферментів, які характеризують спрямованість ґрунтових мікробних процесів, пов'язаних з трофічними вуглецевими потоками, виявляли також активність фенолоксидаз. Установлено, що показники активності поліфенолоксидази варіювали в межах 0,91-1,29 мг пурпургаліна/1 г ґрунту, пероксидази - 0,79-1,01 мг

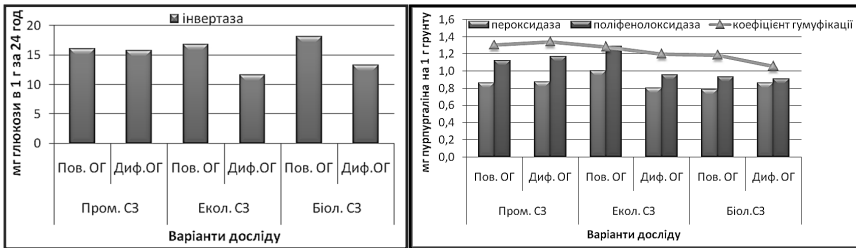


Рис. 3. Ферментативна активність ґрунтової мікрофлори та коефіцієнт гуміфікації в ризосфері буряка цукрового, 2012-2013 рр.

Примітка: Пов. ОГ – поверхневий ОГ, Диф. ОГ - диференційований ОГ, Пром. СЗ – промислова СЗ, Екол. СЗ – екологічна СЗ, Біол. СЗ – біологічна СЗ

Застосування поверхневого ОГ сприяє зростанню мікробної активності фенолоксидаз на 4,8-10,2 %, при цьому найвища їх активність виявлена за застосування екологічної СЗ на фоні поверхневого ОГ (1,29 мг – поліфенолоксидази, 1,01 мг – пероксидази). Відповідно до мікробної активності, коефіцієнт гуміфікації ($k_r = 1,05-1,34$) свідчить про переважання процесів синтезу над мінералізацією органіки (рис. 3).

Висновки. Таким чином, застосування агротехнічних заходів обумовлює структурно-функціональне формування метагеному прокаріот та направленість трофічних вуглецевих мікробних потоків

у ґрунті. Поверхневий обробіток чорнозему типового, на відміну від диференційованого, сприяє функціональній активності мікробіоти в середовищі ризосфери, яка трансформує основні фотосинтезовані вуглець-вмісні сполуки корневих ексудатів, і саме з ними пов’язана ферментативна активність та баланс цих сполук в ґрунті. Також внесення вуглець-вмісних органічних добрив обумовлює високий рівень мікробного біорізноманіття, активізацію складних мікробних процесів трансформації сполук вуглецю, що сприяє покращенню екологічного стану та створює умови для гомеостатичного формування агроєкосистем в цілому.

1. Андронов Е.Е. *Научно-методические рекомендации по выделению высокоочищенных препаратов ДНК из объектов окружающей среды [Текст]* / Е.Е. Андронов. – СПб, ГНУ ВНИИСХМ, 2011. – 27 с.
2. *Агрохімічний аналіз [Текст]* / М.М. Городній, А.В. Бикін, А.Г. Сердюк [та ін.]. – К.: Арістей, 2007. – 624 с.
3. Кравченко Л.М. *Роль корневых экзометаболитов в интеграции микроорганизмов с растениями [Текст]: автореф... дис. д-ра. биол. наук: 03.00.07.* – Санкт-Петербург, 2000. – 51 с.
4. *Методические указания по проведению исследований в длительных опытах с удобрениями. (Методика проведения опытов и анализ почв) [Текст].* / Под общ. ред. акад. ВАСХНИЛ В.Д. Ванникова. Ч. 1. – М., 1975. – 151 с.
5. *Методы почвенной микробиологии и биохимии [Текст]: Учеб. пособие / Под ред. Д.Г. Звягинцева.* – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.
6. Патица М.В. *Мікробіологічні основи підвищення родючості підзолистих і дерново-підзолистих ґрунтів [Текст]: автореф. дис. д-ра. с.-г. наук: 03.00.07.* – Умань, 2009. – 36 с.
7. Патыка Н.В. *Микроорганизмы почвы: структура и функциональное разнообразие [Текст]* / Н.В. Патыка, Ю.В. Круглов, Е.Н. Шейн, В. Ф. Патыка // *Агрохімія і ґрунтознавство. Спец. випуск до IX з’їзду Укр. товариства ґрунтознавців та агрохіміків: Охорона ґрунтів – основа сталого розвитку. Книга третя. Охорона ґрунтів від ерозії і техногенного забруднення, рукультивация, агрохімія, біологія ґрунтів.* – 2014. – С. 312-313
8. Танчик С.П. *Екологічна система землеробства в Лісостепу України. Методичні рекомендації для впровадження у виробництво [Текст]* / С.П. Танчик, О.А. Демідов, Ю.П. Манько. – К.: НУБІП України, 2011. – 39 с.
9. Титова В.И. *Методы оценки функционирования микробценоза почвы, участвующего в трансформации органического вещества: Научно-методическое пособие [Текст]* / В.И. Титова, А.В. Козлов. – Нижний Новгород: Нижегородская с.-х. академия, 2012. – 64 с.

10. Шульц Э. Характеристика разлагаемой части органического вещества почвы и ее трансформации при помощи экстракции горячей водой [Текст] / Э. Шульц, М. Кершес // Почвоведение. – 1998. – № 7. – С. 890-894.

11. Sequencing Method Manual for GS Junior Titanium Series [Текст] / Method Manual. – 454 Life Sciences Corp., A Roche Company Branford, 2012 – 26 p.

Представлено результати досліджень з вивчення впливу агрозаходів на мікробний комплекс ризосфери буряку цукрового. Встановлено, що застосування різних агрозаходів впливає на метагеном і функціональну структуру мікробного ценозу, який бере участь в перетворенні вуглецевих сполук, активність ферментів та вміст вуглецю в ґрунті.

Ключові слова: метагеном прокаріот, чорнозем типовий, ризосфера, буряк цукровий, вуглець, ферменти, агроценоз

Представлены результаты исследований по изучению влияния агроприёмов на микробный комплекс ризосферы свеклы сахарной. Установлено, что применение различных агроприёмов влияет на метагеном и функциональную структуру микробного ценоза, участвующего в преобразовании углеродных соединений, активность ферментов и содержание углерода в почве.

Ключевые слова: метагеном прокариот, чернозем типичный, ризосфера, сахарная свекла, углерод, ферменты, агроценоз

It is shown the results of studies of effect the agrarian measures on the microbial complex of sugar beet rhizosphere. It is established that the use of different agrarian measures effect on the metagenome and functional structure of microbial coenosis, which is involved in the conversion of carbon compounds, enzymes activity and carbon content of the soil.

Keywords: metagenome of procaryote, chernozem typical, rhizosphere, sugar beet, carbon, enzymes, agrocenoses