

УДК 631. 559; 633.15

ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА БАКТЕРИЙ И МИКРОМИЦЕТОВ В РИЗОСФЕРЕ *ZEA MAYS* В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ОПЫТА

Надежда Владимировна Верховцева¹,

Анна Александровна Романычева² Александр Федорович Стулин³

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, ф-т почвоведения
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 12*

*Ярославский государственный медицинский университет
150000, Ярославль, Революционная, д. 5*

*Воронежский филиал ГНУ ВНИИ кукурузы Россельхозакадемии
396835, Воронежская обл., Хохольский р-н, пос. Опытной станции ВНИИК, ул. Чайнова, д. 13*

¹ – д. б. н., проф. каф. агрохимии и биохимии растений ф-та почвоведения МГУ, e-mail: verh48@list.ru

² – к. б. н., ст. преподаватель каф. микробиологии ЯГМУ, e-mail: kai-ren@yandex.ru

³ – к. с.-х. н., в. н. с. ВНИИ кукурузы; e-mail: opytное@mail.ru

Рассмотрены изменения микробоценоза (численности бактерий и биомассы микоризных микромицетов) в ризосферной зоне кукурузы, которая длительно возделывалась на черноземе в монокультуре и в севообороте при применении минеральных удобрений. Для диагностики микроорганизмов использовали молекулярный метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии по биомаркерам – жирно-кислотному составу мембранных структур клеток. Показано, что в контрольном варианте (без применения удобрений) численность бактерий и биомасса микоризных грибов в ризосферной зоне кукурузы была выше в осенний период по сравнению с весенним, как в монокультуре, так и в севообороте. В вариантах с внесением N60 увеличение количества бактерий в ризосферной зоне кукурузы в осенний период наблюдалось в благоприятный по погодным условиям год, а биомассы микоризных грибов – как при благоприятных условиях, так и при засухе.

Ключевые слова: чернозем выщелоченный (*Chernozems Luvic Pachic*), биомаркеры, газовая хроматография – масс-спектрометрия, ризосфера, кукуруза, бактерии, микоризные грибы.

Известно, что сельскохозяйственная культура, выращиваемая в монокультуре и севообороте, оказывает различное влияние на микробное сообщество агроценоза [1–3]. При монокультуре отмечен негативный эффект на микробиоту [2, 4], а применение севооборота способствует увеличению численности и разнообразия почвенных микроорганизмов. Кукуруза по своим биологическим особенностям наиболее устойчива к возделыванию в бессменных посевах [1].

Целью данной работы было рассмотреть изменение микробоценоза ризосферы кукурузы при длительном выращивании в монокультуре и в севообороте в начале и в конце вегетации, а также в зависимости от метеорологических условий и применения минеральных удобрений.

Методика. Исследования проводили на многолетнем опыте Воронежского филиала Всероссийского научно-исследовательского института кукурузы (ВНИИК) (Воронежская область, Хохольский р-н, (51°36'28.8" с.ш. 38°58'9.54" в.д.) в 2012 и 2013 гг. Кукурузу возделывали в монокультуре (с 1960 г.) и в 10-польном севообороте (с 1967 г.). Почва – чернозем выщелоченный (*Chernozems Luvic Pachic*), с содержанием в пахотном слое гумуса 5,4%, общего азота 0,20%, фосфора 0,15%, калия 2,0%. Варианты опыта:

I – без удобрений (контроль); II – N60, III – N60 P60, IV – N60 P60 K60, V – N120 P60 K60. Пробы почвы отбирали из пахотного слоя (0–20 см) весной (май, фаза 5 листьев кукурузы) и осенью (начало сентября, перед уборкой урожая) в ризосфере (на расстоянии 2–5 см от корней). Пробы высушивали при комнатной температуре и хранили при температуре +6°C. Численность бактерий и биомассу арбускулярно-микоризных (АМ) грибов определяли методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС) на приборе HP-5973 Agilent Technologies (США) по специфическим биомаркерам микроорганизмов – высшим жирным кислотам, оксикислотам и альдегидам. Подробно методика анализа приведена в публикациях [5, 6]. Количество бактерий пересчитывали в число клеток / г почвы, а микромицетов – в мкг/г, т.к. биомассу грибов анализировали без разделения на клетки мицелия и споры.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программ MS Excel 2003 и Statistica 10. На рисунках представлены средние значения и стандартные отклонения вариантов опыта.

Результаты и обсуждение. Численность бактерий в ризосферной почве изученных вариантов

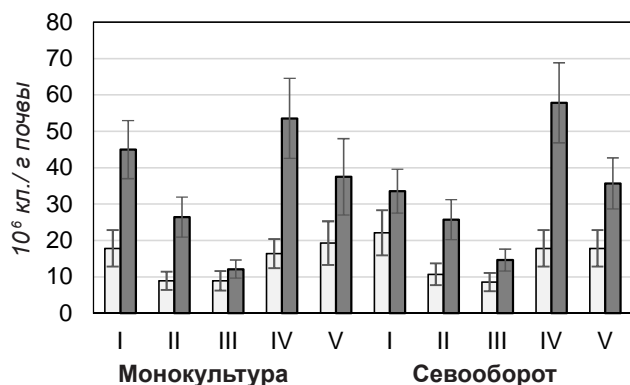


Рис. 1. Численность бактерий в ризосфере кукурузы, 2012 г.

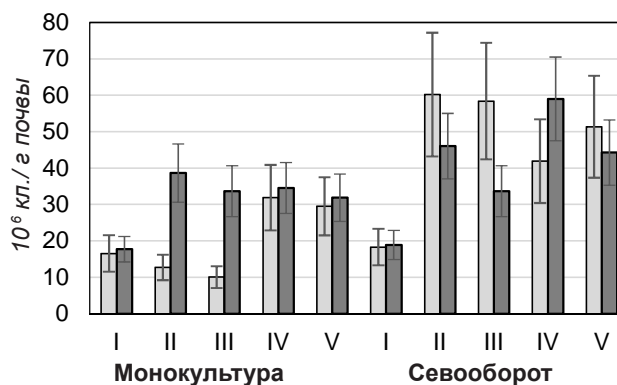


Рис. 2. Численность бактерий в ризосфере кукурузы, 2013 г.

опыта была характерной для чернозема выщелоченного – 10^7 – 10^8 клеток/г почвы. Биомасса АМ грибов достигала 195 мкг/г почвы.

По метеорологическим условиям годы наблюдений значительно различались: 2012 г. был благоприятным по количеству осадков и температурному режиму и характеризовался гидротермическим коэффициентом ГТК = 1,37; 2013 г. был засушливым (ГТК = 0,81).

В начале вегетационного периода 2012 г. численность бактерий в ризосферной почве контрольного варианта была в 2,5 раз меньше по сравнению с почвой этой же локализации в сентябре после уборки урожая на участке выращивания монокультуры, и в 1,7 раза меньше – на севооборотном участке (рис. 1). В 2013 г. в вариантах без удобрений численности бактерий в ризосферной зоне в весенний и осенний период практически не различалась (рис. 2). В то же время биомассы АМ-грибов в весенний и осенний периоды вегетации в контрольных вариантах без удобрений различались существенно: в 2012 г. в ризосфере контрольного варианта на участке монокультуры различия достигли наибольшей величины – 20 раз (рис. 3); в 2013 г. в осенний период наблюдалось меньшее, хотя и значимое увеличение биомассы грибов – в 4 и 1,6 раза (рис. 4).

Таким образом, как численность бактерий, так и биомасса АМ грибов в ризосфере кукурузы в контрольных вариантах без удобрений изменялась в зависимости от года исследования, что послужило основой для рассмотрения связи сезонной динамики этих показателей состояния микробценоза почвы с метеорологическими условиями экспериментальных лет и применением минеральных удобрений.

В благоприятном 2012 г. различия в численности бактерий между монокультурой и севооборотом, как в начале вегетационного периода, так и в конце, во всех вариантах опыта с применением удобрений были незначительны (рис. 1). В засушливом 2013 г. в мае численность бактерий во всех вариантах с удобрениями на севооборотном участке была в 1,2–6 раз выше, чем в монокультуре

ре (рис. 2). В сентябре этого года данная тенденция сохранилась только для вариантов с полным минеральным удобрением, но это увеличение было менее выражено – численность бактерий в севообороте была только в 1,3–1,4 раза выше, чем в монокультуре.

Сезонная динамика численности бактерий в ризосфере при применении различных сочетаний минеральных удобрений в годы наблюдений также существенно различалась. В вариантах опыта с внесением полного минерального удобрения в дозе N60P60K60 к концу вегетационного периода в 2012 г. численность бактерий увеличилась почти в 3 раза, как в монокультуре, так и в севообороте (рис. 1). В 2013 г. некоторое возрастание численности бактерий в осенний период сохранялось только на участке монокультуры; на севооборотном участке в варианте с полным минеральным удобрением (N60P60K60) численность бактерий не увеличилась, и во всех вариантах опыта с несбалансированным внесением удобрений (N60, N60P60, N120P60K60) наблюдалась тенденция уменьшения этого показателя в осенний период (рис. 2).

Увеличение биомассы АМ-грибов в сентябре 2013 г. наблюдалось в вариантах с удобрениями по сравнению с контролем при всех сочетаниях доз удобрений, за исключением варианта с повышенной дозой азота (N120P60K60) (рис. 3, 4).

Наибольшая биомасса АМ-грибов в осенний период наблюдалась в вариантах опыта с применением N60P60K60 в 2012 г., при этом увеличение биомассы по сравнению с маем в этих вариантах также было очень сильно выражено и составило в монокультуре почти 20 раз, в севообороте – 17 раз (рис. 3).

Более низкая численность бактерий в ризосфере в весенний период по сравнению с осенним связана, вероятно, с невысоким количеством и качеством корневых экссудатов, поставляемых корневой системой молодых растений. В конце вегетации существенное увеличение численности бактерий в ризосфере можно объяснить поступлением в почву значительного объема корневых экссудатов и растительных остатков круп-

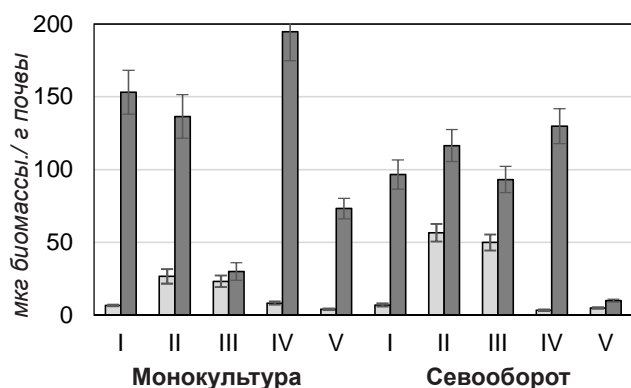


Рис. 3. Биомасса АМ-грибов в ризосфере кукурузы, 2012 г.

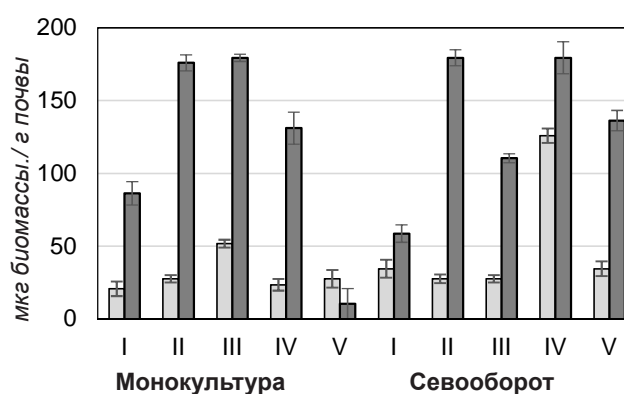


Рис. 4. Биомасса АМ-грибов в ризосфере кукурузы, 2013 г.

ных растений кукурузы – разнообразных питательных субстратов для бактерий. По данным опытной станции ВНИИК [7] на неудобренном фоне масса растительных остатков, ежегодно поступающих в почву, была в среднем 18 ц/га, что составляет около 10% ее зеленой массы.

Существенное увеличение биомассы микоризных грибов в ризосфере в осенний период по сравнению с весенним также, по-видимому, связано со значительным возрастанием массы корней кукурузы в процессе вегетации, а как показано [8], эта культура характеризуется высокоэффективным микоризообразованием.

Заключение. Численность бактерий в ризосферной зоне кукурузы была выше в осенний период по сравнению с весенним в благоприятный по погодным условиям год. В неблагоприятный год увеличение численности было менее выражено, а при выращивании растений на севооборотном участке и при применении несбалансированных доз удобрений численность бактерий в осенний период уменьшалась.

Биомасса АМ-грибов в ризосфере была значительно выше в осенний период по сравнению с весенним в оба года во всех вариантах опыта с внесением азотных удобрений в дозе 60 кг/га и в контрольном варианте опыта.

Литература:

1. Иутинская Г.А., Пономаренко С.П., Андреюк Е.И. Биорегуляция микробно-растительных систем. – К.: НЦЛАВА, 2010. – 472 с.
2. Назарько М.Д., Лобанов В.Г., Щербаков В.Г. Биохимические и микробиологические аспекты окультуривания почв в зональных системах земледелия Краснодарского края. – Краснодар: Изд-во Куб ГТУ, 2006. – 214 с.
3. Fuchs J.G., Thueriga B., Brandhuber R., Brunsd C., Finckhd M.R., Fließbacha A. Evaluation of the causes of legume yield depression syndrome using an improved diagnostic tool // Applied Soil Ecology. – 2014. – № 79. – P. 26–36.
4. Narwal S.S., Palaniraj R., Sati S.C. Role of allelopathy in crop production // Herbologia. – 2005. – Vol. 6. № 2. – P. 1–66.
5. Верховцева Н.В., Осипов Г.А. Метод газовой хроматографии–масс-спектрометрии в изучении микробных сообществ почв агроценоза // Проблемы агрохимии и экологии. – 2008. – № 1. – С. 51–54.
6. Осипов Г.А. Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов // Пат. РФ №2086642 от 10.08.1997. – 12 с.
7. Стулин А.Ф. Влияние длительного применения удобрений в бессменном посеве кукурузы на ее продуктивность и вынос элементов питания на черноземе выщелоченном // Агрохимия. – 2007. – № 1. – С. 25–30.
8. Theuri S., Buscot F. Laccases: toward disentangling their diversity and functions in relation to soil organic matter cycling // Biol. and Fert. of Soils. – 2010. – № 46. – P. 215–226.

Verkhovtseva N.V., Romanycheva A.A., Stulin A.F.

CHANGE IN THE QUANTITY OF BACTERIA AND FUNGI IN ZEA MAYS RHIZOSPHERE IN CONDITIONS OF LONG-TERM EXPERIMENT

Changes in the microbocenosis (the number of bacteria and biomass of mycorrhizal micromycetes) in the rhizosphere zone of the arable layer of corn on leached chernozem, which has been cultivated for a long time in monoculture and in crop rotation with the use of mineral fertilizers, are considered. The molecular method of gas chromatography–mass spectrometry by biomarkers – fatty acid composition of cell membrane structures was used for the diagnosis of microorganisms. It is shown that the number of bacteria and mycorrhizal fungi in the corn rhizosphere zone was lower in the spring period compared to the autumn one in the control variant without fertilizers application, both in monoculture and in crop rotation. In the variants with the N60 application the increase in the number of bacteria in the rhizosphere zone of maize in the autumn were observed in the year with favourable weather conditions, and biomass of mycorrhizal fungi increased in the autumn both at favorable conditions and drought.

Keywords: the leached Chernozem (Luvic Chernozems Pachic), biomarkers, gas chromatography – mass spectrometry, rhizosphere, maize, bacteria, mycorrhizal fungi.