

# ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО ПОД ПОСЕВАМИ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ

А.А. Романычева<sup>1</sup>, А.Ф. Стулин<sup>2</sup>, к.с.-х. н., Н.В. Верховцева<sup>1</sup>, д.б.н.

<sup>1</sup>Московский государственный университета имени М.В. Ломоносова,

<sup>2</sup>Воронежский филиал ГНУ ВНИИ кукурузы Россельхозакадемии

Исследовано методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии микробное сообщество чернозема выщелоченного при возделывании кукурузы в монокультуре и севообороте. Показаны сближение агрохимических свойств и перестройка микробных сообществ вариантов опыта, находящихся под влиянием полного минерального удобрения.

**Ключевые слова:** кукуруза, минеральные удобрения, чернозем выщелоченный, микробное сообщество.

По биологическим особенностям кукуруза относится к культурам, устойчивым к бессменному возделыванию, поэтому во многих странах полагают, что монокультура кукурузы экономически более выгодна, чем система севооборотов, так как не требует значительных трудозатрат. Однако это вызывает возражения со стороны фундаментальной науки относительно снижения плодородия и качества почвы [6]. Тем не менее, имеются данные стационарного полевого опыта Воронежского филиала ВНИИ по ведению монокультуры кукурузы с 1960 г. без снижения урожайности [4], и высокой устойчивости органического вещества чернозема выщелоченного в данном опыте [1]. Наряду с продуктивностью и свойствами почвы, показателем устойчивости агроценоза является видовое разнообразие микробиоценоза. Способность кукурузы длительное время сохранять свою продуктивность в монокультуре связывали со значительной ролью арбускулярной микоризы и специфическим микробным сообществом [5].

Цель нашей работы – оценить влияние длительного применения удобрений на структуру микробного сообщества чернозема выщелоченного при длительном возделывании кукурузы в монокультуре и севообороте и определить роль микробиоценоза в поддержании устойчивости агроценоза.

**Методика.** Объектом исследования был чернозем выщелоченный. Почвенные образцы А<sub>пах</sub> 0–20 см отбирали в междурядьях и в ризосфере весной (май) и осенью (сентябрь) со стационарного полевого опыта Воронежского филиала ВНИИ кукурузы, который был заложен в 1960 г. и зарегистрирован в реестре аттестатов длительных опытов Геосети ВНИИА имени Д.Н. Прянишникова. Средние за вегетацию агрохимические показатели и схема опыта представлены в таблице.

Агрохимические показатели чернозема выщелоченного

Вариант опыта	C <sub>орг</sub> %	N <sub>общ</sub> %	pH <sub>KCl</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> мг/100 г почвы	K <sub>2</sub> O мг/100 г почвы	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> мг/100 г почвы	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> мг/100 г почвы
<i>Кукуруза-монокультура</i>							
Контроль	3,5	0,2	5,3	6,1	4,3	2,1	0,2
N <sub>60</sub>	3,3	0,2	5,4	6,0	4,5	3,5	0,3
N <sub>60</sub> P <sub>60</sub>	3,3	0,2	5,4	9,3	4,0	4,3	0,4
N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	3,5	0,3	5,1	9,2	6,3	3,0	0,3
N <sub>120</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	3,1	0,2	5,5	9,3	6,3	2,7	0,5
<i>Кукуруза-севооборот</i>							
Контроль	3,5	0,3	5,3	6,0	4,6	2,8	0,3
N <sub>60</sub>	3,6	0,3	5,6	5,8	4,5	3,1	0,4
N <sub>60</sub> P <sub>60</sub>	3,5	0,3	5,6	9,5	4,3	3,8	0,4
N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	3,5	0,3	5,3	9,4	6,9	3,6	0,5
N <sub>120</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	3,3	0,3	5,5	9	6,7	3,2	0,5
<i>Черный пар</i>							
	3,2	0,2	5,3	6,9	5,5	2,1	0,2
HCP <sub>0,05</sub>	0,2	0,02	0,3	2,0	2,0	0,7	0,05

Исследования проводили с почвой в посевах кукурузы в монокультуре (в 2011–2012 гг.); в 10-польном севообороте со структурой 50% зерновых, 40% кормовых и 10% технических культур (2012 г.) и в парующем участке защитной полосы (2011–2012 гг.).

Содержание углерода и азота устанавливали на экспресс-анализаторе CHNS analyzer, VARIO III-EL. Агрохимические показатели определяли в соответствии с ГОСТ 26483–85, ГОСТ 26951–86, ГОСТ 26204–91. Состав микробного сообщества реконструировали по микробным маркерам (жирным кислотам, гидрокси-кислотам и альдегидам), которые определяли после кислотного метанолиза почвенных образцов молекулярным методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС). Анализ проводили на ГХ-МС системе HP-5973 Agilent Technologies (США) [2]. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программ MS Excel 2003 и Statistica 10.

**Результаты и их обсуждение.** Агрохимические свойства исследуемого чернозема выщелоченного почти по всем изученным параметрам соответствуют своим типовым характеристикам. Эта почва находится в условиях интенсивного сельскохозяйственного использования [3]. Обеспеченность растений подвижным калием и фосфором средняя, азотом низкая для всех вариантов (под черным паром, в монокультуре и в севообороте). Невысокое содержание NH<sub>4</sub><sup>+</sup> и NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, особенно в конце вегетационного периода, является, вероятно, следствием значительного их расхода на микробную иммобилизацию и потребление растениями, а также вымывания в более глубокие почвенные горизонты [3].

В бессменном посеве кукурузы и в севообороте внесение удобрений вызвало заметное увеличение содержания в почве подвижных форм азота, фосфора и калия. Причем это влияние было наибольшим в фазе 5-го листа кукурузы (май), а перед уборкой урожая (сентябрь) различия по вариантам опыта уменьшились. Это, по-видимому, связано с более интенсивным потреблением питательных веществ более крупными растениями кукурузы на удобренных вариантах. Содержание общего углерода и азота в почве участков различалось незначительно. Величина обменной кислотности свидетельствует о слабокислой среде для почв, находящихся в условиях интенсивного сельскохозяйственного использования (см. табл.).

Общая численность микроорганизмов во всех вариантах опыта, как в почве под монокультурой, так и в севообороте, была достаточно высокой (10<sup>7</sup>–10<sup>8</sup> клеток/г почвы). К концу вегетации в ризосфере численность их увеличилась во всех вариантах (в 1,5–2 раза), достигнув наибольших величин в вариантах с внесением N<sub>60</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub>.

Сообщество микроорганизмов чернозема в весенний и осенний периоды представлено, соответственно, 48 и 47 бактериальными видами, 35 родами, относящимися к пяти филумам – *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*. В основном это представители филума *Actinobacteria* (примерно 60 %). В мае 17 одних и тех же видов присутствовали во всех вариантах опыта, в сентябре их количество увеличилось до 33. Доминирующими видами (>10%) во всех вариантах опыта на протяжении всего вегетационного периода в 2011–2012 гг. были *Mycobacterium* spp. и *Propionibacterium* spp., относящиеся к филуму *Actinobacteria*.

(рис.). Микобактерии – хемоорганотрофные аэробные бактерии, типичные компоненты почвы и ризосферы, способны легко разлагать разнообразные углеродсодержащие соединения, поставлять исходные органические субстраты для мета-

болизма анаэробных пропионовых бактерий. Виды *Propionibacterium* могут разлагать эти субстраты, а также гибко перестраивать свой метаболизм и использовать автотонное органическое вещество почвы.

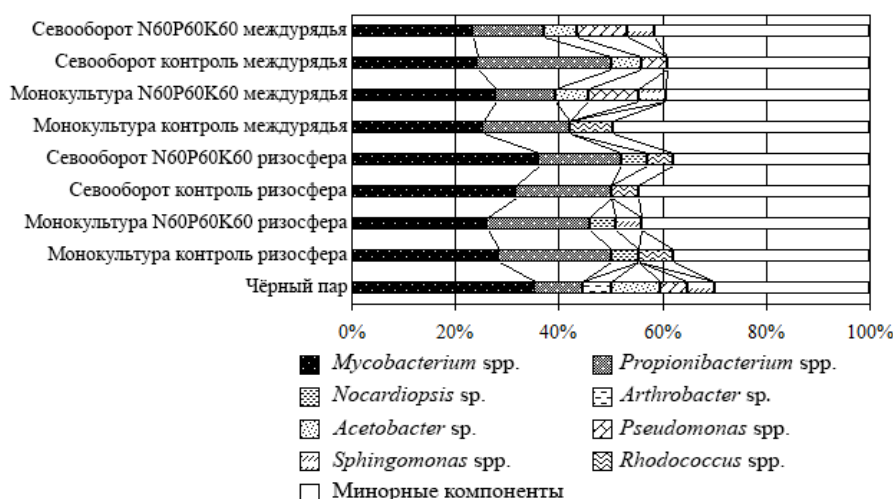


Рис. Структура микробных сообществ по данным ГХ-МС (сентябрь)

В филуме *Proteobacterium* возрастает численность аэробных микроорганизмов рода *Nocardioopsis* sp., которые могут использовать в качестве источников углерода и энергии различные соединения, в том числе сложные полисахариды. Получили значительное развитие аэробные виды родов *Pseudomonas* spp., *Sphingomonas* spp. и ассоциативный азотфиксатор *Acetobacter* sp. Бактерии семейства *Pseudomonadaceae* принимают активное участие в разложении белков, способны лимитировать рост патогенных микроорганизмов и грибов. В филуме *Actinobacteria* отмечены аэробные бактерии рода *Arthrobacter* sp., способные к деградации сложных углеводов. Присутствовали виды *Rhodococcus* spp. – активные аэробные гидролитики.

Оценка относительного сходства вариантов опыта по агрохимическим и микробиологическим показателям методом кластерного анализа показала сближение участков, находящихся под влиянием полного минерального удобрения. В начале вегетации NPK выступает мощным регулирующим фактором структуры микробиоценоза почвы, тогда как влияние растительных экссудатов еще незначительно.

В ризосферных образцах еще не сформировались устойчивые эколого-трофические связи в микробных сообществах, велико количество субдоминантных популяций микроорганизмов (до 5 групп), доля каждой из них до 10%. На фоне внесения  $N_{60}P_{60}K_{60}$  в мае происходила перестройка микробных сообществ, сопровождающаяся снижением их общей численности. Увеличивалась до 35% доля микобактерий, активно гидролизующих субстрат, они вытесняли из состава сообщества других аэробных гидролитиков. До 15% сообщества составляли анаэробные пропионовые бактерии. В сентябре в почве окончательно сложилась специфическая устойчивая аэробно-анаэробная ассоциация во всех вариантах опыта *Mycobacterium* spp. (их доля 26%) – *Propionibacterium* spp. (до 20%) (см. рис.). В этих условиях вторым регулирующим фактором микробного сообщества почвы становятся экссудаты мощных корневых систем кукурузы и растительные остатки.

**Заключение.** Впервые в условиях Центрально-Черноземной зоны исследована структура и специфика функционирования микробного сообщества в длительных посевах монокультуры кукурузы (более 50 лет) молекулярным мето-

дом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС). Это позволило идентифицировать 48 и 47 бактериальных видов соответственно в весенний и осенний периоды, относящихся к 35 родам. Под посевами кукурузы при длительном применении минеральных удобрений (в монокультуре и в севообороте) сложился устойчивый микробный комплекс, доминирующей основой которого являются аэробно-анаэробная ассоциация *Mycobacterium* spp. – *Propionibacterium* spp. (филум *Actinobacteria* – активные гидролитики) и разнообразный ценоз микроорганизмов. Благодаря трофическим взаимосвязям отдельных групп в сообществе и сбалансированности соотношения аэробов и анаэробов, обеспечивается поддержание гомеостатического состояния агроценоза в отношении органического вещества, которое анаэробные виды не минерализуют до конечных продуктов, т.е. не происходит его разрушения.

В начале вегетации (в мае) полное минеральное удобрение выступает как основной регулирующий фактор структуры микробного сообщества почвы, а в конце вегетации (сентябрь) наблюдается существенное влияние экссудатов растения и целлюлозы растительных остатков.

#### Литература

1. Ларионова, А. А. Распределение стабильных изотопов углерода в агрочерноземе при смене растительности с СЗ типом фотосинтеза на монокультуру кукурузы. / А.А. Ларионова [и др.] // Почвоведение. – № 8. – 2012. – С. 863-874.
2. Осипов, Г.А., Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов / Г.А. Осипов // Патент на изобретение №2086642 от 10.08.1997. – 12 с.
3. Практикум по агрохимии / Под ред. В.Г. Минеева – М.: Изд-во МГУ, 2001. – 200 с.
4. Стулин, А.Ф., Влияние 20-летнего интенсивного применения удобрений на агрохимические свойства чернозема / А.Ф. Стулин, Б.Н. Золотарева // Агрохимия. – №7. – 1988. – С. 31 – 38.
5. Sasvári, Z., The community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of maize grown in a 50-year monoculture Z. Sasvári, L. Hornok, K. Posta // [Biology and Fertility of Soils](#). – 47. – 2011. – p. 167–176.
6. Vyn, Tony J., Making the best of corn-corn monoculture in the Eastern Corn-Belt / Tony J. Vyn // Indiana Crop Adviser Conference. Indianapolis, IN. – 2006. – 19-20th December. – p. 1 – 5.

#### CHANGES OF MICROBIAL COMMUNITIES IN LEACHED CHERNOZEM OF CORN PLANTATION UNDER LONG-TERM MINERAL FERTILIZATION

A.A. Romanycheva<sup>1</sup>, A.F. Stulin<sup>2</sup>, N.V. Verkhovtseva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Soil Science, Moscow State University, GSP-2, Moscow, Leninskie Gory 1, 119991 Russia, E-mail: kai-ren@yandex.ru

<sup>2</sup>Voronezh Branch, All-Russian Research Institute of Corn, Russian Academy of Agricultural Sciences,  
ul. Chayanova 13, Khokhol'skii raion, Voronezh oblast, 396835 Russia

*The microbial community of leached chernozem under corn cultivated in a crop rotation and as a monoculture has been studied by gas chromatography-mass-spectrometry. Convergence of agrochemical properties and microbial community restructuring under the impact of complete mineral fertilizers has been shown.*

*Keywords: corn, mineral fertilizers, leached chernozem, microbial community.*