

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОТЫ ЧЕРНОЗЕМОВ В ЗАПОВЕДНЫХ И АНТРОПОГЕННО ПРЕОБРАЗОВАННЫХ СООБЩЕСТВАХ

© 2011 Е.П. Проценко<sup>1</sup>, Л.Н. Караулова<sup>1</sup>, А.А. Проценко<sup>2</sup>, О.В. Чаплыгина<sup>1</sup>,  
П.Л. Медянец<sup>3</sup>, П.Г. Сошнин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Курский государственный университет

<sup>2</sup> Курская сельскохозяйственная академия

<sup>3</sup> Курский филиал Белгородского института торговой кооперации

Поступила в редакцию 19.05.2011

Дана сравнительная характеристика состава микробных сообществ верхнего слоя черноземов типичных абсолютно заповедной степи Центрально-Черноземного заповедника им. В.В. Алехина и черноземов, которые находятся в сельскохозяйственном использовании, то есть испытывают антропогенную нагрузку различного уровня. Показано, что суммарное количество бактерий, определенное методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии, было примерно одинаковым в почвах вариантов с сельскохозяйственным использованием и в 2 раза ниже в черноземе заповедной степи.

Ключевые слова: *микробные сообщества, химические маркеры, почвенные бактерии, ассоциативная азотфиксация, черноземы типичные*

Исследования проводились на территории Центрально-Черноземного заповедника им. В.В. Алехина на участке абсолютно заповедной степи и прилегающих полях сельскохозяйственного назначения. Режим абсолютного заповедования предполагает отсутствие вмешательства человека в развитие экосистемы степи и поддерживается на протяжении 60 лет. Объектами исследования явились образцы чернозема типичного, отобранные в июле 2010 г. на 3 участках: абсолютного заповедования в Стрелецкой степи; на участке с бессменным возделыванием озимой пшеницы–N40P40K40 ежегодно; на поле с зернопаропропашным севооборотом, представленным чередованием следующих культур: чёрный пар–P80K80, озимая пшеница–N40, сахарная свекла – N180P160K80, ячмень –N40P40K40. Средняя проба почвы отбиралась на площадках площадью 1 м<sup>2</sup> в верхнем слое (0–20 см).

**Методика.** Состав микробного сообщества определяли молекулярным методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии (ГС-МС). Анализ проводили на ГХ-МС системе HP-5973 Agilent Technologies (США). Метод позволяет по химическим компонентам жирно-кислотного состава мембранных структур-маркеров и математическому соотношению их с имеющимся банком

данных по этому показателю определять состав и структуру сообщества микроорганизмов. Метод позволяет анализировать сообщества микроскопических грибов и бактерий, в том числе актиномицетов [6].

**Результаты и обсуждение.** Суммарное количество бактерий было примерно равно в почвах вариантов с сельскохозяйственным использованием и в 2 раза ниже в черноземе заповедной степи (рис.1, табл. 1). Ранее при анализе количества микроорганизмов в почвах природных зон России (средне - и южнотаежной, лесостепной, степной и сухостепной) было показано, что в целинных почвах этот показатель в 4–5 раз выше по сравнению с пашней, за исключением сухостепной зоны (темно-каштановые и каштановые почвы, поливное земледелие). В этих почвах сельскохозяйственного использования численность микроорганизмов была в 2 и более раз выше целинных участков [1]. Это свидетельствует о том, что используемая система земледелия на изучаемом типичном чернозёме не ведет к подавлению развития микробиоценоза почвы.

Анализ состава сообщества микроорганизмов типичного чернозема заповедной степи при разных системах выращивания культур показал (табл. 1), что он достаточно разнообразен (43–45 видов, относящихся к 37 родам). Сравнение вариантов опыта по показателю индекса Шеннона не выявил существенных различий между почвами – он равнялся 4,6–4,7. Однако по количеству отдельных видов в сообществе почвы существенно отличались. Так, для почвы заповедной степи характерно более высокое содержание только 4 штаммов – 3 вида бактерий *Acetobacter* sp., *Arthrobacter* sp., *Mycobacterium* sp. и актиномицета *Streptomyces* sp. (табл. 1). Суммарное количество данных видов внутри сообщества составляет 10–14%.

*Проценко Елена Петровна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры общей биологии и экологии. E-mail: kaf-ecolbiol@yandex.ru*

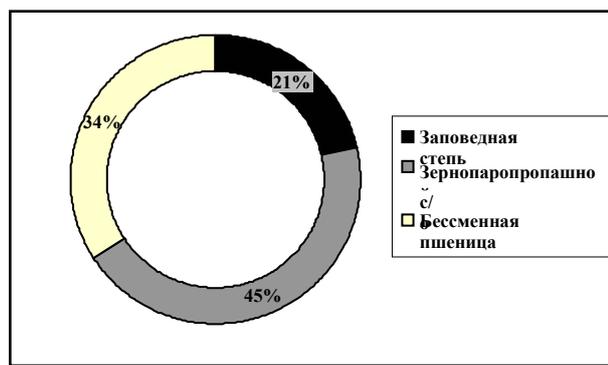
*Караулова Людмила Николаевна, кандидат сельскохозяйственных наук. E-mail: agrochem@kursknet.ru*

*Проценко Александр Александрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры экологии и охраны природы. E-mail: pchela@kursknet.ru*

*Чаплыгина Ольга Вячеславовна, аспирантка*

*Медянец Павел Львович, кандидат биологических наук, старший преподаватель*

*Сошнин Павел Геннадьевич, аспирант*



**Рис. 1.** Количество бактерий, определенное методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии, в черноземной почве под сельскохозяйственным использованием и в черноземе типичном заповедной степи

**Таблица 1.** Состав сообщества микроорганизмов чернозема типичного заповедной степи и агропедоценозов

Микроорганизмы, кл/г $\times 10^6$	Заповедная степь	Зернопаропашной с/х	Бессменная пшеница
<i>Acetobacter</i> sp.	0,72	1,02	0,98
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,34	0,00	0,17
<i>Methylococcus</i> sp.	0,19	0,22	0,21
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,14	1,54	0,96
<i>P. putida</i>	0,17	0,93	0,52
<i>P. vesicularis</i>	0,21	0,58	0,29
<i>Riemirella</i> sp.	0,08	0,25	0,16
<i>Sphingobacterium spiritovorum</i>	0,05	0,23	0,20
<i>Sphingomonas adgesiva</i>	0,12	0,27	0,26
<i>Sphingomonas capsulata</i>	0,08	0,38	0,33
<i>Xanthomonas</i> sp.	0,12	0,57	0,35
FeRed	0,42	1,26	0,42
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0,09	2,27	1,00
<i>Ochrobactrum</i> sp.	0,06	0,13	0,18
<i>Bacteroides hypermegas</i>	0,01	0,21	0,01
<i>Bacteroides ruminicola</i>	0,08	0,14	0,09
WARB*	0,16	0,37	0,31
<i>Desulfovibrio</i> sp.	0,06	0,00	0,20
<i>Chlamydia</i> sp.	0,02	0,00	0,00
<i>Cytophaga</i> sp.	0,03	0,29	0,18
<i>Arthrobacter</i> sp.	0,97	1,74	1,30
<i>Caulobacter</i> sp.	0,22	0,00	0,20
<i>Bacillus subtilis</i>	0,00	0,04	0,15
Актиномицеты, кл/г $\times 10^6$			
<i>Rhodococcus equi</i>	0,41	0,72	0,47
<i>Rhodococcus terrae</i>	0,58	0,27	0,37
<i>Pseudonocardia</i> sp.	0,16	0,27	0
<i>Bacillus</i> sp.	0,14	0,54	0,38
<i>Clostridium pasteurianum</i>	0,19	0,22	0,21
<i>C.perfringens</i>	0,02	0,03	0,01
<i>Acetobacterium</i> sp.	0,04	1,19	0,26
<i>Butyrivibrio 1-2-13</i>	0,05	0,21	0,00

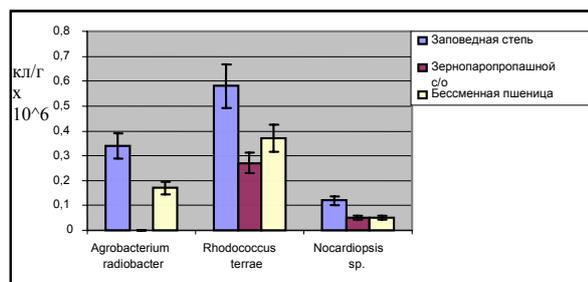
<i>Butyrivibrio 1-4-11</i>	0,00	0,01	0,01
Продолжение таблицы 1			
<i>Butyrivibrio 7S-14-3</i>	0,36	1,51	0,49
<i>Bifidobacterium</i> sp.	0,02	0,17	0,06
<i>Corynebacterium</i> sp.	0,22	0,30	0,27
<i>Eubacterium</i> sp.	0,00	0,00	0,01
<i>Eubacterium lentum</i>	0,07	0,13	0,08
<i>P. freudenreichii</i>	0,13	0,00	0,26
<i>Propionibacterium</i> sp.	0,65	0,53	0,57
<i>Mycobacterium</i> sp.	1,15	1,19	2,31
<i>Rhodococcus equi</i>	0,41	0,72	0,47
<i>Rhodococcus terrae</i>	0,58	0,27	0,37
<i>Ruminococcus</i> sp. +**	0,15	0,00	0,08
<i>Pseudonocardia</i> sp.	0,16	0,27	0,00
<i>Streptomyces</i> sp.	1,06	1,03	1,36
<i>Nocardia carnea</i>	0,06	0,08	0,15
<i>Nocardiosis</i> sp.	0,12	0,05	0,05
<i>Actinomadura roseola</i>	0,10	0,26	0,27
Сумма	10	21	16

Представители рода *Acetobacter* (7,2% в сообществе) – уксуснокислые бактерии – играют существенную роль в трофических (пищевых) взаимоотношениях в микробном сообществе, способны к азотфиксации и продуцированию фитогормонов, в частности, индолилуксусной кислоты. *Arthrobacter* sp. (9,7% в сообществе) – автохтонный вид, способный к ассоциативной азотфиксации, а также к использованию собственного органического вещества почв. Кроме того, *Arthrobacter globiformis* и *Mycobacterium* sp. (11,5%) обладают антифунгальной активностью [10] *Arthrobacter globiformis* способен стимулировать рост растений, продуцируя ростовых веществ – ауксинов и гиббереллин подобных соединений [9]. Представители рода *Streptomyces* sp. (10,6% в сообществе) относятся к активным гидролитикам сложных полимеров и способны к окислению многих органических веществ до состояния полной минерализации. Кроме того, *Streptomyces* sp. способен к азотфиксации, а также к продуцированию ряда антибиотиков, в том числе, и инсектицидов. Показано, что все исследованные штаммы *Streptomyces* sp. способны к выработке железопереносящих соединений – сидерофоров [7]. Благодаря данным веществам стрептомицет выступает как фактор, регулирующий состав ценоза, подавляя развитие одних видов и обеспечивая условия для размножения других.

По сравнению с почвами, находящимися под сельскохозяйственным использованием, черноземы заповедной степи отличаются повышенным содержанием бактерии *Agrobacterium radiobacter* и актинобактерий *Rhodococcus terrae* и *Nocardiosis* sp. (рис. 2). Все остальные отмеченные виды представлены в меньшем количестве, что не обеспечивает повышения общей численности бактерий в черноземе заповедной степи.

Агробактерии составляют в сообществе 3,4% от общего числа видов. В качестве источника углерода эти бактерии используют различные углеводы, соли органических кислот и аминокислот. Актинобактерия *Rhodococcus terrae*

(содержание в сообществе 5,8%) и актиномицет *Nocardiosis sp.* (1,2%), напротив, обладают обширным комплексом гидролитических ферментов, который позволяет им использовать полимерные углеводы, поставляя исходные органические субстраты для метаболизма агробактерий. К положительным свойствам агробактерий относится их способность к мобилизации фосфора [7]. По-видимому, именно этот консорциум микроорганизмов составляет основное трофическое ядро в черноземе типичном заповедной степи. В сравнении с составом микробного сообщества чернозема, находящегося в сельскохозяйственном использовании, почва заповедной степи содержит в 2 раза больше (в сравнении с вариантом бессменной пшеницы) олиготрофной бактерии *Caulobacter sp.* (2,2% в сообществе). В почве варианта с зернопаропропашным севооборотом этот вид не выявлен в концентрации выше  $10^4$  (чувствительность метода). Этот вид бактерий играет в почве агрегатообразующую роль, а в трофическом отношении входит в микробном сообществе в структурную группу олиготрофов [4, 7].



**Рис. 2.** Сравнение количества микроорганизмов в типичном черноземе заповедной степи и такой же почвы, находящейся в длительном сельскохозяйственном использовании

Сравнение микробного сообщества почв на вариантах с разной системой сельскохозяйственного использования показало (табл. 1, рис. 1), что эти почвы мало отличаются между собой по общей численности микроорганизмов, однако, в составе микробиоценоза есть отличия. Так, по содержанию факультативных и облигатных анаэробов почвы зернопаропропашного севооборота наиболее богаты, в сравнении с почвами под бессменной пшеницей и заповедной степью (табл. 2). Из «полезных» анаэробных видов можно отметить *Clostridium pasteurianum*. Его содержание в почве зернопаропропашного севооборота в два раза выше, чем в почве под бессменной пшеницей и в 4 раза выше, чем в черноземе заповедной степи.

К «полезным» видам для почвенного плодородия можно отнести *Bifidobacterium sp* благодаря его способности к выделению ряда ферментов, аминокислот и регуляторов роста растений. Его количество также выше в черноземе, используемом в зернопаропропашном севообороте в два раза. По количеству актиномицетов

исследуемые черноземы не отличались (табл. 2). Повышенным содержанием *Nocardiosis* отличались только черноземы заповедной степи, что было обсуждено выше (рис. 2).

**Таблица 2.** Численность анаэробных и факультативно-анаэробных видов в почве чернозема типичного заповедной степи и агропедоценозов, %

Микроорганизмы	Заповедная степь	Зернопаропропашной с/о	Бессменная пшеница
FeRed	0,9	10,8	6,3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	4,2	6,0	2,6
<i>Bacteroides hypermegas</i>	0,1	1,0	0,1
<i>Bacteroides ruminicola</i>	0,8	0,7	0,6
WARB*	1,6	1,8	1,9
<i>Desulfovibrio sp.</i>	0,6	0,0	1,3
<i>Bacillus subtilis</i>	0,0	0,0	0,1
<i>Bacillus sp.</i>	3,6	7,2	3,1
<i>Clostridium pasteurianum</i>	0,2	0,8	0,4
<i>C.perfringens</i>	0,0	0,0	0,1
<i>Acetobacterium sp.</i>	0,7	0,6	0,5
<i>Butyrivibrio 1-2-13</i>	1,3	0,0	1,6
<i>Butyrivibrio 1-4-11</i>	6,5	2,5	3,6
<i>Butyrivibrio 7S-14-3</i>	0,0	0,0	0,1
<i>Bifidobacterium sp.</i>	3,6	7,2	3,1
<i>Eubacterium sp.</i>	0,0	0,0	0,1
<i>Eubacterium lentum</i>	0,7	0,6	0,5
<i>P. freudenreichii</i>	1,3	0,0	1,6
<i>Propionibacterium sp.</i>	6,5	2,5	3,6
Сумма	33	44	31

### Выводы:

1. Суммарное количество бактерий было примерно равно в почвах вариантов с сельскохозяйственным использованием и в 2 раза ниже в черноземе заповедной степи.

2. По сравнению с почвами, находящимися под сельскохозяйственным использованием, черноземы заповедной степи отличаются повышенным содержанием бактерии *Agrobacterium radiobacter* и актинобактерий *Rhodococcus terrae* и *Nocardiosis sp.*

3. По индексу биоразнообразия существенных различий между почвами заповедной степи и находящимися под сельскохозяйственным использованием не выявлено – он равнялся 4,6-4,7.

4. По содержанию факультативных и облигатных анаэробов почвы зернопаропропашного севооборота наиболее богаты, в сравнении с почвами под бессменной пшеницей и заповедной степью.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Верховцева, Н.В. Микробные консорциумы почв агроценозов разных природных зон России с учетом их сельскохозяйственного использования / Н.В. Верховцева, Г.Е. Ларина, Ю.Я. Спиридонов и др. // Проблемы агрохимии и экологии. 2008. № 2. С. 37-43.

2. *Верховцева, Н.В.* Метод газовой хроматографии–масс-спектрометрии в изучении микробных сообществ почв агроценоза / *Н.В. Верховцева, Г.А. Осипов* // Проблемы агрохимии и экологии. 2008. №2. С. 51-54.
3. *Вильдфлуш, И.Р.* Ресурсосберегающие приемы повышения эффективности удобрений при возделывании сельскохозяйственных культур / *И.Р. Вильдфлуш, Т.Ф. Персикова, А.Р. Цыганов* // Проблемы агрохимии и экологии. 2008. №2. С. 7-12.
4. Микробные сообщества и их функционирование в почве / Сб. науч. тр. Киев: Наук. думка, 1981. 280 с.
5. Определитель бактерий Берджи. Т.1. 1997. 430 с.
6. *Осипов, Г.А.* Способ определения родового (видового) состава ассоциации микроорганизмов // Патент РФ № 2086642.С12 N 1/00, 1/20, С12Q 1/4. Приоритет от 24 дек.1993.
7. Современная микробиология. Прокариоты. Т. 1, 2 [под ред. *Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля*].– М.: Мир. 2005. 654 с., 493 с.
8. *Katsnelson, H.* Auxin Production by Species of Arthrobacter / *H. Katsnelson, J.C. Sirois* // Nature. 1965. Vol. 191. P. 1323-1324.
9. *Katsnelson, H.* Production of a gibberellin-like substance by Arthrobacter globiformis / *H. Katsnelson, J.C. Sirois, E.C. Shirley* // Nature. 1962. Vol. 196. P. 1012-1013.
10. *Kerr, J.R.* Bacterial inhibition of fungal growth and pathogenicity // Microbial Ecology in Health and Disease. 1999. Vol. 11. P. 129-142.

## **COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF BLACK SOILS MICROBIOTA IN COMMANDMENT AND ANTHROPOGENIC REGENERATE ASSOCIATIONS**

© 2011 А.А. Protsenko<sup>1</sup>, L.N. Karaulova<sup>1</sup>, E.P. Protsenko<sup>2</sup>, O.V. Chaplygina<sup>1</sup>,  
P.L. Medyantsev<sup>3</sup>, P.G. Soshnin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kursk State University

<sup>2</sup> Kursk State Agricultural Academy

<sup>3</sup> Belgorod branch of Institute for Trade Cooperation

Comparative characteristics of microbial communities of the upper layer of black soils typical in strictly protected steppes of the Central Chernozem Reserve named after AA Alekhin and black soils, which are in agricultural use, that is experiencing human-induced pressures at various levels. It is shown that total number of bacteria determined by gas chromatography - mass spectrometry, was similar in soils from the agricultural use of options and two times lower than in the black soils steppe reserve.

*Key words: microbial associations, chemical markers, soils bacteria, associative nitrogen fixation, black soils typical*

---

*Elena Protsenko, Doctor of Agriculture, Professor at the Department of Common Biology and Ecology. E-mail: kaf-ecolbiol@yandex.ru*  
*Lyudmila Karaulova, Candidate of Agriculture. E-mail: agrochem@kursknet.ru*  
*Alexander Protsenko, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Ecology and Nature Protection. E-mail: pchela@kursknet.ru*  
*Olga Chaplygina, Post-graduate Student*  
*Pavel Medyantsev, Candidate of Biology, Senior Lecturer*  
*Pavel Soshnin, Post-graduate Student*