Лекція: Ґрунтове мікронаселення, методи визначення його складу й активності. Фактори середовища, що визначають розвиток мікробного ценозу ґрунту

Дисципліна: «Сільськогосподарська мікробіологія

Спеціальність: «Агрономія»

План

1. Роль мікроорганізмів у формуванні ґрунту і його родючості.
2. Мікробне населення ґрунтових типів.
3. Методи визначення складу та активності мікронаселення.
4. Фактори середовища, що визначають розвиток мікробного ценозу ґрунту.

Вступ: ґрунт як середовище життя мікроорганізмів

Ґрунтове мікронаселення — сукупність мікроорганізмів, що постійно або тимчасово живуть у ґрунті. До нього належать бактерії, археї, мікроскопічні гриби, дріжджі, водорості, найпростіші та віруси. Разом вони утворюють складну систему взаємодій — **мікробний ценоз ґрунту**.

Ґрунт неоднорідний: вода, кисень, поживні речовини й органічні рештки розподілені в ньому нерівномірно. Тому мікроорганізми живуть у численних мікросередовищах: на поверхні ґрунтових частинок, у порах, агрегатах, біля коренів рослин і на рослинних рештках.

Особливо активною зоною є **ризосфера** — ґрунт, що безпосередньо прилягає до коренів. Корені виділяють цукри, органічні кислоти, амінокислоти та інші сполуки, якими живляться мікроорганізми. Тому чисельність і склад мікробів у ризосфері часто відрізняються від решти ґрунту.

1. Роль мікроорганізмів у формуванні ґрунту і його родючості

1.1. Участь у ґрунтоутворенні

Ґрунтоутворення починається з вивітрювання материнської породи. Мікроорганізми впливають на цей процес безпосередньо й опосередковано:

- виділяють органічні кислоти, що сприяють розчиненню мінералів;
- змінюють кислотність і окисно-відновні умови у своєму мікросередовищі;
- сприяють вивільненню з мінералів елементів живлення, наприклад фосфору, заліза й калію;
- заселяють поверхні порід і запускають накопичення органічної речовини;

- разом із грибами, рослинами та ґрунтовими тваринами сприяють формуванню й перетворенню ґрунтових агрегатів.

Наприклад, первинні організми — лишайники, водорості й деякі бактерії — можуть заселяти поверхню породи. У міру накопичення органічної речовини створюються умови для розвитку інших організмів і рослин.

1.2. Розкладання органічної речовини

Бактерії й гриби розщеплюють рослинні рештки, кореневі виділення, мертві організми й органічні відходи. У ході розкладання:

- вуглець частково переходить у CO_2;
- азот органічних сполук може переходити в амоній;
- вивільняються фосфор, сірка й інші елементи;
- утворюються проміжні та стабільніші органічні сполуки ґрунту.

Мікробне розкладання має подвійне значення: воно повертає поживні речовини до доступних форм, але водночас може сприяти втраті вуглецю у вигляді CO_2. Частина органічного вуглецю входить до складу мікробної біомаси й органічних сполук, які можуть зберігатися в ґрунті довше.

1.3. Перетворення елементів живлення

Ґрунтові мікроорганізми забезпечують низку важливих біогеохімічних процесів:

- **азотфіксація** — перетворення атмосферного N_2 на форми, які можуть увійти до складу органічних сполук;
- **амоніфікація** — утворення амонію під час розкладання органічних азотовмісних речовин;
- **нітрифікація** — окиснення амонію через нітрит до нітрату;
- **денітрифікація** — відновлення нітрату до газоподібних сполук азоту, що може спричиняти його втрати з ґрунту;
- **мобілізація фосфору та інших елементів** — перехід частини сполук у форми, доступніші для рослин.

Корисні наслідки цих процесів залежать від умов. Наприклад, нітрифікація утворює нітрат, який рослини можуть засвоювати, але він може вимиватися з ґрунту. За нестачі кисню денітрифікація може призвести до втрат азоту.

1.4. Вплив на структуру ґрунту й рослини

Мікроорганізми можуть впливати на фізичний стан ґрунту:

- гіфи грибів переплітають частинки й мікроагрегати;
- мікробні слизові речовини допомагають частинкам ґрунту з’єднуватися;

- продукти розкладання органічних решток беруть участь у формуванні агрегатів;
- мікробна біомаса тимчасово утримує поживні речовини й може зменшувати їх втрати.

Взаємодія з рослинами буває різною:

- **симбіотичною** — обидва партнери отримують користь, наприклад рослини бобових і бульбочкові бактерії;
- **нейтральною або слабко взаємною** — ефект для рослини незначний;
- **антагоністичною** — мікроорганізми конкурують із патогенами або пригнічують їх;
- **патогенною** — мікроорганізм спричиняє хворобу рослини.

Отже, мікробна активність може підтримувати родючість і здоров'я рослин, але конкретний ефект залежить від організму та умов середовища.

2. Мікробне населення ґрунтових типів

2.1. Що визначає відмінності між ґрунтами

Мікробні угруповання різних ґрунтів відрізняються через сукупну дію:

- типу й мінерального складу ґрунту;
- вмісту органічної речовини;
- кислотності;
- вологості та аерації;
- температури;
- рослинного покриву;
- глибини й горизонту;
- обробітку, удобрення та інших видів землекористування.

Не існує простої відповідності на кшталт «один тип ґрунту — один набір мікроорганізмів». Мікробні угруповання змінюються в просторі й часі, а властивості конкретної ділянки можуть бути не менш важливими, ніж назва ґрунтового типу. До ключових чинників належать кислотність, клімат та доступність органічного вуглецю.

2.2. Узагальнені особливості мікробіоти різних ґрунтів

Ґрунтові умови або тип	Загальна характеристика середовища	Можливі особливості мікробного населення
Родючі чорноземні ґрунти	Зазвичай значний запас органічної речовини, розвинений кореневий шар	Активні бактерії й гриби, що розкладають рештки; поширені мікроорганізми циклу азоту й фосфору
Кислі підзолисті та деякі лісові ґрунти	Нижчий pH, часто менша насиченість основами	Відносно сприятливі умови для багатьох грибів; склад і активність бактерій залежать від кислотності й доступних субстратів
Піщані ґрунти	Добре дренуються, часто швидко висихають і мають менше поверхонь для утримання води та поживних речовин	Активність мікробів може різко змінюватися після зволоження й висихання; важливу роль відіграють кореневі зони та органічні рештки
Важкі глинисті ґрунти	Добре утримують воду й поживні речовини, але в порах може бути мало кисню	Формуються кисневі й безкисневі мікрозони; за перезволоження зростає значення анаеробних процесів
Засолені ґрунти	Висока концентрація солей створює осмотичний стрес	Переважають солестійкі мікроорганізми; загальна активність чутливих груп може знижуватися
Перезволожені ґрунти	Обмежений газообмін, нестача кисню в частині пор	Поширюються анаеробні мікроорганізми та процеси відновлення, зокрема денітрифікація
Органогенні й торфові ґрунти	Багато органічної речовини, часто висока вологість	Інтенсивність і шлях розкладання залежать від аерації, кислотності, температури та складу органічного матеріалу

Це **загальна навчальна схема**, а не перелік постійних правил. Наприклад, вологий ґрунт може підтримувати високу мікробну активність, якщо вода не витісняє майже весь кисень із пор. А на одному полі мікробні угруповання в ризосфері, під рослинними рештками й у глибших шарах будуть різними.

3. Методи визначення складу й активності мікронаселення

Методи дослідження можна поділити на три основні групи: **культивування**, **молекулярне визначення складу** та **вимірювання активності**. Жоден окремий метод не показує всього мікробного ценозу: результати найкраще тлумачити в сукупності.

3.1. Культуральні методи

Ґрунтову суспензію висівають на поживні середовища, а потім підраховують колонії або виділяють чисті культури.

Що дають:

- кількість колонієутворювальних одиниць за конкретних умов;
- можливість отримати ізолят і дослідити його властивості;
- оцінку окремих функціональних груп на вибіркових середовищах.



Обмеження: лабораторні умови не відтворюють усіх природних мікросередовищ. Частина клітин не росте на використаному середовищі або не утворює колоній у вибраний час. Тому результат показує не всі живі мікроорганізми, а лише ту частину, яку вдалося виростити за заданих умов.

3.2. Мікроскопічні методи

Мікроскопія, забарвлення та підрахунок клітин допомагають оцінити чисельність і морфологічні групи. Спеціальні флуоресцентні барвники можуть застосовуватися для оцінки клітинної активності або життєздатності, але інтерпретація залежить від методики.



Перевага: можна досліджувати матеріал без попереднього вирощування на середовищі.

Обмеження: морфологічна подібність клітин не завжди дає змогу визначити їхній вид або функцію.

3.3. Молекулярні методи

До молекулярних методів належать:

- **ПЛР і qPCR** для визначення наявності або кількості певних генів чи таксонів;
- секвенування маркерних генів, наприклад 16S рРНК для бактерій та архей або ITS для грибів;
- **метагеноміка** — аналіз сукупної ДНК для вивчення генетичного потенціалу угруповання;
- **метатранскриптоміка** — аналіз РНК, щоб оцінити, які гени експресуються в момент відбору зразка.

Важливе обмеження: наявність ДНК не завжди свідчить, що клітина зараз активна. У ґрунті можуть зберігатися ДНК неактивних або загиблих клітин.

Тому молекулярні дані про склад бажано поєднувати з вимірюваннями процесів і біомаси.



3.4. Визначення мікробної біомаси

Мікробну біомасу оцінюють різними хімічними та фізіологічними методами, зокрема за кількістю вуглецю або азоту, що припадає на мікробні клітини. Це дає уявлення про розмір живого мікробного пулу, але не визначає точно, які види до нього входять.



3.5. Визначення активності

Активність оцінюють за швидкістю процесів або продуктами реакцій:

- **ґрунтове дихання** — виділення CO_2 або споживання O_2;
- **ферментативна активність** — наприклад, активність дегідрогеназ, уреази чи фосфатази;
- швидкість мінералізації органічного азоту;
- інтенсивність нітрифікації або денітрифікації;
- розкладання стандартизованого органічного матеріалу;
- утворення окремих продуктів мікробного метаболізму.

Вимірювання CO_2, споживання кисню та ферментативної активності широко використовують для дослідження функціонування ґрунтових мікроорганізмів. Водночас активність ферменту в лабораторному тесті не завжди точно дорівнює швидкості процесу в природному ґрунті.



3.6. Як організувати дослідження ґрунту

Для порівняння ділянок бажано:

1. відібрати кілька проб за однаковою схемою й на однаковій глибині;
2. окремо врахувати ризосферний ґрунт і ґрунт поза кореневою зоною;
3. виміряти pH, вологість і вміст органічної речовини;
4. застосувати методи, що відповідають дослідницькому питанню;
5. порівнювати ґрунти за однакових умов зберігання та аналізу.

Наприклад, якщо потрібно дослідити **потенціал нітрифікації**, одного підрахунку загальної чисельності бактерій недостатньо: потрібні функціональні показники або методи, націлені на відповідну групу чи процес.

4. Фактори середовища, що визначають розвиток мікробного ценозу ґрунту

4.1. Кислотність ґрунту

pH впливає на доступність поживних елементів і на те, які групи мікроорганізмів можуть активно розвиватися. Сильна кислотність або лужність обмежує частину мікробних груп і змінює співвідношення бактерій і грибів. Водночас реакція ґрунту діє разом із вологою, органічною речовиною та рослинністю, а не ізольовано.

4.2. Вологість і доступ кисню

Вода необхідна для клітинних реакцій і переміщення розчинених речовин. Але коли ґрунт насичений водою, газообмін погіршується й доступ кисню до мікроорганізмів зменшується.

- За доброї аерації активні аеробні процеси розкладання й дихання.
- За дефіциту кисню зростає значення анаеробних процесів, зокрема денітрифікації.
- За висихання метаболічна активність багатьох мікроорганізмів сповільнюється, а після зволоження може короткочасно різко зростати.

4.3. Температура

Температура впливає на швидкість ферментативних реакцій і ріст мікроорганізмів. У межах, сприятливих для конкретної групи, підвищення температури зазвичай прискорює обмін речовин. За надто високих або низьких температур активність і ріст пригнічуються. У полі сезонні зміни температури змінюють швидкість розкладання решток і мінералізації поживних речовин.

4.4. Органічна речовина й доступність поживних елементів

Органічна речовина — основне джерело вуглецю та енергії для багатьох ґрунтових гетеротрофів. Її кількість і хімічний склад визначають, які групи можуть розвиватися та які ферменти будуть активними.

- Легкодоступні сполуки можуть швидко стимулювати ріст і дихання.
- Складні рослинні рештки потребують спеціалізованих ферментів і розкладаються повільніше.
- Дефіцит азоту, фосфору чи інших елементів може обмежувати мікробний ріст навіть за достатньої кількості вуглецю.

4.5. Механічний склад і структура ґрунту

Розмір частинок і структура ґрунту впливають на утримання води, газообмін і наявність захищених мікросередовищ.

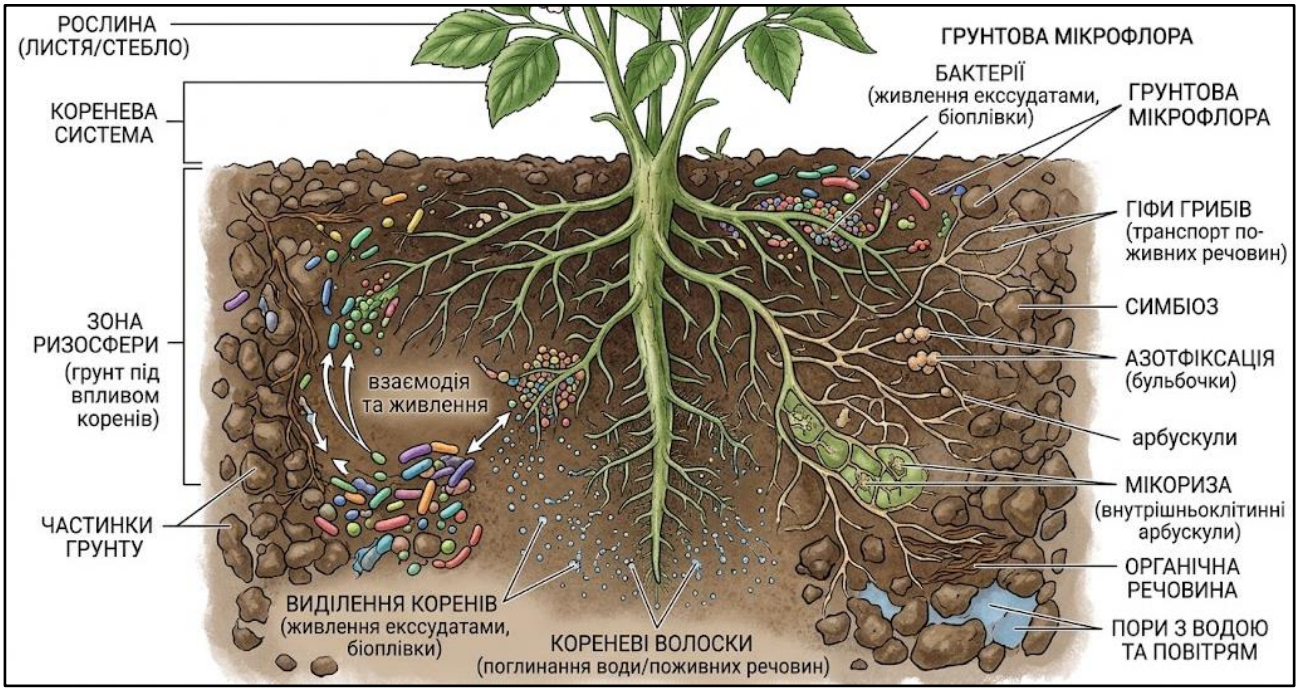
- Піщані ґрунти швидше втрачають воду й часто мають слабше утримання поживних речовин.
- Глинисті ґрунти утримують більше води й мають багато поверхонь для взаємодії з органічними сполуками.
- У ґрунтових агрегатах можуть існувати мікрозони з різним доступом кисню та поживних речовин.

Тому властивості ґрунту визначають не лише загальну чисельність, а й просторовий розподіл та активність мікроорганізмів.

4.6. Рослинність і ризосфера

Вид рослини впливає на мікробне населення через склад кореневих виділень, архітектуру кореневої системи та кількість рослинних решток. Різні культури створюють різні умови для бактерій, грибів і симбіонтів.

На склад угруповань також впливає чергування культур: зміна виду рослини змінює ресурси й середовище ризосфери. На формування мікробних спільнот спільно впливають і тип ґрунту, і рослина-господар.



4.7. Господарська діяльність

Мікробний ценоз змінюється під впливом:

- обробітку ґрунту та ущільнення технікою;
- внесення органічних і мінеральних добрив;
- зміни pH вапнуванням чи іншими заходами;

- зрошення та дренажу;
- вирощування монокультури або сівозміни;
- пестицидів і забруднювачів;
- способів управління рослинними рештками.

Ці впливи можуть змінювати доступність субстратів, вологість, аерацію й кислотність — а отже, склад та функції мікробних угруповань. Ефект конкретного агрозаходу залежить від типу ґрунту, дози, часу внесення й попереднього стану ділянки.

4.8. Чинники діють разом

Реальний мікробний ценоз формується не одним чинником, а їх поєднанням. Наприклад, надлишок води одночасно знижує доступ кисню, змінює окисно-відновні умови й може стимулювати денітрифікацію. А внесення органічної речовини додає вуглець, але за нестачі азоту може посилити його тимчасове зв’язування мікроорганізмами.

Значення для практики агронома

Оцінювання ґрунтового мікронаселення може допомогти пояснити, чому однакові агрозаходи дають різні результати на різних полях. Для інтерпретації біологічних показників їх варто розглядати разом із pH, вологістю, вмістом органічної речовини, структурою ґрунту та історією землекористування.

Особливо важливо розрізняти:

- **склад угруповання** — які групи або таксони виявлено;
- **потенціал** — які функції угруповання може виконувати;
- **поточну активність** — які процеси реально відбуваються в момент вимірювання.

Наприклад, виявлення генів денітрифікації показує наявність певного функціонального потенціалу, але не доводить, що інтенсивна денітрифікація зараз відбувається. Для цього потрібна оцінка активності процесу й умов середовища.

Основні висновки

- Ґрунтові мікроорганізми беруть участь у ґрунтоутворенні, розкладанні органічної речовини, кругообігу елементів та формуванні структури ґрунту.
- Склад мікробного населення залежить від властивостей ґрунту, рослинності, клімату, глибини та способу господарювання.
- Культуральні методи показують організми, здатні рости за заданих лабораторних умов; молекулярні методи розширюють можливості

визначення складу, але виявлення ДНК саме по собі не доводить активності.

- Активність оцінюють за швидкістю дихання, ферментативними показниками та іншими вимірюваннями мікробних процесів.
- Для повнішої оцінки ґрунтового мікроценозу доцільно поєднувати дані про склад, біомасу, функціональний потенціал та реальну активність.

Запитання для самоконтролю

1. Як мікроорганізми сприяють ґрунтоутворенню?
2. Які мікробні процеси впливають на доступність азоту для рослин?
3. Чим відрізняються культуральні та молекулярні методи визначення складу ґрунтового мікронаселення?
4. Чому дані про наявність мікробної ДНК не завжди свідчать про активність мікроорганізмів?
5. Як вологість і аерація змінюють мікробні процеси в ґрунті?
6. Чому мікробне населення ризосфери відрізняється від мікробіоти ґрунту поза кореневою зоною?