

На правах рукописи

РОМАНЫЧЕВА Анна Александровна

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МИКРОБОЦЕНОЗА ПОЧВ
В РИЗОСФЕРЕ *ZEA MAYS* В УСЛОВИЯХ МОНОКУЛЬТУРЫ И В СЕВООБОРОТЕ НА
РАЗНЫХ АГРОХИМИЧЕСКИХ ФОНАХ**

06.01.04 – агрохимия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2014

Работа выполнена на кафедре агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор кафедры агрохимии и биохимии растений факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Надежда Владимировна Верховцева

Официальные оппоненты: **Шабает Валерий Павлович,**
доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской Академии наук, ведущий научный сотрудник

Никитина Любовь Васильевна,
кандидат биологических наук, Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова Федерального агентства научных организаций России, ведущий научный сотрудник отдела географической сети опытов с удобрениями

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет - Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева

Защита диссертации состоится « 24 » февраля 2015 г. в ____ ч. ____ мин. в аудитории М-2 на заседании Диссертационного Совета Д 501.002.13 при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, Д. 1, стр. 12, факультет почвоведения.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова и на сайте <http://soil.msu.ru/zashchita-dissertatsii>

Автореферат разослан « _____ » _____ г.

Приглашаем Вас принять участие в обсуждении диссертации на заседании Диссертационного совета. Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью, просим присылать по вышеуказанному адресу.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 501.002.13,
доктор биологических наук, профессор



Зенова Галина Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Кукуруза в настоящее время – самая популярная и окупаемая культура в мире. Ее исключительность состоит в высокой потенциальной урожайности и многосторонности использования. Мировое производство кукурузы в 2013/2014 гг. составило 973,9 млн. т. (Carehart et al., 2014). Для удовлетворения всё возрастающего спроса без увеличения посевных площадей под кукурузой в сельскохозяйственную практику широко вошло бессменное возделывание этой культуры (Vyn, 2006, Plourde et al., 2013). В силу своих биологических особенностей (C4-тип фотосинтеза, интенсивный обмен веществ) кукуруза хорошо переносит бессменные посевы и обладает высокой отзывчивостью на минеральные удобрения. Однако возделывание кукурузы в монокультуре вызывает возражения со стороны фундаментальной науки, в положениях которой рассматривается возможное снижение плодородия и качества почвы. В России существует длительный полевой опыт Воронежского филиала ГНУ ВНИИ кукурузы, который зарегистрирован в реестре Географической сети опытов с удобрениями, по ведению монокультуры кукурузы с 1960 г. без снижения урожайности (Стулин, 2007). Имеются данные о высокой устойчивости органического вещества агрочернозема в этом опыте (Ларионова и др., 2012). Важным аспектом является исследование микробиологического состояния почвы в данном агроценозе. При исследовании определенных групп микроорганизмов, которые плохо поддаются культивированию или тех, которые нельзя выращивать *in vitro* без облигатного симбионта, как например арбускулярные микоризные грибы, представляется актуальным использование молекулярных методов. Одним из таких методов является газовая хроматография – масс-спектрометрия. Подобные микробиологические работы на этом полевом опыте ранее не проводились. Это определило актуальность исследования и послужило основанием выбора темы нашей научной работы.

Степень разработанности темы исследования. Анализ результатов отечественных и зарубежных исследований не позволяет сделать однозначные выводы о продуктивности монокультуры кукурузы. Имеются сведения о значительном снижении урожайности этой культуры при бессменном выращивании (Merbach, 2007; Gentry et al., 2013). В то же время приводятся статистически сопоставимые данные урожая кукурузы на удобренном фоне, как в монокультуре, так и в севообороте (Daberkow et al., 2008; Гангур, 2009). Длительные полевые опыты по ведению монокультуры кукурузы существуют в США (Puget et al., 2005), Канаде (Gregorich et al., 2001), Германии (Flessa et al., 2008), Венгрии (Sasvari et al., 2011; Árendás et al., 2013), Китае (Yang et al., 2003). Обсуждаются различные механизмы функционирования бессменных посевов этой культуры. Их устойчивость связывается, в том числе, и со

значительной ролью арбускулярной микоризы и специфическим микробным сообществом, участвующим в трансформации труднорастворимых растительных остатков кукурузы. Предполагается, что соотношение доминирующих в микробценозе агрономически важных групп микроорганизмов предопределяет направление почвенных процессов и, в конечном счете, продуктивность растений, а также баланс питательных элементов и устойчивость органического вещества в почвах.

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы было показать изменения микробценоза в почве, на которой длительно возделывается кукуруза в монокультуре и севообороте, в зависимости от применения минеральных удобрений, и оценить значение микробценоза в поддержании устойчивости агроэкосистемы.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Показать влияние многолетнего ежегодного внесения минеральных удобрений на агрохимические свойства, микробное сообщество почвы и урожайность кукурузы, выращиваемой в условиях монокультуры и в севообороте;
2. Сравнить микробные сообщества почвы при длительном возделывании кукурузы в монокультуре и севообороте;
3. Определить направленность бактериальных процессов в почве агроценозов при длительном возделывании кукурузы в монокультуре и севообороте путем выделения в структуре сообщества доминантных ассоциаций микроорганизмов;
4. Оценить взаимосвязь изменения агрохимических характеристик почвы с микробиологическими показателями (численностью, составом, структурой и биоразнообразием микробного сообщества) по данным метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС);
5. Рассмотреть взаимосвязь урожайности монокультуры кукурузы с микробиологической составляющей почв агроценоза и выявить значение последней в поддержании его агрохимической устойчивости и продуктивности.

Научная новизна работы. Впервые исследована урожайность агроценоза в условиях длительной монокультуры кукурузы (46 лет) и десятипольного севооборота (четыре ротации) в связи со структурой почвенного микробного сообщества, изучаемой методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии. Впервые установлено, что севооборот не оказывал специфического влияния на структуру микробного сообщества в ризосфере кукурузы. Обнаружено положительное влияние полного минерального удобрения на разнообразие и сбалансированность микробиологических процессов в ризосфере кукурузы. Показан достаточно высокий адаптивный потенциал сформировавшегося под монокультурой

кукурузы специфического многовидового микробного сообщества, что позволяет говорить о его противодействии почвоутомлению. Впервые описана сложившаяся в ризосфере кукурузы специфическая устойчивая аэробно-анаэробная ассоциация *Mycobacterium* spp./*Rhodococcus* spp. – *Propionibacterium* spp. и специфическое сообщество гидролитически активных бактерий, которые обеспечивают поддержание гомеостатического состояния агроценоза в отношении органического вещества. Особое внимание уделено изучению группировки арбускулярных микоризных (АМ) грибов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Данная работа представляет раздел фундаментального исследования механизмов устойчивости агроценозов монокультуры кукурузы, которые позволят дополнить теоретические научные представления об основах поддержания здоровья агроэкосистем, их иммунитете и сберегающих плодородие технологиях возделывания полевых культур. Полученные результаты могут быть использованы на практике для создания оптимальных и экономически выгодных условий культивирования кукурузы. Выявленные бактерии и АМ-грибы, ассоциированные с ризосферой кукурузы, которая выращивается в условиях монокультуры, могут рассматриваться в дальнейшем как альтернатива применению высоких доз минеральных удобрений и химических средств защиты, благодаря способности оказывать общестимулирующее влияние на растения, в результате которого возрастает продуктивность и качество урожая.

Положения, выносимые на защиту:

1. В агроэкологических условиях Центрального Черноземья кукуруза способна выдерживать длительное выращивание в монокультуре.
2. Продуктивность кукурузы, выращиваемой в монокультуре и в севообороте, определяют азотные удобрения, внесенные в сочетании с фосфорно-калийными при оптимальной ежегодной дозе 60 кг/га.
3. Кукуруза в монокультуре более отзывчива на применение минеральных удобрений по сравнению с севооборотом.
4. Урожайность и плодородие почвы более тесно связаны не с численностью микроорганизмов или наличием питательных веществ, а с интенсивностью их круговорота, осуществляемого специфическим микробным сообществом в ризосфере кукурузы.

Апробация работы. Диссертация была апробирована на XIX, XX, XXI международных научных конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых по фундаментальным наукам «Ломоносов-2012», «Ломоносов-2013», «Ломоносов-2014» (Москва, 2012, 2013, 2014); международной конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2012);

международной конференции «Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред» (Москва, 2013); международной научно-практической конференции молодых ученых «Индикация состояния окружающей среды: теория, практика, образование» (Москва, 2014).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ (три статьи в изданиях, включенных в список ВАК РФ).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, результатов и их обсуждения, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 128 страницах, иллюстрирована 30 рисунками, включает 14 таблиц. Список использованных литературных источников состоит из 219 наименований, в том числе 141 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность своему научному руководителю д.б.н., проф. Н.В. Верховцевой, а также д.б.н., проф. Г.А. Осипову, д.б.н. проф. Е.Ю. Милановскому, к.б.н., с.н.с. Е.Б. Пашкевич и сотрудникам кафедры агрохимии и биохимии растений МГУ имени М.В. Ломоносова за консультации, поддержку и помощь в работе. Автор выражает благодарность Воронежскому филиалу ГНУ ВНИИ кукурузы в лице к.с.-х. н., в.н.с. А.Ф. Стулина за предоставленную возможность в проведении исследований. Благодарит свою семью, особенно мужа И.С. Мазаника за ценные советы, помощь в проведении полевых исследований и оформлении диссертации.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ ZEA MAYS L. В МОНОКУЛЬТУРЕ И СЕВООБОРОТЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В обзоре литературы обобщены результаты отечественных и зарубежных исследований по изучению возделывания *Zea mays* L. в условиях длительных бессменных посевов и севооборотов, а также формирование микробоценоза ризосферы растений в таких условиях.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили в 2011, 2012, 2013 гг. на базе кафедры агрохимии и биохимии растений МГУ имени М.В. Ломоносова (Москва) и двух длительных полевых опытов Воронежского филиала ГНУ ВНИИ кукурузы с географическими координатами: 51°36,480'с.ш. 38°58,159'в.д. (п. Опытное, Хохольский р-н, Воронежская обл.). Опыты включены в реестр Географической сети опытов с удобрениями и имеют аттестаты длительного опыта № 151 и 152 (Реестр аттестатов длительных опытов..., 2012). Кукурузу в опытах возделывают в монокультуре и трех полях десятипольного севооборота со структурой 50% зерновых, 40% кормовых и 10% технических культур. Кукуруза в монокультуре выращивается с 1960 года. Севооборот ведется с 1967 г.

В рассматриваемой работе изучали варианты (монокультура и севооборот): I – Без удобрений (контроль); II – N60, III – N60P60, IV – N60P60K60, V – N120P60K60, VI – черный пар; VII – архивные образцы 1966 г., почва под монокультурой без удобрений. Минеральные удобрения (аммиачная селитра, двойной суперфосфат и хлористый калий) вносились ежегодно осенью, с 1965 г. Посевная площадь делянок – 269,5 м², учетная – 192,5 м². Повторность трехкратная. Используемая агротехника была общепринятой для зоны и для районированных гибридов кукурузы (в 2011 – 2013 гг. возделывался гибрид «Воронежский 230 СВ»). Урожайность определяли методом сплошного взвешивания.

Почва опыта – чернозем выщелоченный маломощный малогумусный на лессовидном суглинке (Классификация почв СССР, 1977). Согласно классификации 2004 г. – агрочернозем глинисто-иллювиальный (Классификация почв России, 2004).

Для определения агрохимических и микробиологических показателей почвы отбирали смешанные образцы из двух повторностей опыта с глубины пахотного горизонта $A_{\text{пах}}$ 0 – 20 см. Ряд образцов в 2011 году исследовали по слоям (0 – 10; 10 – 20; 30 – 40 см). Отбор образцов проводили весной (май, фаза 5-ти листьев кукурузы) и осенью (начало сентября, перед уборкой урожая кукурузы) в междурядьях и в ризосфере.

Метеорологические данные в годы исследования существенно отличались, но были типичными для зоны. Согласно гидротермическому коэффициенту (ГТК), 2011 г. был охарактеризован как полузасушливый: ГТК=0,95; 2012 г. – как влажный: ГТК=1,37; 2013 г. – как засушливый: ГТК=0,81 (Справочник агронома..., 1986). $ГТК_{\text{ср. многолетний}} = 1,2$. Средняя многолетняя сумма эффективных температур – 2710°C, количество осадков – 302 мм, температура воздуха 18,7 °С.

Агрохимические показатели почвы изучали согласно общепринятым методикам (Практикум по агрохимии, 2001). Подвижный фосфор и калий по Чирикову в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26204-91); нитратный и аммонийный азот – ионометрическим методом (ГОСТ 26951-86); pH_{KCl} – потенциометрически (ГОСТ 26483-85). Валовое содержание фосфора и калия – после мокрого озоления серной кислотой, фосфор – колориметрически с окраской по Дениже; калий на пламенном фотометре Flama FP 640 (Финляндия). Содержание углерода и азота на экспресс-анализаторе CHNS analyzer, VARIO III-EL (Германия). Для выделения фракций агрегатов использован метод анализа структуры по Савинову – сухое и мокрое просеивание на Analytical sieve shaker AS 200, Retsch, (Германия) (Полевые и лабораторные методы исследований физических свойств почв, 2001).

Состав микробного сообщества определяли методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ-МС) на HP-5973 Agilent Technologies (США) (Осипов, 1997).

Биоразнообразии определяли с помощью индекса Шеннона, доминирование оценивали с помощью индекса Бергера-Паркера (Мэгарран, 1992), сходство сообществ микроорганизмов – с помощью коэффициента Джакарта (Одум, 1975). Анализ достоверности данных вели стандартными методами (Доспехов, 1979; Лакин, 1990), а также методами многомерного статистического анализа (Мешалкина, Самсонова, 2008). Все вычисления выполнены с использованием программ MS Excel 2003 и Statistica 10.

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО ПОД ПОСЕВАМИ КУКУРУЗЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ)

1. Агрохимическая характеристика чернозема выщелоченного

Агрохимические свойства исследуемого чернозема почти по всем исследуемым параметрам соответствовали своим типовым характеристикам, которые приводятся в литературе для аналогичных почв Черноземной зоны РФ, находящихся в условиях сельскохозяйственного использования (табл. 1).

Величина pH_{KCl} свидетельствовала о слабокислой среде для почв, находящихся в условиях интенсивного сельскохозяйственного использования. Статистически значимых смещений pH_{KCl} по вариантам не обнаружено. Обеспеченность растений подвижным калием и фосфором – средняя, а азотом – низкая для всех вариантов (Практикум по агрохимии, 2001). Невысокое содержание NH_4^+ и NO_3^- , особенно в конце вегетационного периода, вероятно, являлось следствием значительного их расхода на потребление растениями и микробную иммобилизацию, а также вымыванием в более глубокие почвенные горизонты для нитратного азота (Стулин, 2007). Содержание подвижного калия в 1,5 раза выше в парующей почве, по сравнению с почвой, находящейся в сельскохозяйственном использовании, и в 2 раза выше в архивном образце 1966 г., по сравнению с 2012-2013 гг. По содержанию подвижного фосфора почва в годы исследований была сравнима с данным показателем для архивного образца. Различия между почвой под монокультурой и севооборотом с кукурузой были статистически незначимы.

Удалось выявить ряд закономерностей, характерных для прикорневой зоны кукурузы. Так, содержание подвижного фосфора в ризосферной почве по сравнению с неризосферной в начале вегетационного периода имело тенденцию к снижению на 5 – 20%, а в конце вегетации в сентябре повышалось на 5 – 10%.

Таблица 1.

Агрохимические показатели чернозема выщелоченного, междурядья 2012-2013гг.

Показатели Варианты опыта	Май Начало вегетационного периода							Сентябрь Конец вегетационного периода						
	C _{орг}	N _{общ}	pH _{KCl}	P ₂ O ₅	K ₂ O	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	C _{орг}	N _{общ}	pH _{KCl}	P ₂ O ₅	K ₂ O	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻
	%			мг/100 г				%			мг/100 г			
Кукуруза монокультура														
Без удобрений	3,2	0,20	5,4	4,8	5,5	3,1	0,8	3,2	0,25	5,6	4,9	9,9	2,0	0,8
N60	3,2	0,21	5,4	4,9	5,0	3,8	1,0	3,2	0,25	5,7	5,4	6,3	2,8	0,7
N60P60	3,2	0,21	5,5	9,0	5,0	4,4	1,3	3,2	0,24	5,7	7,2	6,5	2,0	0,7
N60P60K60	3,2	0,23	5,3	9,8	6,6	4,7	1,1	3,2	0,27	5,5	8,2	8,0	2,7	0,8
N120P60K60	3,0	0,22	5,4	10,2	6,3	4,0	1,7	3,0	0,24	5,7	8,0	7,0	2,9	0,9
Кукуруза севооборот														
Без удобрений	3,4	0,27	5,4	5,4	5,4	3,9	1,0	3,7	0,32	5,5	5,8	5,3	2,1	0,7
N60	3,5	0,28	5,7	6,2	5,6	3,3	1,4	3,5	0,29	5,6	5,0	5,3	2,3	1,0
N60P60	3,3	0,28	5,7	9,6	5,9	3,8	1,5	3,3	0,28	5,7	9,6	5,1	3,5	0,8
N60P60K60	3,3	0,27	5,5	9,8	7,4	3,9	1,8	3,6	0,29	5,6	9,0	6,3	3,1	0,9
N120P60K60	3,1	0,26	5,5	9,0	6,8	3,6	1,8	3,2	0,25	5,5	8,2	6,7	3,6	1,4
Черный пар														
Без удобрений	3,2	0,21	5,6	7,0	8,6	4,5	0,6	3,1	0,23	5,6	7,5	8,5	2,0	0,7
Кукуруза монокультура 1966														
Без удобрений	3,9	0,35	5,2	4,5	11,2	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД
НСР _{0,05}	0,2	0,04	0,3	2,0	2,0	0,6	0,3	0,2	0,05	0,3	2,0	2,0	0,7	0,3

НД – нет данных

Содержание NH_4^+ в ризосфере кукурузы на протяжении всего периода вегетации достоверно превышало его содержание вне корневой зоны на 40 – 80%. Количество NO_3^- имело тенденцию к увеличению по сезонам: в мае его содержание в ризосфере было больше на 5 – 30%, в сентябре – на 60 – 80%. Кроме того, в сентябре в ризосфере кукурузы происходило заметное увеличение содержания подвижного калия. В среднем, его было на 40% больше в прикорневой зоне, чем вне её. Возможно, это связано с процессом бактериального выщелачивания – кислотного, ферментативного и хелатирующего. Так, 3–15-кратное увеличение интенсивности нитрификации (повышение количества NO_3^-), наблюдаемое в нашем исследовании, могло приводить к существенному локальному подкислению почвы. При этом значения рН почвы в целом не изменялись, но происходило выщелачивание калия из алюмосиликатов и фосфора из труднорастворимых минеральных и органических его соединений за счет взаимодействия с хелатирующими соединениями экссудатов растений. Кроме того, как будет показано далее, в микробном сообществе присутствуют виды бактерий, способные к переводу калия и фосфора в подвижное состояние. Их численность к концу вегетации в среднем увеличивается в 1,3 – 3,7 раза.

Внесение удобрений вызвало заметное увеличение содержания в почве минеральных форм азота, подвижного фосфора и калия, как в бессменном посеве кукурузы, так и в севообороте. Причем это влияние было наибольшим в фазе 5-го листа кукурузы (май), а перед уборкой урожая (сентябрь) различия по вариантам опыта уменьшились, что, по-видимому, связано с увеличенным потреблением питательных веществ более крупными растениями кукурузы на удобренных вариантах.

По содержанию валовых форм фосфора и калия почва в годы исследований сходна с данными показателями для архивных образцов (0,27% для фосфора, 3,8% для калия). Содержание общего углерода и азота в пахотном слое почвы для всех участков различалось статистически незначительно (табл. 1). Можно отметить тенденцию к уменьшению содержания углерода на фоне N120P60K60 в весенний и осенний период, в 2012 и в 2013 гг. К объяснению этого явления мы вернемся при обсуждении структуры микробного сообщества. За 46 лет сельскохозяйственного использования содержание углерода в пахотном слое 0 – 20 см снизилось соответственно на 18% и 15% для почвы под монокультурой и черного пара (рис. 1). Различия в более глубоких горизонтах почвы статистически недостоверны. По содержанию агрономически ценных агрегатов 10,00 – 0,25 мм почва под монокультурой кукурузы характеризуется «отличным» агрегатным состоянием. K_{cmp} (коэффициент структурности) = 2,7. Преобладающей при сухом просеивании является фракция 0,5 – 1 мм. Результаты мокрого просеивания показали, что и под монокультурой кукурузы, и в пару большая часть почвенных агрегатов не водопрочны, а по содержанию водостойчивых агрегатов с размерами > 0,25 мм структура

относится к «неудовлетворительной» (Полевые и лабораторные методы исследований физических свойств почв, 2001). На глубине 0 – 20 см фракция > 0,25 мм составляла всего лишь 14 – 19%.

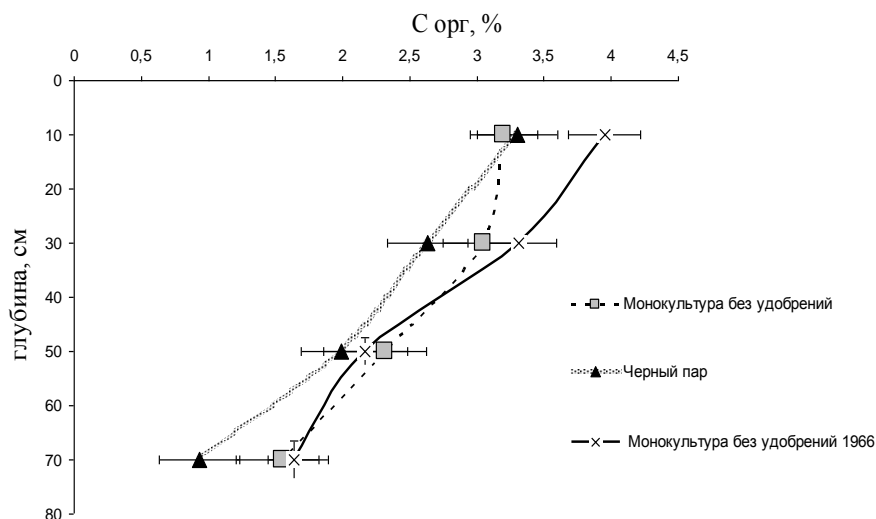


Рисунок 1. Содержание углерода ($C_{орг}, \%$) в профиле исследуемого чернозема (данные предоставлены Е.Ю. Милановским)

2. Урожайность *Zea mays* L.

В среднем за 46 лет исследований по данным опытной станции ВНИИ кукурузы (Стулин и др., 2014) урожайность зеленой массы кукурузы в контрольном варианте (рис. 2) составила 22,2 т/га (от 12,7 т/га в 2010 г. до 31,7 т/га в 2012 г.). Урожайность зерна – 2,6 т/га (от 1,6 до 3,2 т/га). Коэффициент вариации (C_v) = 23%. Урожайность сухого вещества кукурузы – 5,7 т/га (с колебаниями в зависимости от метеорологических условий от 3,7 до 8,6 т/га).

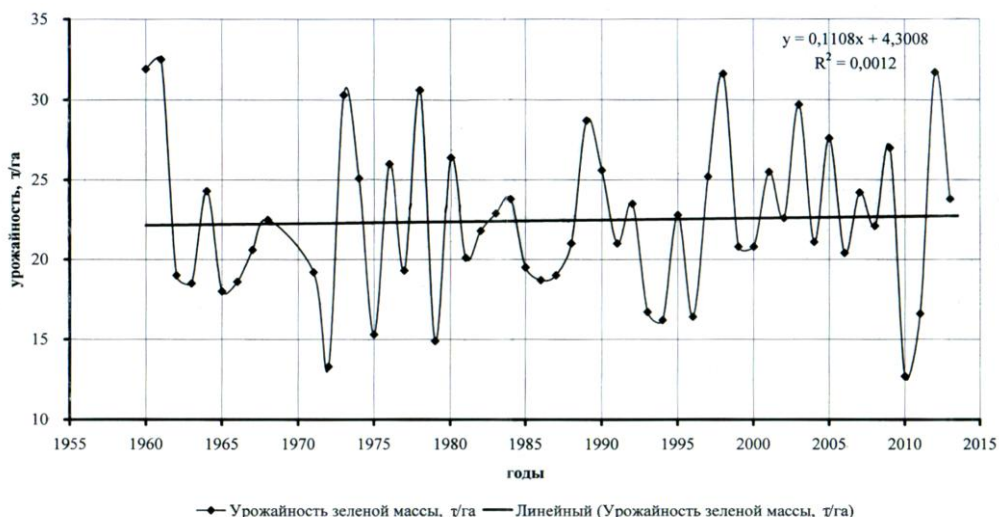


Рисунок 2. Урожайность зеленой массы монокультуры кукурузы, контроль без удобрений (1960-2013 гг.), т/га (данные предоставлены А.Ф. Стулиным, ВНИИК)

Достоверная прибавка урожайности от внесения удобрений по вариантам опыта была в пределах 26–60% от контроля. Закономерность действия отдельных удобрений и их сочетаний на урожайность сухого вещества надземной массы растений кукурузы (табл. 2) была аналогичной их действию на урожайность зеленой массы (табл. 3).

Возделывание одного и того же гибрида и соблюдение одинаковой схемы опыта и в монокультуре и в севообороте позволяет выявить роль севооборотного фактора в урожайности зеленой массы и зерна кукурузы. Если в севообороте в контрольном варианте урожайность зеленой массы (рис. 3) составила 26,6 т/га (колебания по годам от 17,4 до 40,7 т/га), то в монокультуре – 22,8 т/га (от 16,2 до 30,3 т/га).

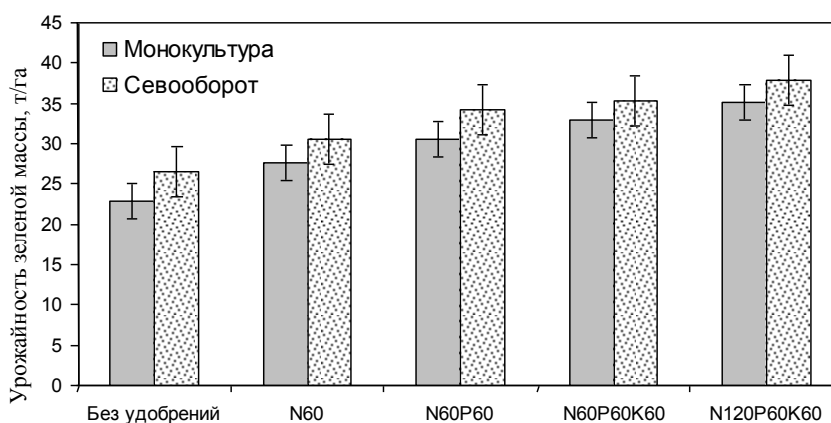


Рисунок 3. Урожайность зеленой массы кукурузы в монокультуре и за четыре ротации десятипольного севооборота, т/га (данные предоставлены А.Ф. Стулиным, ВНИИК)

Урожайность зерна (рис. 4) в севообороте – 3,3 т/га с колебаниями по годам от 1,8 до 4,7 т/га, а в монокультуре – 2,6 т/га (от 1,6 до 3,2 т/га). Прибавка урожайности кукурузы за счет севооборота по всем вариантам опыта в среднем за 46 лет была в пределах 7 – 17% для зеленой массы и 17 – 27% для зерна. За 46 лет исследований превосходство севооборота отмечено в вариантах с внесением полного минерального удобрения. Прибавки от внесения удобрений идентичны как в монокультуре, так и в севообороте.

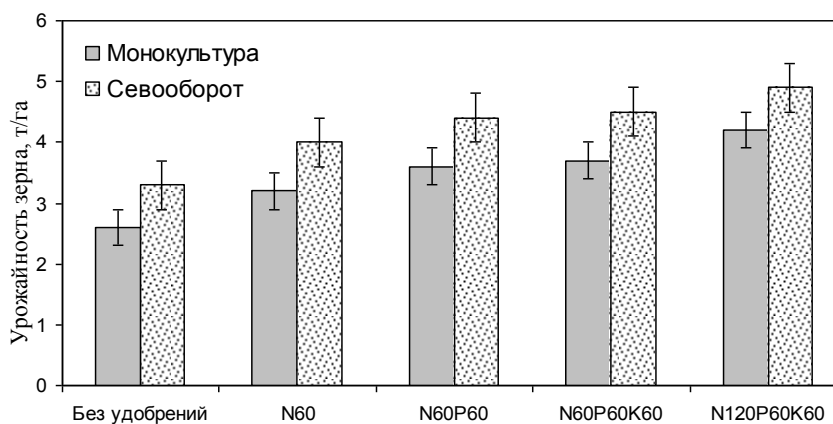


Рисунок 4. Урожайность зерна кукурузы в монокультуре и за четыре ротации десятипольного севооборота, т/га (данные предоставлены А.Ф. Стулиным, ВНИИК)

Таблица 2.

Урожайность сухого вещества кукурузы в монокультуре при многолетнем внесении удобрений, т/га

Варианты опыта	Средняя урожайность (46 лет), т/га	Min	Max	Прибавка	
				т/га	%
Без удобрений	5,7	3,7	8,6	-	-
N ₆₀	7,2	3,9	12,1	1,5	26
N ₆₀ P ₆₀	7,8	4,0	13,7	2,1	37
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	8,4	4,2	15	2,7	47
N ₁₂₀ P ₆₀ K ₆₀	9,1	4,3	15,5	3,4	60
НСР _{0,05}				0,7	

Таблица 3.

Урожайность зеленой массы кукурузы в монокультуре при многолетнем внесении удобрений, т/га

Варианты опыта	Средняя урожайность за годы проведения опыта (46 лет), т/га	Min	Max	Прибавка, т/га	Средняя урожайность за годы с недостаточным увлажнением (14 лет), т/га ГТК = 0,58	Прибавка, т/га	Средняя урожайность за годы с нормальным увлажнением (32 года), т/га ГТК = 1,05	Прибавка, т/га
N ₆₀	27,9	13,5	39,1	5,7	21,1	4,2	30,8	6,2
N ₆₀ P ₆₀	30,3	14,4	45,9	8,1	22,8	5,9	33,6	9,0
N ₆₀ P ₆₀ K ₆₀	32,7	14,8	49,8	10,5	24,2	7,3	36,3	11,7
N ₁₂₀ P ₆₀ K ₆₀	35,5	15,6	55,6	13,3	26,7	9,8	39,4	14,8
НСР _{0,05}				2,4		1,6		2,6

Данные предоставлены А.Ф. Стулиным, ВНИИК

Наибольший эффект дает совместное внесение азотных, фосфорных и калийных удобрений. В среднем, за 46 лет прибавка урожайности зеленой массы кукурузы от внесения N60P60K60 составила 47% (53% в благоприятные годы, 33% – в засушливые) (табл. 3). При увеличении дозы азота до 120 кг/га прибавка урожайности составила 60%.

За три исследуемых года 2011 – 2013, между ГТК за май - август и урожайностью зеленой массы кукурузы отмечена сильная корреляционная связь: $r = 0,73$ и $0,79$ для варианта без удобрений и с N60P60K60, соответственно. Корреляция урожая с ГТК аналогична зависимости урожая от количества осадков. Таким образом, погодные условия в период вегетации 2011 – 2013 гг. существенно влияли на продуктивность кукурузы в бессменном посеве и обуславливали эффективность удобрений.

Сравнение урожайности зеленой массы кукурузы в севообороте и монокультуре за три исследуемых года показало, что в контрольном варианте, как и в среднем по опыту она была выше в севообороте на 4,0 – 5,5 т/га (рис. 5). Преимущество севооборота наблюдалось даже тогда, когда в сравниваемых вариантах вносили полное минеральное удобрение. Предположительно, снижение урожайности в условиях монокультуры связано, главным образом, с формированием меньшей площади ассимиляционной поверхности. Сходные тенденции выявлены при анализе урожайности зерна: она была выше в севообороте на 0,3 – 0,7 т/га (рис. 6).

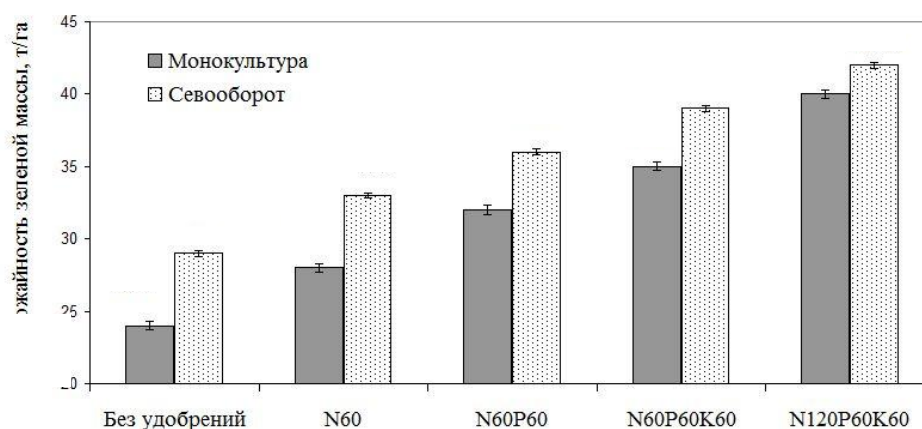


Рисунок 5. Урожайность зеленой массы кукурузы (2011 – 2013 гг.), т/га (данные предоставлены А.Ф. Стулиным, ВНИИК)

Применение минеральных удобрений во всех вариантах опыта позволило достоверно повысить урожайность – на 47% и более по сравнению с контролем. В целом, монокультура более отзывчива на применение минеральных удобрений. Прирост урожайности был в среднем на 14% больше, чем в сравниваемых вариантах севооборота. В 2012-2013 гг. внесение N60P60K60, фактически, поднимало урожайность зерна монокультуры кукурузы до уровня севооборота (рис. 6).

Обеспеченность почв питательными элементами в значительной мере обуславливала урожайность кукурузы. В течение всех 3-х лет наших исследований отмечен высокий

коэффициент корреляции (r) с урожайностью зеленой массы и зерна, соответственно: для подвижного фосфора $r = 0,73 - 0,78$; для подвижного калия $r = 0,77 - 0,76$; для минерального азота $r = 0,74 - 0,82$.

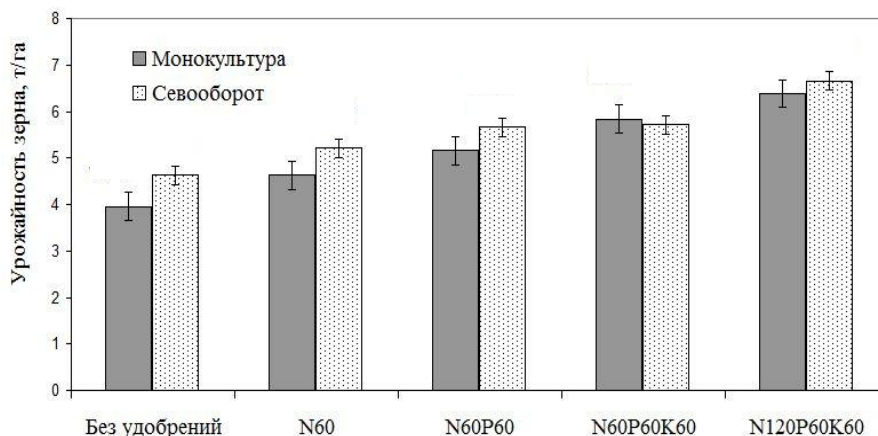


Рисунок 6. Урожайность зерна кукурузы (2012 – 2013 гг.), т/га (данные предоставлены А.Ф. Стулиным, ВНИИК)

3. Формирование микробного сообщества почвы под *Zea mays* L.

Численность микроорганизмов по всем вариантам опыта, включая архивный образец 1966 г, была достаточно высокой: $10^7 - 10^8$ клеток/г почвы для бактерий, до 76 мкг/г почвы для сапротрофных грибов и до 195 мкг/г почвы для арбускулярных микоризных грибов. Сапротрофные грибы, как мы считаем, и что также подтверждается данными других исследователей (Евдокимов и др., 2013), работающих на опыте ВНИИК, не играют ведущей роли в трансформации органического вещества почвы. Поступающий углерод корневых выделений и растительных остатков активно трансформируют бактерии и микоризные грибы.

В ходе исследования выявлено, что специфические условия, складывающиеся в ризосфере *Zea mays* L., оказывали влияние на распределение микроорганизмов и вызывали изменения их численности в сообществе.

Внесение полного минерального удобрения оказывало положительное влияние: к концу вегетационного периода численность бактерий увеличивалась до 3-х раз по сравнению с контролем. Однако увеличение дозы азота до 120 кг/га способствовало снижению численности в 1,2 – 1,8 раза по сравнению с N60P60K60. По всей вероятности, в мае при активном развитии бактерий складываются предпосылки для дальнейшей конкуренции между почвенным микробиоценозом и растениями за доступные питательные элементы и, главным образом, за азот. Это и приводит к уменьшению численности бактерий в осенний период, которые уступают в конкурентной борьбе за этот элемент крупным растениям кукурузы. Резервом азота для бактерий остается автохтонное органическое вещество почвы (гумус), откуда виды, способные к его разрушению,

«вытягивают» азот. Это объясняет тенденцию к уменьшению содержания углерода на фоне N120P60K60, отмеченную в 2012 – 2013 гг.

Динамика численности бактерий в ризосфере по сезонам 2012 и 2013 гг. существенно отличалась. В 2012 г. численность бактерий достоверно увеличилась (до 3,5 раз) в осенний период, достигнув максимума в варианте с внесением полного минерального удобрения (рис. 7). В 2013 г. статистически достоверное увеличение численности бактерий (до 3 раз) в ризосфере в осенний период зафиксировано только для вариантов N60 и N60P60 в монокультуре (рис. 8). По-видимому, это связано с погодными условиями, которые в 2013 г. по количеству осадков были менее благоприятными для роста и развития растений, а, следовательно, и для бактерий ризосферы.

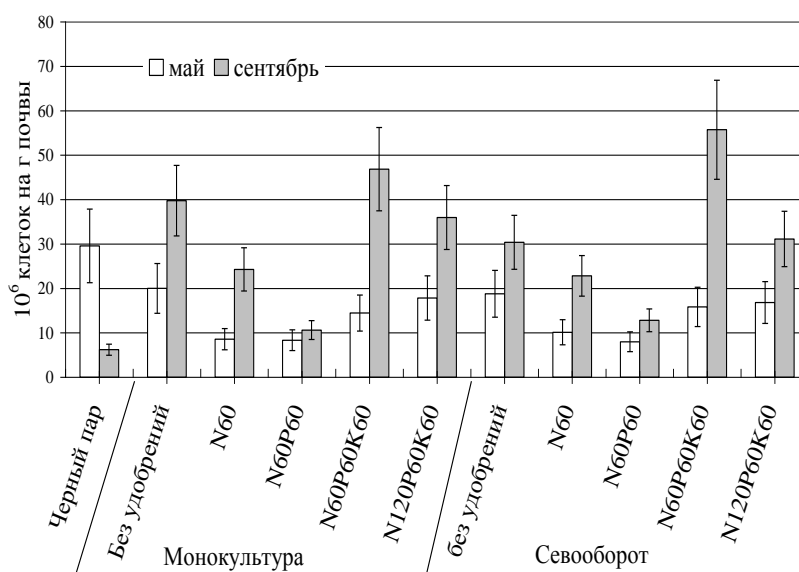


Рисунок 7. Численность бактерий в ризосфере кукурузы по данным ГХ-МС, 2012 г.

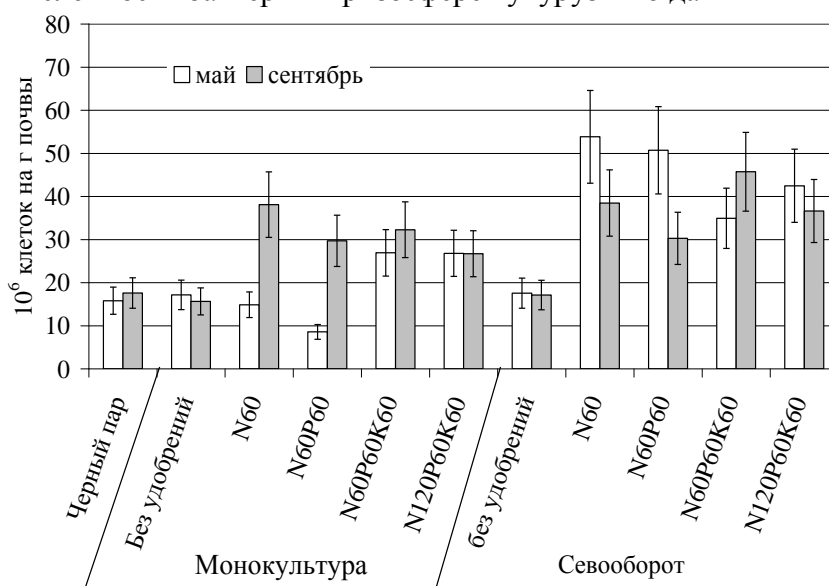


Рисунок 8. Численность бактерий в ризосфере кукурузы по данным ГХ-МС, 2013 г.

В наших исследованиях также зафиксирована значительная микоризация корней кукурузы. Биомасса арбускулярных микоризных (АМ) грибов в ризосфере значительно возрастала по сравнению с неризосферной почвой и была, в среднем в 4 – 9,5 раз больше к концу вегетационных периодов 2012 – 2013 гг. (рис. 9, 10).

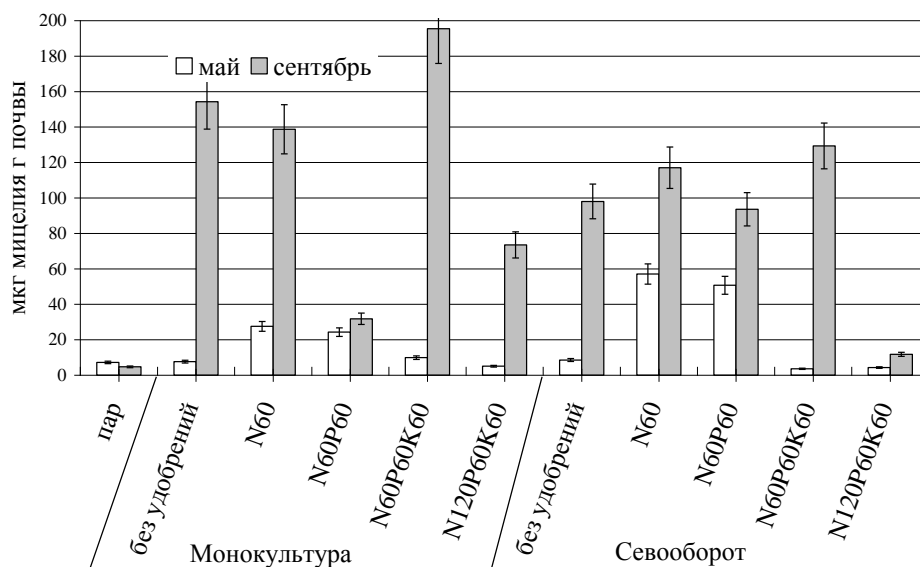


Рисунок 9. Биомасса АМ-грибов в ризосфере кукурузы по данным ГХ-МС, 2012 г.

Внесение полного минерального удобрения в целом оказывало достоверное положительное влияние на биомассу АМ-грибов: она увеличивалась в 1,3 – 3 раза по сравнению с контролем. Это связано с более благоприятными на фоне N60P60K60 условиями для роста и развития растений, а, следовательно, и для АМ-грибов, колонизирующих корни кукурузы. В свою очередь, АМ-грибы способны увеличивать поступление элементов минерального питания в растение и повышать продуктивность надземных частей и корней кукурузы.

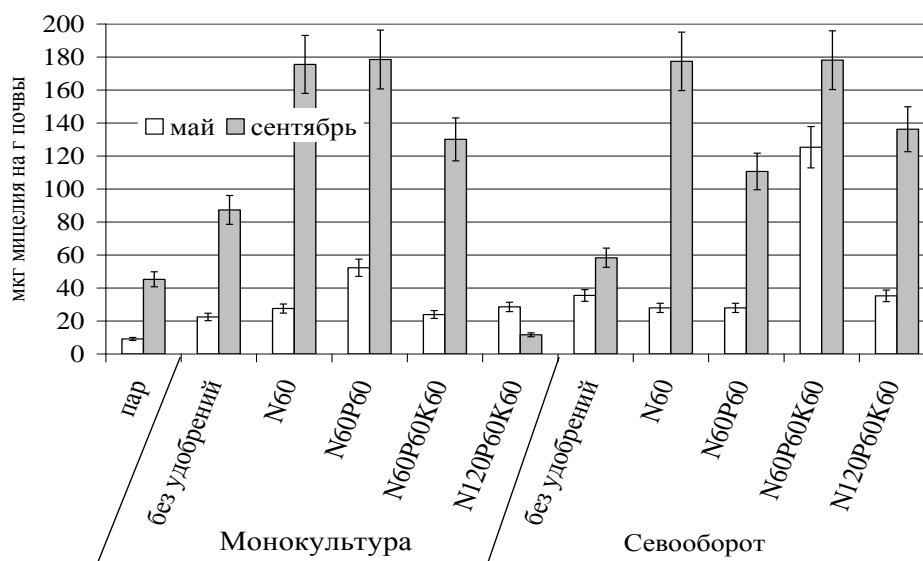


Рисунок 10. Биомасса АМ-грибов в ризосфере кукурузы по данным ГХ-МС, 2013 г.

В составе сообществ методом ГХ-МС наряду с сапротрофными грибами (по маркеру 18:2) и АМ-грибами (*Gigaspora* sp. по маркеру 20:1d11; *Glomus etunicatum* по маркеру i20 и *Glomus/Scutellospora* sp. по маркеру 16:1d11) реконструировано 47, 52 и 50 бактериальных видов, относящихся к 33, 38 и 37 родам, в 2011, 2012 и 2013 гг., соответственно, принадлежащих к пяти филумам – Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, Chlamydiae.

В основном в ризосфере *Zea mays* L. преобладают представители филума Actinobacteria – активные гидролитики. Среди них особо можно выделить доминирующую во всех исследуемых вариантах устойчивую аэробно-анаэробную ассоциацию *Mycobacterium/Rhodococcus* spp. – *Propionibacterium* spp., жизнедеятельность которой определяла трофические взаимоотношения всего почвенного ценоза, его взаимоотношения с растениями, влияла на физико-химические почвенные процессы. В целом, можно говорить о регулирующей роли этой ассоциации бактерий в агрофитоценозе кукурузы. Микобактерии и родококки – «мощные гидролитики» и легко разлагают сложные органические соединения в аэробных условиях (в агроценозе с кукурузой это корневые и пожнивные остатки, углеводы корневых выделений) и в такой доминирующей ассоциации поставляют более простые органические субстраты для метаболизма анаэробных бродильщиков *Propionibacterium* spp. Несмотря на то, что пожнивные остатки кукурузы содержат большое количество труднорастворимых соединений (отличаются широким соотношением C:N и содержат до 60% трудногидролизуемой фракций углеродсодержащих веществ), изучена способность микобактерий и родококков к образованию поверхностно-активных веществ, способствующих адгезии бактерий к субстрату и, за счет более экономичного расходования экзоферментов, к его гидролизу (Гоготов, 2006). Кроме того, микобактерии обладают антагонистической активностью в отношении к фитопатогенам, т.к. способны выделять антибиотики (Козловская, 1998; Egamberdieva, 2012). Виды *Propionibacterium* spp. также способны к переработке полимерных природных углеводов (целлюлозы), способны продуцировать антимикробные вещества (Barefoot et al., 1997). Среди субдоминантов из филума Actinobacteria отмечены аэробные *Arthrobacter* sp., *Nocardiopsis* sp., использующие в качестве источников углерода сложные полисахариды. Кроме этих видов в группе субдоминантов были определен также такой мощный целлюлолитик, как факультативный анаэроб *Actinomyces* sp., известный как продуцент антибиотиков (Егоров, 1994).

В филуме Proteobacterium зафиксировано возрастание численности факультативно анаэробного вида *Aeromonas hydrophila*, способного разлагать целый ряд целлюлоз и лигнин (Hamzah et al., 2010). Также для всех исследуемых вариантов характерно увеличение численности ассоциативного аэробного азотфиксатора *Acetobacter* sp., который

может выделять ряд ростостимулирующих фитогормонов (например, индолилуксусную кислоту). В филуме Firmicutes (для вариантов с удобрениями) увеличивалась численность видов *Butyrivibrio* spp. и *Clostridium* spp., обеспечивающих переработку углеводов растительных остатков в анаэробных условиях. В филуме Bacteroidetes отмечены активные гидролитики *Cytophaga* sp. и *Bacteroides* spp., способные ферментировать гемицеллюлозу. Таким образом, было отмечено, что в составе микробных сообществ в ризосфере *Zea mays* L. складывался специфический гидролитический комплекс, где преобладали преимущественно представители филогенетических групп Actinobacteria, Proteobacteria и Firmicutes, способные к активной деструкции трудноразлагаемых растительных остатков.

Для более полного представления о процессах трансформации основных питательных элементов отметили присутствующие в составе микробоценозов виды, существенно повышающие доступность растениям почвенного фосфора, калия и азота. Среди микроорганизмов, обладающих способностью переводить нерастворимые соединения фосфорной кислоты в растворимое состояние, в исследуемой почве отмечены *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. vesicularis*, *Mycobacterium* sp., а также фосфатмобилизующий ассоциативный азотфиксатор *Agrobacterium radiobacter*. Бактерии, способные к увеличению подвижности соединений калия, были представлены *Propionibacterium* spp. и *Arthrobacter* sp., экзометаболические продукты которых (слизи) способствуют переходу калия в раствор (Goel et al., 2008). Важная роль в цикле азота принадлежит азотфиксаторам: в исследуемой почве присутствовали аэробные (*Acetobacter* sp.) и анаэробные (*Clostridium pasteurianum*) азотфиксаторы.

Ожидаемого обеднения и изменения качественного состава микробного сообщества в почве под бессменными посевами кукурузы зафиксировано не было. Однако, в течение 46 лет возделывания монокультуры кукурузы (если судить по архивному образцу 1966 г.) микробоценоз перестраивался (рис. 11).

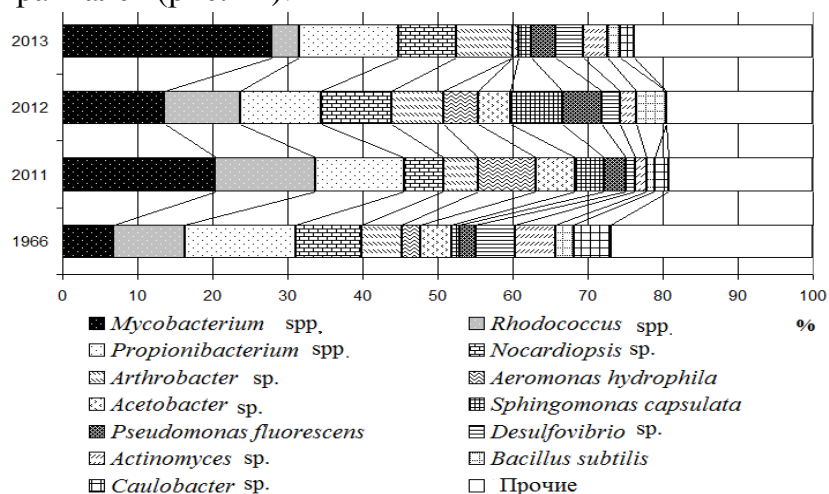


Рисунок 11. Структура микробных сообществ почвы под монокультурой кукурузы по данным ГХ-МС, 1966, 2011 – 2013 гг.

Это выразилось в снижении количества субдоминантных групп в сообществе, а доминантные в 3-4 раза увеличили свою численность. По экологическому показателю – индексу выравненности Бергера-Паркера – произошло увеличение монодоминирования. С экологических позиций такое положение можно считать неблагоприятной тенденцией. Однако, не изменившееся в целом число видов бактерий в сообществе за период 46-летнего монокультуривания, позволяет утверждать, что под монокультурой кукурузы сформировалось специфическое многовидовое микробное сообщество, в котором выделилась крупная аэробно-анаэробная регулирующая ассоциация с высоким адаптивным потенциалом, способным к противодействию почвоутомлению.

Чтобы оценить влияние севооборота, сравним микробные сообщества почвы под кукурузой при бессменном возделывании и после чередования культур – в нашем случае, кукуруза (*Zea mays*) после вико-овса (*Vicia sativa* – *Avena sativa*). Однако, вопреки ожиданиям, существенной разницы в структуре микробного комплекса почвы различных вариантов опыта в монокультуре и севообороте не было выявлено (рис. 12).

Севооборот не оказал специфического влияния на структуру микробного сообщества, было лишь отмечено, что в условиях монокультуры микробоценоз более восприимчив к применению минеральных удобрений. Это выражалось в перераспределении численности и соотношении доминирующих в сообществах популяций бактерий, обеспечивающих минерализацию растительных остатков и потребление углеводов корневых экссудатов растений.

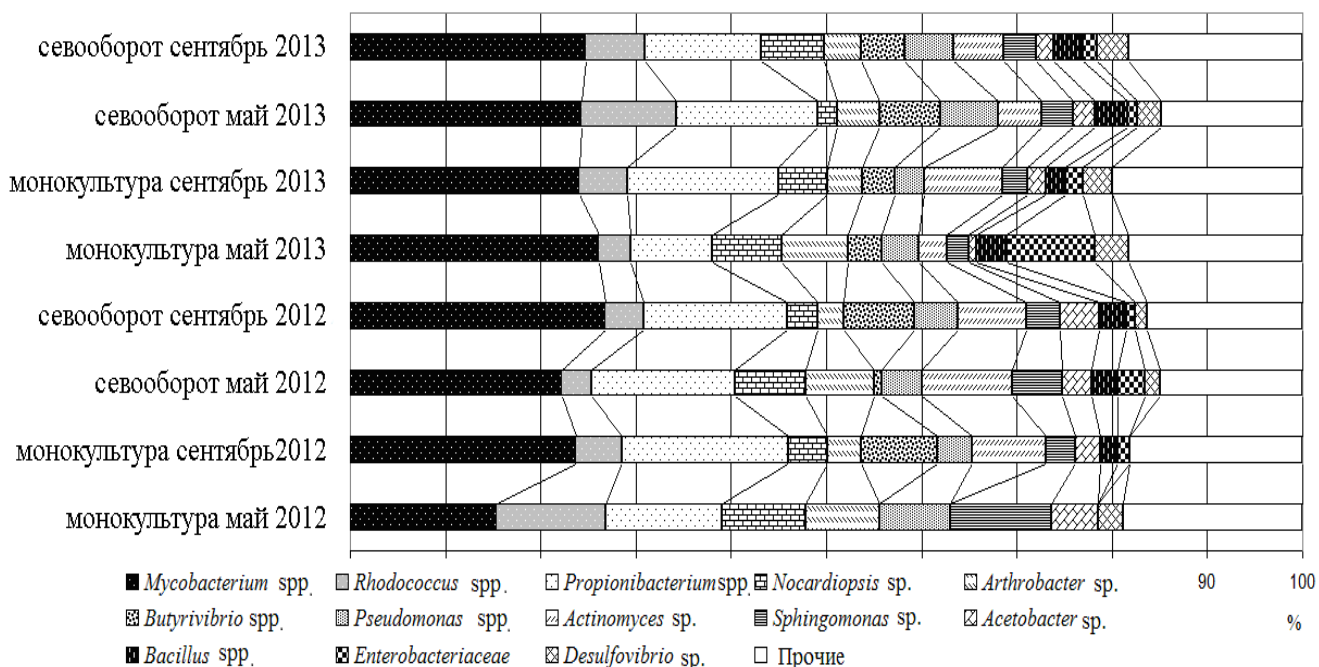


Рисунок 12. Структура микробных сообществ почвы под монокультурой кукурузы и в севообороте по данным ГХ-МС, 2012 – 2013 гг.

Сравнительный анализ видового богатства бактерий на участках с использованием коэффициента Джакарта показал большое сходство в парах (монокультура – севооборот) в вегетационные периоды 2012 и 2013 гг. Таким образом, по количеству видов микробные сообщества почвы практически не отличались. Индекс биоразнообразия (Шеннона) во всех вариантах опыта высокий (до 6), что свидетельствует о выравненности и стабильности микробных сообществ. В конце вегетационного периода индекс заметно возрастал (в 1,2 – 1,4 раза). По-видимому, это связано с большим развитием корневой системы и, соответственно, характером корневых выделений кукурузы в сентябре, которые обеспечили развитие определенных видов потребляющих их бактерий.

4. Влияние удобрений на микробное сообщество

Соотношение аэробных и анаэробных бактерий, как в монокультуре, так и в севообороте, в среднем составляло 0,8 – 1, достигая максимума 1,4 в вариантах с N120P60K60. Увеличение дозы азота до 120 кг/га стимулировало развитие аэробных микроорганизмов и приводило к минерализации автохтонного органического вещества почвы. Это подтверждают агрохимические показатели. Увеличение анаэробной составляющей в остальных вариантах (в особенности при применении N60P60K60) способствовало большей стабильности органического вещества почвы, которое анаэробные виды микроорганизмов не минерализуют до конечных продуктов, т.е. не происходит его разрушения.

Подробное рассмотрение структуры микробных сообществ, показало, что на фоне внесения полного минерального удобрения происходила перестройка структуры микробных сообществ (рис. 13). В целом, уменьшалась в 1,3 – 8 раз доля аэробных микобактерий, а количество анаэробных пропионовых бактерии возрастало в 1,3 – 1,9 раз.

Следует отметить, что закономерности влияния N60P60K60 отличались в 2012 и 2013 гг. Скорее всего значительный эффект оказывали погодные условия. В 2012 г. благоприятном по температурному и влажностному режиму (ГТК=1,37) изменения микробоценоза не так значительны, как в засушливом 2013 г. (ГТК=0,81), где удобрение выступало мощным регулирующим фактором структуры. Это подтвердили данные кластерного анализа. Показано сближение состава микробных сообществ почв контрольных вариантов без внесения минерального удобрения в начале и в конце вегетационного периода 2013 г., тогда как во влажном 2012 г. в отдельные кластеры выделяются варианты, отобранные в один сезон.

Расчет индекса Шеннона за 2012, 2013 гг. показал, что в целом, в мае применение полного минерального удобрения привело к снижению биоразнообразия микробных сообществ, а в конце вегетационного периода в сентябре наблюдалась обратная закономерность – N60P60K60 способствовало его увеличению.

Таким образом, в целом N60P60K60 положительно влияло на разнообразие и сбалансированность микробиологических процессов в ризосфере кукурузы. Повышение дозы азота (вариант N120P60K60) в большинстве случаев оказывало негативное влияние на разнообразие микроорганизмов.

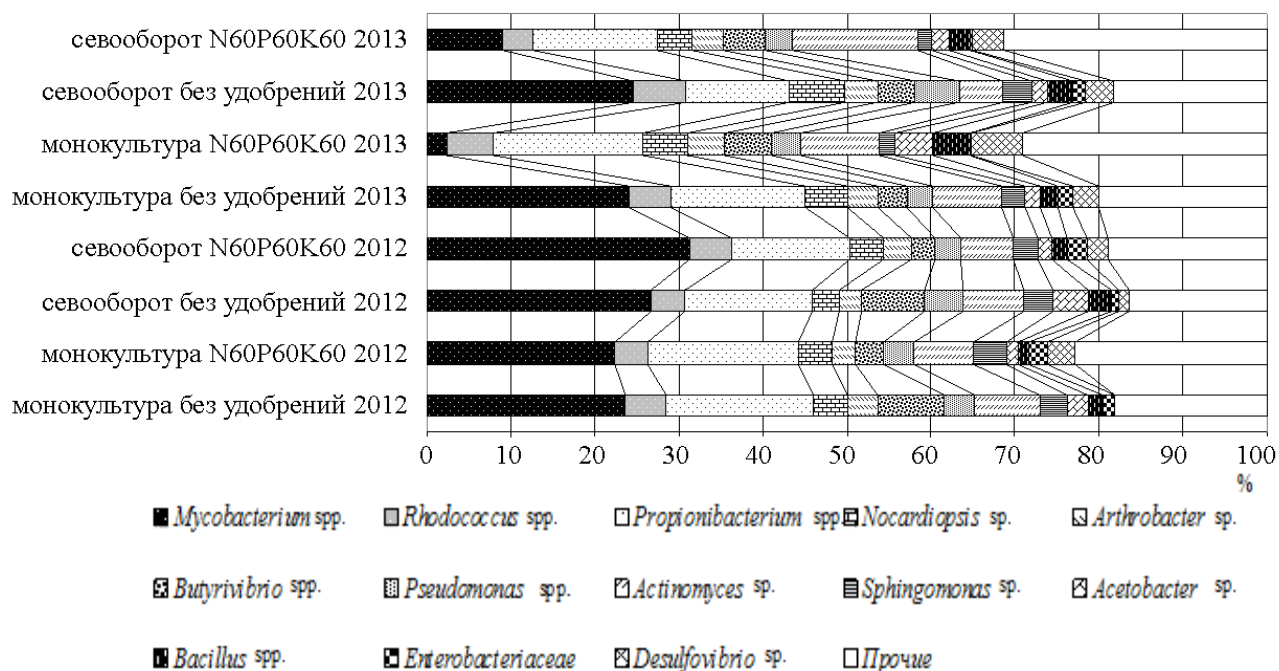


Рисунок 13. Структура микробных сообществ почвы под монокультурой кукурузы и в севообороте по данным ГХ-МС, сентябрь 2012 – 2013 гг.

5. Взаимосвязь микробиоценоза с урожайностью кукурузы, агрохимическими показателями и устойчивостью агроценоза

Для оценки взаимосвязи микробиологических (численность бактерий, биомасса АМ-грибов и сапротрофных грибов), агрохимических ($C_{\text{орг}}$, $N_{\text{общ}}$, pH_{KCl} , P_2O_5 , K_2O , NH_4^+ , NO_3^-) показателей и урожайности был проведен анализ главных компонент. Диагностировали обособленность вариантов без внесения удобрений и N60. Отдельно выделяется группа с полным минеральным удобрением (N120P60K60 и N60P60K60). Урожайность, главным образом, определялась содержанием азота, фосфора и калия в почве, микробиологические показатели охватывали примерно 25% общего варьирования измеряемых показателей.

По данным корреляционного анализа выявлена средняя положительная связь между урожайностью кукурузы и численностью микроорганизмов в 2013 г. ($r = 0,53$). В 2012 г. степень взаимосвязи слабая ($r = 0,45$). Высокая продуктивность кукурузы (и в монокультуре и в севообороте) на фоне полного минерального удобрения способствовала повышению численности микроорганизмов и биомассы АМ-грибов к концу вегетации растений до 3 раз по сравнению с контролем, увеличению разнообразия микробиоценоза и сбалансированности микробиологических процессов в ризосфере кукурузы, обеспечивающих устойчивость агроценоза. По-видимому, это связано с более

благоприятными на фоне N60P60K60 условиями для роста и развития растений, и, следовательно, дополнительным поступлением в почву корневых экссудатов.

ВЫВОДЫ

1. Кукуруза в монокультуре более отзывчива на применение минеральных удобрений, по сравнению с севооборотом. В целом, применение N60P60K60 позволяет достоверно повысить её урожайность – на 47% и более по сравнению с контролем.

2. Обеспеченность почв питательными элементами в значительной мере обуславливает урожайность кукурузы. В течение всех 3-х лет наших исследований отмечен высокий коэффициент корреляции (r) с урожайностью зеленой массы и зерна, соответственно: для подвижного азота $r = 0,74 - 0,82$, фосфора $r = 0,73 - 0,78$ и калия $r = 0,77 - 0,76$.

3. Высокая продуктивность кукурузы (в монокультуре и в севообороте) на фоне полного минерального удобрения способствовала увеличению численности микроорганизмов к концу вегетации и увеличению разнообразия микробоценоза.

4. Длительное внесение полного минерального удобрения, в целом, оказывало достоверное положительное влияние на биомассу арбускулярных микоризных грибов. Она увеличивалась в 1,3 – 3 раза по сравнению с контролем.

5. Обнаружено положительное влияние полного минерального удобрения на разнообразие и сбалансированность микробиологических процессов в ризосфере кукурузы.

6. Севооборот не оказал специфического влияния на структуру микробного сообщества, но показано, что в условиях монокультуры микробоценоз более отзывчив на минеральные удобрения – происходит перераспределение численности и соотношения доминирующих в сообществах популяций микроорганизмов, обеспечивающих минерализацию растительных остатков и потребление углеводов корневых экссудатов растений, т.е. микробоценоз адаптируется.

7. Адаптивный потенциал сформировавшегося под монокультурой кукурузы специфического многовидового микробного сообщества достаточно высок, что позволяет говорить о его противодействии почвоутомлению.

8. В целом, микробный комплекс чернозема обладает большой устойчивостью. При длительном возделывании кукурузы (в монокультуре и в севообороте) сложилась специфическая устойчивая аэробно-анаэробная ассоциация *Mycobacterium* spp./*Rhodococcus* spp. – *Propionibacterium* spp. и специфический ценоз гидролитически активных микроорганизмов которые обеспечивают поддержание гомеостатического состояния агроценоза в отношении органического вещества.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Романычева, А.А. Сравнительный анализ структуры микробного сообщества и количества водопрочных агрегатов чернозема выщелоченного/ А.А. Романычева, О.М. Селиверстова, Н.В. Верховцева, Е.Ю. Милановский // Проблемы агрохимии и экологии. — 2013. — № 3. — С. 30–34.
2. Романычева, А.А. Изменение микробного сообщества чернозема выщелоченного под посевами кукурузы при длительном применении минеральных удобрений/ А.А. Романычева, А.Ф. Стулин, Н.В. Верховцева // Плодородие. — 2013. — № 6. — С. 43–45.
3. Стулин, А.Ф. *Zea mays* L. в монокультуре и севообороте в условиях Центрального Черноземья/ А.Ф. Стулин, А.А. Романычева, Н.В. Верховцева // Проблемы агрохимии и экологии. — 2014. — № 2. — С. 12 – 18.

Публикации в прочих изданиях

4. Романычева, А.А. Изменение структуры микробного сообщества чернозема выщелоченного при длительном внесении удобрений в бессменном посеве кукурузы (*Zea mays*) / А.А. Романычева, О.М. Селиверстова, Н.В. Верховцева // Сборник научных трудов Государственного университета по землеустройству «Проблемы техносферной безопасности и геоэкологии в новых условиях развития России». – М.: ГУЗ. – 2013. – С. 24 – 31.
5. Романычева, А.А. Изучение микробоценоза ризосферы *Zea mays* при возделывании её как монокультуры на черноземе выщелоченном/ А.А. Романычева, О.М. Селиверстова // Материалы XIX Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2012»: Секция "Почвоведение". – М.: МАКС Пресс. – 2012. – С. 178 – 179.
6. Романычева, А.А. Микробное сообщество чернозема выщелоченного при возделывании кукурузы (*Zea mays*) в качестве монокультуры/ А.А. Романычева // Биология – наука XXI века. – Пушкино. – 2012. – С. 213 – 214.
7. Романычева, А.А. Сравнительный анализ структуры микробного сообщества и количества водопрочных агрегатов чернозема выщелоченного / А.А. Романычева, О.М. Селиверстова, Н.В. Верховцева, Е.Ю. Милановский // Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2013. – С. 183.
8. Романычева, А.А. Влияние длительного применения удобрений на структуру микробного сообщества чернозема выщелоченного при возделывании кукурузы (*Zea mays*) / А.А. Романычева, О.М. Селиверстова // Материалы XX Международной научной

конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2013»: Секция "Почвоведение". – М.: МАКС Пресс. – 2013. – С. 35 – 36.

9. Романычева, А.А. Влияние длительного применения удобрений на агрохимические и микробиологические свойства чернозема выщелоченного и урожайность кукурузы, возделываемой бесменно и в севообороте/ А.А. Романычева // Материалы XXI Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2014»: Секция "Почвоведение". – М.: МАКС Пресс. – 2014. – С. 145 – 146.

10. Романычева А.А. Эколого-трофические исследования микробного разнообразия чернозема выщелоченного при длительном культивировании монокультуры кукурузы/ А.А. Романычева // Труды третьей международной научно-практической конференции молодых ученых «Индикация состояния окружающей среды: теория, практика, образование». – М.: Буки-Веди. – 2014 – С. 144 – 147.