



Сторінка молодого вченого

УДК 631.427.2

© 2024

ЗМІНИ СТРУКТУРИ УГРУПОВАНЬ МІКРОМІЦЕТІВ У ЧОРНОЗЕМІ ОПІДЗОЛЕНОМУ ПІСЛЯ ОБРОБКИ ХІМІЧНИМИ І БІОЛОГІЧНИМИ ФУНГІЦИДАМИ*

Я.В. Гетьман

*Національний науковий центр «Інститут ґрунтознавства
та агрохімії імені О.Н. Соколовського»*

вул. Чайковська, 4, м. Харків, 61024, Україна

e-mail: soils.mycology@gmail.com; ORCID: 0000-0001-8365-9772

**Науковий керівник — кандидат біологічних наук О.Є. Найдюнова*

Надійшла 17.04.2024

Мета. Проаналізувати динаміку змін показників, що характеризують видову структуру та біорізноманіття ґрунтових мікроміцетів після обробки поверхні ґрунтової маси чорнозему опідзоленого різними хімічними і біологічними фунгіцидами. **Методи.** Лабораторний модельний дослід (2022 р.) — для вивчення ступеня і тривалості впливу різних фунгіцидів (хімічні — Альфа Стандарт, Фолькур, Квадріс; біологічні — Триходермін, Хетолік) на структуру мікобіоти; методи мікроскопії — для видової ідентифікації мікроміцетів; математико-статистичні — для визначення відносного достатку кожного виду у варіантах, ступеня впливу на ґрибні угруповання розрахунком індексів домінування (Бергера-Паркера) і різноманіття (Шеннона), установлення значущості відмінностей у структурі угруповань у варіантах методом дисперсійного аналізу PERMANOVA. **Результати.** Установлено, що одноразова обробка поверхні ґрунту рекомендованими для обприскування рослин у період вегетації дозами хімічних і біологічних фунгіцидів істотно вплинула на структуру угруповання мікроміцетів чорнозему опідзоленого. Значущість цих змін доведена за допомогою багатофакторного дисперсійного аналізу для непараметричних даних PERMANOVA. За дії хімічних фунгіцидів різко скорочувалася чисельність видів *Penicillium albidum* та *P. charlesii*. **Висновки.** Обробка фунгіцидами призвела до дестабілізації структури угруповань мікроміцетів чорнозему опідзоленого. На 5-ту добу всі досліджувані фунгіциди змінили співвідношення чисельності окремих видів, відмінності спостерігалися й на 110-ту добу. У контрольному ґрунті з часом чисельність мікроміцетів різних видів вирівнювалася, проте в обробленому фунгіцидами ґрунті чисельність ґрибів одних видів різко скорочувалася, інших — навпаки, зростала, індекс

домінування Бергера-Паркера на 110-ту добу після обробки був удвічі вищим порівняно з контролем, що свідчить про пригнічувальний вплив фунгіцидів на більшість видів. За обробки біологічними фунгіцидами зміни структури мікоценозів були слабкішими. Виявлено найчутливіші до дії хімічних фунгіцидів види, які є перспективними як біоіндикатори фунгіцидного забруднення.

Ключові слова: ґрунтові гриби, мікобіом, видовий склад, біорізноманіття, відносний достаток видів, біопрепарати фунгіцидної дії.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202405-09>

Фунгіциди відіграють ключову роль у боротьбі з хворобами рослин, однак, є небезпека можливих наслідків їх застосування. Крім дії на фітопатогенні мікроміцети, фунгіциди часто негативно впливають на всю ґрунтову біоту, зокрема угруповання грибів, що може призвести до змін властивостей ґрунтів агроєкосистем і зниження продуктивності рослин [1]. Тому потрібно оцінювати наслідки застосування фунгіцидів в аграрному секторі і шукати безпечніші для навколишнього середовища альтернативи.

Науковці активно вивчають вплив фунгіцидів на нецільові ґрунтові організми, зокрема мікроміцети. Нерозуміння цього впливу може мати негативні наслідки для стійкості агроєкосистем, яка значною мірою залежить від їх біорізноманіття.

Дія фунгіцидів не є вибірковою, разом із фітопатогенними грибами можуть пригнічуватися інші ґрунтові гриби, що спричиняє небажані зміни властивостей ґрунту і зниження його родючості. Ґрунтові мікроміцети як компонент мікробних ценозів ґрунтів беруть участь у процесах ґрунтоутворення та колообігу речовин в агроєкосистемах, виконують екологічні функції, найбільш важливою з яких є розкладання органічних речовин. Пригнічення фунгіцидами ґрунтових мікроміцетів може спричинити втрати збалансованості процесів біодеструкції та біосинтезу органічної речовини ґрунту. Крім того, гриби захищають рослини від посухи, регулюють фітосанітарний стан ґрунту, відіграють істотну роль у процесах самоочищення забруднених ґрунтів [2–6]. Зниження чисельності, зміни видової структури та втрата біорізноманіття грибних угруповань впливають на якість і здоров'я ґрунтів.

Дослідниками встановлено, що під впливом фунгіцидів угруповання ґрунтових мікроміцетів змінюються, перебудовується їхня структура, звужується видова різноманітність [7–9].

Одними з найбільш розповсюджених діючих речовин, на основі яких створено фунгіциди, застосовувани в Україні й світі, є карбендазими, тебуконазол і азоксистробін. Установлено, що із застосуванням карбендазиму змінилися домінувальні види в грибних і бактеріальних угрупованнях ґрунту й значно зменшилося їх видове різноманіття [10, 11]. У публікаціях [12–14] показано, що триазольні фунгіциди, зокрема тебуконазол, можуть виявляти токсичність до нецільових організмів. Доведено, що азоксистробін впливає на нецільові ґрунтові гриби, може зменшувати різноманітність мікроміцетів ґрунту за використання в рекомендованій дозі, навіть після 21 дня після застосування [15], змінювати структуру угруповань грибів у пробах ґрунту, інкубованих до 3 міс. [16, 17].

Попри наявні результати досліджень впливу фунгіцидів на нецільові ґрунтові організми відомості про реакції мікроміцетів на дію фунгіцидів у певних типах ґрунтів залишаються фрагментарними, тому потребують подальшого дослідження.

Мета досліджень — проаналізувати динаміку змін показників, що характеризують видову структуру та біорізноманіття ґрунтових мікроміцетів після обробки поверхні ґрунтової маси чорнозему опідзоленого різними хімічними й біологічними фунгіцидами.

Матеріали та методи досліджень. Дослід проводили в 2022 р. Ґрунтову масу для лабораторно-модельного досліді відбирали із шару ґрунту 0–25 см ділянки без

унесення добрив у стаціонарному польовому досліді на території ДП «ДГ «Граківське» (с. Новий Коротич Харківського р-ну Харківської обл.). Ґрунт — чорнозем опідзолений важкосуглинковий, який просіювали через сито з діаметром отворів 0,5 см і поміщали по 500 г у пластикові контейнери. Поверхню ґрунту в контейнерах обробляли 5 різними фунгіцидами в дозах, рекомендованих для обробки рослин у період вегетації. Контролем був необроблений ґрунт. Дослід закладали в 3-разовій повторності. Далі контейнери поміщали в термостат і компостували за температури 30° С упродовж 110 діб.

Застосували такі хімічні однокомпонентні фунгіциди на основі різних діючих речовин: Альфа Стандарт (виробник ALFASmartAgro), діюча речовина — карбендазим, 500 г/л (хімічної групи безимідазолів); Фолікур (виробник Bayer), діюча речовина — тебуконазол, 250 г/л (хімічної групи триазолів); Квадріс (виробник Syngenta), діюча речовина — азоксистробін, 250 г/л (хімічної групи стробілуринів). Як альтернативу хімічним застосовували біологічні фунгіциди на основі грибів, що мають антагоністичні властивості до збудників хвороб: Триходермін (виробник ТОВ «Біоцентр»), діючий агент — гриб-антагоніст *Trichoderma viride* і Хетомік (виробник Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН), діючий агент — гриб-антагоніст *Chaetomium cochliodes*.

Проби ґрунтової маси для досліджень відбирали з контейнерів через 5; 20; 40 і 110 діб компостування після одноразової обробки її поверхні фунгіцидами. Ґрунтові мікроміцети висівали на живильні середовища Чапека і Ріхтера, чашковим методом виділяли в чисті культури і вивчали методом мікроскопії [18]. Види ідентифікували за фізіолого-культуральними, макро- та мікроморфологічними ознаками [19, 20]. Відносний достаток виду визначали як співвідношення чисельності конкретного виду до загальної кількості мікроміцетів у ґрунті кожного варіанта [21]. Значущість відмінностей видового складу угруповань — за допомогою багатфакторного

дисперсійного аналізу для непараметричних даних PERMANOVA [22], для побудови ординації застосовували метод неметричного багатовимірного шкалювання (non-metric multidimensional scaling (NMDS)) [23, 24]. Міру нерівності між видами угруповань показано за допомогою індексу домінування Бергера-Паркера [25], аналіз біорізноманіття ґрунтових мікроміцетів проводили з обчисленням індексу Шеннона [26].

Результати досліджень. Із чорнозему опідзоленого важкосуглинкового нами виділено 18 видів ґрунтових мікроміцетів. Найбільшою кількістю видів був представлений рід *Penicillium*, який налічував 9 видів.

На 5-ту добу в ґрунті, обробленому всіма фунгіцидами, знизилася чисельність домінувального на контролі виду *Penicillium janthinellum*, чисельність деяких інших видів мікроміцетів, навпаки, зросла. Усі фунгіциди знизили чисельність фітопатогенного виду *Fusarium oxysporum*, найбільш істотно — Тебуконазол і Хетомік. Загальною закономірністю було також зменшення відносного достатку видів *Penicillium albidum*, *P. charlesii* і *P. minioluteum*. У ґрунті, обробленому біологічними фунгіцидами, переважали інші види.

На 20-ту добу компостування відзначено істотно нижчий відносний достаток видів мікроміцетів *P. charlesii* і *P. minioluteum* за дії всіх фунгіцидів. У ґрунті, обробленому біологічними фунгіцидами і карбендазимом, домінували інші види мікроміцетів, ніж у контрольному ґрунті.

На 40-ву добу в контрольному ґрунті спостерігалася подальша тенденція до вирівнювання відносного достатку всіх видів. У ґрунті, обробленому фунгіцидами, відзначено зворотну тенденцію. Відносний достаток *P. albidum* і *P. charlesii* залишається нижчим за дії всіх фунгіцидів, проте ступінь зниження щодо контролю за дії біологічних фунгіцидів є меншим, а відносний достаток *P. minioluteum* нижчим, ніж у контрольному ґрунті, лише за дії хімічних фунгіцидів.

На 110-ту добу після обробки в контрольному ґрунті простежувалася подальша тенденція до вирівнювання розподілу

видів мікроміцетів за їх відносним достатком, проте за впливу фунгіцидів посилюється домінування одних видів (*P. janthinellum*) і значно знизився відносний достаток інших видів ґрунтових грибів (*Aspergillus sp.*, *T. trachyspermus*, а також *P. albidum* і *P. Charlesii*), причому ступінь пригнічення останніх знову був меншим за дії біологічних фунгіцидів.

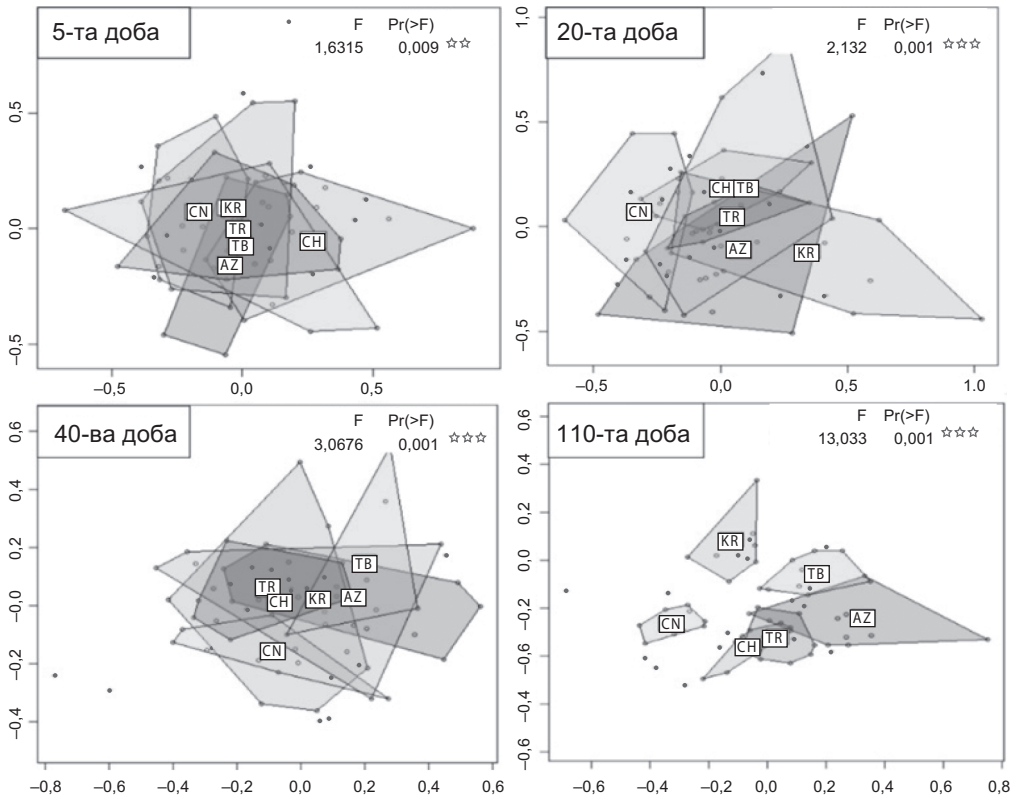
Наявність значущих відмінностей між варіантами за всіх строків спостережень встановлено за результатами аналізу PERMANOVA, про що свідчать значно менші за порогове значення (0,05) значення $Pr(>F)$ (рисунок).

Ординація, побудована за допомогою методу NMDS, дає можливість виокремити площини, які демонструють положення угруповань різних варіантів відносно один одного. На 5-ту добу компостування

спостерігалася скупченість площин, які перетиналися з площиною контролю, що свідчить про відносну схожість структур угруповань мікроміцетів (див. рисунок).

Далі спостерігається тенденція до розрідженості, що свідчить про наростання відмінностей між ними. На 110-ту добу площини всіх варіантів з обробкою фунгіцидами максимально відокремлюються від контролю. Це означає, що попри ідентичність за набором видів угруповання значно різняться за структурою.

Міру нерівності між угрупованнями за чисельністю мікроорганізмів кожного виду нами показано за допомогою індексу домінування Бергера-Паркера. На 5-ту добу компостування угруповання мікроміцетів контрольного ґрунту характеризувалося найвищим значенням індексу, для угруповань ґрунту у варіантах, оброблених



Ординація NMDS, яка відображає положення угруповань мікроміцетів після обробки поверхні ґрунту фунгіцидами: CN – контроль; AZ – азоксистробін; KR – карбендазим; TR – Триходермін; TB – тебуконазол; CH – Хетомік

1. Значення індексу домінування Бергера-Паркера

Час після обробки, доба	Контроль	Карбендазим	Тебуконазол	Азоксистробін	Триходермін	Хетомік
5	0,165	0,130	0,133	0,125	0,142	0,139
20	0,125	0,129	0,109	0,169	0,108	0,121
40	0,095	0,135	0,139	0,162	0,128	0,108
110	0,076	0,147	0,142	0,167	0,135	0,116

фунгіцидами, індекси мали нижчі значення, причому найнижчими вони були за обробки хімічними фунгіцидами, за дії біологічних препаратів були дещо вищими (табл. 1).

Якщо розглядати зміну індексу домінування Бергера-Паркера за кожним варіантом у часі, можна відзначити, що його значення для контрольного варіанта з часом зменшується, а для варіантів з обробкою ґрунту хімічними фунгіцидами за останні терміни спостережень, навпаки, збільшується. Індекси, розраховані для варіантів з обробкою біологічними фунгіцидами, порівняно з першим строком спостережень так, як і для контролю, знижуються, але меншою мірою. Значення індексу для варіантів з використанням хімічних фунгіцидів на 110-ту добу були вдвічі вищими за показник контролю. Це означає, що умови середовища сприятливі лише для кількох видів мікроміцетів, інші перебувають у пригніченому стані. Найнижче значення індексу на 110-ту добу після обробки фунгіцидами було у варіанті з використанням фунгіциду Хетомік, що свідчить про більш сприятливі умови існування порівняно з варіантами, де ґрунт обробляли хімічними фунгіцидами.

Аналіз різноманіття ґрунтових мікроміцетів за допомогою індексу Шеннона показав, що його значення у варіантах з обробкою хімічними фунгіцидами впродовж

усього періоду спостережень були нижчими порівняно з показником контрольного ґрунту (табл. 2).

Спочатку різниця була малопомітною, але згодом вона збільшувалася. У варіантах з обробкою біологічними фунгіцидами в перші 2 строки спостережень індекси Шеннона були незначно вищими за показники контрольного ґрунту, у 2 останніх строки також мали дещо нижчі значення, але вищі, ніж відповідні значення у варіантах з обробкою хімічними фунгіцидами.

Слід зауважити, що значення індексу Шеннона зростає зі збільшенням кількості видів і збільшенням рівності між ними за чисельністю видів. Тобто індекс Шеннона тим вищий, чим більша загальна кількість видів або більша частка тих із них, які представлені значною чисельністю. У нашому випадку кількість видів у жодному варіанті дослідження не змінювалася, змінювалася лише їх чисельність. На рівні багатства видів критерій різноманітності очевидний — чим більше видів, тим більша їх різноманітність, але різноманітність підвищується також і зі зростанням вирівняності. Щодо складності угруповання критерій різноманітності не є таким очевидним. Чим рівномірніше розподілені види за їх чисельністю, тим різноманітнішим є угруповання. Підвищення з часом індексу Шеннона на контролі відбувається саме за рахунок підвищення

2. Значення індексу різноманітності Шеннона

Час після обробки, доба	Контроль	Карбендазим	Тебуконазол	Азоксистробін	Триходермін	Хетомік
5	2,69	2,68	2,61	2,67	2,71	2,71
20	2,76	2,68	2,69	2,65	2,79	2,79
40	2,84	2,69	2,65	2,67	2,74	2,79
110	2,85	2,66	2,62	2,64	2,72	2,74

Висновки

Одноразова обробка ґрунту фунгіцидами призвела до тривалої дестабілізації структури угруповань мікроміцетів у чорноземі опідзоленому. Усі досліджувані фунгіциди змінили співвідношення чисельності окремих видів. З часом угруповання мікроміцетів у контрольному ґрунті змінювалося в напрямі вирівнювання чисельності видів, а в обробленому фунгіцидами ґрунті — у зворотному напрямі. Індекс домінування Бергера-Паркера за обробок хімічними фунгіцидами на 110-ту добу після

обробки був більшим у середньому вдвічі порівняно з контролем, що свідчить про пригнічувальний вплив фунгіцидів на більшість видів ґрунтових грибів. За деякими показниками, зміни структури угруповань мікроміцетів у ґрунті, обробленому біологічними фунгіцидами, були більш помітними. Найчутливішими до дії хімічних фунгіцидів виявилися *P. albidum* і *P. charlesii*. Ці види ґрунтових грибів можуть бути потенційними індикаторами для біоіндикації ґрунтів в умовах фунгіцидного навантаження.

Hetman Y.

National Scientific Center «Institute of Soil Science and Agrochemistry named after O.N. Sokolovskiy», 4 Chaikovsky Str., 61024; Kharkiv, Ukraine; e-mail: soils.mycology@gmail.com; ORCID: 0000-0001-8365-9772

Changes in the structure of micromycete communities in podzolized chernozem after treatment with chemical and biological fungicides

Goal. To analyze the dynamics of changes in indicators characterizing the species structure and biodiversity of soil micromycetes, after treating the surface of the soil mass of podzolized chernozem with various chemical and biological fungicides. **Methods.** Laboratory model experiment — for study the degree and duration of the effect of various fungicides on the structure of the mycobiota; microscopy methods — for species identification of micromycetes; mathematical and statistical — for determine the reliability of the obtained data, establish the significance of differences in the structure of groups. **Results.** It was found that a one-time treatment of the soil surface with doses of chemical and biological fungicides recommended for spraying plants during the growing season had a significant effect on the micromycete community structure of

podzolized chernozem. The significance of these changes was proven using multivariate analysis of variance for nonparametric data PERMANOVA. Under the action of chemical fungicides, the number of species *Penicillium albidum* and *P. charlesii* was significantly reduced. **Conclusions.** Treatment with fungicides led to destabilization of the micromycete community structure of podzolized chernozem. On the 5th day, all studied fungicides changed the ratio of the number of individual species, differences were also observed on the 110th day. In the control soil, the number of micromycetes of different species leveled off over time, but in the soil treated with fungicides, the number of fungi of some species sharply decreased, while others, on the contrary, increased, the Berger-Parker dominance index on the 110th day after treatment was twice as high as in the control, which indicates the inhibitory effect of fungicides on most species. When treated with biological fungicides, changes in the structure of mycocenoses were weaker. Species most sensitive to the action of chemical fungicides have been identified, which are promising as bioindicators of fungicidal contamination.

Key words: soil fungi, mycobiome, species composition, biodiversity, relative species abundance, biopreparations with fungicidal action.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202405-09>

Бібліографія

1. Andrea M.M., Peres B.B., Luchini L.C., Pettinelli A.J. Impact of long-term pesticide application on some soil biological parameters. *J. of Environmental Science and Health*. 2000. V. 35. P. 297–307. doi: 10.1080/03601230009373271
2. Bridge P., Spooner B. Soil fungi: diversity and

detection. *Plant and Soil*. 2001. № 232. P. 147–154.

3. Dighton J. Fungi in ecology processes. New York; Basel: Marcel Dekker, Inc. 2003. 434 p.

4. Jayne B., Quigley M. Influence of arbuscular mycorrhiza on growth and reproductive response of plants under water deficit: a meta-analysis.

Mycorrhiza. 2014. № 4. P. 109–119. doi: 10.1007/s00572-013-0515-x

5. Baum C., El-Tohamy W., Gruda N. Increasing the productivity and product quality of vegetable crops using arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Scientia Horticulturae*. 2015. V. 187. P. 131–141. doi: 10.1016/j.scienta.2015.03.002

6. El-Komy M.H., Saleh A.A., Eranthodi A., Molan Y.Y. Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato Fusarium wilt. *The Plant Pathology J.* 2015. № 31. P. 50–60. doi: 10.5423/PPJ.OA.09.2014.0087

7. Ingram C.W., Coyne M., Williams D.W. Effects of commercial diazinon and imidacloprid on microbial urease activity in soil. *J. of Environmental Quality*. 2005. № 5. P. 1573–1580. doi: 10.2134/jeq2004.0433

8. Littlefield-Wyer J.G., Brooks P., Katouli M. Application of biochemical fingerprinting and fatty acid methyl ester profiling to assess the effect of the pesticide Atradox on aquatic microbial community. *Environmental Pollution*. 2008. № 13. P. 393–400. doi: 10.016/j.envpol.2007.08.016

9. Vazquez-Blanco R., Arias-Estevéz M., Baath E., Fernandez-Calvino D. Comparison of Cu salts and commercial Cu based fungicides on toxicity towards microorganisms in soil. *Environmental Pollution*. 2020. № 257. P. 113585. doi: 10.1016/j.envpol.2019.113585

10. Guilong Ma, Xinxin Gao, Jie Nan et al. Fungicides alter the distribution and diversity of bacterial and fungal communities in ginseng fields. *Bioengineered*. 2021. 1 (12). P. 8043–8056. doi: 10.1080/21655979.2021.1982277

11. Ratna Kumar P.K., Shiny Niharika P., Hemanth G. Impact of Fungicides on the Growth and Distribution of Soil Mycoflora in Agriculture Fields at Narasannapeta. *International J. of Science and Research*. 2017. 1(6). P. 2337–2347. doi: 10.21275/ART20164650

12. Roman D.L., Voiculescu D.I., Filip M. et al. Effects of Triazole Fungicides on Soil Microbiota and on the Activities of Enzymes Found in Soil: A Review. *Agriculture*. 2021. № 9. P. 893–911. doi: 10.3390/agriculture1

13. Sandoval A.N., Sanchez L.J., Saavedra Y.M. et al. Reduction of imidacloprid and tebuconazole in *Oryza sativa* plantation applying strains

of *Trichoderma* spp. *Chem. Eng. Trans.* 2021. № 87. P. 631–636.

14. Baćmaga M., Wyszowska J., Borowik A., Kucharski J. Effects of Tebuconazole Application on Soil Microbiota and Enzymes. *Molecules*. 2022. 27(21):7501. doi: 10.3390/molecules27217501

15. Adetutu E.M., Ball A.S., Osborn A.M. Azoxystrobin and soil interactions: degradation and impact on soil bacterial and fungal communities. *J. of Applied Microbiology*. 2008. № 105. P. 1777–1790. doi: 10.1111/j.1365-2672.2008.03948.x

16. Bertelsen J.R., De Neergaard E., Smedegaard-Petersen V. Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. *Plant Pathology*. 2001. № 50. P. 190–205.

17. Chengbo Lu, Kaixuan Hou, Tongtong Zhou et al. Characterization of the responses of soil micro-organisms to azoxystrobin and the residue dynamics of azoxystrobin in wheat-corn rotation fields over two years. *Chemosphere*. 2023. № 318. 137918. doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.137918

18. Білай В.І. Методи експериментальної мікології. Київ: Наукова думка, 1982. С. 432.

19. Кириленко Т.С. Визначник ґрунтових сумчастих грибів. Київ: Наукова думка, 1978. С. 264.

20. Gilman J.C. A manual of soil fungi. Iowa: The Iowa state college press. 1957. 450 p.

21. Verberk W. Explaining General Patterns in Species Abundance and Distributions. *Nature Education Knowledge*. 2012. № 3. P. 38.

22. Anderson M.J. Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). *Wiley StatsRef: Statistics*. 2017. doi: 10.1002/9781118445112.stat07841

23. Faith D.P., Minchin P.R., Belbin L. Compositional dissimilarity as a robust measure of ecological distance. *Vegetatio*. 1987. № 69. P. 57–68.

24. Minchin P.R. An evaluation of relative robustness of techniques for ecological ordinations. *Vegetatio*. 1987. № 69. P. 89–107.

25. Berger W.H., Parker F.L. Diversity of Planktonic Foraminifera in Deep Sea Sediments. *Science*. 1970. № 168(3937). P. 47. doi: 10.1126/science.168.3937.1345

26. Shannon C.E. A mathematical theory of communication. *Bell System Technical J.* 1948. № 7. 379–423. P. 623–656.