

**СТРУКТУРА И ДИНАМИКА МИКРОБНЫХ КОМПЛЕКСОВ ФИЛЛОСФЕРЫ И РИЗОСФЕРЫ
ХВОЙНЫХ ВИДОВ ЛЕСНЫХ БИОГЕОЦЕНОЗОВ ПРИЕНИСЕЙСКОЙ СИБИРИ
(НА ПРИМЕРЕ ПРЕДИВИНСКОГО ЛЕСХОЗА)**

N.D. Sorokin, E.N. Afanasova

**THE STRUCTURE AND DYNAMICS OF MICROBIAL FILLOSFEREY AND RHIZOSPHERE
COMPLEXES OF CONIFEROUS SPECIES OF FOREST BIOGEOCENOSIS OF THE YENISEY
TERRITORY SIBERIA (ON THE EXAMPLE OF PREDIVINSK FORESTRY)**

Сорокин Н.Д. – д-р биол. наук, проф., зав. лаб. микробиологии и экологической биотехнологии Института леса СО РАН им. В.Н. Сукачева, г. Красноярск. E-mail: afanasova-elena@mail.ru

Афанасова Е.Н. – канд. биол. наук, доц. каф. биотехнологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета, г. Красноярск. E-mail: afanasova-elena@mail.ru

Sorokin N.D. – Dr. Biol. Sci., Prof., Head, Lab. of Microbiology and Ecological Biotechnology, Institute of Wood, SB RAS named after V.N. Sukachyov, Krasnoyarsk. E-mail: afanasova-elena@mail.ru

Afanasova E.N. – Cand. Biol. Sci., Assoc. Prof., Chair of Biotechnology, Institute of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University, Krasnoyarsk. E-mail: afanasova-elena@mail.ru

Объектом исследования являлась микрофлора хвой и ризосферы ели сибирской (*Picea obovata*), сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), сосны кедровой (*Pinus sibirica*), произрастающих в лесных биогеоценозах Предивинского лесхоза (Большемуртинский район). Возраст деревьев 30–35 лет. Целью работы было изучить сопряженную динамику формирования структуры микробных комплексов филлосферы и ризосферы различных видов хвойных в лесных биогеоценозах Сибири. При исследовании динамики формирования эпифитной микрофлоры хвой ели сибирской отмечено максимальное развитие неспорных форм бактерий в сентябре, что связано с прекращением активной вегетации растений и значительным снижением их фитонцидной активности. Динамика мицелиальных грибов, находящихся в минимуме, не зависит от температурных условий и условий влажности в течение вегетационного периода. Формирование эпифитной микрофлоры хвой сосны обыкновенной имеет отличие от динамики ели. Здесь регистрируется максимум развития неспорных микроорганизмов в июне и сентябре, что связано с невысокой фитонцидной активностью сосны в эти периоды. При формировании эпифитной микрофлоры хвой сосны обыкновенной следует учитывать негативное воздействие на эпифиты патогенных микроорганизмов, которые проявляют большую антагонистическую

активность по отношению к ним из-за меньшей фитонцидности хвой. При анализе средней за вегетационный период численности ризосферных микроорганизмов на диагностических средах установлено, что максимальное развитие аммонифицирующих бактерий (рост на МПА) выявляется в почве-контроле и под кедром. Показатели численности микроорганизмов, использующих минеральные источники азота (рост на КАА), имеют наибольшее значение в контроле, а наименьшие под елью. Максимальные коэффициенты микробиологической минерализации (КАА/МПА) регистрируются под сосной. Эти значения численности и коэффициентов минерализации свидетельствуют о несбалансированности процессов синтеза-ресинтеза под этими видами древесных насаждений. Максимальные количества олигонитрофильных бактерий определяются под кедром, а коэффициенты олиготрофности (Эшби/МПА) имеют наибольшие значения под елью, что является свидетельством недостатка элементов питания под этими видами деревьев. При сравнительном анализе суммарной численности микроорганизмов ризосферы и филлосферы различных видов деревьев проявились следующие тенденции: абрисы динамики численностей для всех видов исследуемых деревьев практически совпадают в течение вегетационного периода. Это можно объяснить тем, что комплекс «почва–

дерево–микроорганизмы ризосферы и филлосферы» является экосистемой, компоненты которой связаны функционально и энергетически. Такая взаимосвязь и взаимозависимость компонентов сохраняют экосистему в состоянии гомеостаза.

Ключевые слова: микробные комплексы, филлосфера, ризосфера, суммарная численность микроорганизмов (СЧМ), период вегетации.

The object of research was the microflora of needles and rizosfer of a Siberian fir-tree of (*Picea obovata*), Scotch pine (*Pinus sylvestris*), a cedar pine (*Pinus sibirica*) growing in forest biogeocenoses of Predivinsk forestry (Bolshemurtinsky area). The age of trees was 30–35 years. The purpose of the work was to study the interfaced dynamics of formation of structure of microbic complexes of phyllosphere and rizosfer of different types coniferous in forest biogeocenoses of Siberia. In the research of dynamics of formation of epifit microflora of needles of Siberian fir-tree the maximum development of non sporous forms of bacteria in September connected with the termination of active vegetation of plants and considerable decrease in their fitoncid activity was noted. The dynamics of the micelial mushrooms which were in minimum did not depend on temperature and humidity conditions during the vegetative period. The formation of epifit microflora of needles of an ordinary pine had the difference from the dynamics of a fir-tree. Here the maximum of development of non sporous microorganisms in June and September, i.e. connected with low fitoncid activity of an ordinary pine during these periods was registered. When forming epifit microflora of needles of a pine, it was necessary to consider negative impact on epifit of pathogenic microorganisms which show big antagonistic activity in relation to them because of a smaller fitoncid ability of needles. In the analysis of the number of rizosfern microorganisms, average for the vegetative period, on diagnostic environments it was established that the maximum development of ammonifying bacteria (growth by MPA) comes to light in the soil control and under a cedar. The indicators of number of the microorganisms using mineral sources of nitrogen (growth on СММ), have the greatest value in control, and the smallest under a fir-tree. The maximum coefficients of a microbiological mineralization (СММ/МРА) were registered in a pine. These values of number and coefficients of mineralization testify to the im-

balance of processes of synthesis resynthesis under these types of wood plantings. The maximum quantities of oligonitrofil bacteria were defined under a cedar, and coefficients of an oligotrof (Eshbi/МРА) have the greatest values under a fir-tree that is the evidence of a lack of batteries under these species of trees. In the comparative analysis of total number of microorganism's rizosfer and phyllospheres of different types of trees were shown the following tendencies: outlines of dynamics of the total number for all species of the studied trees practically coincide during the vegetative period. It can be explained to that the "soils–trees–microorganisms rizosfer and phyllospheres" complex is an ecosystem which components are connected functionally and energetically. Such interrelation and interdependence of components keep an ecosystem in the condition of homeostasis.

Keywords: microbial complexes, phyllosphere, rizosfer, total number of microorganisms (TNM), vegetation period.

Введение. Комплексы микроорганизмов, обитающих на поверхности наземных частей растений и в ризосфере, выполняют важную функцию биоредукторов органических соединений. Образующие ими простые минеральные соединения ассимилируются растениями, обеспечивая их рост, развитие и продуктивность фитоценоза. Помимо функции биоредукторов, микроорганизмы филлосферы (эпифиты) и ризосферы являются фиксаторами атмосферного азота, необходимого для роста высших растений. Кроме того, микроорганизмы являются индикаторами состояния растения.

В настоящее время очевидно, что природный комплекс «почва–дерево–микроорганизмы» следует рассматривать как сложную экосистему, в которой ее компоненты находятся в постоянном функциональном взаимодействии и энергетическом обмене питательными элементами и продуктами метаболизма [3]. При этом состояние дерева во многом зависит от структуры, динамики и функциональной активности микробных сообществ филлосферы и ризосферы. Поэтому важно знать, насколько тесно сопряжены и сбалансированы структурно-динамические параметры филлосферы (эпифиты хвой) и ризосферы (микроорганизмы прикорневой почвы).

Цель работы. Изучение сопряженной динамики формирования структуры микробных комплексов филлосферы и ризосферы различных видов хвойных в лесных биogeоценозах Сибири.

Объекты и методы исследований. Объектом исследования являлась микрофлора хвои и ризосферы ели сибирской (*Picea obovata*), сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), сосны кедровой (*Pinus sibirica*), произрастающих в лесных биогеоценозах Предивинского лесхоза (Большемуртинский район). Возраст деревьев 30–35 лет.

В лабораторных условиях была изучена эпифитная микрофлора исследуемых образцов. Для ее анализа бралась навеска в 1 грамм хвои, с которой проводился смыв в 100 мл воды. Для выявления грибов были произведены посеы методом Коха (0,1 мл) на плотную среду Чапека. Для роста бактерий использовался картофельный агар (КА), для актиномицетов – крахмалоаммиачный агар (КАА), для олигонитрофилов – среда Эшби.

Анализ микрофлоры ризосферы проводился по методике Е.З. Теппер [4, 5], адаптированной для древесных растений. Корневая система дерева обнажалась на глубине 10–15 см от слоя органогенного горизонта, и стерильными приборами извлекалась ризосферная почва (вместе с корешками 3–4-го порядка), которая закладывалась в стерильные бюксы. Навеску ризосферной почвы в 1 г помещали в колбу со 100 мл стерильной воды. Затем делали посев из разведения 1/10000. Для роста бактерий использовался мясо-пептонный агар (МПА) вместо КА для эпифитов [1]. Суммарная численность микроорганизмов (СЧМ) определялась как сумма КОЕ на МПА (КА), КАА, среде Чапека [2]. Кон-

тролем служили образцы почвы, взятой в «окнах» насаждений. Образцы хвои и ризосферной почвы отбирались на десяти модельных деревьях каждого вида.

Выросшие микроорганизмы микроскопировались при увеличении $\times 1350$. Производился количественный учет колоний мицелиальных грибов, споровых и неспоровых форм бактерий, дрожжей и актиномицетов. С помощью метода Грезерсона определялась грам-принадлежность бактерий.

Результаты исследований и их обсуждение. Поскольку все процессы роста и развития дерева и связанные с ними микробиологические процессы в условиях лесных экосистем Сибири активно проходят в короткий период вегетации, исследования структуры и динамики комплексов эпифитных и ризосферных микроорганизмов, сосны обыкновенной и сосны сибирской проводились в июне, июле, августе и сентябре месяце, а ели сибирской – в июне, августе и сентябре.

При исследовании динамики формирования эпифитной микрофлоры хвои ели сибирской (рис. 1) отмечено максимальное развитие неспоровых форм бактерий в сентябре, что связано с прекращением активной вегетации растений и значительным снижением их фитонцидной активности. Динамика мицелиальных грибов, находящихся в минимуме, практически не зависит от температурных условий и условий влажности в течение вегетационного периода.

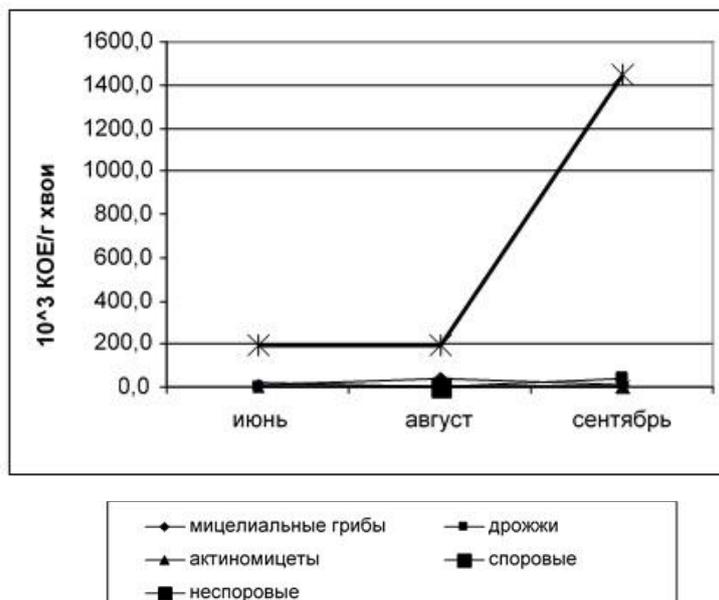


Рис. 1. Динамика формирования эпифитной микрофлоры хвои ели сибирской

Формирование эпифитной микрофлоры хвои сосны обыкновенной (рис. 2) отличается от ели тем, что здесь регистрируется максимум разви-

тия неспоровых микроорганизмов в июне и сентябре. Очевидно, это связано с невысокой фитонцидной активностью сосны в эти периоды.

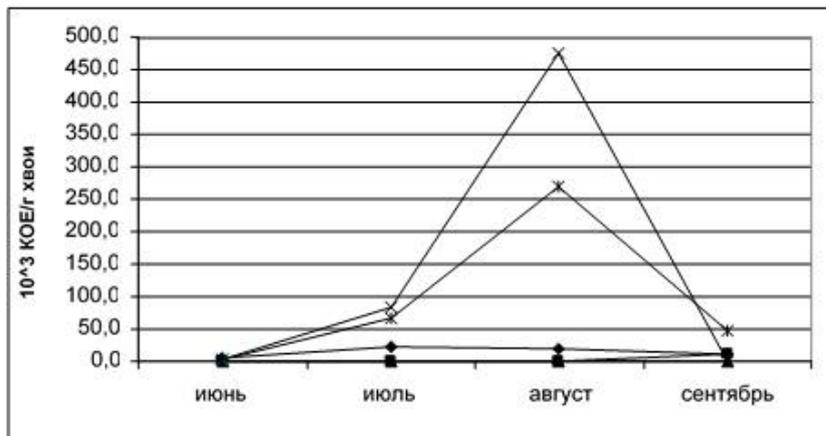


Рис. 2. Динамика формирования эпифитной микрофлоры хвои сосны обыкновенной (обозначения те же)

Кроме того, при формировании эпифитной микрофлоры хвои сосны обыкновенной, вероятно, следует учитывать негативное воздействие на эпифиты патогенных микроорганизмов,

которые проявляют большую антагонистическую активность по отношению к ним из-за меньшей фитонцидности хвои.

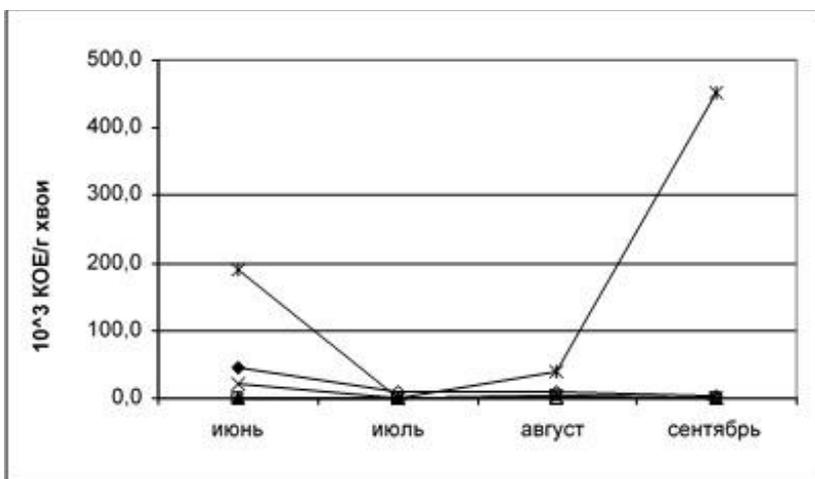


Рис. 3. Динамика формирования эпифитной микрофлоры хвои сосны кедровой (обозначения те же)

При анализе динамики формирования эпифитной микрофлоры хвои сосны сибирской (кедра) выявляется максимум развития споровых и неспоровых бактерий (с преобладанием споровых) в августе. Это можно связать с биологическими особенностями кедра (по сравнению с сосной обыкновенной). Максимальное развитие прокариот на хвое кедра в августе связано со значительными выделениями листо-

вой поверхности и незначительной фитонцидной активностью в этот период (рис. 3).

Во всех случаях динамика мицелиальных грибов не имеет достоверных экстремумов развития, что объясняется меньшей зависимостью данной таксономической группы от гидротермических условий развития и фитонцидной активности дерева.

Исследования количественного состава микрофлоры в ризосфере проводились путем определения суммарной численности (СЧМ) микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1

Суммарная численность микроорганизмов ризосферы под различными видами деревьев в течение вегетационного сезона, тыс. КОЕ/ г воздушно-сухой почвы

Вид хвойных	Июнь	Июль	Август	Сентябрь
Сосна	4859	2447	2537	4942
Ель	2986	2485	2676	3875
Кедр	3237	3632	4870	2950
Контроль	2438	2802	3070	5037

Примечание. Допустимая методическая ошибка определения не превышает 10–15 %.

Довольно высокая СМЧ в ризосфере наблюдалась в начале вегетационного сезона. Большое количество КОЕ в июне может быть обусловлено поздним сходом снежного покрова, началом активной фазы вегетации деревьев, ростом корней и размножением микроорганизмов ризосферы. Отмечены существенные различия в динамике численности микроорганизмов у таксономически близких сосны и кедра.

Почва вне зоны действия корней деревьев (контроль), в отличие от ризосферной почвы древостоев, при одинаковых температурных условиях имела более высокую влажность (до 40%), но в целом близкую с ризосферой суммарную численность микроорганизмов, и только в сентябре здесь зарегистрирован максимум количества микроорганизмов. Это связано, скорее всего, с поступлением «свежего» органического вещества в почву и уменьшением конкуренции за питательные элементы со стороны корневых систем.

При анализе средней за вегетационный пе-

риод численности ризосферных микроорганизмов на диагностических средах (табл. 2) установлено, что максимальное развитие аммонифицирующих бактерий (рост на МПА) выявляется в контроле и под кедром. Показатели численности микроорганизмов, использующих минеральные источники азота (рост на КАА), имеют наибольшие значения в контроле, а наименьшие под елью. Максимальные коэффициенты микробиологической минерализации (КАА/МПА) регистрируются под сосной. Эти значения численности и коэффициентов минерализации свидетельствуют о несбалансированности процессов синтеза-ресинтеза под этими видами древесных насаждений. Максимальные количества олигонитрофильных бактерий определяются под кедром, а коэффициенты олиготрофности (Эшби/МПА) имеют наибольшие значения под елью, что является свидетельством недостатка элементов питания под этими видами деревьев [3].

Таблица 2

Средняя численность микроорганизмов ризосферы под различными видами деревьев на разных диагностических средах, тыс. КОЕ/ г воздушно-сухой почвы

Вид хвойных	МПА/ КА	Эшби	Чапека	КАА	КАА/ МПА	Эш-би/МПА
Сосна	328,8 _{+79,0}	561,1 _{+ 219,4}	1870,0 ₊₁₃₄	766,2 _{+369,3}	2,83	1,94
Ель	648,3 _{+431,8}	958,8 _{+233,3}	288,9 _{+99,6}	329,7 _{+126,8}	0,51	3,48
Кедр	3291,9 _{+ 2394,1}	3827,6 _{+1154,2}	840,9 _{+543,4}	812,8 _{+251,7}	0,26	0,58
Контроль	2017,4 _{+607,5}	782,9 _{+376,7}	1421,1 _{+518,5}	4204,7 _{+1839,9}	0,96	0,71

СЧМ филлосферы, определяемая на комплексной ГПД среде (табл. 3), в течение вегетационного периода имеет максимальные величины на хвое ели. Минимальные значения чис-

ленности регистрируются на хвое сосны. На хвойных древостоях отмечены существенные колебания численности микроорганизмов по месяцам вегетационного периода. Поскольку

исследуемые древесные насаждения находятся в одинаковых экологических условиях, выраженные колебания численности микроорганизмов филлосферы хвойных можно связать с из-

менением фитонцидной активности в определенную фазу вегетации деревьев и с биологическими особенностями вида.

Таблица 3

Суммарная численность микроорганизмов филлосферы (эпифитов) различных видов деревьев в течение вегетационного сезона, тыс. КОЕ/ г воздушно-сухой почвы

Вид хвойных	Июнь	Июль	Август	Сентябрь
Сосна	780,8	293,3	301,7	533,3
Ель	2673,3	1760,5	1950,7	1600,3
Кедр	266,7	1080,7	1737,5	560,7

Примечание. СМЧ определена на глюкозо-пептоно-дрожжевой среде.

При сравнительном анализе СЧМ ризосферы и филлосферы различных видов деревьев проявились следующие тенденции: абрисы динамики численностей для всех видов исследуемых деревьев практически совпадают в течение вегетационного периода. Это, вероятно, связано с тем, что, как было сказано выше, комплекс «почва–дерево–микроорганизмы ризосферы и филлосферы» является экосистемой, компоненты которой связаны функционально и энергетически. Такая взаимосвязь и взаимозависимость компонентов сохраняют экосистему в состоянии гомеостаза.

Заключение. Исследование динамики численности различных групп эпифитных и ризосферных микроорганизмов на диагностических средах у сосны, ели и кедра свидетельствует об отличающихся максимальных и минимальных значениях численности микроорганизмов у разных видов исследуемых хвойных по фазам вегетации (июнь, июль, август, сентябрь). Очевидно, что динамика численности и структуры микробных комплексов у разных видов деревьев обусловлена, наряду с влиянием абиотических и биотических факторов, биологическими особенностями вида растений. При этом абрисы динамики суммарной численности микроорганизмов филлосферы (эпифитов) и ризосферы у каждого конкретного вида в течение периода вегетации совпадают, что свидетельствует о сопряженных взаимосвязях дерева и микробных комплексов.

Литература

1. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.
2. Методы стационарного изучения почв. – М.: Наука, 1977. – 248 с.
3. *Сорокин Н.Д.* Микробиологическая диагностика лесорастительного состояния почв Средней Сибири. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2009. – 221 с.
4. *Теннер Е.З.* Изучение бактерий корневой зоны растений и на корнях: практикум по микробиологии. – М.: Высш. шк., 1972. – 198 с.
5. *Теннер Е.З.* Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.

Literatura

1. *Metody pochvennoj mikrobiologii i bio-himii.* – М.: Izd-vo MGU, 1991. – 304 s.
2. *Metody stacionarnogo izuchenija pochv.* – М.: Nauka, 1977. – 248 s.
3. *Sorokin N.D.* Mikrobiologičeskaja diagnostika lesorastitel'nogo sostojanija pochv Srednej Sibiri. – Novosibirsk: Izd-vo SO RAN, 2009. – 221 s.
4. *Tepper E.Z.* Izučenie bakterij kornevoj zony rastenij i na kornjah: praktikum po mikrobiologii. – М.: Vyssh. shk., 1972. – 198 s.
5. *Tepper E.Z.* Praktikum po mikrobiologii. – М.: Drofa, 2004. – 256 s.

