

М. Я. Острикова, соискатель;
И. М. Баландина, науч. сотрудник ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»
**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЧВЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ
СОСНОВЫХ И СОСНОВО-БЕРЕЗОВЫХ КУЛЬТУР**

The structure of a complex soil microflora of pine and pine-birch cultures in different seasons of year was investigated. The tendency of cyclisity in development mushrooms and bacteria was revealed.

Одним из важнейших компонентов любых биогеоценозов является почвенная микрофлора, так как она определяет степень трансформации органических веществ в почве и таким образом влияет на скорость «круговорота вещества». Интенсивность трансформации органического вещества может быть охарактеризована анализом состояния в почве всей микробиоты, отдельных групп микроорганизмов и их физиологических группировок [1]. Так, например, соотношение групп микроорганизмов, усваивающих органический и минеральный азот, указывает на степень минерализации органического вещества в различных типах почвы [2, 3].

Целью нашего исследования явилось изучение состава физиологических группировок микроорганизмов и соотношения их численности в почвах сосновых и сосново-березовых культур.

Пробные площади были заложены в 2005 г. вблизи г. Гомеля в Корневской экспериментальной базе Института леса НАН Беларуси. Они представлены 40-летними сосновыми здоровыми и пораженными корневой губкой и сосново-березовыми культурами, пораженными корневой губкой.

Для каждого микробиологического анализа бралась средняя проба почвы из четырех образцов с верхнего (0–5 см) горизонта.

Из отобранных проб были приготовлены почвенные суспензии различной степени разведения согласно стандартной методике [3]. Однако разведения менее 1 : 1 000 000, несмотря на рекомбинации по их использованию [3], оказались неэффективными для проведения микробиологического анализа. Это связано с тем, что при таких разведениях на пластинчатых питательных средах наблюдалось сплошное зарастание и было невозможно учитывать изолированные колонии. Поэтому в данной работе подсчет изолированных колоний проводился при разведениях 1 : 1 000 000 и 1 : 10 000 000.

Аммонифицирующие бактерии учитывались на среде ГРМ агар (аналог МПА) [1], нитрифицирующие бактерии – на среде для нитрифицирующих бактерий [4], свободно-

живущие азотфиксирующие – на среде Эшби [5], денитрифицирующие – на среде для денитрифицирующих бактерий [4]. Анализ почвенных актиномицетов проводили на питательном овсяном агаре [6]. Почвенные плесневые грибы учитывали на среде Чапека [5].

В состав 1 л питательного агара для культивирования микроорганизмов сухого (ГРМ агар) входят следующие компоненты: панкреотический гидролизат рыбной муки 24,0 г; натрий хлористый 4,0; агар-агар 10,0 г. В ходе приготовления питательную среду кипятили 1–2 мин до полного расплавления агара. После этого фильтровали через ватно-марлевый фильтр, автоклавировали 15 мин при температуре 121°C, охлаждали до 45–50°C и разливали в стерильные чашки Петри. Чашки Петри, колбы и пипетки стерилизовали в течение 45 мин в сухожаровом шкафу при 160–170°C.

Среда Чапека включает в себя на 1 л дистиллированной воды: KCl – 0,5 г; MgSO₄ · H₂O, K₂HPO₄ – 1,0 г; FeSO₄ – 0,01 г; NaNO₃ – 2,0; сахарозу – 30,0 г; агар-агар – 20,0 г. Питательную среду после полного расплавления агара фильтровали, полученный раствор автоклавировали 20 мин при температуре 112°C и затем разливали в стерильные чашки Петри.

Среда для денитрифицирующих бактерий включает в себя на 1 л водопроводной воды: сахарозу – 2,0 г; NaNO₃ – 0,2 г; K₂HPO₄ – 0,05 г; агар-агар – 20,0 г.

В состав 1 л среды для нитрифицирующих бактерий входят следующие компоненты: (NH₄)₂SO₄ – 0,2 г; K₂HPO₄ – 0,1 г; MgSO₄ – 0,05 г; NaCl – 0,2 г; FeSO₄ – следы; CaCO₃ – 0,2 г.

Среда Эшби на 1 л водопроводной воды состоит из следующих компонентов: сахароза – 2,0 г; K₂HPO₄ – 0,2 г; MgSO₄ – 0,2 г; NaCl – 0,2 г; K₂SO₄ – 0,1; FeSO₄ – 2 капли 1%-ного раствора; CaCO₃ – 0,5 г.

Питательный овсяной агар состоит из 1 л водопроводной воды, 20 г овсяных хлопьев, 20 г агар-агара.

После инкубации посевов проводили учет микроорганизмов по методу пластинок. Срок

инкубации для бактерий составил 48 ч, для актиномицетов – 4 суток, для плесневых грибов – 3 суток.

Микроскопия фиксированных препаратов-мазков проводилась по стандартным методикам.

Из суммы колоний, выросших на чашках с разведением $1 \cdot 10^{-6}$ и $1 \cdot 10^{-7}$, выводили среднее арифметическое число и затем пересчитывали число колоний на 1 г почвы.

Данные по общей численности микроорганизмов, полученные методом посева, выражали в млн. колоний, образующих единиц (КОЕ) на 1 г почвы. Результаты проведенных исследований представлены в таблице.

На первом этапе было проведено сравнение сосновых и сосново-березовых культур, пораженных корневой губкой. Анализ данных, полученных в июне, выявил, что в 40-летних сосновых культурах, пораженных корневой губкой, количество аммонифицирующих бактерий, усваивающих органический азот, составляет $29,5 \cdot 10^9$, что выше, чем в 40-летних сосново-березовых культурах, пораженных корневой губкой, – $18,7 \cdot 10^9$. Также количество почвенных актиномицетов выше в 40-летних сосновых насаждениях, пораженных корневой губкой. Однако численность плесневых грибов и свободных азотфиксирующих бакте-

рий несколько выше в 40-летних сосново-березовых культурах, пораженных корневой губкой.

Как уже отмечалось, соотношение бактерий, усваивающих органический и неорганический азот (в целом отражающее степень минерализации почвы), может изменяться в зависимости не только от количества органического вещества в почве, но и от погодных условий. Поэтому для уменьшения числа факторов, которые могут оказывать влияние на пропорцию групп микроорганизмов, потребляющих органический и минеральный азот, почвенные образцы были взяты в один день. Исходя из данных, приведенных в таблице, следует, что в июне соотношение этих групп микроорганизмов в 40-летних сосновых культурах, пораженных корневой губкой, составляет 1,0 : 1,1, а в 40-летних сосново-березовых – 1,0 : 1,5.

В октябре общее количество микроорганизмов, за исключением плесневых грибов, увеличилось. Относительные соотношения групп микроорганизмов составили 1,0 : 5,0 и 1,0 : 6,1 соответственно, что подтверждает имеющиеся в литературе данные о том, что количество микроорганизмов, усваивающих минеральный азот, осенью может превышать число бактерий, усваивающих органический азот [7].

Таблица

Содержание микроорганизмов в почвах 40-летних сосновых и сосново-березовых культур на 1 г почвы (10^9 КОЕ/г)

Пробные площади	Кол-во аммонифицирующих бактерий	Кол-во нитрифицирующих бактерий	Кол-во азотфиксирующих бактерий	Кол-во денитрифицирующих бактерий	Кол-во плесневых грибов	Кол-во актиномицетов
Июнь						
Здоровые сосновые культуры	16,0	0	2,8	19,1	0,1	13,3
Сосновые, пораженные корневой губкой	29,5	0	1,7	14,6	0,1	17,1
Сосново-березовые, пораженные корневой губкой	18,7	0	1,9	14,6	0,5	10,6
Октябрь						
Здоровые сосновые	7,3	185,9	142,6	72,4	0,1	103,2
Сосновые, пораженные корневой губкой	95,2	162,8	129,3	89,5	0,02	105,7
Сосново-березовые, пораженные корневой губкой	83,8	132,0	176,3	63,3	0,1	139,6

При сравнении численности физиологических групп микроорганизмов в 40-летних сосновых культурах, здоровых и пораженных корневой губкой, выявлено, что в июне в пораженных корневой губкой сосняках количество бактерий, усваивающих органический азот, составляет $29,5 \cdot 10^9$, что выше, чем в здоровых сосновых культурах – $16,0 \cdot 10^9$. Данное соотношение, по-видимому, объясняется повышенным содержанием опада в сосновых культурах, пораженных корневой губкой. Как отмечалось ранее [8], изменение количество опада непосредственно сказывается на соотношениях микроорганизмов, потребляющих органический азот. Численность микроорганизмов, усваивающих минеральный азот, за исключением актиномицетов, больше в здоровых сосняках либо примерно одинакова.

В октябре относительные соотношения групп микроорганизмов в основном сохранились. В то же время общее количество микроорганизмов, за исключением плесневых грибов, увеличилось, что еще раз подтверждает выраженную сезонную динамику в развитии физиологических групп микроорганизмов.

Исследования были выполнены в рамках гранта БРФФИ № Б04М-112.

Литература

1. Полянский А. М., Головченко А. В., Полянская Л. М., Гузев В. С., Звягинцев Д. Г. Рост прокариотных микроорганизмов в почвенных суспензиях из разных типов почв // Почвоведение. – 2004. – № 2. – С. 214–223.
2. Ефремов А. Л. Микробиота и биогенность почв сосновых лесов Беларуси. – Мн.: ИООО «Право и экономика», 2002. – 175 с.
3. Федоров М. Ф. Микробиология. – М.: Государственное издательство сельскохозяйственной литературы, 1960. – 352 с.
4. Черемисинов Н. А., Боева Л. И., Семихатова О. А. Практикум по микробиологии. – М.: Высш. шк., 1967. – 172 с.
5. Теппер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2004. – 256 с.
6. Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешникова М. А. Определитель актиномицетов. – М.: Наука, 1983. – 248 с.
7. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов // Под ред. Н. А. Красильникова. – М.: Изд-во МГУ, 1966. – 216 с.
8. Мишустин Е. Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия. – М.: Наука, 1972. – 344 с.