

И.М. Баландина, науч. сотрудник; М.Я. Острикова, соискатель;
Ю.А. Марковская, науч. сотрудник Института леса НАН Беларуси

О МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВ ПОД СОСНОВЫМИ КУЛЬТУРАМИ

Микробные ценозы являются одним из важнейших компонентов экосистем, в значительной степени определяющих направленность почвенных процессов. Интенсивность трансформации органического вещества может быть охарактеризована анализом состояния в почве отдельных групп микроорганизмов и их физиологических группировок [1]. Так, соотношение групп микроорганизмов, усваивающих органический и минеральный азот, указывает на степень минерализации органического вещества почвы [2, 3]. Однако возрастание численности актиномицетов, которые составляют основу группы микроорганизмов, потребляющих минеральный азот, может обуславливаться не только интенсификацией разложения органического вещества в почве, но и погодными условиями. Как отмечается некоторыми авторами, в осенние месяцы актиномицеты могут составлять около половины всей почвенной микрофлоры [4, 5].

Целью исследования явилось изучение состава комплекса почвенной микрофлоры сосновых культур в осенние месяцы. В настоящей работе приведены лишь данные, характеризующие состояние отдельных групп бактериального населения и актиномицетной флоры.

Три пробные площади были заложены осенью 2003 г. в сосняке мшистом (возраст культур – 40 лет) на расстоянии 200 м друг от друга. Для микробиологического анализа бралась средняя проба почвы из 4 образцов с верхнего 0–5-сантиметрового горизонта.

Из отобранных проб были приготовлены почвенные суспензии различной степени разведения. Для приготовления первого разведения 1 г почвы был внесен в 99 мл дистиллированной воды (разведение 1:100). После встряхивания в течение 3–5 мин., почвенную суспензию в колбе отстаивали 1,5 мин и далее стерильной пипеткой переносили 1 мл раствора в пробирку с 9 мл дистиллированной воды, получая второе разведение – 1:1000. Почвенную болтушку размешивали 1 мин., отстаивали в течение 0,5 мин. и 1 мл вносили во вторую пробирку с 9 мл дистиллированной воды (разведение 1:10 000). Аналогично готовили разведения 1:100 000 и 1:1 000 000.

Для посева из каждой пробы почвы использовали разведения $1 \cdot 10^{-3}$, $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-6}$ в трехкратной повторности. При этом 1 мл почвенной суспензии равномерно распределяли по поверхности плотной питательной среды. Далее чашки Петри в перевернутом виде помещали в термостат при $T=25^{\circ}\text{C}$ для инкубации.

Бактерии, усваивающие органический азот, учитывались на среде ГРМ-агар (аналог МПА), микроорганизмы, способные к потреблению минеральных форм азота, – на среде Чапека [6].

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 г; агар-агар – 10,0 г. В ходе приготовления питательную среду кипятили 1–2 мин до полного расплавления агара. После этого профильтровали через ватно-марлевый фильтр, автоклавировали 15 мин. при температуре 121°C , охлаждали до $45\text{--}50^{\circ}\text{C}$ и разливали в стерильные чашки Петри. Чашки Петри, колбы и пипетки стерилизовали в течение 45 мин. в сухожарочном шкафу при $160\text{--}170^{\circ}\text{C}$.

Среда Чапека включает в себя на 1 л дистиллированной воды: KCl – 0,5 г; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 г; K_2HPO_4 – 1,0 г; FeSO_4 – 0,01 г; NaNO_3 – 2,0 г; сахароза – 30,0 г; агар-агар – 20,0 г. Питательную среду после полного расплавления агара фильтровали, полученный раствор автоклавировали при температуре 112°C 20 мин. и затем разливали в сте-

рильные чашки Петри.

После инкубации посевов проводили учет микроорганизмов по методу пластинок. Для бактерий срок инкубации составил 48 ч, для актиномицетов – 4 сут.

Для подсчета бактерий учитывали только разведения $1 \cdot 10^{-5}$ и $1 \cdot 10^{-6}$, т. к. в чашках с разведением $1 \cdot 10^{-3}$ и $1 \cdot 10^{-4}$ наблюдалось сплошное заращение, что затрудняло подсчет изолированных колоний.

Из суммы колоний, выросших на чашках с разведением $1 \cdot 10^{-5}$ и $1 \cdot 10^{-6}$, выводили среднее арифметическое число и затем пересчитывали число колоний на 1 г почвы. Полученные результаты представлены в таблице.

Из таблицы видно, что количество микроорганизмов в разных почвенных пробах отличалось друг от друга. Общее микробное число колеблется от $4,7 \cdot 10^8$ до $9,0 \cdot 10^8$. При этом количество бактерий варьирует от $0,93 \cdot 10^8$ до $6,7 \cdot 10^8$, актиномицетов – от $2,3 \cdot 10^8$ до $5,7 \cdot 10^8$. Пропорция двух разных групп микроорганизмов находится в пределах от 1: 0,3 до 1: 6,3. Таким образом, выявленные различия касаются и численности микроорганизмов в пределах каждой из групп, и соотношения самих групп микроорганизмов.

Как уже отмечалось выше, соотношение двух исследованных групп микроорганизмов, в целом отражающее степень минерализации органического вещества почвы, может изменяться в зависимости от количества органического вещества в почве и от погодных условий [4]. Поэтому для уменьшения числа факторов, которые могут оказывать воздействие на пропорцию групп микроорганизмов, потребляющих органический и минеральный азот, почвенные образцы были взяты в один день, в одновозрастных сосновых культурах, в одном типе леса, на небольшом расстоянии друг от друга, и анализ проводился по одной методике. Тем не менее нами установлено, что микробное число почвенных образцов варьирует в довольно широком диапазоне. В то же время усредненное значение соотношения исследованных нами групп микроорганизмов в трех почвенных образцах составляет 1:1,33, что легко объясняется обогащением почвы в осенний период различного рода растительными остатками.

Таблица

Содержание микроорганизмов в почвах сосновых культур

Почвенные образцы	Количество бактерий на 1 г почвы, растущих на питательном агаре (ГРМ)	Количество актиномицетов на 1 г почвы, растущих на среде Чапека	Соотношение микроорганизмов, усваивающих органический и минеральный азот
1	$1,1 \cdot 10^8$	$3,6 \cdot 10^8$	1:3,3
2	$0,9 \cdot 10^8$	$5,7 \cdot 10^8$	1:6,3
3	$6,7 \cdot 10^8$	$2,3 \cdot 10^8$	1:0,3

В заключение необходимо отметить, что на основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы методического характера: во-первых, для подсчета числа почвенных микроорганизмов необходимо использовать разведение 1:1 000 000 и более, иначе быстрое заращение питательных сред не позволяет получить корректных результатов, и, во-вторых, для получения достоверных данных нужно при каждом микробиологическом исследовании проводить анализ не менее трех почвенных проб, характеризующихся одинаковыми признаками.

Данная работа была поддержана грантом Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мишустин Е.Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия. – М.: Наука, 1972. – 344 с.
2. Зименко Т.Г. Микроорганизмы как показатели развития минерализационных процессов в торфяно-болотных почвах // Известия Академии наук СССР. Сер. биологическая. – 1957. – С. 234–240.
3. Блинцов И.К., Ипатьев В.А. О микробиологической и ферментативной активности осушенных торфяных почв под сосновыми насаждениями // Научные доклады высшей школы. Биологические науки. – 1973. – № 10. – С. 119–123.
4. Федоров М.Ф. Микробиология. – М.: Государственное издательство сельскохозяйственной литературы, 1960. – 352 с.
5. Василюскас А. Корневая губка и устойчивость экосистем хвойных лесов. – Вильнюс: Мокслас, 1989. – 175 с.
6. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов // Под ред. Н.А. Красильникова. – М.: МГУ, 1966. – 216 с.