

ЭКОЛОГИЯ

УДК 579.246.2

И.Б. Бороздина

КВАНТИТАТИВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *PSEUDOMONAS* И *BACILLUS* РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА БОБОВЫЕ (*FABACEAE*) И СЕМЕЙСТВА СЛОЖНОЦВЕТНЫЕ (*COMPOSITAE*)

Ключевые слова: идентифицированы, ризосфера, *Pseudomonas*, *Bacillus*.

В процессе своей жизнедеятельности растения входят в сложные взаимоотношения с микроорганизмами, населяющими не только почву, но и эндоткани здоровых растений. Исследование закономерностей этой эволюционно сложившейся биологической системы позволяют разрабатывать и обосновывать безопасные для окружающей среды биологические методы защиты растений.

В связи с переходом к биологическому земледелию и интенсивно разрабатываемым методам биологической защиты растений с использованием бактерий рода *Pseudomonas* и *Bacillus* в качестве агентов биологического контроля растений, изучение количественного и качественного состава ризосферной микрофлоры является одной из **актуальных** проблем современной микробиологии.

Теоретическим обоснованием использования этих бактерий в защите растений от болезней является их нефитотоксичность и отсутствие неблагоприятных реакций при поступлении в организм человека и животных, значительный удельный вес в почве и в составе обычной микрофлоры растений, эволюционно сложившиеся симбиотические соотношения с растением, высокая антагонистическая активность к патогенным микроорганизмам.

Цели: изучить количественный и качественный состав представителей рода *Bacillus* и *Pseudomonas*, выделенных с поверхности ризосферы растений семейства Бобовые (*Fabaceae*): гороха посевного

(*Pisum sativum* L.), фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), и семейства Сложноцветные (*Compositae*) – подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L.); процессы взаимодействия с растениями и микрофлорой представителей рода *Bacillus* и *Pseudomonas* в ризосфере.

Объектом исследования явились микроорганизмы представителей рода *Bacillus* и *Pseudomonas*, выделенные с ризосферы семейства Бобовые (*Fabaceae*): гороха посевного (*Pisum sativum* L.), фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.), а также семейства Сложноцветные (*Compositae*) – подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L.), произрастающие на территории садово-дачного кооператива г. Армавира.

В соответствии с поставленными целями решались следующие **задачи**:

1) выделить, описать и идентифицировать представителей рода *Bacillus* и *Pseudomonas* с ризосферы изучаемых растений;

2) исследовать динамику количественных колебаний представителей рода *Bacillus* и *Pseudomonas* в ризосфере растений семейства Бобовые (*Fabaceae*) и семейства Сложноцветные (*Compositae*) в разные периоды вегетации;

3) проанализировать динамику роста микроорганизмов рода *Pseudomonas* и *Bacillus*, выделенных с *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Helianthus annuus*.

Исследование проводилось в весенне-летний период 2008-2009 гг. на базе бактериологической лаборатории ГУЗИБ № 4 г. Армавира.

Материалы и методы

При отборе материала с корневого кома стряхивали почву, корни отделяли от надземной части растений *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Helianthus annuus*. Учитывая, что на поверхности корней и в прикорневой зоне (слой почвы толщиной 5-10 мм) отмечается высокая концентрация микроорганизмов, было проведено изучение их численности непосредственно в ризосфере.

Выделение микроорганизмов из ризосферной зоны исследуемых растений осуществляли методом посева полученной суспензии (после 10^6 -кратного разведения) на плотные питательные среды: МПА, ГРМ-агар, картофельно-глюкозный агар и инкубировали при $t = 37^\circ\text{C}$ и pH 7,2 в течение 48 ч. Для идентификации клубеньковых бактерий использовали маннитно-дрожжевую среду. Для учёта численности грибов применяли агаризованную среду Чапека. Численность актиномицетов определяли на агаровой крахмало-аммиачной среде [1].

Пробы для изучения динамической численности физиологических групп представителей рода *Bacillus* и *Pseudomonas* с ризосферы отбирали трижды в течение вегетационного периода.

Идентификацию микроорганизмов проводили на основе изучения морфолого-физиологических, тинкториальных, культуральных, биохимических свойств выделенных микроорганизмов в соответствии с Определителем бактерий Берджи (1997). Морфологию клеток и подвижность изучали методом «висячей капли» с помощью световой микроскопии.

А также для изучения морфофизиологических, тинкториальных свойств выделенных микроорганизмов из полученных колоний делали мазки и окрашивали их по Синёву и Граму.

Результаты и обсуждение

На ризосферную микрофлору влияют вид, возраст растений и их состояние, положение и характер распределения корней, тип почвы и окружение. Количественный и качественный состав ризосферы специфичен для каждого вида растений.

Количество микроорганизмов и соотношение видов на корнях одного и того же растения непостоянно и меняется в течение вегетационного периода по фазам развития растений, а также зависит от влажности почвы, вносимых удобрений, освещённости растений и т.п.

В пределах поверхности одного корешка микрофлора оказывается разной, и обилие микроорганизмов нарастает к кончикам корней, где, например, отмечен наибольший экзосмос аминокислот.

Изучая смену бактериальных компонентов в ризосфере в процессе вегетации растения, некоторые исследователи отмечали, что на начальных этапах роста растений доминируют грамтрицательные бактерии, псевдомонады, флавобактерии, азотобактер, которые по мере старения растения заменяются грамположительными бациллами, микобактериями, стрептомицетами. Такой характер сукцессии связан с заменой бактерий, питающихся продуктами экзосмоса растений, на гидролитиков, разлагающих корневой опад и микробную биомассу. Другой причиной смены состава бактериальных сообществ в процессе вегетации растений является изменение состава корневых выделений, служащих источником питания бактерий [2].

Состав корневых выделений в разные фазы развития растений зависит от протекающих в эти фазы синтетических процессов [3]. В наибольшем количестве в ризосфере развиваются бактерии рода *Bacterium* и *Pseudomonas*.

На втором месте по количественному развитию в ризосфере стоят микобактерии.

В начальный период вегетации и в период активного роста растений спороносные бактерии рода *Bacillus* находятся в ризосфере в незначительном количестве, а в конце вегетации их количество увеличивается (за счёт появления растительного опада).

В прикорневой микрофлоре на ранних стадиях развития обнаруживаются актиномицеты, различные по видовому составу. К концу вегетации число актиномицетов заметно увеличивается. Особенно интенсивно они размножаются на полусгнивших мёртвых корнях.

Качественный состав представителей родов *Bacillus* и *Pseudomonas* ризосферной микрофлоры растений семейства Бобовые (*Fabaceae*): гороха посевного (*Pisum sativum* L.), фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) и Сложноцветные (*Compositae*) – подсолнечника однолетнего (*Helianthus annuus* L.) представлен следующими идентифицированными микроорганизмами: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas vulgatus*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas putida*,

Pseudomonas corrugate, *Pseudomonas aurantiaca*, *Pseudomonas mirabilis*; *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus thuringensis*, *Bacillus vallismorlis*, *Bac. azotofixans*, *Bac. coagulans*, *Bac. polymуха*, *Bac. macerans*.

Наряду с выделенными представителями видов *Bacillus* и *Pseudomonas* были идентифицированы: *Rh. pisum*, *Rh. phaseolus*, *E.coli*, *Cl. penicillium*, *Cl. lactoacetophillum*, *A. lwoffii*, *Str. achromogenes*, *Str. albus*, *Str. ferralitis*, *A. junensis*, *Streptococcus spp.*, *M. terrae*, *M. fortuitum*, *M. chelonai*, *Agr. polyspheroidum*, *Micr. luteus*, *Micr. aminivorans*.

Анализируя данные таблицы 1, можно сделать вывод, что основная масса прикорневой микрофлоры *Pisum sativum* и *Phaseolus vulgaris* представлена неспоросными грамотрицательными бактериями рода *Pseudomonas* (37,7 и 38,4%) и

аэробными спороносными бактериями рода *Bacillus* (21,1 и 20,5%), а доля другой бактериальной флоры (*Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Proteobacter*, *Clostridium*) на ризосфере бобовых составляет, соответственно, 25,7 и 26,1%.

На долю бактериальной флоры ризосферы *Pisum sativum* и *Phaseolus vulgaris* приходится в среднем 84,75%.

Численность бацилл в пределах ризосферы практически не изменяется, а ризосферный эффект для этих микроорганизмов равен 1 [4, 5]. Выделенные виды *Bac. azotofixans*, *Bac. coagulans*, *Bac. polymуха*, *Bac. macerans*, которые составляют до 11,2% общего количества спорообразующих бактерий обеспечивают исследуемые растения нитратами за счёт фиксации атмосферного азота [6].

Грибы, актиномицеты и кокковая флора на ризосфере изучаемых растений составляют 5,7 и 5,0%.

Таблица 1

Квантитативные показатели ризосферной микрофлоры растений сем. Бобовые (*Fabaceae*) (КОЕ x 10⁶/г)

Родовая принадлежность ризосферных микроорганизмов	Количество выделенных ризосферных бактериальных колоний	
	горох посевной (<i>Pisum sativum</i> L)	фасоль обыкновенная (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)
<i>Pseudomonas spp.</i>	452,0 ± 2,2	461,0 ± 2,3
<i>Bacillus spp.</i>	253,0 ± 2,4	246,0 ± 1,8
<i>Rhizobium spp.</i>	118,0 ± 1,9	120 ± 2,1
<i>Azotobacter sp.</i>	56,0 ± 1,4	59,0 ± 1,5
<i>Mycobacterium spp</i>	186,0 ± 2,7	191,0 ± 1,6
<i>Agrococcus sp.</i>	41,0 ± 1,3	37,0 ± 2,2
<i>Proteobacter sp</i>	23,0 ± 1,1	25,0 ± 1,3
<i>Clostridium spp.</i>	43,0 ± 0,9	38,0 ± 1,4
<i>Actinomyces spp.</i>	18,0 ± 0,9	12,0 ± 1,2
<i>Streptococcus sp.</i>	2,0 ± 0,6	1,7 ± 0,3
Микроскопические грибы	7,0 ± 0,3	8,0 ± 0,2

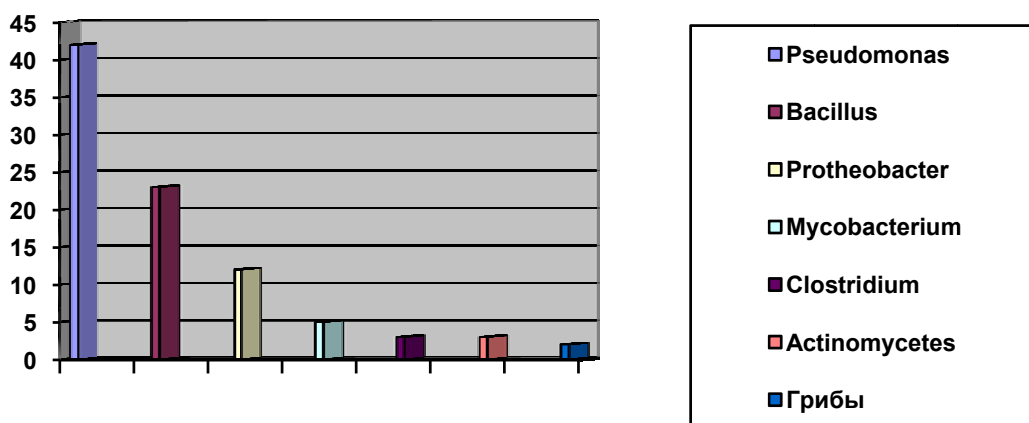


Рис. Количественный состав ризосферной микрофлоры *Helianthus annuus*

В ризосфере семейства Бобовых отмечается высокий процент клубеньковых бактерий, составляющих на *Pisum sativum* (9,8%), а на *Phaseolus vulgaris* (10%), которые снабжают растения азотом, фиксируя его из воздуха.

В результате исследования было установлено, что количество бактерий, населяющих ризосферу, *Helianthus annuus* составляет 91%, причем количество бактерий рода *Pseudomonas* – 42,5, а *Bacillus* – 23,3%. Другая бактериальная флора, представленная *Proteobacter sp.*, *Mycobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, составляет 25,2%.

Доля актиномицетов – 3,8%, грибов – 2,4, а другой кокковой флоры – 2,8%.

При идентификации в ризосфере *Helianthus annuus* выявлен условно-патогенный гриб *Fusarium sp.*, антагонистом которого является гриб *Penicillium nigricans* – 46,8% от общего количества грибной микрофлоры.

Бактерии рода *Pseudomonas* известны как агенты биоконтроля многих фитопатогенных грибов рода *Fusarium*. Защитный эффект флуоресцирующих псевдомонад связан не только с продукцией антигрибных компонентов, но и со способностью быстро колонизируя корни успешно конкурировать с фитопатогенными грибами за эту нишу [7].

Основой биологической защиты служит явление антагонизма между эндوفитными микроорганизмами и фитопатогенными. Ризосферная и филлосферная микрофлора проявляют своё ингибирующее действие на другие микроорганизмы через продуцирование биополимерных веществ – антибиотиков и бактериоцинов [8].

Взаимоотношение растений с корневой микрофлорой носят чаще характер раздельного симбиотрофизма, то есть они обоюдно полезны и растениям, и микроорганизмам. Микроорганизмы питаются выделениями растений и, размножаясь на корнях, оказывают разностороннее влияние на питание растений, в том числе и на поступление веществ в корни.

Выводы

В ходе экспериментальной работы:

1. Идентифицировано и изучено 39 видов ризосферных микроорганизмов, принадлежащих к 11 родам: *Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*, *Rhizobium sp.*, *Azotobacter sp.*, *Mycobacterium spp.*, *Agrococcus sp.*, *Proteobacter sp.*, *Clostridium spp.*, *Actinomyces spp.*,

Streptococcus sp., Микроскопические грибы. Качественный состав представителей родов *Bacillus* и *Pseudomonas* ризосферной микрофлоры растений семейства Бобовые (*Fabaceae*): гороха посевного (*Pisum sativum L.*), фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris L.*) и Сложноцветные (*Compositae*) – подсолнечника однолетнего (*Helianthus annus L.*), представлен следующими идентифицированными микроорганизмами: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas vulgatus*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas corrugate*, *Pseudomonas aurantiaca*, *Pseudomonas mirabilis*; *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus circulans*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus thuringensis*, *Bacillus vallismorlis*, *Bac. azotofixans*, *Bac. coagulans*, *Bac. polymyxa*, *Bac. macerans*.

2. Установлено, что количество выделенных ризосферных микроорганизмов рода *Pseudomonas spp.* гороха посевного (*Pisum sativum L.*) составила $452 \pm 2,2$, а у фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris L.*) $461,0 \pm 2,3$. Количество *Bacillus spp.*, соответственно, $253,0 \pm 2,4$ и $246,0 \pm 1,8$. Доля другой бактериальной флоры (*Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Proteobacter*, *Clostridium*) на ризосфере бобовых составляет, соответственно, 25,7 и 26,1%. На долю бактериальной флоры ризосферы *Pisum sativum* и *Phaseolus vulgaris* приходится в среднем 84,75%. В ризосфере сем. Бобовых отмечается высокий процент клубеньковых бактерий, составляющих на *Pisum sativum* (9,8%), а на *Phaseolus vulgaris* (10%), которые снабжают растения азотом, фиксируя его из воздуха. Количество бактерий, населяющих ризосферу *Helianthus annuus*, составляет 91%, причем количество бактерий рода *Pseudomonas* – 42,5%, а *Bacillus* – 23,3%. Другая бактериальная флора, представленная *Proteobacter sp.*, *Mycobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, составляет 25,2%. Доля актиномицетов – 3,8%, грибов – 2,4, а другой кокковой флоры – 2,8%;

3. Анализ количественного и качественного состава микроорганизмов ризосферы выявил начальный процесс формирования микробно-растительных взаимодействий, характеризующийся невысокой общей численностью микроорганизмов, отсутствием «ризосферного эффекта», преобладанием физиологических групп микроорганизмов, использующих мини-

мальное содержание питательных веществ в субстрате и минеральные формы азота. В процессе жизнедеятельности в прикорневой зоне растений *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris*, *Helianthus annuus* уменьшается численность аэробных гетеротрофных бактерий, азотфиксирующих бактерий и актиномицетов. Численность нитрифицирующих бактерий и микромицетов возрастает.

Библиографический список

1. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова. – М.: ACADEMIA, 2006.
2. Красильников Н.А. Бактерии и актиномицеты / Н.А. Красильников. – М.: Просвещение, 1984.

3. Красильников Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения / Н.А. Красильников. – М.: АН СССР, 1958.

4. Miller M.B., Bassler B.L. Annu. Rev. Microbiol. – 2001. – Vol. 55. – P. 165 – 199.

5. Мишустин Е.Н. Микробиология / Е.Н. Мишустин, В.Т. Емцов. – М.: Агропромиздат, 1992.

6. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация / М.М. Умаров. – М.: МГУ, 1996.

7. Боронин А.М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений / А.М. Боронин // Соросовский образовательный журнал. Сер. Биология. – 1998.

8. Дементьева А.И. Фитопатология / А.И. Дементьева. – М.: Агропромиздат, 1985.



УДК 581.5:502.72(571.53)1

Е.Г. Худоногова,
Т.В. Киселёва,
С.С. Белоусова,
С.В. Третьякова

ЗАПАСЫ СЫРЬЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЗАПАДНОГО ПРИБАЙКАЛЬЯ

Ключевые слова: *Adonis sibirica*, *Bergenia crassifolia*, *Chamerion angustifolium*, *Pentaphylloides fruticosa*, *Pulmonaria mollis*, *Rhodiola rosea*, *Thymus serpyllum*, *Vaccinium myrtillus*, *V. uliginosum*, *V. vitis-idaea*, запасы сырья.

Введение

На территории Прибайкалья произрастает более 600 видов дикорастущих лекарственных растений, рекомендуемых для пищевых и лечебных целей, из них в научной медицине применяется около 60 видов. Использование лекарственных растений Западного Прибайкалья возможно при условии планомерного изучения их запасов. Целью настоящей работы было изучение ресурсов 10 видов лекарственных растений Западного Прибайкалья, наиболее популярных у населения региона. В процессе работы решались следующие задачи: выявить ресурсы дико-

растущих лекарственных растений, провести учет ресурсов, определить объемы возможных ежегодных заготовок.

Объекты и методы

Определение запасов 10 видов лекарственных растений (*Adonis sibirica* Patr. ex Ledeb., *Bergenia crassifolia* (L.) Frisch, *Chamerion angustifolium* (L.) Holub, *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O.Schwarz, *Pulmonaria mollis* Wulfen ex Hornem., *Rhodiola rosea* L., *Thymus serpyllum* L., *Vaccinium myrtillus* L., *V. uliginosum* L., *V. vitis-idaea* L.) было проведено на территории Аларского, Иркутского, Боханского и Ольхонского районов.

При проведении исследований по определению ресурсов лекарственного сырья были использованы методические указания по изучению запасов дикорастущих лекарственных растений, рекомендованные А.И. Шретер, И.Л. Крыловой и др.,