

Всесоюзная ордена Ленина Академия
сельскохозяйственных наук имени В.И.Ленина
Всесоюзный научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии

На правах рукописи

ЕВДОКИМОВА Галина Андреевна

ЧИСЛЕННОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ
В РИЗОСФЕРЕ НЕКОТОРЫХ ЗЛАКОВ В ЗАПОЛЯРЬЕ

Специальность 03.00.07 – Микробиология

Диссертация написана на русском языке

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ленинград-Пушкин
1974

Работа выполнена в Полярно-альпийском ботаническом саду
ордена Ленина Кольского филиала им. С.М.Кирова АН СССР.

Научный руководитель : кандидат биологических наук
Д.А.Худякова

Официальные оппоненты: доктор биологических наук Т.В.Аристовская,
кандидат биологических наук Г.Н.Маршанова.

Ведущая организация: кафедра микробиологии биолого-почвенного
факультета Ленинградского государственного
университета им. А.А.Жданова.

Автореферат разослан "30" мая 1974 г.

Защита диссертации состоится "5" июня 1974 г.
в " " часов на заседании Ученого совета Всесоюзного н.-и.
института сельскохозяйственной микробиологии.

Отзывы в двух экземплярах просим направлять по адресу:
г.Пушкин, 188620, шоссе Подбельского, 3, ВНИИСХМ, Ученому
секретарю.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИСХМ.

Ученый секретарь: кандидат биологических
наук Д.С.Осладин.

ВВЕДЕНИЕ

Ризосфера высших растений является областью активного бактериального развития и представляет для почвенных микробиологов одну из наиболее интересных для изучения зон почвы. Эта зона достаточно четко выделяется в гетерогенной многофазной почвенной системе определенными изменениями физических, химических и биологических свойств почвы под влиянием вегетирующего растения и обитающих здесь микробов. Как показано многочисленными исследованиями, количество микроорганизмов в ризосфере в подавляющем большинстве случаев оказывается значительно выше, чем в той же почве без растений.

В настоящее время особый интерес представляет экологический подход к изучению ризосферы, прямые исследования сложной деятельности микроорганизмов в системе почва-растение-микробиота. Прямые методы вообще очень мало применялись при изучении микрофлоры ризосферы. Сейчас особенно ясно чувствуется необходимость в оценке биохимической деятельности микроорганизмов ризосферы в разных почвенных и климатических условиях, в убедительных доказательствах интенсивной жизнедеятельности микроорганизмов в этой зоне.

Мы имели возможность провести изучение микрофлоры ризосферы злаков на Кольском полуострове в своеобразных экстремальных условиях развития высших растений: при сжатом вегетационном периоде, круглосуточном полярном дне, недостатке тепла, периодических летних засухах и т.д.

В задачу наших исследований входило проведение общей характеристики микрофлоры ризосферной и неризосферной почв двух злаков общепринятыми методами посева на питательные среды и прямыми микроскопическими методами; определение величины ризосферного эффекта и ее изменений; ежедневный учет численности бактерий прямым методом с целью получения представлений об их биомассе, скорости размножения и продуктивности в почве и ризосфере.

Нам представляется, что исследования ризосферы в этом направлении не только дополняют сведения об общей продукции почвенных микроорганизмов, но и помогут охарактеризовать интенсивность микробиологической деятельности в зоне корней.

Диссертация объемом в 149 страниц машинописного текста состоит из введения, 5 глав, выводов, заключения и списка цитированной литературы из 178 наименований. Работа иллюстрирована 12 рисунками и 28 таблицами.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В течение нескольких лет (1969–1973 гг.) нами изучалась микрофлора ризосферы многолетних злаков: тимофеевки луговой *Phleum pratense* L. и костра безостого *Zerna inermis* (Leys.) Lindm., выращиваемых на окультуренных минеральных почвах Полярной опытной станции Всесоюзного института растениеводства (ст. Хибинь) и экспериментального участка Кольского филиала АН СССР (ст. Апатиты).

Почвы под исследуемыми травами характеризуются слабо-кислой реакцией среды, высоким накоплением углерода и средним, для почв Кольского п-ова, содержанием азота (табл. I). На обоих участках почвы длительно и интенсивно окультуривались.

Отбор почвенных образцов для микробиологического анализа проводили в течение вегетационного периода с учетом фаз развития растений. Количество микроорганизмов определяли в ризосферной почве, которая находится вокруг корней в среднем на расстоянии до 0,5–1 см и отделяется от них путем встряхивания; в почве прикорневой зоны (ризоплана), непосредственно прилегающей тонким слоем (1–2 мм) к корням и отделяемой от них только с помощью смывания водой и в контрольной – той же почве без растений из слоя 0–10 см.

Численность и состав ризосферной микрофлоры определяли методом посевов на плотные и жидкие питательные среды. Предварительно клетки с почвенных частиц десорбировали растиранием навески почвы по методу Д. Г. Звягинцева с соавт. (1966). Посев поверхностный из 10^{-3} – 10^{-5} разведений, в 3 повторностях.

Численность микроорганизмов определяли на крахмало-амиачном, мясо-пептонном (в образцах 1969 г.), запустном агаре и

Таблица I

Некоторые данные аналитической характеристики
исследуемых почв

Растение и почва	C	N	C/N	pH		Каталаз- ная ак- тивность в мг O ₂ /г поч- вы за 5 мин.	Дегидро- геназная актив- ность в мг форма- зы/г почвы за 24 часа
	%			вод- ный	со- ле- вой		
<u>Костер</u>	Иллювиальный железистый подзол (ст.Хвоины)						
Контрольная	2.06	0.092	22.3	5.1	4.2	11.7	0.21
Ризосферная	2.37	0.098	24.2	5.2	4.3	12.8	0.22
Прикорневая	2.70	0.117	23.1	5.6	4.3	14.4	0.25
<u>Тимофеевка</u>	Иллювиальный гумусово-железистый подзол (ст.Апатиты)						
Контрольная	2.18	0.094	23.2	5.3	4.4	11.9	0.19
Ризосферная	2.72	0.122	22.3	5.5	4.4	13.7	0.38
Прикорневая	4.16	0.179	23.2	5.8	4.4	15.4	0.64
<u>Костер</u>	Иллювиальный гумусово-железистый подзол (ст.Апатиты)						
Контрольная	2.20	0.099	22.2	5.3	4.7	11.9	0.08
Ризосферная	2.22	0.095	23.4	5.4	4.7	12.1	0.20
Прикорневая	2.46	0.120	20.5	5.6	4.8	13.1	0.32
<u>Тимофеевка</u>	Иллювиальный гумусово-железистый подзол (ст.Апатиты)						
Контрольная	3.44	0.165	20.8	6.2	5.5	10.2	0.12
Ризосферная	3.56	0.154	23.1	6.4	5.5	15.0	0.49
Прикорневая	3.74	0.162	23.1	6.3	5.5	14.9	0.85

на средах с почвенной вытяжкой. Количество олигонитрофилов и азотобактера учитывали на среде Зейса, олиготрофов — на синтетической среде Аристовской нормальной концентрации и разбавленной в 5 раз, грибов — на подкисленном сусло-агаре, аэробные целлюлозоразлагающие микроорганизмы — на среде Гетчинсона с фильтровальной бумагой. Денитрифицирующие микроорганизмы учитывали на жидкой среде Гильта с 1% раствором бромтимолового синего, нитрифицирующие бактерии I и II фазы — на соответствующих средах Виноградского, *Clostridium pasteurianum* — на безазотистой среде Виноградского.

В 1971 и 1972 годах с 1 по 31 августа проводили ежедневный учет численности бактерий прямым методом С.Н. Виноградского в модификации О.Г. Шульгиной для определения скорости размножения бактерий и их месячной продукции в почве и в ризосфере. Препараты готовили в 3–4 повторностях, микроскопировали на МБИ-6 при объективе 60^x и окуляре 10^x. Подсчет клеток проводили в 50 полях зрения. Микробную биомассу вычисляли на основании данных по количеству и размерам (весу) клеток. Скорость одной генерации бактерий рассчитывали по формуле М.В. Иванова (1955).

Дифференцированный учет живых и мертвых бактерий в почве и ризосфере проводили методом двойной окраски по М.А. Пешкову (1955).

Для сравнительной характеристики биологической активности ризосферной и неризосферной почв определяли следующие показатели: температуру почвы на глубине развития корневой системы, влажность почвы спиртовым (Попов, 1960) и термостатно-весовым методами, pH солевой и водной вытяжек, каталазную активность почвы газометрическим методом, дегидрогеназную активность почвы по Ленхарду (Lenhard, 1956) (табл. I), суммарную протеазную активность почвы по методу Е.Н. Мишустина с соавт. (1968), содержание общего углерода по Тирину и азота по Кьельдалю, интенсивность разложения клетчатки: методом посева на среду Гетчинсона с фильтровальной бумагой, методом почвенных пластинок по Христенсену и путем закладывания льняных полотен в почву; биологическую токсичность изучаемых почв определяли методами пластинок с целлофаном (Красильников, 1968) и замачивания семян (Мирочкин, 1957).

Результаты количественного учета микроорганизмов обработаны статистически.

Ошибки опыта по методу прямого счета не более 6-9%, по методу посева (на КАА) не более 5%.

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОФЛОРЫ РИЗОСФЕРЫ КОСТРА И ТИМОФЕВКИ

Проводя исследования ризосферной микрофлоры костра и тимофевки методом посевов на различные питательные среды и прямыми микроскопическими методами, мы прежде всего выяснили степень заселенности микроорганизмами разных, по мере удаления от корня, частей ризосферы и величину ризосферного эффекта; состав и численность ризосферной микрофлоры в отдельные фазы развития растений; различие в микрофлоре двух исследуемых трав и специфичность ризосферной популяции; провели анализ микрофлоры по физиологическим группам и определение видов доминирующих микроорганизмов, а также сравнение результатов количественного учета микроорганизмов, проведенного прямым методом и методом разведений.

Результаты посевов показали, что количество микроорганизмов в ризосфере костра и тимофевки составляет десятки и сотни миллионов в 1 г абсолютно сухой почвы. Наибольшее количество микроорганизмов сконцентрировано в прикорневой зоне — слое почвы, непосредственно примыкающем к корням. Здесь микроорганизмов в расчете на 1 г почвы в десятки раз больше, чем в контроле и в 5-7 раз больше, чем в ризосферной почве. По мере удаления от поверхности корня происходит резкое уменьшение числа клеток в почве.

Нами установлено, что численность ризосферных микроорганизмов изменяется по фазам развития растений и особенно значительно в прикорневой зоне (рис. I). Стимуляция микробного развития в ризосфере, незначительная в ранние стадии роста растений, возрастает в период их интенсивного роста и развития и заметно уменьшается в конце вегетации. Максимальное содержание микробов в прикорневой зоне костра на всех используемых для посева средах наблюдается в фазу колошения, в среднем 190 млн. клеток в 1 г почвы. В прикорневой зоне тимофевки

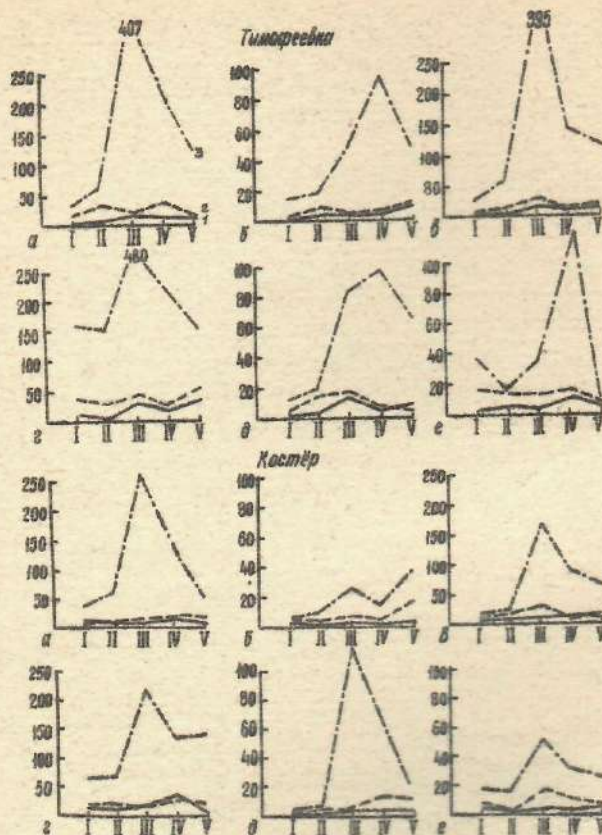


Рис. 1. Количество микроорганизмов в контрольной (1), ризосферной (2) и прикорневой (3) почве изучаемых злаков на железистом подзоле, 1971 г.

Фазы развития растений: у тимфеевки I - кушение, II - выход в трубку, III - цветение, IV - молочно-восковая спелость, V - полная спелость; у костра I - кушение, II - выход в трубку, III - колошение, IV - цветение, V - молочно-восковая спелость.

Среды: а - Эшб, б - разбавленная, в - нормальная среды Аристовской, г - КАА, д - капустная, е - почвенная.

По оси абсцисс - фазы развития; по оси ординат - количество микроорганизмов (млн/г почвы).

максимум численности микрофлоры наблюдается позднее — в период цветения и начала молочно-восковой спелости, в среднем 150-170 млн. клеток в 1 г почвы.

Самым наглядным выражением концентрации микроорганизмов в зоне корней растений является "ризосферный эффект", т.е. отношение количества микроорганизмов в ризосфере к количеству микроорганизмов в почве за пределами ризосферы.

Нами установлено наличие достоверного, но сравнительно невысокого ризосферного эффекта, величина которого изменяется по фазам развития растений и зависит от биологического состояния растения, а также от состава применяемых питательных сред. Ризосферный эффект у коостра и тимофеевки выражается цифрами одного порядка. В среднем за три года наблюдений по результатам посевов ризосферный эффект у тимофеевки равен 10, у коостра — 14. По результатам прямого счёта средняя величина ризосферного эффекта у тимофеевки равна 13, у коостра — 12.

Возрастание численности и активизация жизнедеятельности микроорганизмов в зоне корней растений обусловливается созданием в этой области экологических условий, во многих отношениях отличающихся от окружающей почвы. В ризосфере благодаря деятельности вегетирующего растения и обитающих здесь микроорганизмов происходят определённые изменения физико-химических и биологических свойств почвы. В ризосферной почве выше по сравнению с контрольной содержание азота и углерода, выше значения pH водной вытяжки, каталазная и дегидрогеназная активность (табл. I). Ризосферная почва отличается от неризосферной также по величине влажности, температуры, интенсивности разложения клетчатки и биологической токсичности, которая в прикорневой почве выше, чем в контрольной.

В наших условиях в зоне корней растений, как правило, влажность на 3-4%, а температура на 1-1,5° ниже, чем в почве без растений. Однако в ризосфере значения температуры и влажности более стабильные, чем в контрольной почве, где они подвержены более резким и частым колебаниям.

Изучение состава ризосферной микрофлоры коостра и тимофеевки показало, что в ризосфере изучаемых трав преобладают неспороносные, грамотрицательные бактерии. В прикорневой зоне на их долю приходится до 97% всей учитываемой микрофлоры,

в ризосфере - до 95%, в контроле - 87-91%. Относительное содержание грибов и актиномицетов в ризосфере ниже, чем в контроле.

Доминируют среди неспороносных бактерий-бактерии, потребляющие минеральный азот. Сапрофитных бактерий, растущих на мясо-пептонном агаре, значительно меньше. Отношение количества бактерий, растущих на КАА, к количеству бактерий на МПА, достигает иногда 3-4, что косвенно свидетельствует о наличии здесь благоприятных условий для минерализационных процессов.

При определении доминирующих видов не обнаружено существенных различий в качественном составе ризосферной микрофлоры ковра и тимopheвки. В микробной популяции обоих злаков преобладают неспороносные бактерии родов *Pseudomonas* и *Bacterium*: *Ps. fluorescens*, *Ps. liquefaciens*, *Ps. denitrificans*, *Ps. herbicola*, *Bact. nitrificans*, грибы родов *Penicillium*, *Mucor* и *Trichoderma*, актиномицеты *Act. albus vulgaris*, *Act. griseus variabilis* и др.

Намечено усиленное развитие микроорганизмов некоторых физиологических групп в зоне корней. Здесь больше, чем в контрольной почве денитрификаторов (до 40 млн. клеток в 1 г почвы), маслянокислых бактерий, аэробных целлюлозоразлагающих микроорганизмов, представленных в основном грибами и актиномицетами, реже - бактериями рода *Cytophaga*.

Количество нитрифицирующих бактерий и их активность в изучаемых почвах незначительны, причем в зоне корней их численность иногда ниже, чем вне ее.

Исследуемые почвы токсичны по отношению к азотобактеру.

Чрезвычайно распространенными свободноживущими фиксаторами азота в данных почвах являются маслянокислые бактерии рода *Clostridium* и многочисленные олигонитрофилы. Количество *Cl. pasteurianum* достигает 1,5 млн. клеток в 1 г почвы. В прикорневой зоне его в 25 раз больше, чем в контроле. Количество олигонитрофилов в ризосфере злаков в 10 с лишним раз больше, чем в контроле и достигает 400 млн. в 1 г почвы. Олигонитрофилы на 95% представлены бактериями.

Сравнение результатов учета численности микроорганизмов, проведенного двумя методами, показало, что методом прямого счета определяется в сотни раз больше микроорганизмов, чем методом посева, в среднем в 150-160 раз, а в отдельных случаях в 500-600 раз.

СКОРОСТЬ РАЗМНОЖЕНИЯ И ПРОДУКЦИЯ БАКТЕРИЙ В РИЗОСФЕРЕ РАСТЕНИЙ

Кратковременные колебания численности и биомассы бактерий в ризосфере костра и тимофеевки

Согласно данным многих авторов количество микроорганизмов в почве подвержено не только сезонным, но и кратковременным пульсационным колебаниям, совершающимся каждые 3-5 дней даже при постоянных внешних условиях (Cutler et al., 1922; Thornton & Gray, 1930; Худяков, 1958; Аршстовакая, 1972; Паринкина, 1972 и др.). Исходя из данных о колебаниях численности и биомассы бактерий, учитываемых ежедневно в течение определенного периода наблюдений, можно получить представление о таких важных показателях биогенности почвы, как скорость размножения микроорганизмов и их сезонная продукция.

Ежедневные наблюдения, проведенные нами в течение августа в 1971 и 1972 годах, показали, что количество бактерий как в почве, так и в ризосфере подвержено кратковременным пульсационным колебаниям. Пульсации наиболее значительны в прикорневых зонах злаков, где они отличаются резкими подъемами и спадами и происходят в более короткие сроки (2-3 дня).

В течение месяца в прикорневой зоне тимофеевки было отмечено 8 достоверных подъемов численности бактерий и по 6 подъемов в ризосфере и контроле (рис.2). За это время количество бактерий в прикорневой зоне тимофеевки изменялось от 3 до 57 млрд. клеток в 1 г почвы.

В прикорневой зоне костра в 1971 году за месяц произошло также 8 достоверных подъемов численности бактерий, а в ризосфере и контроле по 5 подъемов.

Результаты наблюдений в 1971 и 1972 годах, несмотря на различные погодные условия в эти периоды, сходны между собой, что находит свое выражение в характере пульсаций, в размерах продукции и гибели бактерий.

В зависимости от преобладающего развития той или иной группы микроорганизмов, характера взаимоотношений микроорганизмов с микрофауной и между отдельными группами в популяции,

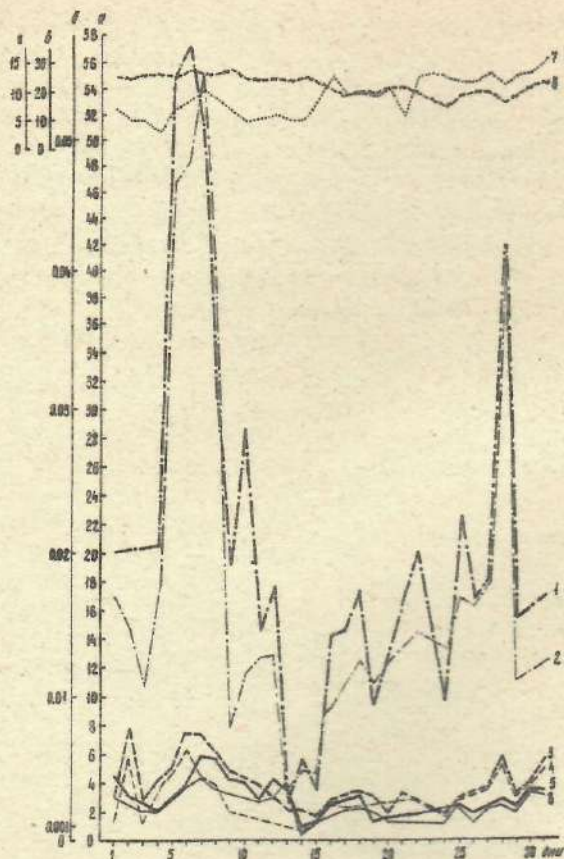


Рис. 2. Периодические колебания численности и биомассы бактерий по ежедневным наблюдениям в ризосфере тимфеетки, 1971 г.

Численность бактерий: 1 - в прикорневой почве, 3 - в ризосферной, 5 - в контрольной.

Биомассы бактерий: 2 - в прикорневой почве, 4 - в ризосферной, 6 - в контрольной, 7 - влажность почвы, 8 - температура почвы.

По оси абсцисс - дни наблюдений; по оси ординат: а - количество бактерий (млрд/г почвы); б - биомасса (г/г почвы); в - влажность (%); г - температура ($^{\circ}\text{C}$).

количество бактерий в почве возрастает всякий раз до различного максимального уровня, но периодичность колебаний - длительная периода - остается относительно постоянной.

На рисунке видно, что кратковременное периодическое возрастание и уменьшение численности бактерий не связаны с изменением температуры и влажности почвы.

Нам представляется вероятным, что неоднократно наблюдаемое в течение месяца резкое снижение численности бактерий обуславливается не только их выеданием простейшими, но и гибелью клеток под действием токсических веществ с последующим их лизисом. Качество и количество поступивших в среду продуктов обмена микроорганизмов регулируют скорость их роста и развития, определяют темпы клеточного деления.

Наблюдая за ходом кривых, отражающих суточные изменения численности и биомассы бактерий, следует отметить, что колебания величины биомассы происходят в основном аналогично колебаниям численности бактерий. В прикорневой зоне тимофеевки в течение летнего месяца в 1971 году биомасса изменялась в пределах от 3,6 до 54,5 мг/г почвы, т.е. в 15,1 раза. В прикорневой зоне ковра пределы колебания биомассы в течение месяца 1971 года составили 4,0-31,0 мг/г почвы - в 7,7 раза. В контрольных почвах обоих участков биомасса бактерий в течение месяца колебалась от 0,2-0,7 до 3,6-4,9 мг/г почвы.

Таким образом, по нашим данным биомасса бактерий в прикорневой зоне злаков в 8,5-10 раз выше, чем в контроле.

Мы подсчитали общее количество бактериальных клеток, образовавшихся и погибших в почве за весь срок наблюдений (табл.2). Общее количество клеток, которое образовалось за август в прикорневой зоне злаков, в 10-17 раз больше, чем в контрольной почве. Размеры прироста бактериальных клеток для каждой зоны близки размерам их гибели, следовательно, количество бактерий в почве колеблется около какой-то характерной для данной почвы величины. В 1972 году размеры гибели бактерий незначительно превышали размеры их прироста. Помимо того, что в методе расчета существуют некоторые допущения, такой отрицательный баланс нарастания численности бактерий может, по-видимому, наблюдаться в природе в течение какого-то промежутка времени, неблагоприятного для размножения бактерий.

Таблица 2

Размеры прироста и гибели бактерий за месяц
(млрд/г почвы)

Растение и почва	1971 г.		1972 г.	
	прирост	гибель	прирост	гибель
Тимофеевка				
Контрольная	11,0	9,7	11,7	12,2
Ризоферная	16,3	16,2	12,9	14,5
Прикорневая	114,9	120,1	196,4	220,6
Костер				
Контрольная	6,5	6,3	10,3	12,5
Ризоферная	10,8	11,2	13,3	16,0
Прикорневая	74,4	76,8	101,3	105,3

Определение скорости размножения бактерий

Результаты ежедневных наблюдений дают возможность приблизительно рассчитать скорость размножения бактерий, которая вычисляется временем, необходимым для удвоения количества клеток - время генерации. Скорость одной генерации бактерий мы рассчитывали по формуле М.И.Иванова (1955), предложенной для определения скорости размножения микроорганизмов в водной среде.

Число генераций бактерий за месяц определяли путем деления общей суммы часов периодов нарастания численности на величину средней скорости генерации за месяц.

В табл.3 приводится пример расчета времени генерации и числа генераций бактерий в прикорневой зоне тимофеевки в 1971 году.

Расчеты показывают, что время генерации бактерий изменяется в течение срока наблюдений. Так, в прикорневой зоне тимофеевки время генераций за август изменяется от 20 до 83 часов. За этот период произошло не менее 8 генераций бактерий.

Таблица 3

Исходные данные для расчета числа генераций бактерий за месяц в прикорневой зоне тимофеевки, 1971 г.

Срок от- меченно- го мак- симума числа бактерий, дни	Период: нарас- тания числа бакте- рий, часы	Изменение количества бактерий за период, млрд. в 1 г почвы		Ско- рость гене- рации, часы	Средняя: ско- рость ге- нерации в часах	Число генера- ций бак- терий за период
		минимум	максимум			
6-й	48	20,6±0,8	57,1±4,6	32,6		
10-й	24	19,2±1,6	28,5±3,5	42,1		
12-й	24	14,5±1,6	17,7±3,6	83,4	41,6	8
14-й	24	2,7±0,2	5,7±0,3	22,3		
18-й	72	3,5±0,1	17,3±0,6	31,2		
22-й	72	9,4±1,2	20,1±2,4	65,6		
25-й	24	9,7±0,4	22,5±2,4	19,8		
28-й	48	16,3±1,2	42,3±3,0	35,8		

$\Sigma = 336$

Данные по средней скорости бактериальной генерации и числу генераций за месяц в 1971 и 1972 годах представлены в табл. 4. Из таблицы видно, что среднее время одной генерации бактерий во время подъема кривой их численности в зоне корней растений меньше, чем в почве без корней. Размножение бактерий в ризосфере происходит быстрее, чем вне ее. Среднее время одной генерации бактерий за два года наблюдений в течение летнего месяца в прикорневой почве изучаемых злаков составляет 39,5 часа, в ризосферной — 41,2 часа, в контрольной почве — 50,7 часа.

Наибольшее число генераций бактерий за месяц происходит в прикорневой почве — 8-10, наименьшее — в контрольной — 4-6. Следовательно, в непосредственной близости к поверхности корня

Таблица 4
Средняя скорость бактериальной генерации и число
генераций за месяц

Растение и почва	1971 г.		1972 г.	
	скорость генерации :(в часах)	число генераций	скорость генерации :(в часах)	число генераций
Тимофеевка				
Контрольная	67,8	6	50,1	6
Ризосферная	48,8	7	26,0	7
Прикорневая	41,6	8	38,3	10
Костер				
Контрольная	54,5	4	30,2	6
Ризосферная	53,1	5	36,9	6
Прикорневая	50,4	6	27,7	9

наблюдается не только повышенная концентрация микроорганизмов, но возрастает и интенсивность их жизнедеятельности.

Наши данные по скорости размножения бактерий подтверждают интересную закономерность в развитии микрофлоры в почвах Крайнего Севера, отмеченную О.М.Паринкиной (1972). Так, в некоторых почвах Таймыра число генераций бактерий за месяц достигает 12, в то время как в более южных районах в течение месяца происходит 2-5 генерации (Красильников, 1944). Для окультуренных почв Кольского полуострова число генераций бактерий за месячный срок достигает 8-10. Такая высокая частота возобновления бактериальной массы в почвах Крайнего Севера связана с коротким вегетационным периодом в этом районе и соответствует скорости развития других представителей биоценоза Заполярья.

Размеры продукции ризосферных микроорганизмов

Общая биомасса почвенных бактерий и других микроорганизмов, как известно, еще не поддается точному определению, но,

несомненно, она выражается значительными величинами и в биоценозах суши превосходит биомассу животных. Если для растений и большинства животных понятия биомассы и годичной продукции в основном совпадают, то для микроорганизмов разница между ними существенна. В течение года биомасса почвенных бактерий многократно возобновляется.

Для получения представления о размерах общей продукции почвенных микроорганизмов необходимо отдельно учитывать продукцию ризосферных микроорганизмов, т.к. в зоне корней растений плотность и биомасса микробного населения особенно высока.

Мы подсчитали месячную продукцию бактериальной массы в ризосфере злаков и в почве. Для этого суммировали все максимальные величины биомассы в течение срока наблюдений и вычли из них биомассу бактерий в периоды депрессии. Подобным образом рассчитали общую убыль микробной биомассы за этот срок (Аристовская, 1972).

Из приведенных в табл.5 данных следует, что продукция бактериальной массы в прикорневой зоне кострея и тимopheвки в 9-13 раз больше, чем в контроле. Общая продукция сырой массы бактерий за летний месяц в прикорневой зоне изучаемых злаков изменяется от 59,6 до 117,3 мг/г почвы, в ризосфере - от 9,2 до 15,3 мг/г почвы, в контроле - от 6,3 до 9,3 мг/г почвы. При пересчете на сухое вещество вес бактерий в прикорневой зоне составляет примерно 1,2-2,3% от веса почвы, в ризосфере - 0,18-0,31%, в контроле - 0,13-0,19%.

Мы рассчитали примерные размеры бактериальной продукции в тоннах на 1 га, принимая, что 1 га пахотного слоя почвы весит 3000 т (объемный вес исследуемой почвы 1,2) и что ризосферная почва составляет 1/10 часть пахотного слоя.

Расчеты показывают, что продукция сухой биомассы бактерий в контроле составляет примерно 3,9-5,7 т/га, в собственно ризосфере - 4,1-6,1 т/га, в прикорневой зоне - 7,3-11,3 т/га.

Приводимые нами цифры по размерам продукции микробной биомассы вполне реальны. Такая высокая биомасса бактерий в зоне корней растений создается не только за счет основного источника органического вещества в виде растительных остат-

Таблица 5
 Размеры продукции и гибели живой массы бактерий
 за месяц

Растение и почва	Продукция сырой бактериальной массы, мг/г	Гибель бактерий, клеток, мг/г почвы	Продукция бактериальной массы			
			на сухое вещество, мг/г почвы	% к весу почвы	% к гумусу	в т/га

1971 год

Тимофеевка						
Контрольная	9,3	8,3	1,9	0,19	3,2	5,7
Ризосферная	15,3	13,6	3,1	0,31	3,3	6,1
Прикорневая	89,2	88,9	17,8	1,78	5,4	10,5
Костер						
Контрольная	6,7	6,5	1,3	0,13	4,2	4,8
Ризосферная	9,2	8,8	1,8	0,18	4,3	4,9
Прикорневая	59,6	63,6	12,0	1,20	6,2	7,9

1972 год

Тимофеевка						
Контрольная	7,8	7,9	1,6	0,16	2,7	4,8
Ризосферная	9,7	10,2	2,0	0,20	2,7	4,9
Прикорневая	117,3	127,2	23,5	2,35	5,8	11,3
Костер						
Контрольная	6,3	7,3	1,3	0,13	3,4	3,9
Ризосферная	9,2	10,1	1,8	0,18	3,6	4,1
Прикорневая	64,1	75,1	12,8	1,28	5,7	7,3

ков и погибших почвенных животных и бактерий, но и за счет дополнительных источников органического углерода в виде кор-

новых выделений высших растений, достигающих 10% от сухого веса надземной части растений (Vančura, 1964). К этому следует добавить постоянно отмирающие клетки корневых экзотических и большое количество гелеобразного слизистого вещества, выделяемого корнями (Самцевич, 1968).

ВНУТРИСУТОЧНЫЕ КОЛЕБАНИЯ ОБЩЕЙ ЧИСЛЕННОСТИ И СООТНОШЕНИЯ ЖИВЫХ И МЕРТВЫХ БАКТЕРИЙ В РИЗОСФЕРЕ КОСТРА

С помощью проведения ежедневных учетов нами показано, что количество бактерий в ризосфере может существенно изменяться в течение 2-3 дней. По данным Торнтона и Грея (Thornton a. Gray, 1930), Торнтона и Тейлора (Thornton a. Taylor, 1935) бактериальные пульсации в почве могут иметь суточные и даже внутрисуточные ритмы. В связи с этим очень интересными представляются наблюдения за изменением численности ризосферных микроорганизмов в течение суток. Происходят ли такие изменения в ризосфере и если происходят, то с какой частотой и насколько они достоверны?

Мы провели учет количества и биомассы бактериальных клеток в ризосфере костра безостого и в почве без растений методом прямого счета через каждые два часа в течение двух суток. Данные, представленные на рис.3, свидетельствуют о том, что количество бактерий как в ризосфере, так и вне ее подвержено кратковременным пульсационным колебаниям, совершающимся даже с внутрисуточным ритмом. За двое с небольшим суток в прикорневой зоне костра произошло 3 достоверных подъема численности, в контроле - один. В течение времени наблюдений (52 час.) количество бактерий в прикорневой зоне изменялось от 3,4 до 23,8 млрд. клеток, в контроле - от 0,39 до 1,35 млрд. клеток в I г почве.

Колебания величины биомассы в течение 52 часов происходят аналогично колебаниям численности бактерий. Биомасса увеличивается с возрастанием количества бактерий и уменьшается с падением их числа.

Таким образом, показано, что кратковременные колебания численности бактерий в ризосфере и почве могут иметь суточ-

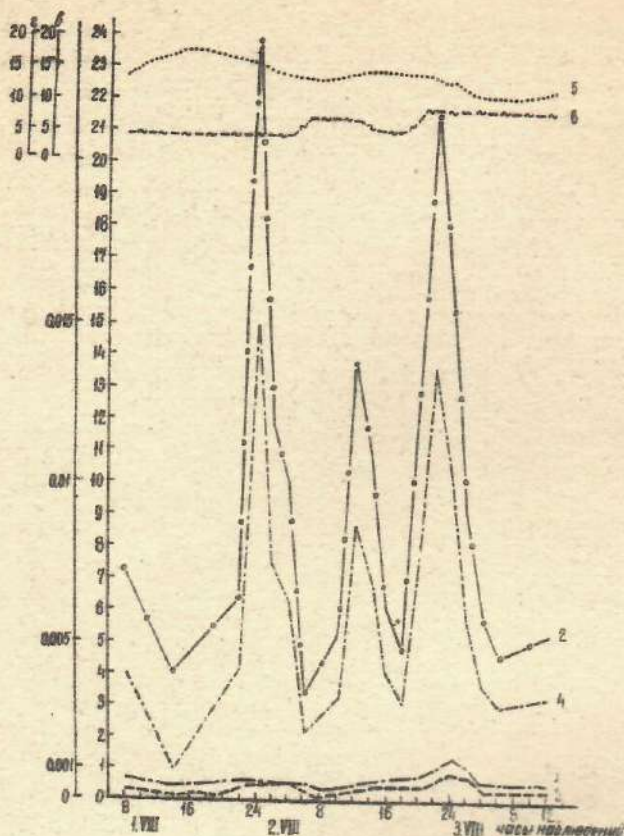


Рис. 3. Периодические колебания численности и биомассы бактерий в ризосфере костра по внутрисуточным наблюдениям.

Численность бактерий: 1 - в контрольной почве, 2 - в прикорневой почве.

Биомасса бактерий: 3 - в контрольной почве, 4 - в прикорневой почве; 5 - температура почвы, 6 - влажность почвы.

По оси абсцисс - часы наблюдений; по оси ординат: а - количество бактерий (млрд/г почвы); б - биомасса (г/г почвы); в - влажность (%); г - температура ($^{\circ}\text{C}$).

ные и даже внутрисуточные ритмы.

Параллельно с изучением внутрисуточных колебаний численности бактерий по методу О.Г. Дульгиной мы провели дифференцированный учет живых и мертвых бактерий в почве и ризосфере методом двойной окраски по М.А. Пешкову (Аристовская и Зикина, 1972). Данные анализов свидетельствуют о том, что характер кратковременных колебаний численности бактерий определяется живыми клетками. Мертвые клетки составляют незначительную часть почвенной микрофлоры. В контрольной почве число мертвых клеток за период наблюдений изменялось от 0,7 до 7%, а в прикорневой почве от 0,6 до 5% от общего количества бактерий, т.е. в зоне корней отмечалось несколько меньшее количество мертвых клеток, чем в почве без растений.

Обнаруженные нами различия в характере ежедневных и внутрисуточных колебаний численности бактерий в ризосферной и неризосферной почве еще раз свидетельствуют о существенном влиянии здорового вегетирующего растения на его ризосферную микрофлору и о повышенной активности микроорганизмов в зоне корней. Эти различия отражают направленность микробиологических процессов, протекающих в почве и ризосфере.

ВЫВОДЫ

1. Изучались сезонные и кратковременные изменения численности и продуктивности микроорганизмов в ризосферной и неризосферной почвах под козлом и тимофеевкой на окультуренных подзолах Кольского полуострова.

2. При проведении ежедневных учетов численности микроорганизмов в ризосфере и контрольной почве установлены закономерности падения и возобновления их численности, вычислена месячная продукция биомассы бактериальных клеток, а также скорость одной генерации и число генераций бактерий за месяц.

3. Размножение бактерий в почве зоны корней происходит быстрее, чем вне ее. Среднее время одной генерации бактерий в прикорневой почве изучаемых злаков составляет 39 часов, в ризосферной — 41 час, в контрольной почве — 51 час. В прикорневой зоне злаков происходит за месяц не менее 8-10 генераций бактерий, в ризосфере не менее 5-7, в почве без раста-

ний - 4-6 генераций.

4. Общее количество клеток, которое образовалось за август в прикорневой зоне злаков, в 10-17 раз превышает количество клеток, образовавшихся в почве без растений. Месячная продукция биомассы бактериальных клеток в прикорневой зоне в 9-13 раз больше, чем в контроле и составляет, примерно, 1-2% от веса почвы. Общая масса бактерий в ризосферной почве составляет 0,2-0,3%, в контрольной - 0,1-0,2% от веса почвы.

Определено число мертвых бактериальных клеток в ризосфере и вне ее. Количество мертвых клеток не превышало 5-7% от общего числа бактерий.

5. Численность бактерий в ризосфере может существенно изменяться даже в течение одних суток. За 52 часа количество бактерий в прикорневой зоне костре трижды возрастало в 4-6 раз и снова падало. В контрольной почве за это время произошел один достоверный подъем численности - 3,5 раза.

6. Методом посевов и прямого счета определены изменения численности ризосферных микроорганизмов по фазам развития растений, количества микроорганизмов в разных частях ризосферы. Наибольшее их число сконцентрировано в прикорневой зоне. По мере удаления от корня происходит резкое уменьшение количества клеток в почве.

7. Установлено наличие достоверного, но сравнительно невысокого ризосферного эффекта. В среднем по результатам метода посевов ризосферный эффект у тимофеевки равен 10, у костре - 14.

8. В ризосфере изучаемых злаков преобладают неспороносные грамтрицательные бактерии, количество которых составляет до 97% от всей микрофлоры. Преобладают бактерии, потребляющие минеральный азот. Доминирующие бактерии определены до вида.

Опубликованные работы по теме диссертации:

1. О численности микроорганизмов в ризосфере злаковых растений. Всесоюзная конференция по вопросам учета численности и биомассы почвенных микроорганизмов. Тезисы докл., Л., 1969.

2. О численности микроорганизмов в ризосфере злаковых растений. Со.: Вопросы численности, биомассы и продуктивно-

сти почвенных микроорганизмов. Изд. "Наука", Л., 1972.

3. Исследование ризосферной микрофлоры некоторых злаков в условиях Заполярья. Сб.: Проблемы ботанических и почвенных исследований на Кольском Севере. Апатиты, 1972.

4. Динамика численности и соотношение некоторых групп микроорганизмов в почве и ризосфере злаковых трав. Второе региональное совещание почвоведов северо- и среднетаежной подзон Европейской части СССР. Тезисы докл. Сыктывкар, 1972.

5. Ежедневная динамика численности бактерий в ризосфере некоторых злаковых трав. "Вопросы биогеографии Севера Европейской части СССР". Тезисы докл., Апатиты, 1972.

6. Динамика численности микроорганизмов в ризосфере некоторых злаков в условиях Кольского полуострова. Почвоведение, № 12, 1973.

7. К микробиологической характеристике ризосферы некоторых злаковых трав. Сб.: Биологические процессы и минеральный обмен в почвах Кольского полуострова. Апатиты, 1974.

Результаты работы были доложены и обсуждены на Всесоюзной конференции по вопросам учета численности и биомассы почвенных микроорганизмов. Ленинград, 1969 г. и на Втором региональном совещании почвоведов северо- и среднетаежной подзон Европейской части СССР. Сыктывкар, 1972 г.