

УДК 543.472.3

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА РИЗОСФЕРЫ И РИЗОПЛАНЫ *CUCURBITA PEPO L.*

Артамонова М.Н., Потатуркина-Нестерова Н.И.

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск,
e-mail: artamonovamn2013@yandex.ru

Изучен микробиоценоз прикорневой зоны *Cucurbita pepo*. В ходе исследования были выделены бактерии, населяющие ризосферу и ризоплану тыквы обыкновенной. Изучен видовой состав микробного населения ризосферы в различные периоды вегетации. Установлено, что на начальных этапах развития тыквы в ризосфере тыквы преобладают грамотрицательные бактерии родов *Pseudomonas*, *Enterobacter*, в более поздние фазы – спорообразующие бациллы. Таким образом, наибольшее видовое разнообразие микробного сообщества ризосферы *Cucurbita pepo* наблюдалось в период цветения и плодоношения. Показано, что имеются качественные и количественные различия микробного населения ризосферы и ризопланы. Наиболее плотнозаселенной нишей является ризосфера. Микробное сообщество ризосферы представлено энтеробактериями *Citrobacter freundii*, *Shewanella putrefaciens*, а также спорообразующими бактериями *Bacillus subtilis* и *B. megaterium*. Доминирующее место в микробиоценозе ризопланы занимали грамотрицательные палочки *Shewanella putrefaciens* и *Serratia odorivera*.

Ключевые слова: ризосфера, ризоплан, ризобактерии, ризосферный эффект

CHARACTERIZATION OF RHIZOSPHERA'S AND RHIZOPLANA'S MICROBIAL COMMUNITY OF *CUCURBITA PEPO L.*

Artamonova M.N., Potaturkina-Nesterova N.I.

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, e-mail: artamonovamn2013@yandex.ru

It has been studied root zone microbocenosis of *Cucurbita pepo*. It has been identified bacteria that inhabit the rhizosphere and rhizoplan of pumpkin. It has been researched species composition in the rhizosphere of different periods of the growing season. It has been established that gram-negative bacteria *Pseudomonas* and *Enterobacter* were prevailed in pumpkin's rhizosphere of the early vegetative stages and spore-forming bacillus were dominated in the later phases. Thus, the highest species diversity of *Cucurbita pepo* rhizosphere microbial community was observed during flowering and fruiting. It has been shown that there are qualitative and quantitative differences in the microbial population of the rhizosphere and rhizoplan. Rhizosphere is more populated than rhizoplan. Rhizosphere microbial community was presented by *Citrobacter freundii*, *Shewanella putrefaciens*, as well as spore-forming bacterium *Bacillus subtilis* and *B. megaterium*. Gram-negative sticks *Shewanella putrefaciens* and *Serratia odorivera* were dominated in microbocenosis of rhizoplan.

Keywords: rhizosphere, rhizoplan, rhizobacteria, rhizosphere effect

Положительная роль микроорганизмов в выращивании сельскохозяйственных культур связана с образованием симбиотических отношений между растением и микробным сообществом в ризосфере растений [1, 7]. В образуемом эктосимбиозе корневые экссудаты растений являются субстратом и факторами роста некоторых групп микробных сообществ, которые выполняют роль антифитопатогенов, утилизаторов нежелательных продуктов метаболизма растений, регуляторов общей концентрации микроорганизмов в почве, регуляторов подвижности и кругооборота минеральных веществ в агроэкосистеме [5].

К настоящему времени накоплен большой экспериментальный материал, доказывающий значительную роль ризобактерий в жизнедеятельности многих сельскохозяйственных растений [2, 8, 9]. Однако сведения о ризосферной микрофлоре *Cucurbita pepo L.*, являющейся ценной овощной, кормовой и масличной культурой, отсутствуют.

Цель: изучить видовой состав микробного сообщества ризосферы и ризопланы тыквы в различные периоды роста и развития.

Материал и методы исследования

Объектом исследования явились микроорганизмы, выделенные из ризосферы и ризопланы тыквы обыкновенной (*Cucurbita pepo L.*) Оценку видовой состава изучаемого микробиоценоза проводили методом посева полученной суспензии на плотные питательные среды: МПА, Эндо, Симмонса, культуры инкубировали при $t = 37^{\circ}\text{C}$ в течение 48 ч [6]. Исследования проводили в течение четырех вегетационных периодов: фазе всходов, бутонизации, цветения и плодоношения. Идентификацию микроорганизмов осуществляли на основе изучения морфологических, тинкториальных, культуральных, физиолого-биохимических свойств выделенных микроорганизмов с помощью программного обеспечения для автоматизированной идентификации бактерий производства ООО «НПО Диагностические системы».

Результаты исследования и их обсуждение

Исследования показали, что микробное сообщество прикорневой зоны *Cucurbita pepo* характеризуется высокой плотностью и видовым разнообразием. При этом качественный и количественный состав микробиоценоза ризосферы зависит от фазы развития растения и меняется в течение всего вегетационного периода.

В фазе всходов были выделены бактерии р. *Pseudomonas* и *Enterobacter spp.* Бациллы на первых фазах развития растения распространены слабо, так как эти бактерии плохо утилизируют простые органические соединения, синтезирующиеся в начальные периоды вегетации. Ризосферный эффект увеличился после прорастания семени и достигал максимума в период цветения и плодоношения растений. В стадии бутонизации, цве-

тения и плодоношения были выделены: *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter spp.*, неферментирующие бактерии (*Acinetobacter haemolyticus* и *Shewanella putrefaciens*), энтеробактерии (*Citrobacter freundii*, *Serratia odorivera*, *E. amnigenes*, *E. cancerogenes*, *E. intermedius*, *E. gergoviae*, *E. aerogenes*) и спорообразующие бактерии р. *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. megaterium*) (таблица).

Видовой состав микробоценоза ризосферы *Cucurbita pepo* в различные периоды вегетации

Виды ризобактерий	Фазы вегетации			
	всходов	бутонизации	цветения	плодоношения
<i>P. fluorescens</i>	+	+	–	–
<i>Enterobacter spp.</i>	+	+	–	–
<i>E. amnigenes</i>	–	–	+	–
<i>E. cancerogenes</i>	–	–	+	–
<i>E. aerogenes</i>	–	–	–	+
<i>E. intermedius</i>	–	–	–	+
<i>E. gergoviae</i>	–	–	–	+
<i>Citrobacter freundii</i>	–	–	–	+
<i>Serratia odorivera</i>	–	–	–	+
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	–	–	+	–
<i>Shewanella putrefaciens</i>	–	–	–	+
<i>Bacillus subtilis</i>	–	+	–	+
<i>B. cereus</i>	–	+	–	–
<i>B. megaterium</i>	–	–	–	+

Из таблицы видно, что наибольшее видовое разнообразие микробного сообщества ризосферы было отмечено в фазе цветения и плодоношения. Такая смена качественного состава микробного сообщества ризосферы, по-видимому, связана с изменением синтетической активности корней растений на различных стадиях вегетации: в начальные периоды преобладают бактерии, питающиеся корневыми выделениями растений, в более поздние периоды доминируют гидролитики, разлагающие растительный опад.

В ходе изучения количественных показателей микробного сообщества ризосферы было установлено, что общая численность ризобактерий изменяется в зависимости от фазы развития *Cucurbita pepo*. В фазе всходов общая численность ризобактерий составляла $2,56 \pm 0,035$ lg КОЕ/мл, из них 95 % приходилось на неспорообразующие бактерии. В фазе бутонизации плотность колонизации микробного сообщества ризосферы составляла $2,97 \pm 0,023$ lg КОЕ/мл, из них на долю неспорообразующих форм бактерий приходилось 86 %. В фазе цветения и плодоношения общая численность ризобактерий составляла

$3,54 \pm 0,031$ lg и $3,61 \pm 0,042$ lg КОЕ/мл соответственно. На поздних фазах вегетации (цветения и плодоношения) доля спорообразующих бацилл от общей численности ризобактерий составляла 13 и 48 % соответственно.

Известно, что с наступлением фазы плодоношения происходит снижение метаболической деятельности корней, что проявляется в снижении количества выделяемых метаболитов и связано с уменьшением снабжения корневой системы углеводами [3, 4]. Таким образом, доля спорообразующих бацилл в общей численности ризобактерий увеличивается в процессе роста и развития *Cucurbita pepo* и максимальна в фазе плодоношения.

Микрофлора ризоплана в определенной степени также отличается от микробного ценоза ризосферы. В ризоплане обычно преобладают грамотрицательные бактерии, в то время, как ризосферу населяют в основном спорообразующие бактерии. Доминирующее место в микробном ценозе ризосферы тыквенных растений занимали *Citrobacter freundii*, их численность достигала $3,2 \pm 0,001$ lg КОЕ/мл, количественные

показатели *B. subtilis* и *B. megaterium* составили $3,1 \pm 0,012$ и $2,9 \pm 0,014$ lg КОЕ/мл соответственно. Непосредственно на корнях

растений выявлено достоверно меньшее количество микроорганизмов ($p < 0,05$), чем в прикорневой зоне.

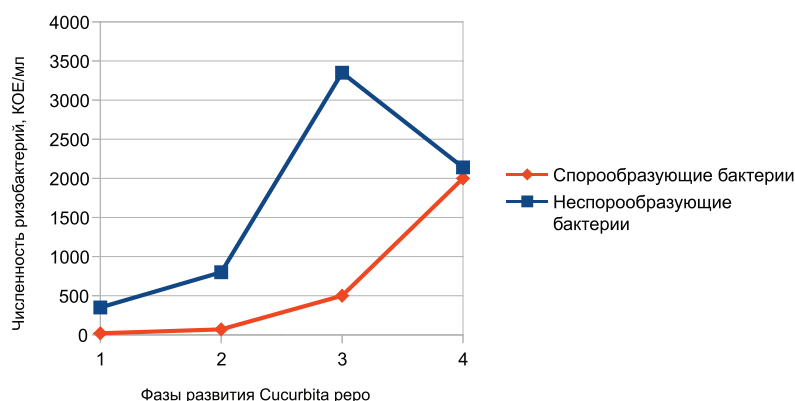


Рис. 1. Динамика численности ризобактерий *Cucurbita pepo* в различные периоды вегетации (1 – фаза всходов, 2 – фаза бутонизации, 3 – фаза цветения, 4 – фаза плодоношения)

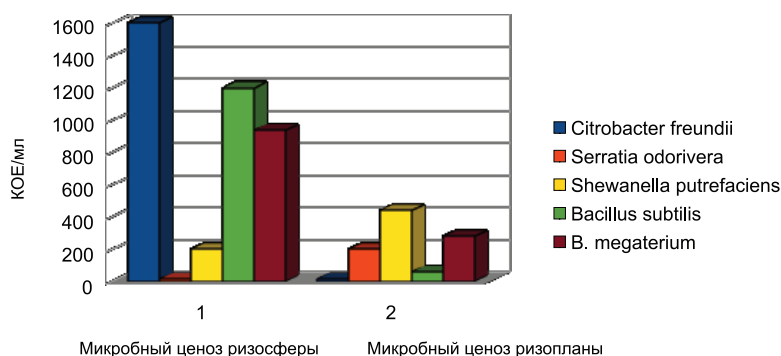


Рис. 2. Квантитативные показатели микробного ценоза ризосферы и ризопланы *Cucurbita pepo*

Микробное сообщество ризоплана было представлено в основном грамотрицательными палочками *Shewanella putrefaciens* и *Serratia freundii*, их количество достигало $2,6 \pm 0,015$ и $2,3 \pm 0,011$ lg КОЕ/мл соответственно. Квантитативные показатели *B. megaterium* и *B. subtilis* в микробно-ценозе ризопланы составили $2,4 \pm 0,015$ и $1,8 \pm 0,011$ lg КОЕ/мл соответственно ($p < 0,05$).

Выводы

1. Видовой состав микробного сообщества ризосферы и ризопланы имеет существенные отличия. Микрофлора ризосферы представлена спорообразующими бактериями *B. subtilis* и *B. megaterium*, энтеробактериями *Citrobacter freundii* и *Shewanella putrefaciens*. В микробном населении ризопланы доминируют грамотрицательные бактерии *Shewanella putrefaciens* и *Serratia odorivera*, в достоверно меньшем количестве выделены *B. subtilis* и *B. Megaterium*.

2. Видовой состав микробного сообщества ризосферы и ризопланы так-

вы изменяется в зависимости от периода роста и развития. В фазе всходов микробоценоз представлен *Pseudomonas spp.* и *Enterobacter spp.*, в стадии бутонизации – *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter spp.*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*. В стадии цветения и плодоношения были выделены неферментирующие бактерии: *Acinetobacter haemolyticus* и *Shewanella putrefaciens*, представители семейства энтеробактерий *C. freundii*, *S. odorivera*, *E. amnigenes*, *E. cancerogenes*, *E. intermedius*, *E. gergoviae*, *E. aerogenes*, и спорообразующие бактерии *B. subtilis*, *B. Megaterium*.

3. Квантитативные показатели микробного сообщества ризосферы и ризоплана имеют существенные отличия. Наиболее плотнозаселенной нишей является ризосфера, где доминирующее место занимает *Citrobacter freundii* и спорообразующие бактерии – *B. subtilis* и *B. megaterium*. Плотность колонизации бактерий в ризоплане достоверно меньше, основная доля приходилась на грамотрицательные бактерии *Shewanella putrefaciens* и *Serratia*

odorivera. Количественные показатели *B. subtilis*, *B. megaterium* были достоверно меньше, чем в ризосфере ($1,8 \pm 0,011$ и $2,4 \pm 0,015$ lg КОЕ/мл соответственно; $p < 0,05$).

4. Общая численность ризобактерий *Cucurbita pepo* зависит от фазы роста и развития растения. В фазе всходов общая численность ризобактерий составляла $2,56 \pm 0,035$ lg КОЕ/мл, из них 95% приходилось на неспорообразующие бактерии и 5% – на спорообразующие бактерии. В фазе бутонизации общая численность бактерий ризосферы составляла $2,97 \pm 0,023$ lg КОЕ/мл, из них на долю неспорообразующих микробов и бактерий приходилось 86 и 14% соответственно. В фазе цветения на долю спорообразующих бактерий приходилось 13% от общей численности бактерий, равной $3,54 \pm 0,031$ lg КОЕ/мл. Максимум численности бактерий был отмечен в фазе плодоношения и составлял 48% от общей численности ризобактерий, равной $3,61 \pm 0,042$ lg КОЕ/мл.

Список литературы

1. Боронин А.М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений // Сорский образовательный журнал. – 1998. – № 10. – С. 25–31.
2. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Немцева Н.В., Черкасов С.В. Ассоциативный симбиоз. – Екатеринбург: УрО РАН, 2007. – 264 с.
3. Веселов С.Ю., Архипова Т.Н., Мелентьев А.И. Исследование цитокининов, продуцируемых ризосферными микроорганизмами // Прикладная биохимия и микробиология. – 1998. – Т. 34. – С. 175–179.
4. Газеева Т.П., Гордеева Т.Х., Масленникова С.Н. Динамика численности и состава микроорганизмов ризосферы некоторых злаковых растений в процессе их роста и развития // Вестник ОГУ. – 2011. – № 12. – С. 328–330.
5. Глотов В.А. Опыт применения микробиологических удобрений серии КМ в производстве сельскохозяйственной продукции // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2006. – № 2. – С. 145–155.
6. Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. Микробиология: учебник для вузов. – 5-е изд. – М.: Дрофа, 2005. – С. 249–251.
7. Шапошников А.И., Белимов А.А., Кравченко Л.В., Виванко Д.М. Взаимодействие ризосферных бактерий с рас-

тениями: механизмы образования и факторы эффективности ассоциативных симбиозов // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 3. – С. 16–22.

8. Lugtenderg B.J.J., de Weger L.A., Bennett J.W., Microbial stimulation of plant growth and protection from disease. *Curr. Opinions in Microbiol*, 1991. Vol. 2, pp. 457–464.

9. Thomashov L. S., Weller D.V., Role of phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescence* 2-79 in biological control of *Gaumannomyces graminis* var. *tritici*. *J. Bacteriol*, 1988. Vol. 170, pp. 3499–3508.

References

1. Boronin A.M., *Sorovskij obrazovatelnyj jurnal – Soros Educational Journal*, 1998, no. 10, pp. 25–31.
2. Bukharin O.V., *Assotsiativnyj simbioz* (Associative symbiosis). Yekaterinburg, UrORAN, 2007. 264 p.
3. Veselov S.Y., Arkhipova T.N., Melentyev A.I., *Prikladnaya biokhimiya i mikirobiologiya – Practical biochemistry and microbiology*, 1998, no. 34, pp. 175–179.
4. Gazheeva T.P., Gordeeva T.H., Maslennikova S.N., *Vestnik Ogu – Journal of Omsk State University*, 2011, no. 12, pp. 328–330.
5. Glotov V.A., *Maslichnye kultury. Nauchno-tehnicheskij bulleten vsrossijskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnyh kultur – Oilseeds. Scientific and technical bulletin all-russian research Institute oilseeds*, 2006, no. 2, pp. 145–155.
6. Emtsev V.T. *Microbiologiya uchebnik dly vuzov* (Microbiology: textbook for high schools). Moscow, Drofa, 2005, pp. 249–251.
7. Shaposhnikov A.I., Belimov A.A., Kravchenko L.V., Vivanko D.M., *Selskohozyajstvennaya biologiya – Agricultural biology*, 2011, no. 3, pp. 16–22.
8. Lugtenderg B.J.J., de Weger L.A., Bennett J.W., Microbial stimulation of plant growth and protection from disease. *Curr. Opinions in Microbiol*, 1991. Vol. 2, pp. 457–464.
9. Thomashov L. S., Weller D.V., Role of phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescence* 2-79 in biological control of *Gaumannomyces graminis* var. *tritici*. *J. Bacteriol*, 1988. Vol. 170, pp. 3499–3508.

Рецензенты:

Золотухин В.В., д.б.н., профессор кафедры зоологии, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова», г. Ульяновск;

Артемьева Е.А., д.б.н., профессор кафедры зоологии, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова», г. Ульяновск.

Работа поступила в редакцию 05.12.2013.