

УДК 579.083.13

¹ А.К. Саданов А.К., ¹ Г.Д. Ултанбекова*, ¹ Ж.А. Байгонусова, ¹ Г.М. Маханбетова¹Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан

*e-mail: ultanbekova77@mail.ru

Изучение состава микробиоценозов ризосферы томатов, культивируемых в агроэкосистемах Южного Казахстана

Определен количественный состав эколого-трофических групп микроорганизмов в ризосфере томатов, культивируемых в Южном Казахстане. Установлено среднегодовое количественное присутствие актиномицетов - $(1,56 \pm 0,11) \cdot 10^5$, олиготрофов - $(1,43 \pm 0,16) \cdot 10^7$, бацилл - $(5,94 \pm 0,10) \cdot 10^5$, грибов - $(7,6 \pm 0,15) \cdot 10^3$. Показано преобладание актиномицетов в весенний вегетационный период, олиготрофов - в осенний, споровых бактерий рода *Bacillus* - в летний и осенний вегетационные периоды.

Ключевые слова: агроэкосистема, томат, микробиоценоз, бактерии, грибы.

А.К. Саданов А.К., Г.Д. Ултанбекова, Ж.А. Байгонусова, Г.М. Маханбетова

Оңтүстік Қазақстан агроэкожүйесінде өсетін қызанақ ризосферасы микробиоценозының құрамын зерттеу

Оңтүстік Қазақстанда өсетін, қызанақ ризосферасындағы микроорганизмдердің эколого-трофикалық топтарының саны анықталды. Яғни, актиномицеттер - $(1,56 \pm 0,11) \cdot 10^5$, олиготрофтар - $(1,43 \pm 0,16) \cdot 10^7$, бациллалар - $(5,94 \pm 0,10) \cdot 10^5$, саңырауқұлақтардың - $(7,6 \pm 0,15) \cdot 10^3$ орташа жылдық саны көрсетілген. Көктемгі вегетациялық маусымда - актиномицеттер, ал күзгі мезгілде - олиготрофтар, жазғы вегетациялық маусымда - спора түзуші *Bacillus* бактериялар тұқымдасының басым болғандығы көрсетілген.

Түйін сөздер: агроэкожүйе, қызанақ, микробиоценоз, бактериялар, саңырауқұлақтар.

А.К. Sadanov, ¹G.D. Ultanbekova, Zh.A. Baygonusova, G.M. Mahanbetova

Study on microbiocenoses in rhizosphere of tomato cultivated in agroecosystems of Southern Kazakhstan

The quantitative composition of ecologo-trophic groups of microorganisms in rhizosphere of tomato cultivated in Southern Kazakhstan was established. The average annual quantitative presence was estimated for: actinomycetes - $1.56 \cdot 10^5$, oligotrophs - $1.43 \cdot 10^7$, bacilli - $5.94 \cdot 10^5$, fungi - $7.6 \cdot 10^3$. It was shown that actinomycetes are predominant in the spring vegetation period, oligotrophs - in the autumn vegetation period, sporeforming bacteria of the genus *Bacillus* - in the summer and autumn vegetation periods.

Keywords: agroecosystem, tomato, microbiocenosis, bacteria, fung.

В последнее время активно изучается возможность использования биопрепаратов на основе штаммов микроорганизмов, как пробиотиков для растений, стимулирующих рост растений и выполняющих роль агентов биоконтроля заболеваний растений. Разработка биопрепаратов на основе ризосферных бактерий является особенно актуальной, так как, являясь типичными представителями ризосферы растений и имея высокую скорость роста, они не только успешно колонизируют ризосферу растения-хозяина, но обладают стимулирующими рост растений свойствами и способностью ингибировать развитие различных возбудителей заболеваний сельскохозяйственных растений [1-5].

Успешное применение микробных препаратов в сельскохозяйственном производстве невозможно без глубокого знания механизмов процессов, происходящих в ризосфере. Для того, чтобы действие микробного инокулянта было эффективным, необходима конкуренция интродуцированных бактерий с другими микроорганизмами за определенную экологическую нишу ризосферы и способность сохраняться в ней в течение достаточно длительного времени. Поэтому важным этапом исследований по созданию биопрепаратов является комплексное изучение состава микробиоценозов ризосферы сельскохозяйственных растений, для выявления присутствия различных групп ризосферных микроорганизмов, включая фитопатогенные грибы и различные группы бактерий [6-7].

Целью данной работы было изучение количественного состава микробоценозов ризосферы томатов, культивируемых в агроэкосистемах Южного Казахстана в разные вегетационные периоды.

Материалы и методы

Объектами исследований являлись образцы ризосферы томатов, полученные из агроэкосистем Южного Казахстана.

В полевых условиях по маршрутным исследованиям проводили выбор типичных агробиоценозов в Алматинской, Южно-Казахстанской и Кызылординской областях и собирали образцы ризосферной зоны томатов.

Изучение количественного состава микробоценозов ризосферы томатов проводили методом титрований [8].

Общее микробное число (ОМЧ) определяли на мясо-пептонном агаре (МПА), состава (г/л): агар-15,0; пептон-5,0; NaCl - 5,0; мясной экстракт-1,5; дрожжевой экстракт-1,5; pH 6,8-7,0.

Численность актиномицетов определяли на среде Чапека, состава (г/л): глюкоза (сахароза) - 20,0; NH_4NO_3 - 2,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ - 1,0; MgSO_4 - 0,5; KCl - 0,5; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1; $\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ - 3,0; агар-агар - 20,0; pH 6,8-7,0.

Определение численности олиготрофных микроорганизмов проводили на голодном агаре, состава (г/л): агар-агар-15,0; NaCl -5,0; pH 6,8-7,0.

Количественное присутствие мицелиальных грибов в исследуемых образцах ризосферы томатов определяли на среде Чапека (состав приведен выше), pH среды 4,5-5,0. После стерилизации в среду добавляли концентрированную молочную кислоту в количестве 4 мл/л среды.

Численность спорообразующих бактерий рода *Bacillus* определяли на питательном агаре МПА. Для разделения споровых и аспорогенных форм микроорганизмов почвенную суспензию в разведении 1:1 выдерживали в течение 15 минут при температуре 80°C на водяной бане.

Количественное содержание бактерий рода *Pseudomonas* определяли на МПА, к которому добавляли глицерин в количестве 10%, способствующий выявлению флюоренцирующих пигментов.

Выявление и оценку численности аэробных азотфиксирующих бактерий

рода *Azotobacter* осуществляли на среде Эшби состава, (г/л): маннит -15,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ - 0,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,2; NaCl - 0,2; $\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,1; CaCO_3 - 5,0; агар-агар - 15,0; pH 7,0. Для учета азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter*, 50 мг почвы увлажняли до пастообразного состояния и с помощью стерильной бактериологической петли раскладывали в шахматном порядке 25 комочков на поверхность плотной питательной среды Эшби.

Чашки Петри с посевами почвенной суспензии выдерживали в термостате при температуре $(29 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 3 суток для определения присутствия бактериальных микроорганизмов, бактерий рода *Azotobacter* - 5-7 суток, актиномицетов и грибов - 7-14 суток. Все исследования выполнены в трех-пятикратной повторностях. Учет результатов проводили следующим образом: количество колоний на чашках суммировали, делили на количество повторностей и умножали на степень разведения. Результат выражали числом колониеобразующих единиц (КОЕ в 1 г почвы) [8].

Все исследования выполнены в трех повторностях. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [9].

Результаты и их обсуждение

Полученные данные по количественному составу хемоорганогетеротрофных микроорганизмов ризосферы томатов, культивируемых в Южном Казахстане (Алматинской, Южно - Казахстанской и Кызылординской областях) приведены в таблице.

Динамика изменения количественного состава хемоорганогетеротрофных бактерий показывает, что в Алматинской области их максимальное количество - $(1,6 \pm 0,11) \cdot 10^8$ КОЕ/г, наблюдается в осенний вегетационный период, в Кызылординской и Южно - Казахстанской областях в летний период $-(3,5 \pm 0,16) \cdot 10^7$ КОЕ/г и $(5,6 \pm 0,21) \cdot 10^7$ КОЕ/г, соответственно.

Изучено присутствие основных экологотрофических групп микроорганизмов в ризосфере томатов Алматинской, Кызылординской и Южно - Казахстанской областей. Установлено среднегодовое количественное присутствие в ризосфере томатов:

актиномицетов – $(1,56 \pm 0,11) \cdot 10^5$, олиготрофов – $(1,43 \pm 0,16) \cdot 10^7$, бацилл – $(5,94 \pm 0,10) \cdot 10^5$, грибов – $(7,6 \pm 0,15) \cdot 10^3$.

Показано, что актиномицеты в равной степени представлены в ризосфере томатов всех изученных областей, наиболее высокий уровень их встречаемости наблюдается в весенний вегетационный период. Высокий уровень присутствия олиготрофных микроорганизмов – $(1,8 \pm 0,14) - (1,7 \pm 0,24) \cdot 10^7$ КОЕ/г в изученных образцах ризосферы томатов наблюдался в осенний вегетационный период. В наибольшем количестве олиготрофы зафиксированы в образцах Южно - Казахстанская области. В весенний и летний период численность олиготрофов снижается до 10^5 КОЕ/г. Для споровых бактерий рода *Bacillus*. отмечено наиболее высокое количество в летний и осенний вегетационные периоды во всех трех областях Казахстана - 10^5 КОЕ/г.

Таблица – Сезонная динамика численности хемоорганогетеротрофных микроорганизмов в образцах ризосферы томатов, культивируемых в Южном Казахстане

Номера образцов	ОМЧ, КОЕ/г почвы		
	весна	лето	осень
Алматинская область			
ЕА -1	$(1,5 \pm 0,11) \cdot 10^6$	$(1,5 \pm 0,13) \cdot 10^7$	$(1,6 \pm 0,11) \cdot 10^8$
БА -2	$(1,4 \pm 0,14) \cdot 10^6$	$(5,5 \pm 0,16) \cdot 10^7$	$(2,4 \pm 0,14) \cdot 10^7$
ЭА -3	$(1,4 \pm 0,12) \cdot 10^6$	$(4,6 \pm 0,17) \cdot 10^7$	$(1,6 \pm 0,12) \cdot 10^7$
Кызылординская область			
БК-1	$(1,0 \pm 0,21) \cdot 10^6$	$(3,5 \pm 0,16) \cdot 10^7$	$(1,4 \pm 0,21) \cdot 10^7$
КК-2	$(1,2 \pm 0,11) \cdot 10^6$	$(1,8 \pm 0,12) \cdot 10^7$	$(3,3 \pm 0,11) \cdot 10^6$
СК-1	$(1,5 \pm 0,19) \cdot 10^6$	$(1,6 \pm 0,17) \cdot 10^7$	$(4,5 \pm 0,19) \cdot 10^6$
Южно-Казахстанская область			
КЧ-1	$(1,0 \pm 0,16) \cdot 10^6$	$(5,6 \pm 0,21) \cdot 10^7$	$(1,6 \pm 0,16) \cdot 10^6$
БЧ-2	$(1,4 \pm 0,20) \cdot 10^6$	$(1,5 \pm 0,19) \cdot 10^7$	$(4,4 \pm 0,20) \cdot 10^6$
КЧ-3	$(1,6 \pm 0,12) \cdot 10^6$	$(4,4 \pm 0,19) \cdot 10^7$	$(7,6 \pm 0,12) \cdot 10^6$

Количественное присутствие грибов было достаточно высоким во все периоды вегетации томатов. Наибольшая встречаемость грибов в образцах ризосферы наблюдалась в весенний вегетационный период в агробиоценозах Алматинской области $(4,1 \pm 2,0) \cdot 10^3$.

Наиболее высокий уровень присутствия бактерий рода *Pseudomonas* установлен в осенний вегетационный период в образце ризосферы БА $(1,4 \pm 0,15) \cdot 10^6$ КОЕ/г в Алматинской области. Высокий уровень присутствия бактерий рода *Azotobacter* (100%) отмечен в образцах ризосферы томатов, полученных в летний и осенний периоды, во всех областях Южного Казахстана.

Таким образом, определен количественный состав эколого-трофических групп микроорганизмов в ризосфере томатов, культивируемых в Южном Казахстане. Установлено, что по количественному составу в микробиоценозах ризосферы томатов преобладают олиготрофные микроорганизмы – $1,43 \cdot 10^7$. Отмечено, что наиболее высокое количество актиномицетов наблюдается в весенний вегетационный период, олиготрофов – в осенний, споровых бактерий рода *Bacillus* - в летний и осенний вегетационные периоды. Образцы ризосферы томатов, отобранные в осенний вегетационный период, будут использованы для выделения бактерий родов *Pseudomonas* и *Azotobacter* с целью получения изолятов, обладающих антифунгальными и стимулирующими рост растений и полезной микрофлоры агрокультур свойствами.

Литература

- 1 Круглов Ю.В. Микробиологические аспекты плодородия почвы и проблемы устойчивого земледелия // Плодородие. – 2006. – № 5. – С. 9-12.
- 2 Архипова Т.Н., Веселов С.Ю., Мелентьев А.И., Мартыненко Е.В. Сравнение действия штаммов бактерий, различающихся по способности синтезировать цитокинины, на рост и содержание цитокининов в растениях пшеницы // Физиология растений. - 2006. - Т. 53. - № 4. – С. 567- 574.
- 3 Белимов А.А., Иванчиков А.Ю., Юдкин Л.В. и др. Характеристика и интродукция новых штаммов ассоциативных ростстимулирующих бактерий, доминирующих в ризоплане проростков ячменя // Микробиология. - 1999. – Т. 68. - № 3. - С. 392-397.
- 4 Khalid A., Arshad M., Zarhir Z.A. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat // J. Appl. Microbiol. - 2004. – Vol. 96. - № 3. - P. 473-480.
- 5 Romeiro R.S., Filho L., Junior J.R.V. et al. Macromolecules released by a plant growth-promoting rhizobacterium as elicitors of systemic resistance in tomato to bacterial and fungal pathogens // J. Phytopathol. - 2005. – Vol. 153. - № 2. – P. 120-123.

-
- 6 Salantur A., Ozturk A., Akten S. Growth and yield response of spring wheat to inoculation with rhizobacteria // *Plant Soil and Environ.* - 2006. - Vol 52. - № 3. - P. 111-118.
 - 7 Varga Sz.S., Koranyi P., Preininger E. et al. Artificial associations between *Daucus* and nitrogen-fixing *Azotobakter* cells in vitro // *Physiol. Plant.* - 1994. – Vol. 90. - № 4. – P. 786-790.
 - 8 Нетрусова А.И. Практикум по микробиологии под редакцией. – М.: АСАДЕМА, 2005. - С. 116-129.
 - 9 Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. - М., 1975. - 295 с.