

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ИНДИКАЦИЯ ФИЛЛОСФЕРЫ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ СИБИРИ

В статье рассматриваются вопросы микробиологической индикации филлосферы лесных экосистем Сибири. Микробные комплексы служат инструментом диагностики состояния и мониторинга лесной экосистемы. Критериями степени техногенного воздействия Назаровской ГРЭС на древостой являются численность эпифитных микроорганизмов, соотношение спорозоных и неспорозоных форм, наличие пигментированных бактерий. Степень дефолиации насаждений сибирским шелкопрядом диагностируется частотой встречаемости комплекса офиостомовых грибов, ассоциированных с насекомыми-ксилофагами.

Ключевые слова: лесные экосистемы, филлосфера, микробиологическая индикация, эпифитные микроорганизмы, офиостомовые грибы.

E.N. Afanasova

MICROBIOLOGICAL INDICATION OF THE FOREST ECOSYSTEM PHYLLOSPHERE IN SIBERIA

The issues of microbiological indication of the forest ecosystem phyllosphere in Siberia are considered in the article. Microbial complexes serve as the tool for condition diagnostics and monitoring of the forest ecosystem. Number of the epiphytic microorganisms, correlation of the sporogenous and nonsporogenous forms and pigmented bacteria availability are the criteria of technogenic influence degree of the Nazarovskaya SREPP on the forest stands. The plant defoliation degree by Siberian silkworm is diagnosed by frequency of the Ophiostomataceae fungi complex occurrence, associated with the insects- xylophages.

Key words: forest ecosystems, phyllosphere, microbiological indication, epiphytic microorganisms, ophiostomataceae fungi.

Отражением антропогенного (техногенного) воздействия на лесные экосистемы и их различные элементы (почву, подстилку, филлосферу) служат морфологические изменения микробных популяций, кинетика их роста и развития, структурные преобразования микробных сообществ, биохимическая активность [3, 2, 8, 12, 13, 5]. Микробные реакции на воздействие различных нарушающих факторов проявляются быстро и достаточно отчетливо, что позволяет в короткие сроки выявить наиболее нарушенные экологические зоны, прогнозировать их состояние при сохранении или устранении антропогенного фактора. С другой стороны, выявление устойчивых к антропогенному воздействию групп, популяций или отдельных видов микроорганизмов дает возможность их дальнейшего использования в биоремедиации нарушенных экосистем [14].

Изучение степени допустимости антропогенного воздействия на различные элементы лесной экосистемы возможно только путем сопоставления изменения микробного компонента под действием антропогенных нагрузок с изменениями, вызванными природными факторами [8, 13, 14]. Отсюда вытекает необходимость проведения эколого-микробиологического анализа в ненарушенных экосистемах, изучения ответных реакций микробных комплексов на антропогенные (техногенные) воздействия и выбора индикационных микробиологических показателей, пригодных для оценки состояния нарушенных экосистем.

Цель исследований. Выявление адекватных микробиологических показателей-индикаторов состояния филлосферы при разного рода природных и техногенных нарушениях.

Материалы и методы исследований. Эколого-микробиологический анализ комплексов микроорганизмов филлосферы лесных экосистем проводился в условиях Средней Сибири в 1995–2010 гг. на стационарных пунктах, оборудованных на юге Красноярского края (Канско-Ачинский топливно-энергетический комплекс – КАТЭК) и Хакасии.

В зоне техногенного воздействия исследовали насаждения, подверженные выбросам предприятий КАТЭКа. Изучали нарушающее воздействие техногенных выбросов на эпифиты филлосферы, а также влияние дефолиаций сибирским шелкопрядом на динамику комплексов офиостомовых грибов, ассоциированных с насекомыми-ксилофагами на древесных видах.

Исследование микробоценозов филлосферы проводилось в сосновых насаждениях Дороховского, Пионерского, Захаринского боров и Ададымских березовых насаждениях. Эпифитные микроорганизмы изучались на культурах сосны и лиственницы. Все указанные участки расположены в 5–7 км от факела техно-

генных выбросов Назаровской ГРЭС; вне сферы влияния поллютантов находятся Ададымские березовые насаждения и культуры сосны южного склона хребта Арга.

В Хакасии образцы для микологического анализа офиостомовых грибов филлосферы отбирали в зоне лесостепных лиственничников, отличающихся повышенной теплообеспеченностью, оптимальной для развития короэда *Ips cembrae* – основного переносчика микромицетов. Образцы пораженной древесины собирали на горях в сосновых и сосново-лиственничных древостоях.

За основу при изучении количественного и качественного состава различных эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭКТГМ) в почве и лесной подстилке взято руководство [7].

Учитывали следующие группы микроорганизмов: бактерии – на мясопептонном агаре (МПА); актиномицеты и бактерии – на крахмало-аммиачном агаре (КАА); олигонитрофилы – на среде Эшби; денитрифицирующие бактерии – на среде Гильтая; олигокарбофилы – на голодном агаре (ГА); целлюлозоразрушающие микроорганизмы – на среде Гетченсона. Спорообразующие формы учитывали на плотной среде МПА+СА в равном отношении, с предварительной пастеризацией почвенной взвеси.

Образцы филлосферы отбирали 4–6 раз в течение вегетационного периода и приурочивали к определенным фазам роста и развития основной лесобразующей породы в районе исследований. Фенофаза: I) начало вегетации, период роста побегов; II) период роста хвои и начало закладки верхушечной почки центрального побега; III) конец роста хвои; IV) начало листопада и формирования верхушечных почек. Работали с такими разведениями суспензии, при которых на чашке Петри вырастало 50–150 колоний бактерий и актиномицетов и 20–50 колоний грибов. Таким образом, в течение 4 сезонов вегетации проанализировано 24 образца филлосферы.

Идентификацию выделенных культур эпифитных микроорганизмов осуществляли по морфологическим, культуральным и физиологическим признакам с использованием определителей [6, 11, 4, 9].

У эпифитных микроорганизмов изучали способность усваивать источники азота, используя синтетическую среду М.В. Федорова. В качестве источников брали минеральный азот в виде KNO_3 и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и органический – мочевины, пептон, аспарагин, гликокол. Исследовали возможность культур гидролизовать крахмал и клетчатку, расщеплять жиры, усваивать и сбраживать углеводы.

Были исследованы свойства спорообразования у культур и образования ацетилметилкарбинола по тесту Фогес-Проскауера. Определяли кислотоустойчивость, реакцию на каталазу, способность образовывать пигмент.

Виды офиостомовых грибов идентифицировали на основании морфологических признаков анаморф и телеоморф [1]. Статистическая обработка данных проведена в Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. При анализе микрофлоры филлосферы древостоев Дороховского (зона интенсивного влияния ГРЭС) и Захаринского (в 70–80 км от ГРЭС) боров установлено, что число микробных клеток на 1 г хвои в Дороховском бору в два раза больше, чем в Захаринском (табл. 1). Существенные различия отмечаются в качественном составе микроорганизмов. Эпифиты Захаринского бора на 96 % представлены неспорообразующими Гр(-) бактериями, близкими по таксономическому положению к роду *Pseudomonas*. В Дороховском бору 70 % эпифитов составляют пигментные формы. Эпифитная микрофлора Ададымских березовых насаждений в численном отношении значительно превосходит микрофлору Дороховского и Захаринского боров и достигает 52 840 тыс. КОЕ на 1 г хвои. Объясняется это различие разным фитонцидным действием на микрофлору лиственных и хвойных пород. В составе микроорганизмов на листьях березовых насаждений возрастает до 30 % количество спорообразующих бактерий преимущественно рода *Bacillus*.

Численность эпифитных микроорганизмов культур сосны и лиственницы в зоне активного техногенеза превосходит таковую на контрольном участке почти в 20 раз. Здесь доминируют спороносные бактерии (92 % на сосне и 96 % на лиственнице), а на культурах сосны контрольного участка – неспорообразующие формы (90 %). Такая существенная разница в составе микробиоценозов филлосферы объясняется влиянием частиц техногенных выбросов. За счет увеличения в микробных комплексах спорообразующих форм микроорганизмов повышается их устойчивость к высоким концентрациям техногенных загрязнителей, в составе которых преобладают соединения кальция, железа, магния, марганца, стронция, бария и кадмия.

При учете биомассы эпифитных микроорганизмов и исследовании физиологической активности доминантных культур отмечено, что по мере приближения насаждений к источнику загрязнения (Назаровская ГРЭС) биомасса микроорганизмов возрастает, а физиологическая активность снижается. Снижение ферментативной активности микроорганизмов следует расценивать как вредоприспособительную реакцию на те компоненты, которые попадают на поверхность древостоев в результате осаждения поллютантов.

Таблица 1

Численность, биомасса и физиологическая активность эпифитных микроорганизмов

Район	Число клеток на 1 г хвои или листьев	Биомасса, мг/г хвои или листьев	Преобладающая форма	Положительная реакция, %				
				на органический азот	на неорганический азот	на крахмал	на желатину	на каталазу
Ададымские насаждения	52840	0,21	Спорообразующие (30 %)	84	82	67	36	73
Захаринский бор	1400	0,012	Неспоровые (90 %)	57	64	72	36	63
Дороховский бор	2900	0,013	Пигментные (70 %)	37	46	6	13	7
Хребет Арга	2100	0,005	Неспоровые (86 %)	44	42	22	11	10
Культуры сосны	14500	0,05	Спорообразующие (92 %)	10	25	17	14	12
Культуры лиственницы	18400	0,06	Спорообразующие (96 %)	40	30	26	21	18

Эпифитная микрофлора при ее высокой чувствительности к аэрозольным воздействиям тем не менее теряет свое диагностическое значение в периоды обильного выпадения осадков, которые смывают микробные клетки с поверхности растений в подстилку. Именно микробсообщества подстилок в большей степени пригодны для диагностики влияния аэрозольных загрязнений на лесные экосистемы на ранних стадиях техногенного онтогенеза. Как и при индикации почв, здесь решающее значение имеет соотношение диапазонов численности ЭКТГМ и изменения в видовом составе доминантных форм микроорганизмов.

При исследовании филлосферы древесных насаждений в лесных экосистемах Сибири вместе с эпифитными бактериями в качестве индикаторных микроорганизмов для оценки состояния дерева использовали офиостомовые грибы, ассоциированные в природе с насекомыми-ксилофагами [10, 1]. Установлено, что грибы синевы древесины являются обязательным компонентом грибных сообществ в ходах короеда-типографа и черного пихтового усача, доминируя среди других мицелиальных форм на первых этапах сукцессии грибов в поврежденных растительных тканях ели и пихты. Исследованы грибы синевы древесины, переносимые черным пихтовым усачом и короедом-типографом в хвойных древостоях, дефолиированных сибирским шелкопрядом (мощный повреждающий фактор). В дефолиированных шелкопрядом древостоях ели и пихты сибирской грибы синевы древесины являются обязательным компонентом и основой микобиоты черного пихтового усача и короеда-типографа. Зарегистрированная частота встречаемости грибов свидетельствует об эпидемическом уровне их распространения в популяции вредителя на поврежденных участках (табл. 2). В исследуемом районе (Нижнее Приангарье) черный пихтовый усач переносит комплекс грибов синевы древесины, представленный главным образом видами *Ophiostoma curvicolis*, *Ophiostoma sp.* и *Leptographium sp.*

Таблица 2

Частота встречаемости грибов синевы древесины в тканях пихты сибирской, поврежденной черным пихтовым усачом

Тип леса	Период дефолиации, гг.	Встречаемость грибов, %			
		Общая	<i>Leptographium sp.</i>	<i>Ophiostoma sp.</i>	<i>O. curvicolis</i>
Контроль	0	60	60	0	0
ПОР	1994–1995	96	68	28	60
ПОР	1995–1996	100	88	52	16
ПМЗ	1995.	100	100	63	29
ПРО	1994–1995	84	68	52	48

Примечание. ПОР – пихтарник осочково-разнотравный; ПМЗ – пихтарник мелко травно-зеленомошный; ПРО – пихтарник разнотравно-осочковый.

Общая частота встречаемости этого комплекса в ходах вредителя достигла 90–100 % на пробных площадях в дефолированных шелкопрядом древостоях и не превышала 60 % на контрольном участке в ненарушенном древостое. Исследование видового состава и численности микромицетов коры ели и пихты позволяет говорить о зависимости этих показателей от вида и степени дефолиации кроны растения-хозяина.

Заключение. Результаты микробиологического анализа филлосферы в зоне активного антропогенного (техногенного) воздействия показывают, что микробные комплексы служат инструментом диагностики состояния и мониторинга лесной экосистемы.

Численность эпифитных микроорганизмов, соотношение спорозоносных и неспорозоносных форм, наличие пигментированных бактерий являются критериями степени техногенного воздействия Назаровской ГРЭС на древостой.

Негативное состояние насаждений в результате нарушающих воздействий (дефолиация сибирским шелкопрядом) диагностируется высокой частотой встречаемости комплекса офиостомовых грибов, ассоциированных с насекомыми ксилофагами.

Литература

1. *Афанасова Е.Н., Пашенова Н.В.* Взаимоотношения офиостомовых грибов, переносимых насекомыми-ксилофагами между собой и другими микромицетами хвойных пород Сибири // Микология и фитопатология. – 2005. – Т. 39. – № 2. – С. 62–65.
2. *Горленко М.В.* Функциональное биоразнообразие почвенных микроорганизмов: подходы к оценке // Перспективы развития почвенной биологии. – М.: Наука, 2001. – С. 228–234.
3. *Гузев В.С.* Экологическая оценка антропогенных воздействий на микробную систему почвы: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М.: Изд-во МГУ, 1988. – 38 с.
4. *Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н., Лысак Л.В.* Методы выделения и идентификации почвенных бактерий. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 71 с.
5. *Добровольская Т.Г.* Структура бактериальных сообществ почв. – М.: Академкнига, 2002. – 282 с.
6. *Красильников Н.А.* Определитель бактерий и актиномицетов. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1949. – 829 с.
7. *Методы стационарного изучения почв.* – М.: Наука, 1977. – 248 с.
8. *Никитина З.И.* Микробиологический мониторинг наземных экосистем. – Новосибирск: Наука, 1991. – 219 с.
9. *Определитель бактерий Берджи:* пер. с англ. – М.: Мир, 1997. – 800 с.
10. *Офиостомовые грибы в ходах листовничного кородея / Н.В. Пашенова, В.П. Ветрова, Р.М. Матренина [и др.] // Лесоведение.* – 1995. – № 6. – С. 61–67.
11. *Скворцова И.Н.* Идентификация почвенных бактерий. – М.: Изд-во МГУ, 1983. – 63 с.
12. *Сорокин Н.Д.* Экологические закономерности развития микрофлоры в почвах южной тайги Средней Сибири: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Красноярск: Ин-т леса СО РАН, 1990. – 38 с.
13. *Сорокин Н.Д.* Микробиологический мониторинг лесных экосистем Сибири при различных антропогенных воздействиях // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113. – № 2. – С. 131–140.
14. *Сорокин Н.Д.* Микробиологическая диагностика лесорастительного состояния почв Средней Сибири. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2009. – 221 с.

