

УДК 632.93+579.264

ВЛИЯНИЕ МИКРОБОВ-АНТАГОНИСТОВ НА БИОГЕННОСТЬ ПОЧВЫ И СОХРАННОСТЬ СЕЯНЦЕВ ХВОЙНЫХ В ИСКУССТВЕННЫХ ФИТОЦЕНОЗАХ

И. Д. Гродницкая¹, О. Э. Кондакова¹, Н. Н. Терещенко²

¹ Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – Обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН 660036, Красноярск, Академгородок, 50/28

² Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа 634050, Томск, ул. Гагарина, 3

E-mail: igrod@ksc.krasn.ru, koeandkoe@mail.ru, ternat@mail.ru

Поступила в редакцию 22.03.2016 г.

В темно-серую почву опытного лесного питомника (Погорельское опытно-экспериментальное хозяйство) вместе с семенами хвойных *Pinus sylvestris* Ledeb. и *Larix sibirica* Ledeb. вносили штаммы микроорганизмов, обладающих антагонистической и ростостимулирующей активностью – *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis* и *Trichoderma harzianum*. Предпосевная обработка семян штаммами *Trichoderma harzianum*, *Bacillus* sp. и *Pseudomonas* sp. увеличивала грунтовую всхожесть сосны обыкновенной в 1.5–1.7, лиственницы сибирской – в 1.3–5.8 раза, к концу вегетации улучшила сохранность и жизнестойкость семян сосны в 1.4–12.0 раз. Максимальную сохранность семян лиственницы сибирской наблюдали при обработке семян *Bacillus subtilis* и *Trichoderma harzianum*, что в 2 раза превышало контрольные значения. Морфометрические показатели семян сосны увеличивала в 1.5–2.0 раза обработка *Pseudomonas* sp. и *Bacillus subtilis*, а семян лиственницы – *Trichoderma harzianum* и *Bacillus* sp. Бактеризация семян сосны и лиственницы, исходно инфицированных возбудителями фузариоза, снижала в 1.2–2.5 раза популяцию фитопатогена, что способствовало меньшей гибели всходов хвойных. Внесенные в почву питомника биологически активные штаммы увеличивали и поддерживали общую численность эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭТГМ) под сеянцами хвойных на протяжении всего периода вегетации. На динамику содержания микробной биомассы (МБ), скорость базального дыхания (БД) и значения микробного метаболического коэффициента (qCO_2) положительное влияние оказала обработка бациллами *Bacillus* sp. и *Bacillus subtilis*. В целом внесение популяций споровых бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus* sp. и микромицета *Trichoderma harzianum* с семенами хвойных увеличило биогенность и продуктивность почвы питомника (МБ, ферментативную активность, численность ЭТГМ) в 1.5–3.0 раза по сравнению с контролем и, несмотря на высокие значения удельного микробного дыхания на протяжении всего вегетационного периода, благоприятно сказалось на восстановлении экофизиологической нормы функционирования почвенного микробного сообщества.

Ключевые слова: сосна обыкновенная, лиственница сибирская, микробы-антагонисты, эколого-трофические группы микроорганизмов, микробная биомасса, базальное дыхание, ферментативная активность.

DOI: 10.15372/SJFS20160602

ВВЕДЕНИЕ

Формирование лесных питомников приводит к изменению экологической обстановки вследствие смены естественных фитоценозов и изменения статуса почв. Для успешного выращивания сеянцев в лесопитомниках используют различные агротехнические и агрохимические

приемы, которые отражаются на составе и свойствах почвенной микробиоты. Каждый тип почв характеризуется определенным сообществом микроорганизмов, изменение которого может диагностировать эколого-физиологическое состояние почвы. Микробоценозы являются самой активной структурной единицей экосистемы и наиболее информативным диагностическим

компонентом биоты, способным быстро реагировать на смену экологических условий, меняя при этом свою функциональную нагрузку (Ананьева, 2003).

Почвы лесных питомников, подвергающиеся систематическому химическому «уходу» (применение пестицидов), характеризуются ухудшением физических, агрохимических и биологических свойств по сравнению с таковыми естественных ценозов (Горбачев, Попова, 1992). Как правило, в почвах лесопитомников возрастает численность патогенных и токсинобразующих форм грибов и бактерий, легко переходящих с сапротрофного образа жизни на паразитарный, формируется экологическая группа «минорных патогенов», что заметно ухудшает фитосанитарное состояние почвы (Великанов, Сидорова, 1988).

В условиях монокультуры в лесопитомниках велика вероятность массового развития заболеваний и быстрого разрастания очага инфекций, обуславливающего необходимость ликвидации большей части сеянцев. Поражение хвойных возбудителями корневых гнилей является одной из наиболее распространенных причин гибели сеянцев в питомниках, а также в ряде случаев сказывается и на состоянии взрослых деревьев. Инфекция сохраняется в растительных остатках, распространяется с зараженным посадочным материалом или с инфицированной почвой (Гродницкая, Гукасян, 2001; Valci et al., 2010).

В последнее время в качестве одного из наиболее перспективных современных методов восстановления (биоремедиации) почвы и увеличения ее продуктивности как в сельском, так и в лесном хозяйстве предлагается интродукция микробов-антагонистов в окружающую среду. Кроме того, биологически активные антагонисты способны выделять и ростостимулирующие вещества, что позволяет использовать их как высокоэффективные биоагенты для сохранения и улучшения качества посадочного материала (Боронин, Кочетков, 2000; Гродницкая, Сорокин, 2007). Часто биоагенты вносят в почву вместе с семенами. Микробы-антагонисты способны регулировать численность и качественный состав многих фитопатогенов и тем самым улучшать фитосанитарное состояние почвы и растений в искусственных фитоценозах (Якименко, Гродницкая, 2000).

Основными естественными врагами фитопатогенов являются грибы и бактерии-гиперпаразиты. В качестве перспективных биоагентов выделяют спорообразующие – бациллы

(р. *Bacillus*) и неспоровые (р. *Pseudomonas*) бактерии, проявляющие антибиотическую активность против широкого спектра фитопатогенов за счет способности к образованию комплекса миколитических ферментов (хитиназы, хитозаназы и ‘бета’-1,3-глюканазы) (Боронин, Кочетков, 2000; Широков и др., 2002; Актуганов и др., 2007). Сапротрофно живущие в почве и доминанты филлопланы многих растений грибы рода *Trichoderma* являются гиперпаразитами по отношению ко многим фитопатогенным микромицетам. Ингибирование роста патогенов обусловлено способностью микопаразита гидролизировать клеточные стенки грибов-хозяев за счет продуцируемых им ферментов, а также выделяемых токсинов. Под влиянием антагонистов у фитопатогенов могут нарушаться отдельные звенья обмена веществ, например дыхание, синтез аминокислот, процессы клеточного деления, нередко происходит лизис их клеток и фитопатогены гибнут (Боронин, Кочетков, 2000; Jain et al., 2005; Harman et al., 2004).

Цель исследований – изучение влияния предпосевной обработки семян хвойных (сосны обыкновенной и лиственницы сибирской) биологически активными штаммами микроорганизмов на сохранность, жизнестойкость, морфометрические характеристики сеянцев и увеличение биогенности почвы опытного лесопитомника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В лабораторных условиях получали необходимую для экспериментов концентрацию (10^9 спор/мл) водных суспензий микробов-антагонистов: *Trichoderma harzianum* (Rifai, 1969) (штамм «Универсальный», получен от д-ра биол. наук, проф. Т. И. Громовых), *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp., согласно методам из работ (Клинцаре, 1970; Новосельцева, Смирнов, 1983). Бактериальные культуры *Bacillus* sp. и *Pseudomonas* sp. выделены из копролитов дождевых червей *Eisenia fetida* в лаборатории биотехнологии ФГБНУ «СибНИИСХиТ» (г. Томск). Выбор данных штаммов бактерий продиктован положительными результатами их применения в СибНИИСХиТ для предпосевной обработки яровых зерновых культур (Терещенко и др., 2013).

Лабораторную всхожесть семян сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. и лиственницы сибирской *Larix sibirica* L. определяли по стандартной методике (Новосельцева, Смирнов, 1983). Перед посевом в грунт семена хвойных пред-

варительно замачивали в течение 2 ч в 0.05%-м растворе KMnO_4 , а затем 2 ч – в суспензиях (10^9 кл/мл) микробов-антагонистов. Контролем служили семена, замоченные на то же время в стерильной воде.

Для натуральных экспериментов по исследованию влияния микробов-антагонистов на рост и развитие семян хвойных в опытном питомнике Погорельского стационара Института леса им. В. Н. Сукачева СО РАН в начале вегетационного сезона 2012 г. на двух посевных грядах (по 4.5 м) заложили опытные участки (50×50 см), с которых отобрали образцы почвы для анализа контрольных (начальных) условий. Каждый участок засевали семенами по 150 шт. в 3 посевные строки (450 шт.) в трех повторностях. Всего для проведения исследований заложено 36 экспериментальных участков (50×50 см): 18 (6×3) под сосной обыкновенной, 18 (6×3) под лиственницей сибирской. После посева 5 вариантов опыта засыпали слоем опилок, а шестой – вермикулитом (0.5–1.5 см). Вермикулит использовали для оценки эффективности его применения в качестве влагоудерживающего материала и источника микроэлементов. В полевом опыте использовали вспученный вермикулит мелкой фракции (0.1–1.0 мм), который наносили на поверхность почвы слоем 3–4 мм после высева семян хвойных. Варианты эксперимента: 1) контроль-1 (H_2O) с мульчей из опилок; 2) *Bacillus* sp. (фосфатмобилизующие бациллы); 3) *Bacillus subtilis*; 4) *Pseudomonas* sp.; 5) *Trichoderma harzianum*; 6) контроль-2 (H_2O) с мульчей из вермикулита. Учеты семян проводили с периода массовых всходов семян (через 30 дней), затем ежемесячно в течение всего периода вегетации (июнь–сентябрь). В конце вегетационного сезона отбирали по 10 шт. семян на биометрические исследования. Один раз в месяц производили отбор почвенных образцов для микробиологических анализов и 2 раза за сезон (июнь и сентябрь) – для исследования ферментативной активности почвы.

В момент взятия образцов измеряли температуру воздуха и почвы на каждом участке с использованием портативного термометра «Hanna Checktemp 1». В лабораторных условиях традиционными методами определяли влажность почвы и значения pH в водной вытяжке в течение 1 ч (1:10) при помощи портативного потенциометра «Аквилон-410».

Агрохимические характеристики почвы опытного питомника определены ранее (Гродницкая и др., 2011). Почва темно-серая слабо-

оподзоленная оглеенная тяжелосуглинистая на древнеаллювиальных отложениях, изначально обладающая высоким потенциальным плодородием (Ершов, 2002). Реакция почвенной среды слабокислая, близкая к нейтральной (pH_{KCl} 5.5; $\text{pH}_{\text{водн}}$ 6.6). Содержание гумуса в слое 2–16 см – 4.4 %, валового азота – 0.3 %, резко убывающее с глубиной.

Изначальную микробиологическую пораженность семян и влияние экспериментальных микробных культур на степень поражения всходов сосны и лиственницы возбудителями болезней определяли методом рулонов, в соответствии с которым семена хвойных по 100 шт. помещали между лентами фильтровальной бумаги и кальки и сворачивали в рулон. Рулоны помещали в стаканы (на 250 мл) со 100 мл дистиллированной воды и инкубировали в темноте в течение 7 сут в термостате при температуре +22 °C. По истечении срока инкубации проводили учет численности проростков, пораженных возбудителями бактериоза и фузариоза (трахеомикоза).

Почву для микробиологических и ферментативных анализов отбирали с глубины 0–15 см на опытных участках. Один смешанный образец почвы в каждом варианте опыта составляли из трех прикопок на участке (разделенном на 3 части). Для микробиологического анализа использовали свежие образцы почвы. Численность, структуру и таксономический состав почвенных микроорганизмов (эколого-трофических групп – ЭТГМ) изучали общепринятыми методами. Учет бактерий гидролитического сообщества (аммонификаторов) осуществляли на мясопептонном агаре (МПА), амилитического комплекса (копиотрофов) – на крахмало-аммиачном агаре (КАА), олиготрофов (приспособленных к развитию в обедненной питательными веществами среде) – на почвенном агаре (ПА). Численность грибов определяли на сусло-агаре (СА), подкисленном перед розливом стерильной молочной кислотой (из расчета $4 \text{ мл} \cdot \text{л}^{-1}$). Посев почвенной суспензии (0.1 мл) проводили на следующий день после отбора образцов из разведений ($1:10^3$) на поверхность питательных сред в трехкратной повторности. Засеянные чашки Петри инкубировали при температуре 27–28 °C. Подсчет численности бактерий производили на 1–3-и, грибов – на 4–7-е сут инкубирования, после чего подсчитывали численность колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г почвы (Практикум..., 2005; Методы..., 1991). Общее микробное число (ОМЧ) находили, суммируя

численность всех эколого-трофических групп микроорганизмов, выросших на питательных средах (МПА, КАА, ПА и СА). Для оценки разложения и накопления органических веществ в верхней части гумусового горизонта почвы рассчитывали коэффициенты микробиологической минерализации ($K_{\text{мин}}$) согласно соотношению численности микроорганизмов, выросших на КАА и МПА (КАА/МПА). Способность микроорганизмов к аккумуляции питательных элементов из «рассеянного» состояния определяли с помощью коэффициента олиготрофности ($K_{\text{олиг}}$), который учитывали по соотношению численности микроорганизмов, выросших на среде ПА и МПА (ПА/МПА) (Мишустин, Емцев, 1987).

Ферментативную активность почвы определяли в начале и в конце вегетационного сезона по методам из работы Х. Ф. Хазиева (2005). С использованием фотоэлектроколориметра КФК-3 активность гидролитических ферментов (инвертазы, протеазы, уреазы, фосфатазы) определяли при компостировании в термостате с температурой 30–38 °С и экспозиции от 3 до 24 ч. Активность инвертазы выражали в мг глюкозы/1 г почвы, протеазы – в мг глицина/1 г почвы, уреазы – в мг N–NH₄/1 г почвы, фосфатазы – в мг P₂O₅/1 г почвы. Далее по тексту размерность ферментов обозначена как единица фермента – ед. ф. (Хазиев, 2005).

Респирометрические характеристики почвенного микробного сообщества выражали в значениях биомассы микроорганизмов (МБ), микробного метаболического коэффициента ($q\text{CO}_2$) и скорости базального дыхания (БД), которые оценивали при помощи метода субстрат-индуцированного дыхания (СИД) (Методы..., 1991; Ананьева, 2003; Anderson, Domsch, 1978). Потенциальное (субстрат-индуцированное) дыхание микроорганизмов определяли следующим образом: в стеклянные флаконы (250 мл) помещали 2 г свежей почвы, добавляли 0.1 мл глюкозо-минеральной смеси (ГМС), увлажняли при необходимости до 60 % от полной влагоемкости, герметично закрывали пробками, фиксировали время и инкубировали при 25 °С.

Через 3 ч инкубации из флакона шприцем отбирали пробу воздуха (1 мл) и анализировали с использованием газового хроматографа Agilent Technologies 6890 N Network GC (USA). Время отбора газовой пробы также фиксировали. Скорость СИД выражали в мкг С–СО₂ на г почвы в час. БД измеряли по скорости выделения СО₂ почвой за 24 ч ее инкубации при 25 °С и определяли также хроматографически, как описано для СИД, только вместо раствора ГМС вносили воду, если почвенный образец был сухим. Скорость БД выражали в мкг С–СО₂ на г почвы в час. Углерод МБ почвы ($C_{\text{мик}} = \text{МБ}$) определяли путем пересчета скорости СИД по формуле (Anderson, Domsch, 1978)

$$C_{\text{мик}} = \text{МБ} (\text{мкг С} \cdot \text{г}^{-1}) = \\ = \text{СИД} \cdot 40.04 \cdot (\text{мкг СО}_2 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}) + 0.37.$$

$q\text{CO}_2$ рассчитывали как

$$\text{БД/МБ} = q\text{CO}_2, \text{ мкг С–СО}_2 \cdot (\text{мг С}_{\text{мик}})^{-1} \cdot \text{ч}^{-1}.$$

Для выявления зависимостей между активностью ферментов и микробных показателей с гидротермическими и химическими параметрами почвы под посевами сосны обыкновенной и лиственницы сибирской использовали дисперсионный и корреляционный анализы; коэффициенты корреляции (r) значимы при $p < 0.05$ ($p < 0.01$). Полученные данные обработаны при помощи статистического пакета программ Microsoft Excel 2003 (2007) и Statistica 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Перед посевом семян хвойных, обработанных суспензиями микроорганизмов, провели микробиологический анализ почвы двух гряд (№ 1 и 2) перед разбивкой их на экспериментальные участки (варианты опыта) с целью определения состояния микробного фона (контроль). Расположение гряд изначально определяло неодинаковые значения рН и влажности почвы (№ 2 немного ниже, чем № 1). В целом почвы характеризуются слабокислой, близкой к нейтральной реакцией среды (6.51) (табл. 1).

Таблица 1. Гидротермические и микробиологические показатели почвы фоновых участков опытного лесного питомника на территории Погорельского ОЭХ (май, 2012 г.)

Участок	рН	Т почвы, °С	Влажность, %	Численность микроорганизмов, млн КОЕ · г ⁻¹ почвы				$K_{\text{мин}}$	$K_{\text{олиг}}$	МБ	БД	$q\text{CO}_2$
				МПА	КАА	ПА	СА					
№ 1	6.54	11.2	11.8	2.18	2.35	1.47	1.25	1.1	0.7	152	8.5	55.6
№ 2	6.48	11.4	18.7	2.24	6.25	2.07	0.16	2.8	0.9	109	3.5	31.8

Общая численность микроорганизмов в почве участка № 2 была больше в 1.5 раза, чем на участке № 1, в основном за счет аминотрофов (КАА). При этом численность микромицетов (СА) на участке № 1 превышала таковую участка № 2 в 2 раза. К началу вегетационного периода органического вещества довольно много, трофность почвы высокая. Численность гидролитических микроорганизмов выше, чем олиготрофных: $K_{мин} > K_{олит}$ в 1.5–3.0 раза, что свидетельствует об интенсивности микробной минерализации.

На вспаханных, приготовленных под посевы грядках (№ 1 и 2) невысокие значения МБ и очень высокие qCO_2 говорят о нарушении устойчивости микробоценозов. БД микробов на первом участке в 2.4 раза выше, чем на втором, а значения МБ на участках различались между собой в 1.4 раза.

Предварительное исследование *in vitro* степени зараженности семян хвойных возбудителями болезней, а также эффективности предпосевной обработки семян сосны и лиственницы накопительными культурами исследуемых бактерий показало, что бактериализация семян микробами-антагонистами обеспечивает значительное снижение поражения проростков возбудителями корневых гнилей. Согласно полученным данным (табл. 2), исходно семена сосны отличались более низкой степенью зараженности возбудителями фузариоза (трахеомикоза), чем лиственницы. После обработки семян антагонистами признаки поражения проростков фузариозом уже не наблюдались. Предпосевная бактериализация семян также обусловила 2–4-кратное снижение пораженности проростков сосны грибами рода *Penicillium* и возбудителями бактериозов. Бак-

теризация семян лиственницы, исходно в значительно большей степени инфицированных возбудителями фузариоза, также оказалась весьма эффективной, обеспечив 1.2–2.5-кратное снижение числа больных проростков.

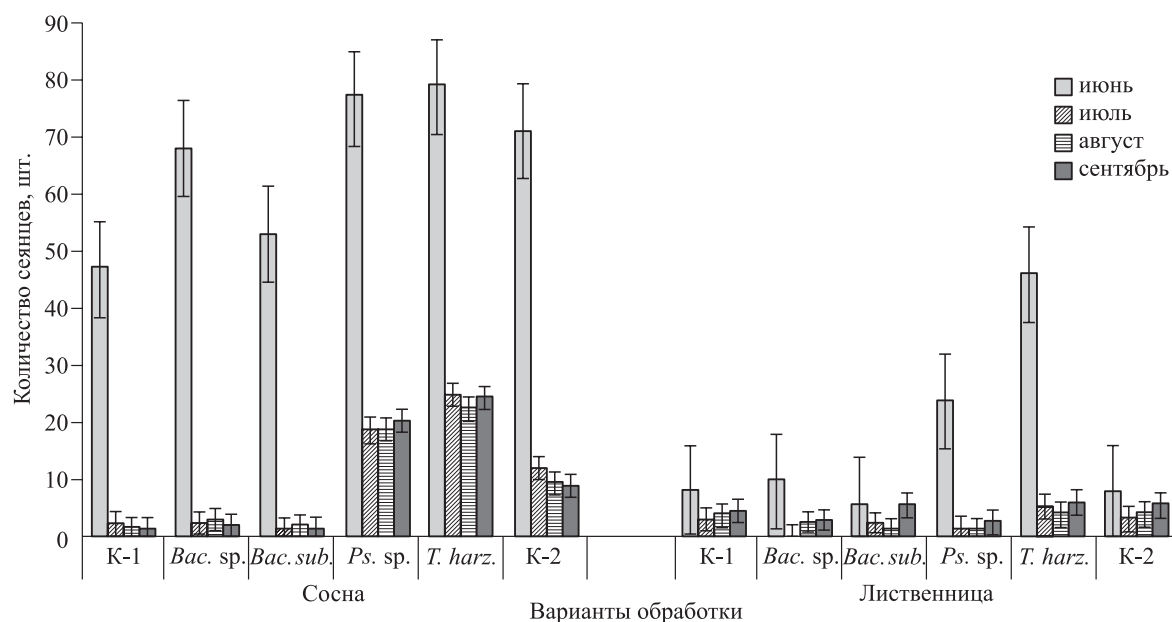
Посев семян сосны обыкновенной (лаб. всх. 48 %) и лиственницы сибирской (лаб. всх. 50 %), обработанных микробами-антагонистами, проводили в конце мая (22.05.2012 г.) при температуре почвы 11.2 °С, воздуха – 19.3 °С, влажности почвы 15.25 %. Массовую всхожесть семян хвойных наблюдали через месяц после посева (в июне).

В зависимости от варианта обработки грунтовая всхожесть семян сосны составляла от 31 до 53 %, лиственницы – от 4 до 31 % (см. рисунок). Максимальное количество всходов сосны было в вариантах с обработкой *Tricha derma harzianum* (79 шт.), *Pseudomonas* sp. (77 шт.) и К-2 (71 шт.), что превышало контроль (К-1) в 1.7, 1.6 и 1.5 раз соответственно. Обработка семян сосны *Bacillus* sp. превышала значения К-1 в 1.4 раза. У лиственницы наибольшая всхожесть отмечена также при обработках *Tricha derma harzianum* (46 шт.) и *Pseudomonas* sp. (24 шт.), что в 5.8 и 3.0 раза превышало таковую в варианте К-1. Обработка семян лиственницы *Bacillus* sp. превышала контрольные значения (К-1 и К-2) в 1.3 раза. Всхожесть в обоих контрольных вариантах (К-1 и К-2) была одинаковой.

Значительный дефицит влаги почвы в вегетационный период 2012 г. привел практически к полной гибели семян. Несмотря на это, в конце сезона (в сентябре) количество семян сосны обыкновенной в вариантах с *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Tricha derma harzianum* и К-2 превысило контроль (К-1) в 12, 1.4, 14.5 и 5.5 раза

Таблица 2. Степень поражения (%) проростков сосны обыкновенной и лиственницы сибирской возбудителями корневых гнилей и бактериозов в зависимости от предпосевной обработки семян

Вариант	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.	Плесневые грибы	Бактерии
<i>Сосна обыкновенная</i>				
Контроль (H ₂ O дист.)	0.7 ± 0.1	8.7 ± 0.4	0	10.7 ± 4.6
<i>Bacillus subtilis</i>	0	0	0.7 ± 0.2	2.0 ± 0.3
<i>Pseudomonas</i> sp.	0	2.0 ± 0.3	2.0 ± 0.3	6.7 ± 0.3
<i>Bacillus</i> sp. (фосфатмобилизующие бактерии)	0	0.7 ± 0.1	1.3 ± 0.3	3.3 ± 0.2
<i>Лиственница сибирская</i>				
Контроль (H ₂ O дист.)	10.1 ± 0.4	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	9.0 ± 0.4	0	0	0
<i>Pseudomonas</i> sp.	6.0 ± 0.3	0	0	0.7 ± 0.1
<i>Bacillus</i> sp. (фосфатмобилизующие бактерии)	4.0 ± 0.2	0	0	0



Грунтовая всхожесть семян (июнь) и количество сеянцев сосны обыкновенной и лиственницы сибирской в течение вегетационного периода 2012 г.

соответственно. У лиственницы наибольшее количество сеянцев к концу вегетации по сравнению с K-1 отмечено в вариантах обработки *Trichoderma harzianum* (в 1.26 раз), K-2 (в 1.2 раза) и *Bacillus subtilis* (в 1.14 раз) (см. рисунок).

Предпосевная обработка семян хвойных неравнозначно повлияла на морфометрические параметры сеянцев (табл. 3). Так, у сеянцев сосны обыкновенной длину стебелька увеличивали все варианты обработки, в том числе K-2, в 1.4–1.5 раза, длину корня – бактерии *Bacillus sp.* и *Bacillus subtilis* в 1.4 раза, диаметр корневой шейки – *Pseudomonas sp.* и *Trichoderma harzianum* в 1.2 раза, массу сеянцев увеличивали все варианты от 1.3 до 2.7 раза, кроме *Bacillus sp.*

У сеянцев лиственницы все варианты обработки увеличивали длину мутовки (в 1.1–1.8 раза), *Trichoderma harzianum* – длину стебелька и диаметр корневой шейки (в 1.2 и 1.6 раза соответственно), бактерии – длину корня (в 1.4–2.0 раза) по сравнению с контролем (K-1).

Результаты полевого эксперимента также выявили положительное воздействие на морфометрические показатели сеянцев сосны и лиственницы приема мульчирования почвы вспученным вермикулитом. Особенно заметным было влияние вермикулита на сеянцы сосны. Так, согласно данным табл. 3, в варианте с использованием в качестве мульчи вермикулита (K-2) все морфометрические показатели сеянцев сосны были выше, чем в контроле с использованием в качестве мульчи опилок (K-1).

Длина мутовки и диаметр корневой шейки сеянцев лиственницы в варианте с вермикулитом также были несколько больше, чем в K-1. Поскольку погодные условия вегетационного периода 2012 г. были засушливыми, большая эффективность использования вермикулита по сравнению с опилками могла быть обусловлена лучшим сохранением влаги в верхнем почвенном слое, отсутствием «парникового эффекта», как правило вызываемого мульчей из опилок, и выделением из состава вермикулита в почву макро- и микроэлементов (калия, кальция, железа, магния и т. п.), позитивно сказавшихся на всхожести и некоторых морфометрических показателях сеянцев сосны и лиственницы.

Таким образом, наибольший положительный эффект на сохранность и морфометрические характеристики сеянцев сосны обыкновенной оказала предпосевная обработка семян штаммами *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas sp.* На сеянцы лиственницы сибирской максимальный эффект оказала обработка *Trichoderma harzianum* и *Bacillus subtilis*. Для сохранения влаги и обеспечения сеянцев комплексом необходимых микроэлементов в качестве мульчи можно рекомендовать вспученный вермикулит.

Исследование численности ЭТГМ под посевами хвойных на протяжении вегетационного периода показало, что их количество изменялось в зависимости от влажности, температуры и pH почвы, а также от вариантов обработки (табл. 4).

Таблица 3. Морфометрические характеристики семян сосны обыкновенной и лиственницы сибирской в конце вегетационного сезона (сентябрь) 2012 г.

Вариант обработки	Морфометрический показатель				
	Длина			Диаметр корневой шейки	Сырая масса сеянца, г
	мутовки	стебелька	корня		
	см				
<i>Сосна обыкновенная</i>					
К-1	2.1 ± 0.1	1.7 ± 0.8	5.4 ± 2.1	0.27 ± 0.04	0.03 ± 0.003
<i>Bacillus</i> sp.	1.6 ± 0.4	2.3 ± 0.6	7.3 ± 2.3	0.24 ± 0.03	0.02 ± 0.002
<i>Bacillus subtilis</i>	1.9 ± 0.3	2.3 ± 0.4	7.5 ± 3.1	0.26 ± 0.01	0.04 ± 0.003
<i>Pseudomonas</i> sp.	1.9 ± 0.5	2.5 ± 0.4	5.4 ± 1.4	0.32 ± 0.10	0.06 ± 0.004
<i>Trichoderma harzianum</i>	1.9 ± 0.4	2.3 ± 0.4	6.0 ± 2.0	0.32 ± 0.05	0.05 ± 0.002
К-2	2.3 ± 0.5	2.3 ± 0.5	6.6 ± 1.9	0.27 ± 0.06	0.08 ± 0.007
<i>Лиственница сибирская</i>					
К-1	1.2 ± 0.1	1.8 ± 0.1	6.8 ± 1.3	0.20 ± 0.40	0.20 ± 0.001
<i>Bacillus</i> sp.	1.7 ± 0.6	1.3 ± 0.8	13.7 ± 1.8	0.20 ± 0.10	0.20 ± 0.001
<i>Bacillus subtilis</i>	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.2	9.2 ± 1.7	0.18 ± 0.03	0.18 ± 0.002
<i>Pseudomonas</i> sp.	1.6 ± 0.5	1.3 ± 0.4	3.5 ± 1.4	0.22 ± 0.05	0.03 ± 0.002
<i>Trichoderma harzianum</i>	2.2 ± 0.8	2.2 ± 0.7	5.0 ± 1.3	0.31 ± 0.09	0.08 ± 0.000
К-2	2.1 ± 0.8	1.6 ± 0.6	6.3 ± 3.3	0.28 ± 0.07	0.06 ± 0.070

Численность микроскопических грибов была низкой на протяжении всего периода исследований. В опытах при обработке семян *Pseudomonas* sp. и *Trichoderma harzianum* численность грибов под сосной увеличилась в августе до 0.025–0.026 млн КОЕ · г⁻¹ почвы. Под лиственницей максимальную численность грибов регистрировали в августе в варианте с *Pseudomonas* sp. (0.15 млн КОЕ · г⁻¹ почвы) и в сентябре – с *Trichoderma harzianum* (0.068 млн КОЕ · г⁻¹ почвы) (см. табл. 4). Наиболее значимые корреляционные связи численности грибов с влажностью почвы отмечены в июле: под сосной ($r = -0.82$) и лиственницей ($r = -0.79$), в августе – с рН: под сосной ($r = -0.85$) и лиственницей ($r = -0.94$), в сентябре – с температурой почвы: под сосной ($r = 0.62$) и лиственницей ($r = 0.92$). Общее число микроорганизмов в почве под посевами хвойных было максимальным в июне (в период массовых всходов семян), через месяц после внесения антагонистов с семенами сосны обыкновенной и лиственницы сибирской (в среднем 5.6 млн КОЕ · г⁻¹ почвы). В течение вегетационного сезона общая численность микроорганизмов постепенно снижалась и к сентябрю в целом под посевами хвойных сократилась в 1.5 раза (до 3.6 млн КОЕ · г⁻¹ почвы). При этом численность гидролитиков снизились в 1.6–1.7, копиотрофов – в 1.4–1.2, олиготрофов – в 1.7–1.6 раза (под лиственницей и сосной соответственно) (см. табл. 4).

На протяжении периода вегетации доминировали олиготрофные микроорганизмы и значения $K_{\text{олит}}$ в почве под посевами сосны и лиственницы были в среднем в 1.3–1.4 раза выше, чем $K_{\text{мин}}$ (см. табл. 4).

Обработка семян сосны всеми вариантами антагонистов способствовала увеличению численности копиотрофно-олиготрофного комплекса на протяжении периода вегетации. На увеличение численности гидролитиков (июнь, июль, сентябрь) более всего влияла обработка бациллами (*Bacillus subtilis*, *Bacillus* sp.).

Кроме того, к концу вегетационного периода в почве под посевами сосны и лиственницы обработка семян *Pseudomonas* sp. и *Trichoderma harzianum* повысила значения рН на 0.2–0.4 ед., в то время как в вариантах с обработкой семян бациллами наблюдалось снижение величины рН почвы на 0.1–0.5 ед. (*Bacillus* sp.) и на 0.6 ед. (*Bacillus subtilis*) (см. табл. 4). Отмечена достоверная зависимость ($p < 0.05$) общей численности микроорганизмов от влажности₍₂₎ и температуры₍₃₎ почвы: под сосной ($r_2 = 0.52$, $r_3 = -0.80$) и лиственницей ($r_2 = -0.65$).

Таким образом, на фоне снижения общей численности микроорганизмов из-за неблагоприятных погодных условий все варианты обработки семян хвойных микробами-антагонистами показали тенденцию к увеличению ЭТГМ. В почве питомника под сеянцами сосны обыкновенной микробная обработка способствовала увеличению численности копиотрофно-олиготрофного

Таблица 4. Гидротермические, микробиологические показатели темно-серой почвы на участках Погорельского питомника при различных вариантах опыта вегетационного периода 2012 г.

Вариант опыта	рН _{водн}	Т, °С	Влаж- ность, %	Численность ЭТГМ, млн КОЕ · г ⁻¹ почвы				К _{мин}	К _{олиг}	МБ, мкг С · г ⁻¹ почвы	БД, мкг С-СО ₂ ч · г ⁻¹	qCO ₂ , мкг С-СО ₂ мг С · ч ⁻¹	
				Гидро- литики	Копио- трофы	Олиго- трофы	Грибы						
<i>Июнь</i>													
Сосна	Контроль-1	6.83	21.90	5.27	1.05	1.19	3.46	0.004	1.1	3.3	319	14.6	45.5
	<i>Bacillus sp.</i>	7.14	20.60	5.73	0.67	1.83	3.34	0.011	2.7	5.0	311	8.9	28.5
	<i>Bacillus subtilis</i>	7.13	20.47	6.16	1.17	2.31	6.42	0.004	2.0	5.5	282	13.9	49.8
	<i>Pseudomonas sp.</i>	6.57	21.47	5.53	1.85	1.62	2.60	0.004	0.9	1.4	199	9.2	48.4
	<i>T. harzianum</i>	6.89	21.56	6.53	0.62	1.64	0.82	0.006	2.7	1.3	271	10.4	40.1
	Контроль-2	6.92	22.13	5.63	1.03	1.28	1.02	0.003	1.2	1.0	198	9.1	45.6
Лиственница	Контроль-1	7.31	20.97	5.23	1.19	1.34	1.09	0.007	1.1	0.9	262	10.4	44.1
	<i>Bacillus sp.</i>	7.14	21.67	4.43	2.61	1.58	3.55	0.006	0.6	1.4	354	13.2	37.7
	<i>Bacillus subtilis</i>	7.44	21.47	4.70	1.49	2.42	2.81	0.002	1.6	1.9	311	16.0	52.1
	<i>Pseudomonas sp.</i>	6.93	22.17	4.80	1.07	1.70	3.07	0.004	1.6	2.9	269	12.9	54.6
	<i>T. harzianum</i>	7.10	21.10	4.80	1.08	1.27	2.42	0.004	1.2	2.2	262	11.3	40.5
	Контроль-2	7.02	22.67	4.50	1.29	0.85	2.28	0.003	0.7	1.8	187	8.6	51.0
<i>Июль</i>													
Сосна	Контроль-1	7.25	22.07	12.53	0.15	1.71	2.04	0.007	11.5	13.7	247	4.4	20.0
	<i>Bacillus sp.</i>	7.38	22.57	11.97	0.39	1.58	2.78	0.007	4.1	7.1	235	5.4	26.7
	<i>Bacillus subtilis</i>	7.24	22.87	13.70	0.93	2.64	2.78	0.008	2.8	3.0	170	5.3	31.7
	<i>Pseudomonas sp.</i>	6.95	22.57	13.83	0.44	1.09	1.76	0.005	2.5	4.0	312	7.2	23.0
	<i>T. harzianum</i>	7.16	22.70	15.50	0.94	2.12	2.27	0.042	2.3	2.4	324	8.0	25.1
	Контроль-2	6.95	22.33	14.03	0.45	1.22	2.05	0.021	2.7	4.6	232	6.6	28.7
Лиственница	Контроль-1	6.93	22.23	14.73	0.67	1.74	1.67	0.001	2.6	2.5	243	4.1	16.8
	<i>Bacillus sp.</i>	7.06	22.33	15.43	0.58	2.76	2.16	0.005	4.7	3.7	349	3.7	10.5
	<i>Bacillus subtilis</i>	7.24	22.77	15.17	0.31	1.91	1.64	0.005	6.1	5.3	275	4.1	15.1
	<i>Pseudomonas sp.</i>	6.92	22.27	10.27	0.37	1.11	2.10	0.014	3.0	5.7	339	9.3	27.6
	<i>T. harzianum</i>	7.42	22.73	11.80	0.52	2.31	3.33	0.017	4.5	6.4	406	9.0	22.6
	Контроль-2	7.24	23.10	12.33	0.33	0.67	1.41	0.006	2.0	4.3	239	7.1	31.0
<i>Август</i>													
Сосна	Контроль-1	7.05	17.03	20.57	0.63	1.28	1.99	0.014	2.0	3.1	157	6.6	47.2
	<i>Bacillus sp.</i>	7.22	16.73	20.90	0.95	1.18	1.50	0.015	1.2	1.6	157	8.1	52.0
	<i>Bacillus subtilis</i>	7.39	16.63	21.30	0.42	1.15	1.51	0.003	2.7	3.6	243	6.7	29.6
	<i>Pseudomonas sp.</i>	6.76	17.03	20.97	1.20	2.68	1.61	0.025	2.2	1.3	228	10.2	44.3
	<i>T. harzianum</i>	6.76	16.45	20.73	0.86	2.12	1.08	0.026	2.5	1.3	237	8.0	33.7
	Контроль-2	6.79	16.70	20.50	0.97	2.29	1.08	0.014	2.4	1.1	204	5.3	26.4
Лиственница	Контроль-1	7.37	16.73	21.60	0.58	1.37	2.66	0.006	2.4	4.6	224	7.6	42.0
	<i>Bacillus sp.</i>	6.95	16.73	21.23	0.69	1.86	3.28	0.013	2.7	4.7	144	6.9	49.2
	<i>Bacillus subtilis</i>	7.04	16.87	21.80	1.15	2.05	3.45	0.012	1.8	3.0	195	7.6	32.3
	<i>Pseudomonas sp.</i>	6.80	17.00	21.53	1.07	1.66	1.34	0.015	1.6	1.3	266	6.6	37.9
	<i>T. harzianum</i>	6.75	16.57	22.00	1.36	2.29	1.92	0.014	1.7	1.4	240	6.5	25.0
	Контроль-2	6.86	16.53	20.93	1.06	2.25	1.87	0.011	2.1	1.8	204	5.7	23.6
<i>Сентябрь</i>													
Сосна	Контроль-1	7.21	8.80	18.46	0.69	1.28	1.24	0.011	1.9	1.8	240	8.7	36.9
	<i>Bacillus sp.</i>	6.66	8.87	18.76	0.81	1.71	1.27	0.009	2.1	1.6	318	8.7	27.2
	<i>Bacillus subtilis</i>	7.15	8.90	19.50	0.49	1.80	0.83	0.011	3.7	1.7	368	9.5	26.3
	<i>Pseudomonas sp.</i>	6.97	9.01	18.80	0.75	0.43	2.07	0.011	0.6	2.8	197	5.5	29.2
	<i>T. harzianum</i>	7.11	8.95	19.56	0.44	1.32	2.08	0.012	3.0	4.8	179	7.8	44.8
	Контроль-2	7.08	8.80	19.60	0.64	2.15	2.14	0.006	3.3	3.3	197	6.8	35.5
Лиственница	Контроль-1	6.99	8.87	18.03	0.99	1.00	0.24	0.064	1.0	0.2	281	7.3	26.4
	<i>Bacillus sp.</i>	7.07	8.83	19.90	1.12	1.25	0.05	0.008	1.1	0.1	372	10.0	26.9
	<i>Bacillus subtilis</i>	6.87	8.77	19.90	1.31	0.76	2.21	0.017	0.6	1.7	330	9.8	31.0
	<i>Pseudomonas sp.</i>	7.11	9.03	18.30	1.09	1.60	2.17	0.034	1.5	2.0	174	7.4	48.0
	<i>T. harzianum</i>	7.32	8.90	19.53	0.46	1.10	2.27	0.068	2.4	5.0	149	8.3	55.3
	Контроль-2	7.20	8.77	19.23	0.63	1.053	2.05	0.034	1.7	3.3	125	6.8	58.3

комплекса, под сеянцами лиственницы сибирской – гидролитиков и олиготрофов. При этом наиболее перспективными вариантами обработки семян сосны были *Bacillus* sp. и *Trichoderma harzianum*, а лиственницы – *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. и *Trichoderma harzianum*.

Важнейшими показателями активности почв являются скорость БД и значения МБ, которые вместе с qCO_2 определяют экофизиологическое состояние почвенного микробного сообщества и дают качественную оценку почвы (Harris, 2003). Сезонная динамика дыхания почвенных микроорганизмов контролируется (прямо или косвенно) температурой и влажностью почвы, фенофазами растительности (Макаров, 1988; Raich, Schlesinger, 1992).

При изучении динамики содержания МБ и интенсивности БД в различных вариантах опыта под посевами сосны обыкновенной и лиственницы сибирской отмечали положительное влияние обработки бациллами *Bacillus* sp. и *Bacillus subtilis* (см. табл. 4). В конце вегетационного периода (в сентябре) значения МБ снизились по сравнению с началом (в июне) во всех вариантах опыта под сосной и лиственницей в 1.3 раза, за исключением вариантов с *Bacillus* sp. и *Bacillus subtilis*. Наименьшие значения МБ в почве под посевами лиственницы регистрировали в контроле (К-2) (см. табл. 4).

Высокие значения qCO_2 на протяжении всего вегетационного периода (при норме $qCO_2 \leq 1$) объясняются влиянием агротехнической обработки почвы и неблагоприятными погодными условиями (высокой температурой воздуха и почвы, низкой влажностью) вследствие аномально засушливого лета (см. табл. 4) и свидетельствуют о нарушении функционирования микробных сообществ. Несмотря на то что экофизиологический статус почвенных микробоценозов под сосной и лиственницей в исследуемый период был сильно нарушен, к сентябрю наблюдали тенденцию к его восстановлению. Это выразилось в снижении значений qCO_2 в среднем в 1.5 раза по сравнению с июнем во всех вариантах опыта под сосной и лиственницей (см. табл. 4).

В процессах разложения органических веществ и гумусообразования в почве важная роль принадлежит ферментам группы гидролаз (Хазиев, 1976). Активность гидролитических ферментов (инвертазы, протеазы, уреазы, фосфатазы), катализирующих расщепление высокомолекулярных органических соединений, свидетельствует об интенсивности мобилиза-

ционных процессов (Галстян, Григорян, 1980). Анализ ферментативной активности темно-серой почвы опытного питомника показал изменение активности гидролаз в почвенных образцах в зависимости от варианта обработки семян хвойных (табл. 5).

Инвертазная активность в почве под сосной в течение вегетационного сезона снизилась по сравнению с контролем (К-1 и К-2) во всех вариантах обработки. Однако относительно июня активность фермента к сентябрю возросла на 4–15 % в вариантах с бациллами и незначительно (в пределах ошибки, на 3 %) – в варианте с триходермой. Под лиственницей активность инвертазы в контроле (К-1 и К-2) оставалась постоянной в течение вегетационного сезона, а в опытных вариантах в целом увеличилась и в сентябре наиболее заметно превышала контроль (К-1) в вариантах с бациллами (на 8–12 %) и триходермой (на 8 %) (см. табл. 5). Отмечена корреляционная связь между активностью фермента и численностью гидролитиков ($r = -0.59$) и олиготрофов ($r = 0.48$). Тесная связь активности инвертазы с количеством почвенных микроорганизмов и их метаболической активностью свидетельствует о преимуществе в почве инвертазы микробного происхождения (Чундерова, 1976; Trasar-Cepeda et al., 2008). Активность инвертазы связана с $pH_{(1)}$, влажностью₍₂₎ и температурой₍₃₎ почвы как под сосной ($r_3 = 0.80$), так и под лиственницей ($r_1 = 0.74$, $r_2 = -0.84$ и $r_3 = 0.49$), что согласуется с исследованиями (Галстян, Григорян, 1980; Trasar-Cepeda et al., 2008).

Содержание фосфатазы к концу вегетации (сентябрь) под посевами сосны обыкновенной увеличилось как в контрольных (К-1 – на 39 % и К-2 – на 12 %), так и в опытных вариантах (*Bacillus* sp. – на 82 %; *Pseudomonas* sp. – на 29 %; *Trichoderma harzianum* – на 52.9 %) по сравнению с июнем (см. табл. 5). Под лиственницей сибирской активность фермента в контроле (К-1, К-2) не изменилась в течение вегетации, а в некоторых вариантах обработки даже снизилась (на 13 % с *Bacillus subtilis*), однако в вариантах с *Pseudomonas* sp. и *Trichoderma harzianum* активность фосфатазы в сентябре превысила К-1 в 1.6–2.0 раза (см. табл. 5). Изменения кислотности₍₁₎, влажности₍₂₎ и температуры₍₃₎ почвы в течение вегетационного сезона определили зависимость от них активности фермента как под сосной ($r_1 = -0.71$, $r_2 = -0.81$, $r_3 = -0.51$), так и под лиственницей ($r_1 = -0.82$, $r_3 = 0.55$). Фосфатазная активность также связана с метаболизмом ЭТГМ: под посевами сосны отмечена корреля-

Таблица 5. Ферментативная активность темно-серой почвы в зависимости от вариантов обработки семян хвойных

Вариант обработки	Инвертаза, мг глюкозы на 1 г почвы	Фосфатаза, мг P ₂ O ₅ на 1 г почвы	Протеаза, мг глицина на 1 г почвы	Уреаза, мг N-NH ₄ на 1 г почвы	Месяц
<i>Сосна обыкновенная</i>					
К-1	73.44	0.84	1.27	2.54	Июнь
	72.27	1.17	0.73	3.36	Сентябрь
<i>Bacillus</i> sp.	60.02	0.83	1.19	3.49	Июнь
	69.20	1.51	0.76	4.32	Сентябрь
<i>Bacillus subtilis</i>	68.27	0.87	1.22	3.97	Июнь
	71.20	0.88	0.89	2.56	Сентябрь
<i>Pseudomonas</i> sp.	69.10	0.83	1.08	3.12	Июнь
	59.78	1.07	0.86	1.97	Сентябрь
<i>Trichoderma harzianum</i>	69.83	0.51	1.13	3.05	Июнь
	71.98	0.78	1.31	3.03	Сентябрь
К-2	75.35	0.65	0.83	2.89	Июнь
	73.01	0.73	1.07	2.25	Сентябрь
<i>Лиственница сибирская</i>					
К-1	61.78	0.51	1.39	2.38	Июнь
	61.29	0.51	1.08	3.52	Сентябрь
<i>Bacillus</i> sp.	64.17	0.48	1.29	2.60	Июнь
	68.86	0.44	1.08	3.44	Сентябрь
<i>Bacillus subtilis</i>	71.00	0.52	1.04	3.26	Июнь
	66.02	0.46	0.93	3.45	Сентябрь
<i>Pseudomonas</i> sp.	71.10	1.14	1.39	2.33	Июнь
	62.02	0.79	1.28	6.16	Сентябрь
<i>Trichoderma harzianum</i>	68.27	1.03	1.07	4.65	Июнь
	66.37	1.04	0.88	5.33	Сентябрь
К-2	68.13	1.06	1.31	2.51	Июнь
	66.61	1.13	0.66	2.91	Сентябрь

ция с гидролитиками ($r = 0.78$) и олиготрофами ($r = -0.44$); под лиственницей – с гидролитиками ($r = -0.86$), копиотрофами ($r = -0.47$) и олиготрофами ($r = 0.63$).

Активность протеазы в почве к концу сезона в целом снизилась как под сосной (в 1.2 раза), так и под лиственницей (в 1.3 раза) по сравнению с таковой в июне (см. табл. 5). По сравнению с К-1 в почве под сосной все варианты микробной обработки увеличили активность фермента к концу вегетации, но больше всего *Bacillus subtilis*, *Ps. sp* (в 1.2 раза) и *Trichoderma harzianum* (в 1.8 раза). Мульчирование почвы вермикулитом (К-2) также повысило активность протеазы в 1.5 раза по сравнению с К-1. В почве под лиственницей активность протеазы увеличилась в 1.2 раза только в варианте с *Pseudomonas* sp. по сравнению с К-1 (см. табл. 5). На активность фермента также оказывали влияние рН₍₁₎, влажность₍₂₎ и температура₍₃₎ почвы: под сосной ($r_2 = 0.80$, $r_3 = -0.52$) и под лиственницей ($r_1 = -0.46$, $r_2 = -0.47$, $r_3 = 0.76$).

К концу вегетации активность уреазы увеличилась и в контроле, и в опытных вариантах (см. табл. 5). В почве под лиственницей активность фермента в июне повышали в 1.1–2.0 раза все варианты, кроме *Pseudomonas* sp., по сравнению с К-1. В сентябре активность фермента была выше К-1 в вариантах с *Pseudomonas* sp. (в 1.8 раза) и *Trichoderma harzianum* (в 1.5 раза). Под посевами сосны в июне активность уреазы повышали все варианты обработки в 1.2–1.6 раза по сравнению с контрольными значениями (К-1 и К-2). К сентябрю повышение активности фермента отмечено только в варианте с *Bacillus* sp. (в 1.3 раза) по сравнению с К-1 (см. табл. 5).

В литературе есть сведения о том, что активность уреазы коррелирует с активностью всех основных ферментов азотного метаболизма (Галстян, Григорян, 1980; Trasar-Cepeda et al., 2008). В наших исследованиях активность уреазы под посевами сосны и лиственницы коррелировала с протеазой ($r = 0.57$), инвертазой ($r = 0.54$) и фосфатазой ($r = 0.74$). На скорость

гидролиза мочевины влияли кислотность⁽¹⁾, влажность⁽²⁾ и температура⁽³⁾ почвы как под сосной ($r_1 = -0.53$, $r_2 = -0.42$), так и под лиственницей ($r = 0.40$, $r_3 = 0.92$), что согласуется с исследованиями (Иванов, Баранова, 1972). Кроме того, активность уреазы тесно связана с деятельностью микроорганизмов в почве, о чем свидетельствуют коэффициенты корреляции между уреазой и общей микробной численностью под посевами сосны обыкновенной и лиственницы сибирской ($r_C = 0.72$ и $r_L = 0.60$), а также уреазой и МБ ($r_C = 0.39$ и $r_L = -0.42$).

Таким образом, внесенные в почву с семенами хвойных микробы-антагонисты неоднозначно влияли на активность почвенных ферментов. Так, под лиственницей активность инвертазы повышали обработки *Bacillus* sp. и *Trichoderma harzianum*, фосфатазы – *Pseudomonas* sp.; уреазы – все антагонисты; под сосной наиболее эффективно повышали активность фосфатазы *Bacillus* sp. и *Pseudomonas* sp., протеазы – *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas* sp. и *Trichoderma harzianum*, уреазы – *Bacillus* sp.

ВЫВОДЫ

1. Бактеризация семян хвойных (pp. *Bacillus*, *Pseudomonas*) *in vitro*, исходно инфицированных возбудителями фузариоза, обусловила 2–4-кратное снижение пораженности проростков сосны обыкновенной и 1.2–2.5-кратное снижение числа больных проростков лиственницы сибирской.

2. Предпосевная обработка семян хвойных микробами-антагонистами *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. и *Trichoderma harzianum* повышала грунтовую всхожесть семян сосны обыкновенной в 1.4–1.7 раза и лиственницы сибирской в 1.3–5.8 раза по сравнению с контролем (К-1).

3. Лучшие сохранность и морфометрические показатели семян сосны обыкновенной обеспечила обработка штаммами *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas* sp., лиственницы сибирской – *Trichoderma harzianum* и *Bacillus subtilis*. Мульчирование посевов хвойных вермикулитом (К-2) положительно сказалось на семенах хвойных, поскольку способствовало сохранению влаги и обеспечивало семена комплексом необходимых микроэлементов.

4. Все варианты предпосевной обработки семян хвойных микробами-антагонистами выявили тенденцию к увеличению численности ЭТГМ в почве под посевами по сравнению с контролем. Под сеянцами сосны обыкновенной отмечено увеличение численности олиготрофно-ко-

пиотрофного комплекса, под сеянцами лиственницы сибирской – олиготрофов и гидролитиков.

5. Доминирование олиготрофной группы микроорганизмов на протяжении всего периода вегетации, выраженное превалянием коэффициентов олиготрофности ($K_{\text{олиг}}$) над минерализационными ($K_{\text{мин}}$) в 2.0–2.5 раза, свидетельствует о снижении интенсивности микробной минерализации из-за неблагоприятных погодных условий (низкой влажности, высокой температуры почвы и воздуха).

6. Внесение популяций споровых бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus* sp. и микромицета *Trichoderma harzianum* с семенами хвойных увеличило биогенность и продуктивность почвы питомника (МБ, ферментативную активность, численность ЭТГМ) в 1.5–3.0 раза по сравнению с контролем.

7. Высокие значения qCO_2 к концу вегетации имели тенденцию к снижению в среднем в 1.5 раза, приближаясь к экофизиологической норме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Актуганов Г. Э., Галимзянова Н. Ф., Мелентьев А. И., Кузьмина Л. Ю. Внеклеточные гидролазы штамма *Bacillus* sp. 739 и их участие в лизисе клеточных стенок микромицетов // Микробиология. 2007. Т. 76. № 4. С. 471–479.
- Ананьева Н. Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв. М.: Наука, 2003. 222 с.
- Боронин А. М., Кочетков В. В. Биологические препараты на основе псевдомонад // АГРО XXI. 2000. № 3. С. 3–5.
- Великанов Л. Л., Сидорова И. И. Экологические проблемы защиты растений от болезней // Итоги науки и техники. Защита растений. 1988. Т. 6. 141 с.
- Галстян А. Ш., Григорян К. В. Ферментативная диагностика почв // Проблемы и методы диагностики и индикации почв. М., 1980. С. 132–143.
- Горбачев В. Н., Попова Э. П. Плодородие почв лесных питомников Иркутской области // География и природ. ресурсы. 1992. № 3. С. 116–124.
- Гродницкая И. Д., Гукасян А. Б. Использование микробного антагонизма в защите семян хвойных от инфекционных заболеваний // Лесоведение. 2001. № 1. С. 38–42.
- Гродницкая И. Д., Сорокин Н. Д. Внесение микробов-интродуцентов в лесные почвы питомников Сибири // Почвоведение. 2007. № 3. С. 359–364.

- Гродницкая И. Д., Сырцов С. Н., Сорокин Н. Д. Влияние химических загрязнителей на устойчивость лесных почвенных микробсообществ (природные модельные опыты) // Изв. РАН. Сер. биол. 2011. № 6. С. 691–702.
- Ершов Ю. И. Почвенный покров // Лесные экосистемы Енисейского меридиана. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. С. 16–19.
- Иванов Н. А., Баранова Р. П. Динамика ферментативных и биохимических процессов в некоторых почвах лесостепного Зауралья // Тр. Свердловск. с.-х. ин-та. 1972. Т. 26. С. 24–36.
- Клишарева А. А. Эпифитная микрофлора люпина и ее влияние на рост и развитие растения-хозяина // Микроорганизмы и растения. Рига: Зинатне, 1970. Вып. 4. С. 43–53.
- Макаров Б. Н. Газовый режим почвы. М.: Агропромиздат, 1988. 105 с.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: МГУ, 1991. 303 с.
- Мишустин Е. Н., Емцев В. Т. Микробиология. М.: Агропромиздат, 1987. 368 с.
- Новосельцева А. И., Смирнов В. А. Справочник по лесным питомникам М.: Лесн. пром-сть, 1983. 280 с.
- Практикум по микробиологии / под ред. А. И. Нетрусова. М.: Academia, 2005. 603 с.
- Терещенко Н. Н., Кравец А. В., Акимова Е. Е., Минаева О. М., Зотикова А. П. Эффективность применения микроорганизмов, изолированных из копролитов дождевых червей, для увеличения урожайности зерновых культур // Сиб. вестн. с.-х. науки. 2013. № 5. С. 10–17.
- Хазиев Ф. Х. Ферментативная активность почв. М.: Наука, 1976. 179 с.
- Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.
- Чундерова А. И. Ферментативная активность почвы. Агрономическая микробиология // Тр. ВАСХНИЛ. Л.: Колос, 1976. С. 47–80.
- Широков А. В., Логинов О. Н., Мелентьев А. И., Актуганов Г. Э. Белковые и пептидные факторы *Bacillus* sp. 739 – ингибиторы роста фитопатогенных грибов // Прикладная биохимия и микробиология. 2002. Т. 38. № 2. С. 161–165.
- Якименко Е. Е., Гродницкая И. Д. Влияние грибов рода *Trichoderma* на почвенные микромицеты, вызывающие инфекционное полегание сеянцев хвойных в лесных питомниках Сибири // Микробиология. 2000. Т. 69. № 6. С. 850–854.
- Anderson J. P. E., Domsch K. H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils // Soil Biol. Biochem. 1978. V. 10. N. 3. P. 314–322.
- Balci Y., Long R. P., Mansfield M., Balsler D., MacDonald W. L. Involvement of *Phytophthora* species in white oak (*Quercus alba*) decline in southern Ohio // For. Pathology. 2010. V. 40. N. 5. P. 430–442.
- Harman G. E., Howell C. R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. *Trichoderma* species – opportunistic, a virulent plant symbionts // Microbiology. 2004. V. 2. P. 43–56.
- Harris J. A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration // Euras. J. Soil Sci. 2003. V. 54. P. 801–808.
- Jain R. K., Kapur M., Labana S., Lal B., Sarma P. M., Bhattacharya D., Thakur I. S. Microbial diversity: application of microorganisms for the biodegradation of xenobiotics // Current Sci. 2005. V. 89. N. 1 (10). P. 101–112.
- Raich J. W., Schlesinger W. H. The global carbon dioxide flux in soil respiration and relationship to vegetation and climate // Tellus. B. 1992. V. 44. P. 81–99.
- Trasar-Cepeda C., Leirós M. C., Gil-Sotres F. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality // Soil Biol. Biochem. 2008. V. 40. P. 2146–2155.

THE INFLUENCE OF MICROBIAL ANTAGONISTS ON THE SOIL BIOGENIC AND THE CONIFEROUS SEEDLING SAFETY IN ARTIFICIAL PHYTOCENOSES

I. D. Grodnitskaya¹, O. E. Kondakova¹, N. N. Tereschenko²

¹ Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch – Solitary Unit V. N. Sukachev Institute of Forest, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch Akademgorodok, 50/28, Krasnoyarsk, 660036 Russian Federation

² Siberian Research Institute of Agriculture and Peat Gagarin str., 3, Tomsk, 634050 Russian Federation

E-mail: igrod@ksc.krasn.ru, koeandkoe@mail.ru, ternat@mail.ru

Strains of microorganisms that have antagonistic and growth-stimulating activity (*Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Bac. subtilis* and *Trichoderma harzianum*) were added to the dark-gray soil of a forest nursery (Pogorelsky EEF) and to conifer seeds (*Pinus sylvestris* L., *Larix sibirica* L.). Pre-sowing seed treatments of *Trichoderma harzianum*, *Bacillus* sp., and *Pseudomonas* sp. strains increased Scots pine ground germination in 1.5–1.7 and Siberian larch – in 1.3–5.8 times; improved safety and quality of viable pine seedlings in the 1.4–11.0, larch – in 1.3–3.5 times in the end of the growing season, compared with the control. Morphometric parameters of the pine seedlings increased processing of *Pseudomonas* sp. and *Bacillus subtilis*, larch seedlings – *Trichoderma harzianum* and *Bacillus* sp. in 1.5–2.0 times (both). The pine and larch seeds bacterization, initially infected by *Fusarium*, reduced to 1.2–2.5 times the population of phytopathogen, which helped lower the death of coniferous seedlings. The biologically active microbial strains, which were introduced in the nursery soil, have increased and maintained the total number of microorganisms (ETGM) in conifer seedlings during the whole period of vegetation. It has had a positive effect of bacilli treatment (*Bacillus* sp. and *Bac. subtilis*) on the dynamics of microbial biomass content, the rate of basal respiration and microbial metabolic coefficient values (qCO_2). In general, the introduction of spore bacteria (*Bac. subtilis* and *Bacillus* sp.) and micromycetes (*Trichoderma harzianum*) populations with coniferous seeds increased the biogenetic and productivity of the nursery soil (MB, enzymatic activity, the ETGM number) to 1.5–3.0 times in comparison with the control and, despite of the high values of specific microbial respiration throughout the growing season, had a positive impact on the restoration of the ecophysiological functioning rule of soil microbial community.

Keywords: Scots pine, Siberian larch, microbes-antagonists, ecological-trophic groups of microorganisms, hydrolytics, copiotrophics, oligotrophs, microbial biomass, basal respiration, enzymatic activity.

How to cite: Grodnitskaya I. D., Kondakova O. E., Tereschenko N. N. The influence of microbial antagonists on the soil biogenic and the coniferous seedling safety in artificial phytocenoses // *Sibirskij Lesnoj Zhurnal* (Siberian Journal of Forest Science). 2016. N. 6: 13–25 (in Russian with English abstract).