

Введение Продуктивность лесных сообществ, главным образом, зависит от взаимодействия корней и побегов растений с окружающей средой. Одной из наиболее важных и наименее изученных биотических зон взаимодействия является почва, находящаяся под непосредственным влиянием корней, известная как ризосфера. Микроорганизмы и процессы, происходящие в ризосфере, оказывают глубокое влияние на рост растений за счет синтеза питательных веществ, подавления фитопатогенов, улучшения качества и структуры почвы, а также защиты от экстремальных условий окружающей среды. К сожалению, большинство наших знаний о ризосфере ограничиваются изучением сельскохозяйственных культур и почв, принципиально отличающихся от лесных. Ученые только начинают исследовать сложные взаимодействия внутри ризосферы древесных растений и их воздействие на здоровье и продуктивность лесов [1]. В связи с этим изучение биоразнообразия микроорганизмов ризосферы и их надлежащего практического применения имеет большое значение для поддержания здоровья и устойчивости лесных экосистем. Целью настоящего обзора явился анализ существующих данных об ризосферных микроорганизмах древесных пород и особенностях их физиологического влияния на растение-хозяина. Особенности формирования ризосферы высших растений В настоящее время под ризосферой понимают пространство вокруг корня от 0 до 2 - 8 мм в диаметре, в котором имеет место обильное развитие микроорганизмов из-за стимулирования их роста корневыми экссудатами. Механизм движения бактерий к корню растения основан на явлениях хемотаксиса и аэротаксиса. Корни растения при дыхании активно потребляют кислород, и вблизи создается градиент концентрации кислорода. Так же в результате корневых выделений в зоне корней создается градиент концентрации веществ, входящих в состав этих выделений. Бактерии, благодаря набору разнообразных рецепторов движутся в сторону повышения градиентов и начинают размножаться вблизи и на поверхности корня [2]. Известно, что концентрация бактерий, обнаруженных в прикорневой зоне, значительно превышает их концентрацию в основной массе почвы. По данным В.Т. Емцева и М.Т. Емцева [3], количество бактерий маслянокислыхкlostридиев в 1 г почвы пара составляет 69,7 тыс., а в ризосфере - 10,7 млн., то есть в ризосфере бактериальных клеток более чем в 1000 раз больше. Также подсчитано, что вес бактерий в ризосфере люцерны примерно вдвое больше, чем в почве вне ризосферы, и составляет соответственно около 5 т и 2,25 т на 1 га. В качестве точки отсчета взаимодействия микроорганизмов и растений логично избрать прорастание семени в почве. Однако следует отметить, что семена растений, попадающие в почву, уже заселены микроорганизмами, т.е. микробно-растительные отношения начинаются гораздо раньше [4]. На поверхности и в покровах, а в некоторых случаях и в тканях разных семян можно обнаружить бактерии, принадлежащие к родам *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Bacillus*,

Burkholderia, Clavibacter, Clostridium, Curtobacterium, Erwinia, Pseudomonas, Rhizobacter, Rhizomonas, Streptomyces, Xanthomonas и др., грибы родов Acremonium, Alternaria, Aureobaculum, Aspergillus, Botrytis, Cephalosporidium, Claviceps, Drechslera, Fusarium, Gibberella, Helminthosporium, Humicola, Penicillium, Peronospora, Phoma, Phytophthora, Plasmodiopsis, Puccinia, Pythium, Rhizoctonia, Septoria, Trichothetium, Ustilago, Verticillium и др. Среди перечисленных родов бактерий и грибов много истинных фитопатогенов [4]. При попадании в благоприятные условия влажности и температуры семя растения набухает и прорастает. При набухании, а тем более прорастании, в семени происходят соответствующие молекулярно-генетические и физиолого-биохимические процессы. Те же факторы (влажность и температура) оказывают соответствующее действие и на микроорганизмы, находившиеся на поверхности семени. Однако основное действие на микробное сообщество поверхности семян оказывает «выброс» органических веществ из набухающего и прорастающего семени. Концентрация и состав таких веществ видоспецифичны [5, 6]. Например, при прорастании семян пшеницы обнаруживаются углеводы (главным образом глюкоза и фруктоза, а в целом - до 10 компонентов), органические кислоты (в большинстве своем - сукцинат, фумарат и малат) и до 16 аминокислот, среди которых доминируют аспарагиновая и глутаминовая [4]. Установлено, что у пшеницы, овса и люцерны между пятым и пятнадцатым днями развития количество микробов в ризосфере возрастает в 10 - 30 раз [7]. Таким образом, ризосфера формируется очень рано, вскоре после прорастания семян [8].

Функциональные группы ризосферных микроорганизмов Растение не просто способствует накоплению в ризосфере микробов, а отбирает (селекционирует) определенных представителей микронаселения, поэтому микрофлора ризосферы отличается от микрофлоры почвы не только по количеству микробов, но и по их составу [7, 9, 10]. Каждая культура, стимулируя рост, селекционирует определенную микробиоту [11], так как ризосфера растений является зоной, в которой происходит адаптация почвенной микробиоты к условиям, создаваемым активно растущими растениями. Самыми многочисленными в ризосфере являются, как правило, неспоровые бактерии. Второе место принадлежит микобактериям. Актиномицеты, грибы и споровые бактерии обнаруживаются здесь в небольших количествах [7, 9, 12]. По видовому составу и особенно физиологии виды актиномицетов, обитающие в ризосфере и в почве, не отличаются [5]. В ризосфере растений развиваются сообщества почвенных грибов, которые в той или иной степени по своей структуре видового состава специфичны. Специфика корневых выделений определяет различный состав видов грибов в корневой зоне растений. К неспоровым бактериям принадлежат азотфиксаторы: Azotobacter, Azomonas, клубеньковые и фотосинтезирующие бактерии. Все они тяготеют к ризосферам. Здесь же накапливаются и другие представители азотфиксирующей флоры - маслянокислые, микобактерии,

водоросли. Количество азотобактера и клубеньковых бактерий может достигать в этой зоне значительных величин: от сотен тысяч до нескольких миллионов клеток в 1 г почвы (клубеньковые бактерии) и до 200 млн. клеток (азотобактер). Клубеньковые бактерии встречаются не только в ризосфере бобовых растений, они с успехом могут развиваться и в ризосфере злаков [3]. Среди ризосферных микроорганизмов чаще других позитивным действием на растения отличаются бактерии из родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azomonas*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Arthrobacter*. Им присуща высокая динамичность роста, способность поселяться в ризосфере и ризоплане культивируемых растений, вытесняя тем самым микроорганизмы, негативно влияющие на рост растений. Все указанные бактерии в большей или меньшей степени способны синтезировать гормоны роста, фиксировать азот атмосферы, переводить соединения фосфора в усвояемые формы, продуцировать соединения, обладающие фунгицидными или фунгистатическими свойствами против фитопатогенных грибов, что благоприятным образом сказывается на физиологическом состоянии и общей продуктивности растений. В ризосфере наблюдается и более интенсивное размножение водорослей. В зоне корней содержится обычно в 2 - 3 раза больше водорослей, чем вне этой зоны. Например, в ризосфере клевера обнаружено 149 тыс. клеток, а вне ризосферы - только 99 тыс. клеток в 1 г [7]. Отмечается некоторые различия в составе водорослевого населения ризосферы. Так, в зоне корня бобовых растений имеется меньше диатомовых водорослей, чем в ризосфере злаков [13]. Так как зона корня растений богаче бактериями, здесь находится очень много простейших [9]. Кроме уже названных микроорганизмов, в ризосфере развиваются и другие группы микробов - аммонификаторы, денитрификаторы, нитрификаторы. Общее количество этих микробов достигает миллионов и даже миллиардов клеток в 1 г почвы [7]. Имеются попытки доказать, что зоне корня каждого вида растений свойственны строго специфические группы микроорганизмов, практически не размножающиеся в ризосфере других растительных организмов. Убедительных данных для подобного утверждения, однако, пока нет. Тем не менее, можно отметить некоторую перегруппировку отдельных микроорганизмов в зоне корня различных растений. Это определяется составом корневых выделений и органических остатков, которые у отдельных видов растений имеют некоторые особенности. Ризосфера древесных растений. Различные древесные породы характеризуются определенной численностью и составом микроорганизмов, населяющих ризосферу. Известно, что ризосфера древесных пород, по сравнению с таковой травянистых растений, характеризуется большей долей спорообразующих бактерий и актиномицетов в микробном комплексе [14]. Например, в ризосфере сосны скрученной широкохвойной (*Pinus contorta*) были обнаружены следующие штаммы: α -, β -, γ -, δ -*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, группа *Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides*,

Acidobacterium и *Verrucomicrobia* [15]. Установлено, что в ризосфере всех исследованных древесных растений общее количество микроорганизмов во много раз больше, чем вне ее. При этом качественный состав микроорганизмов зависит от вида растения, его возраста, сезона года, а также от метеорологических условий. Так, в ризосфере березы микрофлора обильнее и разнообразнее, чем в ризосфере ели. Численность грибов в ризосфере хвойных обычно выше, чем в ризосфере лиственных древесных пород. Количество грибов в ризосфере березы увеличивается с возрастом дерева. По некоторым данным, в ризосфере сосны максимальное количество бактерий и актиномицетов содержится в летние месяцы, а грибов - в осенние. На состав ризосферной микрофлоры (как количественный, так и качественный) также влияет и физиологическое состояние деревьев, и наличие у них различных болезней.

Филион с соавторами сравнивали бактериальный и грибной состав ризосферы здоровых и больных сеянцев черной ели (*Picea mariana*), пораженных корневой гнилью [16]. Было доказано, что ризосферный состав здоровых и больных сеянцев различается. Так, в ризосфере здоровой ели преобладают *Acidobacteria*, *Gammaproteobacteria*, а в ризосфере больной - *Actinobacteria*, *Sordariomycetes*.

Многими авторами также отмечаются различия в количественном составе ризосферных микроорганизмов в зависимости от типа почвы. Например, в исследованиях Гайтникекса и коллег [17] сравнивалась численность микроорганизмов в ризосфере елей, выращенных на бывших сельскохозяйственных землях и лесных почвах. Было показано, что количественный состав ризосферы елей, выращенных на землях, вышедших из-под сельскохозяйственного пользования, гораздо выше (табл. 1).

Тип почвы	Численность микроорганизмов
Бывшие сельскохозяйственные земли	$(1,3 \pm 0,5) \times 10^5$
Лесные почвы	$(1,7 \pm 0,2) \times 10^5$
10-летних елей	$(0,3 \pm 0,06) \times 10^5$
20-летних елей	$(0,6 \pm 0,2) \times 10^5$

Значение микрофлоры семян древесных растений в формировании микрофлоры ризосферы специально не изучалось. Есть данные, что при выращивании сельскохозяйственных растений на гидропонике микрофлора семян является основным источником микроорганизмов, формирующих ризосферную микрофлору. Очевидно, аналогичную роль будет выполнять спермосфера семян древесных растений в формировании микрофлоры ризосферы при выращивании их на стерильных субстратах. Результаты проведенных опытов свидетельствуют о том, что роль микрофлоры семян сосны в формировании микрофлоры ризосферы сеянцев проявляется и при частичной стерилизации почвы. То есть формирование микрофлоры ризосферы растений будет происходить из представителей микрофлоры семян и почвы. Сведений о видовом составе грибов ризосферы древесных растений для таежной зоны сравнительно не много. В большинстве работ отмечается преобладание среди грибов представителей родов *Penicillium*. Помимо этого в ризосфере

обнаруживаются многие почвенные простейшие. Ряд работ был посвящен почвенным животным, которые влияют на круговорот питательных веществ, выступая в роли «микробных травоядных» в ризосфере [18, 19, 20]. Нематоды, амёбы, микроартроподы питаются грибами и бактериями в ризосфере и продуцируют азот в форме, доступной для растений. Количество такого азота за счет простейших может быть достаточно большим. Перссон [21] подсчитал, что 10 - 50 % от полной минерализации азота в сосновых лесах Швеции происходит за счет почвенных беспозвоночных. Состав микробных ценозов ризосферы необходимо учитывать при научном обосновании лесохозяйственных мероприятий (сплошнолесосечных рубок главного пользования, рубок ухода, мелиорации и т. д.), а также при подборе пород в лесопарках и создании устойчивых защитных лесных насаждений [14]. Физиологическая активность ризосферных микроорганизмов

Анализ экспериментальных данных литературных источников [9, 22, 23] показывает, что взаимоотношения растений с ризосферной микрофлорой базируются на основе отдельного симбиотрофизма, т.е. они взаимопользуются и растениям, и представителям микробных сообществ. Разлагая нерастворимые формы органических и неорганических соединений азота и фосфора, корневых выделений, почвы, удобрений, растительных остатков, гумуса, микроорганизмы играют важную роль в снабжении растений питательными веществами. Способность микроорганизмов ризосферы стимулировать рост и развитие растений связывают с улучшением их азотного и фосфорного питания, выделением гормонов, продукцией веществ антибиотической природы, угнетающих фитопатогенные микроорганизмы, и влиянием других факторов [24, 25]. В опытах Цао и соавторов [26] было доказано, что ризосфера монгольской сосны (*Pinussylvestris* var. *mongolica*) значительно увеличивает биодоступность фосфора и углерода почвы, а также улучшает корневую активность сосны. Отмечается, что ассоциативные бактерии снижают заболеваемость растений различными вирусными, грибными и бактериальными инфекциями [27, 28]. Известно, что лесные культуры, созданные на бывших сельскохозяйственных землях, подвергаются высокому риску инфицирования корневой губкой. В работе Гайтниека и соавторов [17] было доказано, что ризосферная микрофлора ели оказывает антагонистическое влияние на распространение *Heterobasidionannosum* (корневой губки) внутри дерева. Особенно сильно антагонистические свойства проявляют штаммы микромицетов, такие как *Trichoderma*, *Mortierella*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Arthrobotrys*, *Dicoccum*, *Mycogonespp.* и *Streptomycespp.* Однако исследователи отмечают, что такое подавление корневой губки оказывается не только микромицетами, а комплексным действием всех групп ризосферной микрофлоры ели. Защита от почвенных патогенов посредством ризосферных микроорганизмов в лесных почвах к настоящему времени изучена недостаточно; большинство исследований

сосредоточено на грибах родов *Phellinus*, *Armillaria*, *Fomes*, вызывающих корневую гниль, которые поражают крупные корни и способны сохраняться в пнях. Патогены сосущих корней деревьев изучены в меньшей степени. Почвенные биологи предполагают, что «здоровые» лесные почвы поддерживают популяцию микроорганизмов, которые конкурируют с патогенами тонких корней. Это, например, подтверждается тем, что наиболее распространённые патогены, обнаруживаемые в почве близ корней деревьев, очень редко встречаются в лесных почвах. Этот феномен «подавления патогенов» почвы является предметом многочисленных исследований [1]. Эктомикоризные грибы могут защитить деревья от фитопатогенов посредством: 1) создания физического барьера («грибная мантия») против внедрения и заражения, 2) лишения корневых патогенов углеводов, 3) секреции ингибирующих антибиотических веществ, 4) стимуляции других ризосферных микроорганизмов, подавляющих патогены, 5) биохимических изменений в кортикальных клетках корня, что препятствует распространения инфекции [29, 30]. Как эти механизмы работают в почве? В Австралии учеными [31] были обнаружены значительные различия между ризосферными популяциями микоризных и немикоризных сеянцев эвкалипта в почвах, подавляющих или способствующих развитию грибкового патогена *Phytophthora cinnamomi* Rands. Обнаруживалось большое количество бактерий на всём протяжении грибкового покрова внутри и между кортикальных клеток корня микоризных сеянцев, но не обнаруживались у немикоризных сеянцев; при культивировании многие бактерии сильно ингибировали корневые патогены (*Phytophthora* и *Pythium* spp.). Роуз и соавторы [32] показали, что стрептомицеты из ризосферы краснокоренника (*Ceanothus velutinus* Dougl.) ингибируют развитие трёх корневых патогенов: *Phellinus weirii* (Murr.) Gilb., *Fomes annosus* (Fries) Karst. и *Phytophthora cinnamomi*. Немикоризные грибы также могут ингибировать фитопатогены. Распространённые почвенные грибы рода *Trichoderma* могут снизить заболеваемость корневой гнилью сеянцев сосны [33]. Таким образом, микроорганизмы, защищающие корни, являются важными компонентами «здоровья леса». Микроорганизмы, населяющие ризосферу, могут оказывать на растение нейтральное, полезное или вредное воздействие. Многие микроорганизмы, обитающие в почве и ризосфере, синтезируют фитотоксины - вещества, подавляющие или задерживающие рост растений. Накапливаясь в почве, они вызывают почвоутомление, что приводит к снижению урожая сельскохозяйственных культур. Кроме того, попадая в растения, а затем в пищу и корм, фитотоксины могут оказывать отрицательное действие на организм человека и животных [34]. Некоторые почвенные бактерии из родов *Erwinia*, *Pseudomonas* и *Xanthomonas* могут быть в той или иной степени патогенными для растений. Однако основной урон сельскому хозяйству наносят фитопатогенные грибы родов *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Verticillium* и др., являющиеся

возбудителями различных гнилей, пятнистостей, увядания, скручивания листьев и других заболеваний растений [35]. В то же время многие почвенные бактерии и грибы способны улучшать рост и здоровье растений. Стимуляция роста растений за счет ассоциативных ризосферных бактерий может быть как прямой, так и опосредованной. Прямая стимуляция роста осуществляется либо за счет снабжения растения веществами, синтезированными бактериями, либо посредством облегчения доступа к питательным веществам, присутствующим в среде обитания. Микроорганизмы ризосферы влияют на доступность азота. Суммарный уровень азотфиксации в почве при наличии растений значительно выше, нежели при их отсутствии [7, 24, 36]. Это объясняется тем, что продукты экзосмоса и корневого опада растений являются энергетическим субстратом для бактерий-дiazотрофов, кроме того, высокая поглотительная способность корней растений способствует быстрому оттоку азотсодержащих метаболитов азотфиксаторов и поддерживает тем самым высокую активность нитрогеназы. Установленная зависимость ассоциативной азотфиксации от активности фотосинтетической деятельности растения свидетельствует о тесном сопряжении двух уникальных биологических процессов - азотфиксации и фотосинтеза [12]. В ризосфере большинства растений, как правило, развивается сложная по составу, смешанная популяция микроорганизмов, способная к активной азотфиксации [36]. Наиболее часто в качестве партнеров в ассоциациях обнаруживаются целлюлозоразрушающие и diaзотрофные бактерии - например, *Cellulomonas gelida* (или *Bacillus macerans*) и *Azospirillum* sp., либо *Azotobacter* *Mucosoccus* [12]. Кроме улучшения азотного питания, эти бактерии обладают и другими механизмами положительного воздействия на растение-хозяина. Многие ризосферные бактерии способны синтезировать различные фитогормоны, например индолил-3-уксусную кислоту (ИУК), которые могут стимулировать рост растений на различных стадиях развития. Ризосферные бактерии могут содействовать поступлению в растение минеральных веществ, переводя их из нерастворимой формы в растворимую [37], синтезировать некоторые низкомолекулярные соединения и ферменты, например, АСС-дезаминазу, предотвращающую синтез стрессового растительного гормона этилена, что также приводит к улучшению роста растений [38], а также уменьшать стрессовое воздействие на растение неблагоприятных условий среды [39]. Также имеются сведения о том, что инокуляция растений ассоциативными ризосферными бактериями приводит к стимуляции эндосимбиоза с арбускулярной микоризой, что в конечном итоге приводит к улучшению накопления биомассы инокулированных растений [40]. Таким образом, к настоящему времени накоплен большой экспериментальный материал [6, 27, 28, 41, 42, 43 и др.], доказывающий огромное и разнообразное значение ассоциативной микрофлоры в жизни высшего растения. Авторами работ [44] были выделены ризосферные бактерии сеянцев сосны обыкновенной

(*Pinussylvestris*L.), проявляющих фунгицидную, бактерицидную и ростостимулирующую активность. Выделенные штаммы бактерий будут вовлечены в дальнейшую работу по созданию микробиологических препаратов для стимулирования роста и развития лесных культур.