ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ
УРАЛЬСКОГО ФИЛИАЛА АН СССР

В. А. КРЮЧКОВ

# АКТИНОМИЦЕТЫ ПОЧВ СРЕДНЕГО ЗАУРАЛЬЯ

**АВТОРЕФЕРАТ**
**диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук**

Научный руководитель — член-корреспондент АН СССР, профессор **Е. Н. Мишустин.**

**Свердловск**
**1967**

ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ
УРАЛЬСКОГО ФИЛИАЛА АН СССР

В. А. КРЮЧКОВ

# АКТИНОМИЦЕТЫ ПОЧВ СРЕДНЕГО ЗАУРАЛЬЯ

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель — член-корреспондент
АН СССР, профессор Е. Н. Мишустин.

Свердловск
1967

**Работа выполнена в Институте экологии растений и животных в течение 1963 — 1966 гг.**

Диссертация изложена на 247 страницах машинописного текста, иллюстрирована 51 таблицами и 20 рисунками. Список использованной литературы включает 363 наименований, из них 153 зарубежных автора.

Защита диссертации состоится « 7 » марта 1967 г. на Объединенном Ученом совете при Институте экологии растений и животных Уральского филиала АН СССР.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Отзывы на автореферат направлять по адресу: г. Свердловск, 8, ул. 8-е Марта 202, ученому секретарю.

Автореферат выслан « 18 » января 1967 г.

# ВВЕДЕНИЕ

Познание закономерностей распространения актиномицетов имеет существенное значение для выяснения состава микробных ассоциаций почвы и раскрытия направленности почвообразовательных процессов.

Если данных о численности актиномицетов в разных почвах имеется уже много, то вопрос об экологии отдельных видов актиномицетов следует признать выясненным явно недостаточно.

Учитывая исключительное значение актиномицетов в процессах превращения веществ в природе, а также полное отсутствие исследований по актиномицетному составу почв Зауралья, была сделана попытка выяснить влияние экологических факторов (тип почвы, окультуренность, растительный покров, глубина почвенного горизонта) на распределение актиномицетов в почвах Среднего Зауралья.

При проведении исследований мы стремились установить распространение актиномицетов в дерново-подзолистых почвах (угодья: пашня, лес, луг) и черноземе, определить их видовую принадлежность, и вместе с тем изучить некоторые физиологические и биохимические особенности этих микроорганизмов, что может способствовать в какой-то мере выяснению их функций в почве.

# ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

## 1. Методы исследований

При определении общей численности микроорганизмов использовали мясо-пептонный агар (МПА) и крахмало-аммиачный агар (КАА). Актиномицеты учитывались на КАА, грибы — на подкисленном сусло-агаре (СА).

Посев почвенной суспензии (0,1 *мл*) на агаризованные среды производили поверхностным путем, суспензия растиралась на поверхности среды досуха стеклянным шпателем.

Данные, полученные при подсчете колоний, обрабатывались методами математической статистики и пересчитывались на 1 *г* абсолютно сухой почвы.

Способ подготовки почвы к анализу оказывает большое влияние на получаемые количественные данные о содержании актиномицетов. Проведена методическая работа, позволяющая более точно учесть численность актиномицетов в исследуемых почвах. Для дерново-подзолистой почвы наибольшее число клеток удается учесть при 5-минутном растирании образца почвы и 5-минутном встряхивании ее суспензии. Для оподзоленного чернозема необходимо 10-минутное растирание почвы и 10-минутное взбалтывание суспензии.

В результате проведенных исследований было выявлено, что различия между средними значениями количества актиномицетов при анализе 25 образцов почвы и средними данными при анализе одного смешанного образца (из 25 проб) статистически недостоверны. Поэтому для количественного учета числа актиномицетов использовали один смешанный образец из 25 проб, взятых на одной делянке, который высевали на 10 чашек Петри. Точки взятия образцов определяли по таблице случайных чисел. Пробы для микробиологических анализов брались послойно до глубины 40 — 45 *см*.

Одним из существенных моментов при экологическом изучении актиномицетов является разработка методов, позволяющих различать состояние актиномицетов в почве. Весьма важно дифференцированно учитывать численность спор и наличие вегетирующего мицелия, т. к. лишь физиологически активный мицелий принимает деятельное участие в разложении и превращении растительных и животных остатков.

Метод посева почвенной суспензии на твердые питательные среды не дает представления о состоянии актиномицетов в почве, т. к. неизвестно, возникают ли колонии из активных гиф или неактивных спор.

Нами разработан метод дифференцированного учёта мицелия и спор, основанный на их разной термотолерантности. Выявлено, что споры актиномицетов выдерживают нагревание при 73° в течение 10 минут, в то время как мицелий погибает при этой температуре.

Количественное определение микроорганизмов занимает значительное место в микробиологических исследованиях почв. На основании найденных показателей дается характеристика исследуемой почвы. Правильность этой оценки в значительной степени зависит от достоверности полученных данных. Без оценки достоверности полученных данных сведения о количестве актиномицетов в почве нельзя считать надежными.

При количественном учете актиномицетов почвы методом посева на плотные питательные среды в чашках Петри, а также определении ошибок выборки мы использовали методы теории ошибок, дисперсионного анализа, корреляционного исчисления, $x^2$ — критерия.

При статистической обработке полученных данных немало времени уделяется определению ошибок, поэтому мы стремились для расчета ошибок найти более простые, но достаточно надежные методы.

Нами установлено, что распределение колоний актиномицетов при малых плотностях на поверхности плотной питательной среды (КАА) следует закону Пуассона. Это сильно упрощает нахождение ошибки, т. к. среднее квадратическое отклонение общего числа колоний, выросших на всех чашках, равно квадратному корню из этого числа; средняя квадратическая ошибка ($m$) среднего арифметического числа колоний ($M$), приходящегося на каждую чашку, равна $\pm \sqrt{\frac{M}{n}}$, где $n$ — число чашек. Если определяем 95-%ные доверительные пределы, то они равны $M \pm 2m$ или $M \pm 2 \sqrt{\frac{M}{n}}$.

Для изучения динамики численности актиномицетов был также использован метод непосредственного высева почвенного мелкозема на агаризованную воду по Д. М. Новогрудскому.

## 2. Актиномицеты в дерново-подзолистых почвах Зауралья

Изучение динамики актиномицетов в дерново-подзолистых почвах проводилось в течение двух вегетационных периодов (1964 и 1965 гг.)

Объектами исследования служили окультуренная почва и целинные почвы (лес, луг). В течение вегетационного периода анализ микроорганизмов проводился в 6 — 8 сроков.

При взятии образцов почв для микробиологических исследований определялись температура и влажность. Были проведены исследования химических свойств почв.

Анализ данных показывает, что общая численность микроорганизмов, растущих на КАА, несколько превышает их число на МПА.

Численность актиномицетов в почвах подвергается заметным колебаниям в течение вегетационного периода. Сроки наибольшего или наименьшего содержания актиномицетов в почвах различных угодий (пашня, лес, луг) не совпадают (табл. 1 и 2).

Таблица 1

*Сезонная динамика численности актиномицетов в почвах Среднего Зауралья, 1964 г. (тыс./1 г абсолютно сухой почвы, учет на КАА)*

| Тип почв | Угодье | Горизонт | Гумус в % | 24.V | 14.VI | 14.VII | 13.VIII | 12.IX | 7.X |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Дерново-подзолистая | Пашня | Ап | 3.08 | 640 | 840 | 920 | 1430 | 1190 | 650 |
| | Лес | $A_1$ | 3.57 | 200 | 325 | 510 | 620 | 700 | 330 |
| | Луг | $A_1$ | 4,32 | 90 | 220 | 378 | 480 | 720 | 240 |
| Оподзоленный чернозем | Пашня | Ап | 7.60 | 1140 | 2150 | 3200 | 2630 | 1710 | 1170 |

При сопоставлении данных по численности актиномицетов и температуры почвы становится совершенно очевидным, что одним из основных факторов, определяющих динамику актиномицетов в этих почвах, является температура. О наличии тесной связи между ними гово-

Таблица 2

*Сезонная динамика численности актиномицетов в почвах Среднего Зауралья в 1965 г. (тыс. /I г абсолютно сухой почвы, при учете методом посева на КАА)*

| Тип почвы | Угодье | 13.V | 4.VI | 23.VI | 8.VII | 4.VIII | 25.VIII | 9.IX | 6.X |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Дерново-подзолистая | Луг | 333±82 | 375±78 | 361±64 | 417±56 | 500±66 | 590±73 | 741±93 | 364±63 |
| | Достоверность различия в численности актиномицетов между месяцами с P = 0,95 | 0.83 | 0,3 | 1.44 | 2.17 | 2.04 | 2.87 | 7.61 | |
| | | 7.44 | | | | | | | |
| | Лес | 471±71 | 346±69 | 541±72 | 566±80 | 603±82 | 771±87 | 590±89 | 286±52 |
| | Степень достоверности с P = 0,95 | 2.85 | 4.51 | 0.52 | 1.08 | 3.18 | 3,33 | 6.80 | |
| | | 4.4 | | | | | | | |
| | Пашня | 786±91 | 1100±98 | 1185±99 | 1385±99 | 1160±106 | 1100±106 | 1070±118 | 909±102 |
| | Степень достоверности с P = 0,95 | 5.1 | 1.23 | 3.2 | 3.5 | 0.9 | 0.4 | 2.2 | |
| | | 8.8 | | | | | | | |
| Оподзоленный чернозем | Пашня | 1310±109 | 1532±105 | 1695±90 | 2570±109 | 2100±123 | 1750±110 | 1400±123 | 1112±117 |
| | Степень достоверности с P=0,95 | 3.31 | 2.65 | 13.9 | 6.47 | 4.8 | 4.8 | 3.9 | |

3.81

3.34

3.15

рит рассчитанный коэффициент корреляции (r). Так, для окультуренной почвы $r = +0{,}860$, для почвы из-под леса $r = +0{,}782$ (статистически достоверны).

Увеличение числа актиномицетов в летне-осенний период было установлено и другими исследователями (Н. А. Красильников, 1950, 1958; Е. Н. Мишустин, 1956; З. Ф. Теплякова и Т. Г Максимова, 1957; И. Л. Клевенская, 1961 и др.) Многие исследователи данный факт объясняли тем, что актиномицеты способны развиваться при значительно более низкой влажности среды, чем другие микроорганизмы.

Е. Н. Мишустин предполагает, что в период наименьшей влажности происходит не усиленный рост актиномицетов, а обильное спорообразование. В связи с этим особое значение представляют количественные определения актиномицетов, находящихся в стадии вегетативного развития и форме спор. С этой целью был использован разработанный нами метод дифференцирования мицелия и спор. Полученные данные (табл. 3) показывают, что актиномицеты в течение вегетационного периода находятся в состоянии мицелия, и, следовательно, принимают активное участие в превращениях растительных и животных остатков.

Таблица 3

*Динамика численности актиномицетов (в состоянии мицелия) в почвах (в % от общего числа актиномицетов), 1965 г.*

| Тип почвы | Угодье | Горизонт | 12.V | 4.VI | 23.VI | 8.VII | 4.VIII | 25.VIII | 9.IX | 6.X |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Дерново-подзолистая | Луг | $A_1$ | 66.0 | 70.0 | 86.0 | 76.5 | 77.5 | 74.7 | 71.4 | 58 |
| | Лес | $A_1$ | 72.3 | 77.9 | 83.9 | 83.0 | 76.8 | 75.8 | 68.0 | 65 |
| | Пашня | $A_п$ | 93.8 | 79.6 | 79.7 | 79.6 | 84.8 | 86.6 | 87.6 | 81 |
| Оподзоленный чернозем | Пашня | $A_п$ | 93.3 | 78.4 | 71.6 | 72.3 | 83,8 | 92.5 | 88.2 | 77 |

Данные таблицы 1 и 2 указывают на сравнительно ограниченное распространение актиномицетов в дерново-подзолистых почвах. Наибольший процент актиномицетов от числа всех учтенных микроорганизмов имеется в

окультуренной почве — 20%, и в почвах из-под луга и из-под леса их содержание снижается до 11 — 12%. Более низкое количество актиномицетов в последних почвах объясняется, по-видимому, главным образом их высокой кислотностью (pH = 4,8—5,0).

С целью изучения видового состава актиномицетов дерново-подзолистых почв производилось выделение чистых культур лучистых грибов. Каждый почвенный образец высевался на пять сред (вес в *г.*):

Синтетическая среда I (CPI) Глюкоза — 20; $KNO_3$ — 1,0; $K_2HPO_4$ — 0,5; $MgSO_4$ — 0,5; NaCl — 0,5; $CaCO_3$ — 1,0; $FeSO_4$ — следы; вода дистиллированная — 1000 *мл*; агар-агар — 20.

Среда Чапека. Глюкоза — 20; KCl — 0,5; $MgSO_4$ — 0,5; $NaNO_3$ — 2,0; $K_2HPO_4$ — 1,0; $FeSO_4$ — 0,01; вода — 1000 *мл;* агар-агар — 20.

Среда крахмало-аммиачная. $(NH_4)_2SO_4$ — 1,0; $K_2HPO_4$ — 1,0; $MgSO_4$ — 1,0; NaCl — 1,0; мел — 3,0; крахмал — 10,0; вода — 1000 *мл*; агар — 20.

Пептон — картофельный агар (ПКА). Картофельный отвар — 1000 *мл*; глицерин — 20; глюкоза — 10; пептон — 5,0; агар-агар — 15.

Мясо-пептонный агар (МПА). Водная мясная вытяжка — 1000 *мл*; пептон — 10; NaCl — 5,0; агар-агар — 20.

Все выросшие актиномицеты выделялись и очищались, коллекция актиномицетов хранилась в пробирках на картофельном агаре (картофельный отвар — 1000 *мл;* агар-агар — 20). При определении видовой характеристики и антимикробных свойств были использованы методы, разработанные в лабораториях Н. А. Красильникова и Г. Ф. Гаузе.

Из указанных почв было выделено 784 культуры актиномицетов. По морфологическим и культурным признакам, физиолого-биохимическим и антимикробным свойствам оказалось возможным разделить все культуры на 19 групп и видов (табл. 4).

Окультуренная почва характеризуется наличием в ней большего видового разнообразия актиномицетов, по сравнению с целинными почвами. Если из окультуренной почвы было выделено 17 видов актиномицетов, то из луговой и лесной лишь 10 и 11 видов.

*Видовой состав актиномицетов*

| Группы и виды | Количество штаммов | % | Оподзоленный чернозем | |
|---|---|---|---|---|
| | | | количество штаммов | % |
| Act. griseus | 135 | 19.0 | 29 | 4.00 |
| » globisporus | 142 | 20.0 | 28 | 3.90 |
| » globisporus flaveolus | 44 | 6.21 | 12 | 1.69 |
| » roseus | 52 | 7.34 | 7 | 0.99 |
| » chromogenes | 82 | 11.60 | 27 | 3 81 |
| » lavendulae | 31 | 4.38 | 4 | 0.56 |
| » albidoflavus | 56 | 7.90 | 8 | 1.12 |
| » aurantiacus | 5 | 0.71 | 0 | |
| » griseus variabilis | 13 | 1.83 | 13 | 1.83 |
| » rutgersensis | 17 | 2.40 | 0 | |
| » globosus | 13 | 1.83 | 5 | 0.71 |
| » rectus | 11 | 1.55 | 6 | 0.85 |
| » albus | 15 | 2.22 | 6 | 0.85 |
| » pheochromogenes Kras. | 9 | 1.27 | 7 | 0.99 |
| » cyilndrosporus | 5 | 0.71 | 3 | 0.42 |
| » globisporus griseus | 10 | 1.41 | 8 | 1.12 |
| » fumicarius | 6 | 0.85 | 2 | 0.28 |
| » longissimus | 17 | 2.40 | 0 | 0,99 |
| » parvus | 6 | 0.85 | 0 | |
| » griseus marinus | 6 | 0.85 | 0 | |
| » albus aromaticus | 2 | 0.28 | 2 | 0.28 |
| » melanocyclus | 2 | 0.28 | 2 | 0.28 |
| » violaceus | 3 | 0.42 | 3 | 0.42 |
| » fradiae | 4 | 0.56 | 4 | 0.56 |
| » coelicolor | 8 | 1.12 | 8 | 1.12 |
| » cellulosae | 2 | 0.28 | 2 | 0.28 |
| » ruber | 4 | 0.56 | 4 | 0.56 |
| » pheochromogenes | 2 | 0.28 | 2 | 0.28 |
| » Micromonospora vulgaris | 8 | 1.12 | 8 | 1.12 |
| **Всего:** | 708 | | 207 | |

Таблица 4

*почв Среднего Зауралья*

| Дерново-подзолистая почва | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| пашня | | лес | | луг | |
| количество штаммов | % | количество штаммов | % | количество штаммов | % |
| 23 | 3.21 | 46 | 6.50 | 37 | 5.22 |
| 43 | 6.07 | 53 | 7.49 | 18 | 2.54 |
| 8 | 1.12 | 16 | 2.26 | 8 | 1.12 |
| 21 | 2.97 | 14 | 1.98 | 10 | 1.41 |
| 31 | 4.37 | 18 | 2.54 | 6 | 0.85 |
| 12 | 1.69 | 5 | 0.70 | 10 | 1.41 |
| 16 | 2.26 | 29 | 4.00 | 3 | 0.42 |
| 0 | | 4 | 0.56 | 1 | 0.14 |
| 0 | | 0 | | 0 | |
| 2 | 0.28 | 7 | 0.99 | 8 | 1.12 |
| 4 | 0.56 | 4 | 0.56 | 0 | |
| 1 | 0.14 | 0 | | 4 | 0.56 |
| 9 | 1.27 | 0 | | 0 | |
| 2 | 0.28 | 0 | | 0 | |
| 0 | | 2 | 0.28 | 0 | |
| 2 | 0.28 | 0 | | 0 | |
| 4 | 0.56 | 0 | | 0 | |
| 10 | 1.41 | 0 | | 0 | |
| 6 | 0.85 | 0 | | 0 | |
| 6 | 0.85 | 0 | | 0 | |
| 0 | | 0 | | 0 | |
| 0 | | | | | |
| 0 | | | | | |
| 0 | | | | | |
| 0 | | | | | |
| 0 | | | | | |
| 0 | | | | | |
| 0 | | | | | |
| 0 | | | | | |
| 200 | | 196 | | 105 | |

Необходимо отметить, что кроме видов, встречающихся во всех угодьях дерново-подзолистой почвы, как Act. globisporus, Act. chromogenes, Act. griseus, Act. roseus, Act. albidoflavus обнаруживаются виды, специфичные для определенных угодий. Act. longissimus, Act. parvus, Act. fumicarius, Act. albus, Act. griseus marinus, Act. globisporus griseus характерны для окультуренной почвы; Act. cylindrosporus — для почвы из-под леса. Act. aurantiacus встречается только в целинных почвах. Наличие специфичных форм актиномицетов говорит о том, что наряду с другими микроорганизмами актиномицеты могут являться показателями направленности почвенных процессов.

Данные табл. 4 показывают, что дерново-подзолистые почвы характеризуются бедным видовым составом актиномицетов по сравнению с черноземом.

В течение сезона происходит изменение в соотношении отдельных видов актиномицетов. Наибольшее количество определенных нами видов актиномицетов было выделено в летне-осенний период.

Специфические свойства и резкая дифференциация генетических горизонтов дерново-подзолистых почв не могли не сказаться на характере распределения актиномицетов по почвенному профилю.

Наибольшее число актиномицетов содержится в пахотном горизонте и в горизонте $A_1$ целинных почв. По мере углубления в почву отмечается, как правило, постепенное уменьшение численности актиномицетов. Правда, в горизонте В (в почвах из-под луга — в августе, из-под леса — в июне, сентябре, октябре) имеется больше актиномицетов по сравнению с подзолистым горизонтом $A_2$, который характеризуется отрицательными свойствами (меньшей суммой поглощенных оснований, малым содержанием органического вещества).

Число актиномицетов уменьшается с глубиной медленнее, чем число бактерий, в результате чего относительная численность актиномицетов в более глубоких слоях почвы увеличивается. В глубоких слоях почвы актиномицеты являются доминирующими микроорганизмами.

Способность актиномицетов распространяться глубоко по почвенному профилю, по-видимому, можно объяснить их нетребовательностью к источникам питания и способ-

ностью усваивать труднодоступные для других микроорганизмов вещества.

У некоторых видов актиномицетов отмечена тенденция к распространению в определенных генетических горизонтах. Такие виды, как Act. rectus, Act. aurantiacus, Act. cylindrosporus, Act. parvus, Act. pheochromogenes встречаются преимущественно в горизонтах $A_п$ и $A_1$, а Act. roseus, Act. albidoflavus; Act. griseus marinus тяготеют к горизонту В. Последнее наблюдение находит подтверждение в работах Р И. Тумаркина (1961), В. Д. Кузнецова (1962) и Мартон (M. Marton, 1962).

Таким образом, данные наших исследований и материалы других авторов показывают, что микроэкологические факторы (в данном случае глубина почвенного горизонта и его специфические особенности) могут известным образом влиять на распределение в почвах некоторых видов актиномицетов.

Содержание актиномицетов-антагонистов в окультуренной дерново-подзолистой почве при $P = 0,95$ находится в пределах $26 \pm 6\%$, для почвы из-под луга — $17 \pm 7\%$, из-под леса — $16 \pm 5\%$.

### 3. Актиномицеты в оподзоленном черноземе Зауралья

Оподзоленный чернозем исследовался в те же сроки, что и дерново-подзолистые почвы.

Анализ данных показывает, что общая численность микроорганизмов чернозема, растущих на КАА больше, чем на МПА. По данным Е. Н. Мишустина (1958) чернозем вообще характеризуется большим содержанием микроорганизмов, использующих минеральный, а не органический азот. Поэтому отношение числа бактерий, растущих на КАА к числу бактерий, развивающихся на МПА в черноземе больше, чем в подзолах, где минерализационные процессы идут менее энергично.

Характеристику количественного содержания актиномицетов в оподзоленном черноземе дают материалы, представленные в таблицах 1 и 2. Оподзоленный чернозем содержит около 30% актиномицетов от общего числа микроорганизмов.

В верхнем слое (0 — 15 *см*) число актиномицетов колеблется от 1100 тыс. до 3200 тыс. на 1 *г* абсолютно

сухой почвы. В нижнем слое (30 — 45 *см*) их число снижается до 300 — 900 тыс. Интересно отметить, что в горизонте В оподзоленного чернозема содержание актиномицетов больше, чем в том же горизонте в дерново-подзолистых почвах. Это говорит о том, что распространение актиномицетов обусловлено не только глубиной почвенного профиля, но и генезисом почвы.

Наибольшее количество актиномицетов обнаруживается летом (в июле). Сезонная динамика численности актиномицетов коррелирует с динамикой температуры почвы. Коэффициент корреляции $r = \pm 0{,}951$. Это означает, что 90,4% изменчивости количества актиномицетов определяется изменчивостью температуры почвы. На сезонные изменения оказывает влияние и поступление органического вещества. Численность актиномицетов увеличивается в конце вегетации растений.

Из оподзоленного чернозема в 1964 г. было выделено 207 культур актиномицетов и в 1965 — 190, которые разделены на 25 групп и видов (табл. 4). Данные таблицы показывают, что наибольшее распространение имеют Act. griseus, Act. globisporus, Act. chromogenes, Act albidoflavus, Act. longissimus, Act. coelicolor, Micromonospora. Чернозем характеризуется также наличием таких пигментированных форм как Act. chromogenes, Act. violaceus. Act. coelicolor, Act. melanocyclus, Act. ruber, Act. rectus и другие. Основная масса видов сосредоточена в пахотном горизонте (21 вид) а в горизонте 30 — 45 *см* было обнаружено лишь 5 видов.

Сезонные изменения видового состава актиномицетов более ярко выражены в черноземе, чем в дерново-подзолистых почвах. Если весной обнаруживается 14 видов актиномицетов, то осенью — 24.

Необходимо отметить, что оподзоленный чернозем обладает не только большим количественным, но и видовым разнообразием. актиномицетов, чем дерново-подзолистые почвы. Это вполне подтверждает выдвигаемое Е. Н. Мишустиным положение о специфике зональности типов почв.

Наряду с широко распространенными видами Act. globisporus, Act. griseus, Act. chromogenes, Act. lavendulae, Act. albidoflavus, которые встречаются как в дерново-подзолистых почвах, так и черноземе, для каждого типа почв

характерны специфичные виды актиномицетов. Так для дерново-подзолистой почвы: Act. aurantiacus, Act. parvus, Act. griseus marinus, а для чернозема: Act. fradiae, Act. coelicolor, Act. violaceus, Act. melanocyclüs, Micromonospora vulgaris.

Оподзоленный чернозем характеризуется большим содержанием актиномицетов-антагонистов — 44 ± 6%. Разница по содержанию их между этими типами почв статистически достоверна.

Количество актиномицетов-антагонистов зависит от типа почвы, ее состояния, условий культивирования, от тест-микроба и других причин.

## 4. Использование актиномицетами гумусовых веществ и ароматических соединений

Многие физиологические свойства актиномицетов к настоящему времени хорошо изучены. О процессах, вызываемых актиномицетами в природных условиях, известно значительно меньше. Предварительно полученные нами данные показали, что актиномицеты избирательно усваивают ряд ароматических соединений (бензойная, салициловая, протокатеховая кислоты, ванилин), некоторые из них способны ассимилировать даже гетероциклические азотосодержащие соединения (пиридин).

Увеличение численности актиномицетов к осени, в период, когда происходит накопление трудноусвояемых веществ и физиологические особенности позволяют предположить, что их деятельность направлена на окисление таких трудноразлагаемых компонентов растительных тканей, как лигнин, смола и другие вещества, в том числе и гумус.

Для подтверждения наших предположений о возможных функциях актиномицетов, широко распространенных в дерново-подзолистых почвах, мы решили исследовать отношение отдельных культур названных микроорганизмов к следующим веществам: абиетиновой кислоте, содержащейся в большом количестве в хвойном опаде, лигнину и его производным — ванилину, кверцетину и кверцитрину. Одновременно исследовалась способность этих же видов актиномицетов окислять гуминовую кислоту.

Отношение актиномицетов к названным соединениям определялась прежде всего манометрическим методом в аппарате Варбурга. Act. globisporus flaveolus, штамм 55, выделенный из дерново-подзолистой почвы (лес) использует в актах дыхания углерод гуминовой кислоты, производных лигнина, абиетиновой кислоты, т. к. интенсивность дыхания находилась на более высоком уровне, чем эндогенное дыхание (рис. 1). Лигнин и лигнин с глюко-

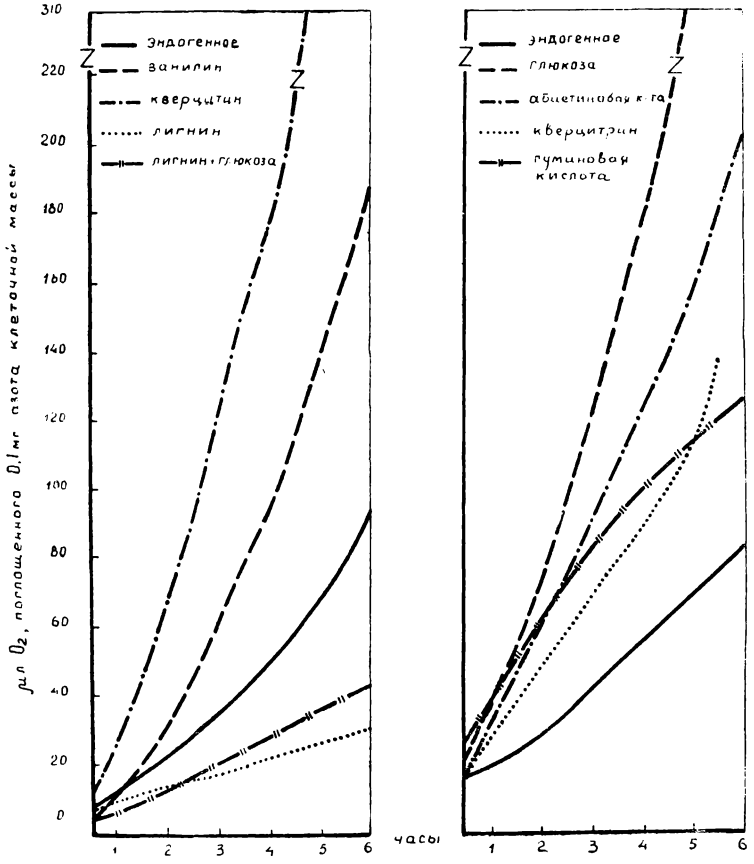


*Рис. 1.* Интенсивность дыхания. Act. globisporus flaveolus, штамм 55 на различных источниках углерода

зой данный штамм не окисляет. По-видимому, это объясняется методом получения лигнина (он извлекался соляной кислотой). Ast. globisporus flaveolus 9, Act. globisporus griseus 229, выделенные из окультуренной дерново-подзолистой почвы окисляют только гуминовую кислоту и ванилин. Лигнин и его производные, а также абиетиновая кислота, подавляют процесс дыхания у данного штамма — интенсивность дыхания была ниже эндогенного (рис. 2).

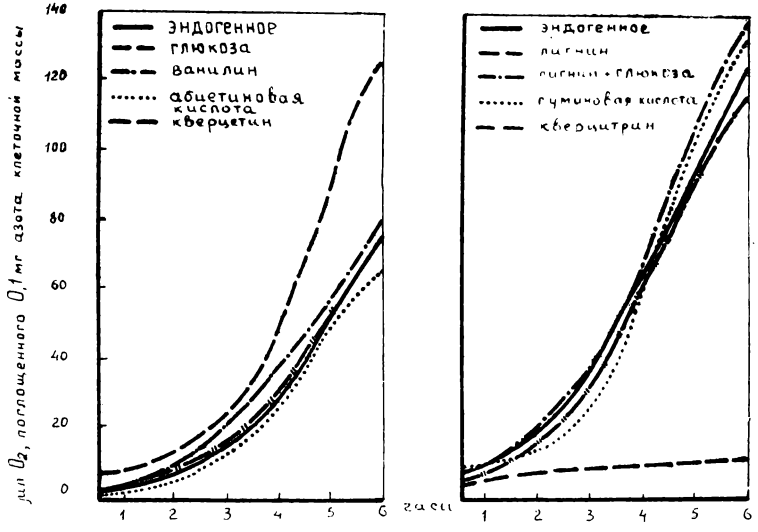


*Рис. 2.* Интенсивность дыхания Act. globisporus griseus, штамм 229 на различных источниках углерода

Глюкоза для всех штаммов является лучшим энергетическим источником.

Для лучшей проверки способности актиномицетов использовать названные выше соединения были поставлены опыты в жидкой культуре. Для этой цели была использована минеральная среда следующего состава (в г на литр бидистиллята): $CaCl_2$ — 0,1; $K_2HPO_4$ — 0,3; $K_2SO_4$ — 0,2; $MgSO_4$ — 0,3; NaCl — 0,5; $KNO_3$ — 1,0; $FeCl_3$ — 0,01; смесь микроэлементов по М. В. Федорову — 1 *мл*. Кверцитрин, кверцетин, ванилин и абиетиновая ки-

слота добавлялись в концентрации 0,02%. Интенсивность роста культур актиномицетов определяли по приросту клеточной массы. Полученные результаты подтвердили данные манометрического метода.

С этими же культурами актиномицетов был поставлен длительный опыт в жидких средах с гуминовой кислотой и лигнином в качестве единственных источников углерода.

В широкодонные колбы Виноградского емкостью 750 *мл* разливали по 50 *мл* минеральной среды (указанная выше). Повторность опытов 4-кратная. После стерилизации в опытные колбы вносили простерилизованные гуминовую кислоту или лигнин. Показателем разложения названных соединений являлось использование углерода этих соединений. Исходное содержание углерода и остаток его после снятия опыта (клетки отделялись центрифугированием) определяли методом И. В. Тюрина в модификации В. П. Симакова.

Таблица 5

*Разложение гуминовой кислоты и лигнина различными культурами актиномицетов за 5,5 месяцев (апрель — сентябрь 1966 г.)*

| Вариант опыта и культура актиномицета | Израсходовано углерода гуминовой кислоты и лигнина | |
|---|---|---|
| | *мг* на 50 *мл* среды | в % к исходному |
| Гуминовая кислота без заражения (контроль) | 0 | 0 |
| Лигнин без заражения (контроль) | 0 | 0 |
| Гуминовая кислота + $KNO_3$ + Act. globisporus flaveolus 55 | 0,80 | 16,3 |
| Гуминовая кислота + $KNO_3$ + Act. globisporus griseus 229 | 0,91 | 20,2 |
| Лигнин + $KNO_3$ + Act. globisporus flaveolus 55 | 0,06 | 1,2 |
| Лигнин + $KNO_3$ + Act. globisporus griseus 229. | 0,05 | 1,2 |

Из данных табл. 5 видно, что за 5,5 месяцев культивирования Act. globisporus flaveolus 55 использовал 0,80 *мг* углерода гуминовой кислоты, что составляет 16,3% от исходного содержания. Ast. globisporus griseus 229 израсхо-

довал 0,91 *мг* углерода или 20,2% от исходного содержания. Углерод лигнина данные штаммы не использовали. Разница в содержании углерода в контрольной и опытной колбах была несущественна, в пределах ошибки опыта.

Нами был использован ряд культур актиномицетов на способность окислять в акте дыхания углерод гуминовой кислоты. Способность этих культур использовать данное вещество определялась манометрическим методом. Исследования показали, что Act. roseus 165, Act. pheochromogenes 86, Act. griseus 72, Act. albidoflavus 22, Act. aurantiacus 32, Act. griseus 155 способны окислять углерод гуминовой кислоты, в то время как у Act. lavendulae 581, Act. griseus marinus 227, Actl globisporus 21, процесс дыхания был подавлен.

Таким образом, на основании изложенного материала можно сделать вывод о способности некоторых культур актиномицетов окислять такие устойчивые к разложению вещества, как гуминовые кислоты, производные лигнина, а также абиетиновую кислоту.

## 5. Влияние кислотности среды и температуры на развитие актиномицетов

В целях объяснения экологии отдельных видов актиномицетов их физиологическими особенностями было изучено влияние на их развитие кислотности почв, как наиболее важного фактора внешней среды. Изучавшиеся нами почвы имели pH от 4,8 до 6,2.

Опыты по определению влияния pH на развитие актиномицетов ставились на глюкозно-аспарагиновой среде, КАА и на жидкой пептон-картофельной среде, к которым добавлялись буферные смеси для создания определенных pH (от 3,8 до 12,0).

Полученные данные показали, что актиномицеты отличаются по кардинальным значениям pH. Так, у отдельных штаммов, выделенных из дерново-подзолистых почв, развитие начинается при pH — 4,5, а у других — при 5,0, у отдельных штаммов, как Act. parvus с pH — 6,2.

Оптимальным значением pH для большинства штаммов является 7,0 — 7,4, правда, штамм Act. globisporus griseus, выделенный из чернозема, и Act. parvus (из окультуренной дерново-подзолистой почвы) имеют оптималь-

ное значение pH — 7,8 — 8,0. Оптимум для некоторых штаммов, как, например, Act. aurantiacus несколько снижен и равен 6,2 — 6,6.

Приведенные данные, по-видимому, могут объяснить встречаемость Act. parvus только в окультуренной дерново-подзолистой почве, а Act. aurantiacus только в почвах из-под леса и луга.

Максимальное значение pH для большинства штаммов актиномицетов равно 10,1 — 10,6.

Таким образом, наши данные показывают, что актиномицеты способны развиваться при широких значениях pH. Повидимому, данный фактор способствует широкому распространению актиномицетов в различных типах почв.

Исключительное распространение Act. aurantiacus, Act. rutgersensis в дерново-подзолистых почвах связано со способностью их развития в кислом интервале pH.

Таким образом, изучение отношения актиномицетов к pH среды показало, что распространение отдельных видов тесно связано с их физиологией.

Были проведены опыты по определению кардинальных значений температур для актиномицетов, выделенных из глеево-подзолистых и дерново-подзолистых почв (Зауралье), серозема (Алма-Ата), желтозема (Азербайджан). Исследования проводились на синтетических и органических средах. Одновременно были поставлены опыты по определению скорости роста и антагонистической способности при разных температурах.

Результаты исследований (табл. 6) показали, что оптимальной температурой развития для большинства видов является 28° (табл. 6). Отдельные виды, выделенные из серозема и желтозема имеют оптимум 34 — 38°. Подтверждением этого является большая скорость роста колоний и более сильная антагонистическая активность при данных температурах, в то время как при других градациях температуры скорость роста и антагонистическая активность значительно ниже.

## ВЫВОДЫ

1. Проведена методическая работа, позволяющая более точно учесть численность актиномицетов исследо-

Таблица 6

*Отношение актиномицетов к различным температурам (3-х кратная повторность, жидкая пептон-картофельная среда, вес сухого мицелия в мг).*

| Виды | Район | 3° | 9—13° | 22° | 28° | 34° | 38° | 44° | 50° |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Act. sp. 106 | Алма-Ата | — | 27 | 38 | 57 | 57 | 40 | — | — |
| » 31 | „ | — | 12 | 34 | 36 | 55 | 59 | 5 | — |
| » 26 | „ | — | 16 | 45 | 74 | 66 | 49 | | — |
| » 14 | „ | — | 18 | 26 | 98 | 84 | 76 | — | — |
| Act. griseus 100 | Азербайджан | — | 9 | 42 | 53 | 43 | 48 | — | — |
| Act. albus 21 | „ | — | 38 | 62 | 64 | 79 | 61 | — | — |
| Act. giobisporus 501 | Северное Зауралье | — | 35 | 64 | 78 | 51 | 16 | — | — |
| Ac . griseus 641 | „ | — | 17 | 55 | 63 | 43 | — | — | — |
| Act. roseus 165 | Среднее Зауралье | — | 20 | 23 | 52 | 30 | — | — | — |
| Act. ruber 2 | „ | — | 35 | 46 | 85 | 76 | 41 | — | — |
| Act. globisporus flaveolus | „ | — | 27 | 59 | 87 | 41 | 12 | — | — |
| Act. coelicolor | „ | — | 22 | 46 | 61 | 52 | 49 | — | — |
| Act. globisporus 165 | „ | — | 17 | 30 | 47 | 13 | — | — | — |
| Act. auraniacus 32 | „ | — | 12 | 29 | 40 | 41 | — | — | — |
| Act. chromogenes 105 | „ | — | 22 | 28 | 38 | 35 | 28 | — | — |
| Act. griseus 155 | „ | — | 18 | 21 | 50 | 30 | — | — | — |

*Примечание:* знак (—) — роста нет

ванных почв. Разработан также метод дифференцированного учета мицелия и спор актиномицетов.

2. Распределение колоний актиномицетов при малом числе их на поверхности плотной питательной среды (КАА) следует закону Пуассона. Это значительно упрощает нахождение ошибки исследования.

3. Дерново-подзолистым почвам свойственно сравнительно невысокое содержание актиномицетов. Они составляют 11 — 20% от общего числа микробов.

Оподзоленный чернозем характеризуется большим содержанием актиномицетов. Они составляют около 30% от общего числа микроорганизмов, учитываемые методом посева на твердые питательные среды.

4. Специфичность свойств и резкая дифференциация отдельных генетических горизонтов в дерново-подзолистых почвах отражается на характере распределения актиномицетов по профилю. Наибольшее содержание актиномицетов отмечается в горизонтах $A_п$ и $A_1$. С глубиной наблюдается или постепенное уменьшение числа, или некоторое превышение в отдельные месяцы в горизонте В по сравнению с подзолистым горизонтом $A_2$.

5. Из исследуемых почв было выделено около 1200 культур актиномицетов, которые разделены на группы и виды. Дерново-подзолистые почвы характеризуются более бедным видовым составом актиномицетов, чем оподзоленный чернозем. Отмечается наличие специфичных видов актиномицетов для каждого типа почв.

Наличие в определенных почвах специфичных форм актиномицетов говорит о том, что наряду с другими микроорганизмами они могут являться показателями направленности почвенных процессов.

6. Сезонная динамика численности актиномицетов в исследуемых почвах коррелирует с температурой почвы.

В течение сезона происходит некоторое изменение видового состава актиномицетов. Осенью происходит увеличение видового разнообразия. Отмечается, в частности, увеличение пигментированных форм актиномицетов.

Некоторые виды актиномицетов приурочены к определенным генетическим горизонтам.

7 Экология отдельных культур актиномицетов, широко распространенных в почвах Среднего Зауралья, тесно связана с их физиологическими особенностями. Act. aurantiacus, Act. rutgersensis, Act. globisporus, flaveolus развивающиеся в большом диапазоне pH широко распространены в дерново-подзолистых почвах.

8. Некоторые актиномицеты могут развиваться на гуминовой кислоте, производных лигнина: кверцетине, ванилине и на абиетиновой кислоте.

9. Среди выделенных из почв культур актиномицетов 27,2% обладают антагонистическими свойствами. Число актиномицетов-антагонистов в дерново-подзолистых почвах (15—26%), по сравнению с оподзоленным чернозем (44%).

## По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. *Крючков В. А.* Видовая характеристика актиномицетов-антагонистов в лесных дерново-подзолистых почвах Среднего Зауралья. Тезисы докладов к научной конференции по лесному почвоведению (15 — 20 июля 1965 г.), Красноярск. 1965, стр. 192 — 193.

2. *Крючков В. А.* Использование метода математической статистики при микробиологических исследованиях. Изв. АН СССР, сер. биол., вып. 5, стр. 714, 1965.

3. *Крючков В. А.* Видовой состав актиномицетов различных почв Среднего Зауралья. Изв. АН СССР, сер. биол., (в печати).

НС 22294. 22/XII-66 г. Зак. 779. Тир. 200.

Г. Свердловск, объединение «Полиграфист», проспект Ленина, 28.