

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

Т. Г. Волова

« ____ »

июня

2017г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Эпифитный микробный комплекс хвойных: его роль в жизни растения и особенности формирования при атмосферном загрязнении

Руководитель

с.н.с.,

В.А. Сенашова

к.б.н.

к.б.н., доцент

Е.Н. Афанасова

Выпускник

Е.В. Попова

Красноярск 2017

Содержание

Введение.....	1
Глава 1. Обзор литературы.....	5
1.1. Эпифитное микробное сообщество растений	5
1.2. Фитонцидная активность растений	10
1.3. Загрязнение атмосферного воздуха (Проблема загрязнения атмосферного воздуха в городе Красноярск).....	12
Глава 2. Объекты и методы исследования.....	14
2.1. Объекты исследования	14
2.2. Характеристика района исследования	17
2.3. Изучение микробного сообщества ели сибирской	18
2.4. Изучение особенностей формирования эпифитного сообщества филлосферы сосны обыкновенной и ее фитонцидной активности при атмосферном загрязнении	20
2.5. Изучение влияния микроорганизмов, ассоциированных с растением, на прорастание семян хвойных растений и сохранность всходов	22
Глава 3 Результаты и обсуждение	22
3.1. Микробное сообщество, ассоциированное с елью сибирской	Ошибка! Закладка не определена.
3.2. Особенности формирования эпифитного сообщества филлосферы сосны обыкновенной при техногенном загрязнении.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.3. Изучение фитонцидной активности хвои сосны обыкновенной	Ошибка! Закладка не определена.
3.4. Влияние микроорганизмов на всхожесть семян и сохранность сеянцев хвойных.....	Ошибка! Закладка не определена.
Выводы.....	23
Список использованной литературы.....	24
ПРИЛОЖЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена.

Введение

В процессе индивидуального развития древесные виды постоянно подвергаются воздействию абиотических и биотических факторов окружающей среды. Эти воздействия иногда носят неблагоприятный для растений характер и могут служить причиной возникновения различных заболеваний. В большинстве случаев инициаторами инфекционного процесса выступают грибы, которые поражают корневую часть, стволы, листовой аппарат и семена деревьев.

Лесной фонд Красноярского края, занимающий значительную часть территории Средней Сибири, составляет 61,3 млн. га, представлен в основном хвойными массивами. Характерной особенностью лесных питомников является концентрация на единице площади большого количества растений одного вида и возраста, что увеличивает риск возникновения и распространения инфекционных заболеваний. Следовательно, оценка фитосанитарного состояния насаждений имеет важное практическое значение: выявление заболеваний (как инфекционных, так и неинфекционных) на ранних стадиях способствует своевременному принятию соответствующих мер, увеличивающих сохранность растений. В настоящее время при оценке состояния фитоценозов все более широкое применение находят методы биоиндикации. В свою очередь, наиболее удобным биоиндикатором является микробное сообщество [15]. Используя высокую чувствительность микроорганизмов к изменениям окружающей среды, возможно проводить раннюю диагностику как негативных, так и позитивных изменений в экосистеме. Микробная индикация положительно зарекомендовала себя при оценке состояния почв при различных степенях антропогенной нагрузки [27, 39, 40, 43]. Исследования связаны в основном с изучением заболеваний растений. Внимание исследователей привлекали в основном возбудители различных типов поражения стволов и корней древесных растений (рак, гнили и т.д.) и поражение листового аппарата [21, 22, 25]. Также уделялось внимание возбудителям инфекционного полегания и бактериозов сеянцев хвойных в ряде лесопитомников Средней Сибири [7, 8, 9, 35, 36, 37, 38].

Эпифитная микрофлора играет важную роль в жизни растения-хозяина. Она имеет санитарно-экологическую значимость: фиксирует азот, выполняет защитную функцию, угнетая развитие патогенных грибов, попадающих на поверхность растения. Положительное влияние эпифитов выражается в их способности продуцировать ауксины, активизирующие рост и развитие растений, редуцировать аэрозольные загрязнители, выполняя функцию «мусорщиков». Кроме того, сукцессии банальных эпифитов на хвое здоровых и инфицированных растений служат индикаторами их состояния, в том числе на ранних стадиях патогенеза. Условно эпифитное микробное сообщество можно разделить на две составляющих: сапротрофные микроорганизмы (банальные эпифиты) и фитопатогенные микроорганизмы (преимущественно микромицеты) [15].

Целью данной работы являлось изучение микробного сообщества, ассоциированного с хвойными растениями.

В задачи исследования входило:

- Выявить динамики формирования эпифитного сообщества филлосферы, ризосферы и ризопланы ели сибирской (*Picea obovata*);
- Определить особенности формирования эпифитного сообщества филлосферы сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L) при атмосферном загрязнении;
- Исследовать фитонцидную активность хвои сосны обыкновенной, произрастающей в экологически благополучном районе (не подвергшейся техногенным загрязнениям) и при техногенном воздействии;
- Оценить влияние эпифитных микроорганизмов на всхожесть семян и сохранность сеянцев хвойных;

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Эпифитное микробное сообщество растений

Микроорганизмы, обитающие и размножающиеся на поверхности надземных частей растений и в зоне их ризосферы, называются эпифитными. Характерной особенностью этих микроорганизмов является то, что они способны питаться выделениями растений, не погибая от фитонцидов, и устойчивы к условиям пониженной влажности [3]. Микрофлора растений составляет неотъемлемую часть внешней среды, с которой взаимодействуют растения. Качественный и количественный состав микрофлоры зависит от условий обитания. В нормальных условиях роста, не приводящих к ослаблению растения, обеспечиваются устойчивые взаимоотношения между растением-хозяином и населяющей его микрофлорой, однако в некоторых случаях не исключена возможность негативного воздействия [5, 6].

Впервые эпифитную микрофлору стал изучать Р. Барри (Burgi, 1903) [40], который установил, что она отличается от микрофлоры почвы, воды и воздуха, и выделил основные виды — *Bacterium herbicola*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacterium putidum* (названия микроорганизмов приведены в соответствии с оригиналом). Источником эпифитных микроорганизмов для однолетних растений он считал семена и отчасти почву, в которую эпифиты попадают с растительными остатками. Долгое время эти работы не находили продолжателей и только в 50-е годы XX века интерес к эпифитной микрофлоре начал расти. Изучалась в основном микрофлора травянистых растений [4, 5, 20, 33] и в результате было выяснено:

- эпифитная микрофлора более разнообразна, чем это считалось ранее;
- многие виды, заселявшие зеленые надземные части растений, обнаруживаются также на корнях;
- ряд представителей эпифитной микрофлоры выделяют ауксины и витамины группы «В», способные стимулировать физиологические процессы у растений, некоторые из них фиксируют азот (*Azotomonas*

insolita, *Azotomonas fluorescens* и многие представители р. *Pseudomonas*);

- состав эпифитной микрофлоры на растениях можно искусственно менять, используя антагонистов из эпифитной микрофлоры в борьбе с заболеванием растений, а также с помощью бактеризации семян добиваться размножения полезных для растений видов микроорганизмов.

Вопрос об источнике эпифитной микрофлоры освещается по-разному. Одни из исследователей считают, что таким источником являются семена и отчасти почва, другие связывают их с растительными остатками, когда последние падают на почву и там живут, а затем снова переходят на растения [3]. Основными источниками микроорганизмов филлосферы многолетних растений, в том числе древесных и кустарниковых видов, являются зимующие почки. Из распутившихся почек весной микроорганизмы распространяются на молодые листья. При этом на поверхности почек в зимнее время микрофлора практически отсутствует, хотя при исследовании во внутренних частях почек (вскрытых и растертых в воде) обнаруживаются различные бактериальные и дрожжевые виды [5, 30]. Немаловажную роль как источники эпифитной микрофлоры играют насекомые. Они могут оставлять на поверхности растений бактерии, находящиеся в их пищеварительном тракте [20]. Например, у сибирского шелкопряда большинство видов кишечной флоры составляют эпифитные микроорганизмы сосны, кедра, пихты и лиственницы [10]. Таким образом, источником формирования бактериальных сообществ филлопланы являются семена, насекомые и почва. В меньшей степени оказывают влияние такие факторы, как перенос микроорганизмов из других биотопов с ветром, дождем, позвоночными животными и т.д. Немаловажное значение имеет также пыльца растений, которая разносится ветром на расстояние до 200-250 км [19].

Численность и видовой состав эпифитов на поверхности растений изменяются во времени. Динамика эпифитного сообщества определяется сочетанием следующих факторов:

1) погодно-климатическими факторами, определяющими ключевые экологические параметры среды, такие как температура, влажность, интенсивность солнечной радиации и т.п.;

2) фенологическими ритмами растений, с которыми связаны интенсивность выделения и химический состав экссудатов, служащих основным источником питания для эпифитных микроорганизмов, а также выделение растением стимуляторов и ингибиторов роста микроорганизмов.

Микрофлора, ассоциированная с надземными органами растений, разнообразна по составу и объединяет представителей различных систематических групп микроорганизмов: бактерий, актиномицетов, дрожжей, дрожжеподобных и гифальных грибов.

Многие виды дрожжей, выделяемые с поверхности растений, имеют специфические морфологические и физиологические особенности, свидетельствующие об их приспособленности к существованию именно в этом типе местообитания. К таким особенностям относятся выраженная каратиноидная пигментация, защищающая клетки от солнечной радиации, образование активных баллистоспор, формирование полисахаридных капсул, способствующих адгезии и предохраняющие клетки от высыхания. Дрожжи с таким сочетанием свойств относят к экоморфологической группе фитобионтов [2]. Наличие каратиноидных и меланоидных пигментов характерно также и для ряда эпифитных бактерий, что является адаптацией этих организмов для жизни в данной экологической нише.

Считается, что мицелиальные спороактиномицеты, как правило, не характерны для филлопланы растений [12], это типичные педобионты, либо обитатели подстилок и ризосферы. Хотя и существуют сведения о нахождении на поверхности растений актиномицетов родов *Micromonospora* и *Streptomyces*, неизвестно, находятся они там в активной форме или в виде спор, попадающих туда различными путями из почвы (ветром, дождем) и аккумулирующихся в филлоплане. Однако, актиномицеты рода *Micromonospora* широко представлены в филлосфере пустынных растений [16]. Анализ приводимых разными исследователями списков таксонов микроорганизмов, выделенных из филлосферы разных видов растений за последние годы, позволяет выделить общие и наиболее типичные формы. Бактериальные формы представлены *Pseudomonas*, *Xantomonas*,

Flavobacterium, *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Cytophaga* и представителями порядка *Myxobacterales*. Значительное место среди эпифитной микрофлоры занимают дрожжи и дрожжеподобные организмы [4, 29, 34, 46, 47, 48, 49]. Часто выявляются *Rhodotorulla*, *Sporobolomyces*, *Cryptococcus*. Из мицелиальных грибов были выявлены представители *Aureobasidium* sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp., *Aspergillus* sp. и др. На сеянцах хвойных разного возраста формируются микробные комплексы, характеризующиеся с количественной стороны численностью на единицу веса хвои и с качественной стороны - соотношением отдельных групп и видов микроорганизмов в микробоценозе. Количество и состав микроорганизмов на хвое сеянцев изменяется по мере роста и формирования охвоенной части. На здоровой молодой хвое актиномицеты встречаются крайне редко и в ограниченном количестве, что обусловлено их высокой чувствительностью к фитонцидам. На желтой хвое, отмирающей естественно, увеличивается рост неспоровых форм бактерий, тогда как численность кокков и желто-пигментных бактерий понижается [6]. Особенности динамики количественного и качественного состава эпифитов в значительной степени связаны с микроклиматическими условиями и имеют общие тенденции с динамикой почвенных микробных комплексов, что было показано на примере лесопитомников Ермаковского лесничества [7, 32]. Существенное влияние на численность эпифитной микрофлоры хвойных оказывают метеорологические факторы. Длительные периоды весенне-летней засухи, сопровождающиеся высокой температурой воздуха и низкой влажностью, как и сезоны проливных дождей с пониженной температурой воздуха, подавляют развитие микроорганизмов. В прямой зависимости от погодных условий находится состояние и развитие мицелиальных грибов. Пониженная температура и высокая относительная влажность воздуха благоприятствует их активному развитию; в этом случае большинство штаммов относится к фитопатогенам. Бактериальная эпифитная микрофлора хвойных в Сибири по видовому составу сходна с таковой у растений европейской части, отличаясь от нее большим участием споровых форм [3, 6].

Во взаимоотношениях высших растений с эпифитными микроорганизмами большое значение имеет образование биологически активных веществ. Доказано, что многие эпифитные микроорганизмы приобрели свойство продуцировать витамины, играющие важную роль в жизни растений. Продукты метаболизма (витамины, аминокислоты, ауксины, антибиотики, ферменты и другие) через листовую поверхность поступают в растения, играя важную роль в росте и развитии последних.

Прослежено, что на протяжении всего вегетационного периода эпифитные микроорганизмы питаются выделениями растительных клеток и сами, в свою очередь, выделяют ряд метаболитов, необходимых для растений.

Интенсивность биосинтеза витаминов неодинакова у различных эпифитных микроорганизмов хвойных пород. К числу наиболее активных по физиологическому действию биокаталитических веществ принадлежат витамины группы «В». Отмечено, что витамины в ничтожном количестве устраняют кислородную недостаточность, возникающую в клетках растений при синтезе окислительно-восстановительных систем. По способности образовывать некоторые витамины среди эпифитных микроорганизмов, возможно вести подбор и селекцию практически ценных культур.

Выявлена способность эпифитных микроорганизмов кедра, лиственницы, пихты синтезировать витамины группы «В» (инозит, биотин, тиамин, пиридоксин, пантотеновую и никотиновую кислоты). Наиболее активными продуцентами витаминов оказались микроорганизмы родов *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Способность продуцирования витаминов группы «В» эпифитными микроорганизмами позволяет использовать их для повышения биологической продуктивности хвойных растений [11].

Анализ литературного материала, касающегося комплексов фитопатогенных микромицетов и банальных эпифитных микроорганизмов, свидетельствует о том, что микрофлора филлосферы в подавляющем большинстве случаев исследовалась независимо друг от друга в разных регионах с различными экологическими ситуациями, в разные периоды времени. В результате этих исследований получены ценные научные данные,

характеризующие автономное развитие банальных эпифитов и фитопатогенных микромицетов.

На наш взгляд, микробные комплексы филлосферы (эпифиты и фитопатогены) образуют единую систему «микроорганизмы — растение». Поэтому, целесообразно провести исследования сопряженного развития собственно эпифитов и фитопатогенных грибов в одних и тех же экологических условиях в течение определенного периода вегетации изучаемых растений.

1.2. Фитонцидная активность растений

Фитонциды – это вещества растительного происхождения, обладающие свойством убивать или тормозить рост микроорганизмов. Название «фитонцид» произошло от слияния греческого «*phyton*» («растение») и латинского «*caedo*» («убиваю»). Различают летучие и нелетучие фитонциды тканевых соков. Нелетучие фитонциды содержатся во всех растениях.

Фитонцидные свойства растений были открыты в 1929 году видным советским исследователем профессором Б.П. Токиным. Ученый измельчал свежие листья различных деревьев, натирал на терке хрен или редьку, лук или чеснок, смешивал их с водой и наблюдал под микроскопом, как ведут себя бактерии и простейшие, живущие в этой воде. Они на глазах меняли характер своего движения, форму тела и наконец погибали. Так было открыто действие фитонцидов растений. Впоследствии же выяснилось, что фитонциды обладают не только губительным воздействием на бактерии и простейшие организмы, но и целым рядом других функций. Им принадлежит важная роль в создании иммунитета растений [51].

В природе явление фитонцидов универсально, вместе с тем существуют различия в фитонцидной активности у разных видов. Причем фитонциды листьев деревьев отличаются по своему противомикробному действию от плодов и т. д.

Фитонцидная активность растения может изменяться в зависимости от времени года, от погоды, времени суток (утром до 8 часов и вечером после 19 часов количество фитонцидов, производимых растениями, в несколько раз меньше, чем днем). Деревья, оказывающиеся в тени, выделяют меньше

фитонцидов. В березовом и сосновом лесах больше света и больше фитонцидов, чем, например, в смешанном. На количество продуцируемых летучих веществ может влиять также температура воздуха и его влажность: в жаркую погоду концентрация фитонцидов существенно возрастает (в 1,5– 1,8 раза), а при повышении влажности воздуха – уменьшается [51].

Одни фитонциды губительно действуют на микробов, другие лишь тормозят их рост. Фитонцидам одних растений свойственно влиять на различные классы микроорганизмов (бактерии, простейшие одноклеточные животные, микроскопические грибки и т. д.), другие же, как бы избирательно подавляют лишь определенные виды микробов. Таким образом, фитонциды создают невосприимчивость, поддерживают природный иммунитет растений к различным видам заболеваний.

Фитонциды растений имеют разную химическую природу. Как правило, это комплекс соединений – гликозидов, терпеноидов, дубильных и прочих веществ, не относящихся к трем основным классам природных соединений – белкам, углеводам и жирам.

К числу ярко выраженных фитонцидных деревьев и кустарников средней полосы России относятся можжевельник, сосна, ель, береза, дуб, тополь, черемуха, рябина, сирень. Рекордсменами по выделению фитонцидов поистине являются хвойные растения. Так, 1 га можжевельника выделяет в сутки 30 кг летучих веществ; около 20 кг выделяют сосна и ель.

Существуют сильнолетучие фитонциды и малолетучие. Одни растения теряют при умирании фитонцидные свойства, другие же могут сохранять их довольно долго [51].

Летучие фитонциды так же могут оказывать влияние на человека, проникая через легкие и кожу в организм. Они затормаживают развитие болезнетворных микроорганизмов, предохраняют от инфекционных заболеваний. Фитонциды нормализуют сердечный ритм и артериальное давление, участвуют в обмене веществ, снижают уровень сахара в крови, благоприятно воздействуют на процесс кровообращения в мозгу, состояние печени, бактерицидную активность кожи, а также на иммунную и нервную систему. При вдыхании летучих фитонцидов хвойных деревьев повышается

устойчивость эритроцитов к недостатку кислорода, почти в два раза увеличивают срок их жизни, положительно влияют на функцию всей кровеносной системы. Не случайно люди, живущие в лесных районах, гораздо меньше подвержены заболеваниям верхних дыхательных путей по сравнению с горожанами. Летучие фитонциды влияют на физико-химический состав воздуха. Они способствуют повышению в воздухе концентрации отрицательных ионов и снижают количество положительных. Фитонциды ионизируют кислород воздуха, стимулируя тем самым его биологическую активность. Кроме того, они улучшают эффективность и экономичность энергетики клетки, способствуют оседанию пылевых частиц.

Приятный аромат хвойного леса создают испаряющиеся через мелкие ранки и молодую хвою летучие фракции живицы — ароматические терпеновые соединения и эфирные масла. В жаркий день они испаряются интенсивнее.

Фитонциды пихты, кедра и ели оказывают стимулирующее влияние на нервную, сердечно-сосудистую и другие системы, что в особенности проявляется во время физической нагрузки. Положительно влияют они и на динамику мозгового кровообращения, состояние печени, бактерицидную активность кожи и вообще системы иммунитета, оказывают противовоспалительное и противоаллергическое действие, стимулируют обменные процессы [51].

1.3. Загрязнение атмосферного воздуха (Проблема загрязнения атмосферного воздуха в городе Красноярск)

Самым опасным загрязнителем атмосферного воздуха является фтор - активный подвижный элемент, который уже при незначительных концентрациях токсичен для человека, животных и особенно для растений. Санитарно-токсикологический предел фтористого водорода в воздухе - 0,005 миллиграмма на кубометр. Его повышенное содержание вызывает у теплокровных аномалию развития скелетно-мышечной системы, нарушается функция щитовидной железы из-за усиленного выделения из организма йода, тормозится активность некоторых ферментов и т.д..

На порядок выше чувствительность к фтору у растений. По некоторым данным соединения фтора нарушают практически все звенья обмена веществ. Так, у сосны происходит уменьшение синтеза защитных (смолистых) веществ, возникают острые капельно-ожоговые хронические и скрытые повреждения. На клеточном уровне отмечено изменение углеводного и азотного обмена.

Обладая высокой химической активностью, фтор и его соединения способны проникать из загрязненных сред (воздуха, почвы) во все органы древесного растения через устьица и кутикулу листьев, кору ствола и ветвей, а также через корневую систему и накапливаться в них в значительных количествах. Вместе с тем растения более активно поглощают фториды аэральным путем, то есть из атмосферы. Поступление фторидов в организм растений через корни наблюдается преимущественно на очень загрязненных почвах на расстоянии до 3-5 км от крупных техногенных источников фторсодержащих выбросов [24]. В организме растений фториды слабо подвергаются детоксикации и поэтому очень токсичны для растений [45]. Известна также способность фторидов, в частности фтористого водорода, в сочетании с другими поллютантами (диоксидом серы, хлором) синергически резко усиливать токсическое влияние на древесные растения [24].

Фтор - это единственный химический элемент, разлагающий даже воду. Выявлено, что летучие фториды в 900 – 1000 раз токсичней для хвойных насаждений, чем двуокись серы. Причины опять же в чрезвычайно высокой растворимости фтористого водорода в воде, многократно превосходящей все остальные газы. Естественно, агрессивность его резко возрастает с увеличением влажности воздуха, что часто наблюдается на вершинах гор в ненастную погоду. Нет сомнений и в источнике повышенной концентрации фтористых соединений. Об этом свидетельствуют ежегодные доклады «О состоянии окружающей среды», которые однозначно свидетельствуют, что из трех веществ, оказывающих наиболее отрицательное влияние на растительность, превалирует среди соседних городов фтор Красноярска.

Ситуация еще усугубляется устойчивой тенденцией роста ветров северо-восточных румбов (со стороны КрАЗА), доля которых возросла с 4,5% в начале 70-х годов до 10,8% в 2002 г.

Согласно данным более чем десятилетних научных наблюдений, именно в последние годы в березовой роще красноярского Академгородка отмечается катастрофическое ухудшение состояния растений-биоиндикаторов. По мнению ученых, наиболее вероятное объяснение – резкое увеличение красноярскими заводами выбросов в атмосферу фтористых соединений [52].

Исследования были проведены на территории города Красноярска в березовой роще жилого района Академгородка, находящегося на расстоянии 18-20 км на запад-юго-запад от Красноярского алюминиевого завода (КрАЗ).

Главной причиной массовых химических ожогов хвои сосен могут выступать фтористые соединения, присутствующие в выбросах промышленных предприятий города.

Глава 2. Объекты и методы исследования

2.1. Объекты исследования

На разных этапах работы объектом исследования являлись микроорганизмы, ассоциированные с растением (включая сообщество филлосферы, ризосферы и ризопланы), семена сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели сибирской (*Picea obovata*). Материал исследования представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Материал исследования на разных этапах работы

	Этап работы	Материал исследования
1.	Ознакомление с эпифитным сообществом	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Хвоя второго года жизни ели сибирской* ▪ Корневая система ели сибирской; ▪ Ризосферная почва
2.	Изучение особенностей формирования эпифитного сообщества филлосферы сосны обыкновенной и ее фитонцидной активности при	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Хвоя сосны обыкновенной, подвергающаяся атмосферному (техногенному загрязнению)** ▪ Хвоя сосны обыкновенной, произрастающей в экологически

	атмосферном загрязнении	благополучном районе***
3.	Изучение влияния эпифитных микроорганизмов на прорастании семян хвойных растений.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Семена ели сибирской; ▪ Семена сосны обыкновенной;**** ▪ Сеянцы ели сибирской; ▪ Сеянцы сосны обыкновенной.

* возраст деревьев 6-7 лет, без внешних признаков повреждения

** территория Березовского бора

*** территория Погорельского бора

****использованы семена с различной лабораторной всхожестью

Ель сибирская (*Picea obovata*) довольно крупное дерево. Диаметр крупных деревьев этой породы, как правило, не превышает 68-72 см, хотя отдельные стволы достигают 1 м толщины. В континентальном климате Средней Сибири ель уступает по теневыносливости пихте и кедру, хотя в западной части их ареалов превосходит обоих в этом отношении. В противоположность ели европейской, сибирская ель не отличается ветровальностью, что обусловлено холодостойкостью и морфологическими особенностями ее корневой системы. Главный корень у нее не развивается, образуются "якорные корни", крупные и длинные, но отстоящие недалеко от ствола (в быстро оттаивающих почвах), или сравнительно мелкие, но многочисленные и размещенные на большой площади (на почвах с длительной весенне-летней мерзлотой). По холодостойкости корневой системы ель превосходит все хвойные породы, кроме лиственницы Гмелина. Ее корни способны расти при небольшой отрицательной температуре, поэтому на переувлажненных медленно протаивающих почвах, где ель образует поверхностную корневую систему, часть ее корней остается в мерзлом слое почвы и удерживает дерево от вывала ветром [53].

Хвоя у сибирской ели короче, чем у европейской, шишки намного мельче. Семенные их чешуи широкие и закругленные. Опыление у сибирской ели происходит несколько позднее, чем у европейской, что не всегда спасает ее цветы от побивания поздними заморозками. Поэтому ее

семена имеют невысокую всхожесть (60-65%) и многие из них оказываются пустыми. Причиной плохого качества семян ели служит также короткий вегетационный период. Это снижает репродуктивную способность ели, поэтому ее подрост появляется постепенно даже в благоприятных условиях.

Семена созревают к концу сентября в год опыления и не всегда уходят от ранних сентябрьских заморозков. Семеношение у ели начинается на открытых местах с 15-18 лет, в древостоях - с 30-50 лет. Урожайные годы повторяются через 3-5 лет, в лучших лесорастительных условиях несколько чаще. В промежутках между ними ель почти не дает семян. Урожай колеблется от 200 до 700 тысяч семян на 1 га.

На открытых местах хвоя и побеги ели повреждаются поздними заморозками, что сильно задерживает возобновление ее на вырубках и гарях. Под пологом леса этого, как правило, не случается. Хвоя ели сибирской живет на 2-3 года дольше хвои европейской ели (8-10 лет вместо 6-7 у ели европейской) [53].

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L) широко распространена на всей территории России. Дерево, достигающее высоты 35-40м, вечнозеленое, однодомное, раздельнополое, анемофильное (ветроопыляемое). Крона у молодых деревьев конусовидная, позже – округлая, более широкая, а в старости зонтиковидная или плоская. Очень морозо- и жаростойка. Малотребовательна к плодородию и влажности почвы (мезоксерофит, олиготроф). Продолжительность жизни дерева 150-200 (иногда 400) лет. Размножается семенами. Обладает пластичной корневой системой, развивающейся в соответствии с характером и структурой почвы. Хвоя темно-зеленая, растет в пучках по две, длиной 4-7 см, сверху выпуклая, снизу плоская, жесткая, остроконечная. Опыление происходит весной, а оплодотворение летом следующего года. Семена удлинено-яйцевидные, длиной 3-4 мм, различной окраски (пестрые, серые, черные). Время вылета семян растянуто и продолжается с первых дней весны до конца мая – начала июня. Прорастание семян и появление всходов возможно в течение всего вегетационного периода. В лесу сосна начинает плодоносить с сорока лет, при свободном состоянии с 15-30 лет. Семенные годы повторяются через 2-3-

5 иногда даже до двадцати лет (в зависимости от региона и погодных условий).

Ареал в Сибири занимает территорию около 5,7 млн. км к югу от 66° с.ш.. Дальше всего на север она проникает по долине реки Лены (примерно до 68° с.ш.). Наиболее крупные массивы высокопроизводительных сосновых лесов сосредоточены в бассейне реки Ангары, в верховьях Подкаменной Тунгуски, Иртыша и Оби. Может расти на чрезвычайно сухих почвах, на которых не могут расти не только другие древесные породы, но и даже травянистые растения. На сухих и бедных почвах часто образует чистые насаждения – боры. На плодородных почвах она обычно входит в состав смешанных лесов [54].

2.2. Характеристика района исследования

Урочище «Погорельский бор» (1400 га) входит в Красноярскую островную лесостепь, расположенную по левобережью Енисея к северу от г. Красноярска. Современный рельеф северной левобережной части Енисея представлен полого-увалистой предгорной равниной. Макрорельеф Погорельского стационара — это водораздел со слабозаметными уклонами в северном и южном направлениях (2–30, наивысшая абсолютная отметка — 280 м). Абсолютные высоты колеблются в пределах 250–300 м. Мезорельеф представлен в виде ложбин и повышений. Климат — резко континентальный, умеренно-прохладный, среднегодовая температура +1,70С. Среднегодовое количество осадков 470 мм, с колебанием в отдельные годы 320–630мм [1].

Отбор образцов проводился на пробных площадях, заложенных старшим научным сотрудником ИЛ СО РАН Поляковой Галиной Геннадьевной. Сосновые древостои, в которых были заложены пробные площади (далее ПП), не различаются по лесорастительным условиям (подтаежно-лесостепные сосновые леса), типу леса (сосняки травяно-зеленомошные), строению и происхождению, но различаются по степени техногенного загрязнения. Характеристика пробной площади в Березовском бору приведена в таблице 2.

Средневозрастные сосняки Березовского бора сформировались после пожара на бывших сенокосах. Березовский бор испытывает значительную нагрузку от загрязнения городскими промышленными предприятиями и транспортом со стороны автострады Красноярск – Сосновоборск по сравнению с фоновыми сосняками на территории Погорельского бора. Это вызвано преобладанием западных ветров. По данным СЭС пос. Березовка превышение среднемесячной предельно допустимой концентрации в воздухе наблюдается для сероводорода, двуокиси азота, фтористого водорода, аммиака [17].

Таблица 2 – Характеристика пробной площади «Березовский бор»*

Экологический фон	Площадь, га	Количество деревьев	Местоположение	Почва	Класс Бонитета	Тип леса
Загрязнение	0,14	250	Надпойменная терраса р. Енисей близ пос. Березовка. Рельеф ровный, 56°02'25"с.ш., 93°08'54"в.д., 160 м н.у.м.	Лесная дерново-подзолистая супесчаная дренированная свежая	II	Сосняк травяно-зелено-мошный

*Полякова Г.Г.. Физиологические механизмы иммунитета хвойных на примере взаимодействия флоры ствола и офиостомовых грибов: автореферат дис. ... доктора биологических наук: 03.01.05 / Красноярск, 2012.- 31 с.[23].

2.3. Изучение микробного сообщества ели сибирской

При изучении микробного сообщества филлосферы исследовались хвоинки без видимых признаков повреждения. На каждом этапе собиралась хвоя не менее, чем с 10 растений, в второй декаде июня и второй декаде октября.

Выделение изолятов и оценка численности эпифитной микрофлоры проводились методом посева смывов с поверхности хвои на плотные питательные среды [26]. Прописи питательных сред были взяты из следующих источников [5].

Образцы ризосферной почвы и корней отбирали параллельно с образцами филлосферы в одни и те же сроки.

Для определения микробного сообщества ризосферы навеску ризосферной почвы 10 гр помещали в колбу со 100 мл стерильной воды и встряхивали на качалке в течение 20 минут. После отстаивания суспензии готовили разведения и производили посев.

Навеску корней, отделенных от растений, в течение 5 минут отмывали от ризосферной почвы в колбе со 100 мл стерильной воды путем перемещения ее на качалке. Затем отмытые корни крючком вынимали из колбы и помещали в следующую колбу со 100 мл стерильной воды. Колбу помещали на качалку на 20 минут. После отстаивания суспензии готовили разведения и производили посев.

Питательные среды, использованные при работе, указаны в таблице 3

Таблица 3 – Питательные среды для выделения микроорганизмов

Название питательного агара	Группа микроорганизмов
Чапека, Сусло агар	Мицелиальные и дрожжевые формы грибов
Мясо-пептонный, картофельный, крахмало-аммиачный	Бактерии
крахмало-аммиачный	Актиномицеты
Эшби	Олигонитрофильные и азотфиксирующие формы микроорганизмов,
Голодный агар	Олиготрофные формы микроорганизмов

Культивирование осуществлялось при температуре 25°C. Выросшие колонии учитывались на пятые сутки. Микроскопирование выполнялось при увеличении x 1350. Проведен количественный учет колоний споровых и неспоровых бактериальных форм, дрожжей, мицелиальных грибов,

актиномицетов. С помощью метода Греггерсена [43] устанавливалась грамм-принадлежность бактериальных форм.

При обработке результатов исследования применялись биометрические подходы [18] и программы Microsoft Excel 97

Достоверность различий оценивалась по критерию Стьюдента при уровне значимости $p = 0,05$.

—

Где — — среднее число колоний, выросшее при высеве, выросшее из данного разведения

—
— — среднее квадратичное отклонение

$2 - t$ — критерий при

K — разведение, из которого проведен высев,

V — объем суспензии, взятый для посева, мл

- общее количество подсчитанных колоний при высеве данного разведения,

N — число повторностей [14].

2.4. Изучение особенностей формирования эпифитного сообщества филлосферы сосны обыкновенной и ее фитонцидной активности при атмосферном загрязнении

В качестве материала для исследования использовалась зеленая хвоя 2-го года жизни сосны обыкновенной 5 – 6-летнего возраста. Работа проводилась в третьей декаде мая, во вторых декадах июня и июля, в третьей декаде августа и второй декаде октября. Отбор образцов был ориентирован на фенологические фазы исследуемых растений: набухание почек, распускание почек, рост побегов и развертывание листьев, осеннее расцветивание листьев [13]. При изучении эпифитного сообщества филлосферы применялись методы, описанные в разделе 2.3.

Применялась следующая методика: в чашках Петри на плотную питательную среду (картофельный агар) уколочным способом высевались

микроорганизмы. На крышку чашки помещалась измельченная хвоя ($\approx 0,2$ г), чашки инкубировались в перевернутом виде при комнатной температуре, замер выросших колоний проводился каждые 24 часа в течение четырех суток. Работа проводилась в трех повторностях.

В качестве индикаторов на выделение растениями летучих фитонцидов использовали штаммы эпифитных микроорганизмов, выделенные ранее с поверхности растений (таблица 4).

Таблица 4 – Изоляты эпифитных микроорганизмов, использованные в работе

Тип микроорганизма	Название микроорганизма
Микромицет	<i>Thrichoderma</i> sp.*
	<i>Verticillium</i> sp.
	<i>Alternaria</i> sp.
	<i>Fusarium</i> sp.
грамположительная неспоровая бактерия	<i>Micrococcus</i> sp.**
грамположительная споровая бактерия	<i>Bacillus</i> sp.
грамотрицательная неспоровая бактерия	<i>Serratia</i> sp.
Актиномицет	<i>Streptomyces</i> sp.

* родовая принадлежность микромицетов определялась с помощью морфологических признаков [39]

** родовая принадлежность бактерий определялась с помощью молекулярно - генетических методов

При обработке результатов исследования применялись программы Microsoft Excel 10. Все данные достоверны при уровне значимости $p = 0,05$.

2.5. Изучение влияния микроорганизмов, ассоциированных с растением, на прорастание семян хвойных растений и сохранность всходов

Для изучения влияния микроорганизмов, ассоциированных с растением, на прорастание семян хвойных растений и сохранность всходов использовали семена сосны обыкновенной (Емельяновское лесничество) и ели сибирской (Пировское лесничество). Семена сосны обыкновенной были представлены двумя партиями. Лабораторная всхожесть каждой партии семян определяли в соответствии с ГОСТом 13056.6-97 «Семена деревьев и кустарников».

Семена, предназначенные для опыта, протравливали в 2% растворе пермангата калия (KMnO_4) в течение двух часов. Затем семена были обработаны суспензией микроорганизмов, выделенных предварительно как с поверхности растений, так и из ризосферной части почвы. Были использованы следующие изоляты: *Trichoderma* sp., *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp., *Trichotecium* sp., *Acremonium* sp., *Rhodotorulla* sp., *Streptomyces* sp., *Bacillus mycoides*, *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Serratia* sp., Для приготовления суспензий применяли стандарт титра БАК10 10^9 . Контрольными вариантами являлись семена, замоченные в стерильной воде (контроль 1) и семена, прошедшие протравку перманганатом калия, но не обработанные суспензией микроорганизмов (контроль 2).

Семена высевались в контейнеры на универсальный почвенный грунт («Terra Vita», Ph= 6,5) в трех повторностях. Контейнеры выдерживали при комнатной температуре. Проводили три учета на всхожесть, определяли сохранность растений. Проведены морфометрические измерения сохранившихся сеянцев по следующим параметрам: корневая система, ствол и мутовка. Полученные данные были обработаны и проанализированы с применением программы Microsoft Excel 10. Все данные достоверны при уровне значимости $p = 0,05$.

Выводы:

1. Изучена динамика формирования микробных сообществ филлосферы, ризосферы и ризопланы ели сибирской. Микробное сообщество представлено споровыми и неспоровыми бактериями, в том числе актиномицетами и грибными формами (как мицелиальными, так и дрожжевыми). Преимущественно доминировали неспоровые бактерии. В эпифитном сообществе актиномицеты не были представлены.
2. Изучены особенности формирования эпифитного сообщества хвойных при техногенном загрязнении на примере сосны обыкновенной. Общая численность микроорганизмов филлосферы сосны из благополучных районов достоверно ниже таковой из района, подверженному техногенному загрязнению.
3. Выявлено, что фитонцидная активность хвои сосны обыкновенной при техногенной нагрузке снижена по сравнению с деревьями, произрастающими в экологически благополучном районе. Из тестовых бактериальных изолятов наиболее чувствительными к летучим соединениям хвои оказались неспоровые бактерии. Из микромицетов наиболее чувствительным в обоих изучаемых вариантах оказался изолят *Trichoderma* sp..
4. Обработка суспензией микроорганизмов способна увеличить фактическую всхожесть семян при первоначальной не высокой лабораторной всхожести. Наибольшую сохранность сеянцев из опытных вариантов обеспечивает обработка суспензией микроорганизмов *Serratia* sp. и *Cladosporium* sp.. По результатам морфометрического анализа наиболее чувствительной к обработке микроорганизмами оказалась корневая система.

Список использованной литературы

1. Агроклиматический справочник по Красноярскому краю и Тувинской А.О. – Л.: Гидрометеиздат, 1961. – 168 с.
2. Бабьева И. П. Биология дрожжей. / И. П. Бабьева, И. Ю.Чернов // М.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. – 221с.
3. Вишнякова З. В. Микрофлора кедровников Западного Саяна / З. В. Вишнякова Отв. Ред. Д-р с.-х. наук, проф. Н. В. Орловский. //Новосибирск: Наука, Сиб. Отд-ние, 1974. – 142 с.
4. Возняковская Ю. М. Микрофлора растений // Использование микроорганизмов в сельском хозяйстве – М.; Л.; Сельхозиздат, 1962. – С. 155 – 161.
5. Возняковская Ю.М. Микрофлора растений и урожай. // Л.: Колос, 1969. – 240 с.
6. Гродницкая И.Д. Агрохимические и микробиологические свойства почвы лесного питомника на юге Красноярского края / И.Д. Гродницкая, Е.Е. Якименко // Почвоведение. 1996. -№ 10. - С. 1247-1253.
7. Гродницкая И. Д. Роль эпифитной микрофлоры в патогенезе сеянцев хвойных в питомниках// Дисс.... канд. биол. наук. – Красноярск, 1996. – 216 с.
8. Громовых Т. И. Влияние грибов-паразитов рода *Fusarium* на прорастание семян сосны обыкновенной // Микробные ассоциации в лесных биоценозах. – Красноярск: ИЛиД СО АН ССР, 1983. – С. 56 – 59.
9. Громовых Т. И. Фитопатогенные микромицеты сеянцев хвойных в Средней Сибири: видовой состав, экология, биологический контроль // Автореф. Дисс.... докт. биол. наук. М., 2002. – 37 с.

10. Гукасян А.Б. Видовой состав микрофлоры сибирского шелкопряда и его паразитов // Микроорганизмы в борьбе с вредителями лесного хозяйства. – М.: Наука, 1966. – С. 87 – 134.
11. Гукасян В. М. Эпифитные микроорганизмы хвойных – продуценты витаминов группы «В» // Проблемы физиологии и биохимии растений. Вып. 1. Метаболизм и его регуляция. – Красноярск, 1974. – С. 22-24.
12. Добровольская Т. Г. Структура бактериальных сообществ почв. // М.: ИКЦ «Академкнига», 2002. – 282 с.
13. Елагин И. Н. Методика определения фенологических фаз у хвойных // Ботан. Журн. – 1961 - №7. – С. 982-984.
14. Звягинцев Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. // М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.: ил.
15. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. // М.: Изд-во МГУ, 1987. 256 с. Методы почвенной микробиологии и биохимии под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 303 с.
16. Зенова Г. М. Актиномицеты рода *Micromonospora* в наземных экосистемах / Г. М. Зенова, Т. А. Грачевка, А. А. Лихачева // Микробиология. – 1994. – Т. 63, №3. – С. 553 – 560.
17. Зубарева О.Н. Влияние выбросов промышленных предприятий в Средней Сибири на сосну обыкновенную (*Pinus sylvestris* L.) // Автореф. дис. канд. биол. наук. Красноярск, 1993. 21 с.
18. Лакин Г.Ф. Биометрия. Учебное пособие для университетов и педагогических институтов. / М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
19. Молчанов, А.А. Лес и окружающая среда // М.: Наука, 1968. – 278 с.
20. Новикова Н. С. Бактериальная флора надземных органов растений. // Киев: Изд-во АН УССР, 1963. – 180 с.
21. Павлов И. Н. Основная причина массового усыхания пихтово-кедровых лесов в горах Восточного Саяна – корневые патогены / И. Н. Павлов, О. А. Барабанова, А. А. Агеев и др. // Хвойные бореальной зоны. – 2009. – Т. 26, № 1. – С. 33 – 41.

22. Пашенова Н. В. Изучение грибов синевы древесины в хвойных лесах Центральной сибиря / Н. В. Пашенова, Г.Г. Полякова, Е.Н. Афанасова // Хвойные бореальной зоны. – 2009. – Т. 26, №1 – С. 22-28.
23. Полякова Г.Г.. Физиологические механизмы иммунитета хвойных на примере взаимодействия флоэмы ствола и офиостомовых грибов/ автореферат дис. ... доктора биологических наук: 03.01.05 / Красноярск, 2012.- 31 с.
24. Рожков А.С. Действие фторсодержащих эмиссий на хвойные деревья. / А.С. Рожков, Т.А. Михайлова // Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1989. 159с.
25. Сенашова В.А. Болезни хвои, вызванные фитопатогенными грибами, в Средней Сибири // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2012. Вып. 200. С. 275-284.
26. Сенашова В.А. Влияние биотических факторов на формирование эпифитного сообщества пихты сибирской // Известия Санкт-Петербургской Лесотехнической Академии. 2014. Вып. 207. С. 171–179.
27. Сенашова В.А. Компонентный состав летучих соединений хвойных в условиях Средней Сибири / В.А. Сенашова, А.А. Анискина, М.А. Пляшечник, Т.В. Костякова // Химия растительного сырья. 2014. №1. С. 77-85
28. Сорокин Н.Д. Экспериментальная оценка устойчивости почвенного микробоценоза при химическом загрязнении / Н.Д. Сорокин, И.Д. Гродницкая, О.А. Шапченкова, С.Ю. Евграфова // Почвоведение. 2009. № 6. С. 701–707.
29. Томашевская М. А. Дрожжевые грибы хвойного опада // Тез. докл. III Междунар. молодежной школы-конф. «Актуальные аспекты современной микробиологии» / Ин-т микробиологии им. С. Н. Виноградского РАН. – М., 2007. – с. 109 – 110.
30. Тырина В. А. О зимнем развитии почек // Физиология растений. – 1958. – Т. 5, вып. 2. – С. 177 – 179.

31. Умаров М. М. Ассоциативная азотофиксация в биогеоценозах // Почвенные организмы как компоненты биогеоценоза. – М.: Наука, 1984. – С. 185-199.
32. Фомина Н. В. Эколого-биологический мониторинг почв лесных питомников Средней Сибири (на примере Красноярского края) // дисс. ... канд. биол. наук. – Красноярск, 2007. – 174 с.
33. Худяков Я. П. Управление эпифитной микрофлорой // Там же. – 1953. – Т. 43, № 5. – С. 907 – 909.
34. Шолокова И. Ф. Дрожжи и дрожжеподобные грибы в эпифитной микрофлоре некоторых силосных растений // Микробиол. журн. – 1964. – Т. 26, № 6. – С. 13 – 19.
35. Якименко Е. Е. Характеристика фитопатогенных грибов // Микроорганизмы как объект лесного мониторинга. – Красноярск: Изд-во ИЛИД, 1986. – С. 49 – 58.
36. Якименко Е. Е. Микромицеты почв лесных питомников // Микол. и фитопатол. – 1992. – Т. 26, вып. 6. – С. 480 – 485.
37. Якименко Е. Е. Микромицеты почв лесных питомников и их роль в патогенезе сеянцев хвойных // Автореф. дисс.... канд. биол. наук, Красноярск, 1994. – 20 с.
38. Якименко Е. Е., Гродницкая И. Д. Инфекционное полегание сеянцев хвойных в лесных питомниках Красноярского края / Е. Е. Якименко, И. Д. Гродницкая // Микол. и фитопатол. – 1996. – Т. 30, вып. 2. – С. 57 – 62.
39. Barnett H. L., Illustrated Genera of Imperfect Fungi, 4th ed./ H. L. Barnett, V.B. Hunter // Minnesota: American Phytopathological Society, 1999. 218 p.
40. Burri R. Die Bacterienvegetation auf der Oberflache normal entwickelter Pflanzen // Zentrbl. fur Bakt. – 1903. Abt. II, Bd. X.
41. Fließbach A. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge / A. Fließbach, R. Martens, H.H. Reber // Soil Biol. Biochem, 1994, vol. 26, no. 9, pp. 1201–1205.

42. Harris J.A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration // *Eur. J. Soil Sci*, 2003, vol. 54, pp. 801–808.
43. Gibbs P.A. et al. Initial results from long-term field studies at three sites on the effects of heavy metal-amended liquid sludges on soil microbial activity / P.A. Gibbs, B.J. Chambers, A.M. Chaudri // *Soil Use Manag*, 2006, vol. 22, no. 2, pp. 180–187.
44. Gregersen T. Rapid method for distinction of gram-negative from gram-positive bacteria // *Eur. J. Appl. Microbiol. And Biotechnol.* – 1978. – V. 5, N 2. – P. 127 – 132.
45. Karthikeyan S., Functional and structural responses of degradative microbial community to substrates with varying degrees of complexity in chemical structure / S. Karthikeyan, G.M. Wolfaardt, D.R. Korber, D.E. Caldwell // *Microb. Ecol*, 1999, vol. 38, pp. 215–224.
46. Keller Th. The influence of fertilization on gaseous exchange of forest tree species. *Colloq. Forest Fertil* // *Syvaskyla*, 1967. S.I.
47. Last F. T. The non-parasitic microflora on the surfaces of living leaves / F. T. Last, F. C. Deighton // *Ibid.* – 1965. – V. 48, pt. 1. – P. 88 – 125.
48. Last F. T. Seasonal incidence *Sporobolomyces* on cereal leaves // *Transactions of the British Mycological Society.* – 1965. V. 38, pt. 3. – P. 148 – 160.
49. Menna M. E. Some Physiological characters of Yeasts from soils and allied habitats // *J. Microbiolgy.* – 1959. – V. 20, N 1. – P.13.
50. Menna M. E. The antibiotic relationships of some yeasts from soil and leaves // *J. Canad. Microbiol.* – 1962. – V. 27, N 2. – P. 249 – 257.
51. Tuomela M., [et al.] Influence of Pb contamination in boreal forest soil on the growth and ligninolytic activity of litter-decomposing fungi / M. Tuomela, K.T. Steffen, E. Kerko // *FEMS Microbiol. Ecol*, 2005, vol. 53, pp. 179–186.
52. <http://givoyles.ru/articles/lyudi-i-derevya/rastitelnye-antibiotiki-fitoncidy/>
53. <http://www.stolby.ru/Mat/1Virezka/2003/20030826.asp>
54. <http://www.wood.ru/ru/opiselk1.html>
<http://priroda40a.narod.ru/pinaceae/pinus.htm>