

УДК 631.414

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ НА УСТОЙЧИВОСТЬ МИКРОБНЫХ СИСТЕМ ДЕРНОВО-БУРЫХ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ УКСУСНОКИСЛЫМ СВИНЦОМ

В.И. Каменщикова, Л.В. Кувшинская, О.А. Лысова, О.А. Игнатова

Естественнонаучный институт Пермского государственного университета, 614990, Пермь, ул. Генкеля, 4

Изучено действие уксуснокислого свинца на состав и биохимическую активность микроорганизмов в дерново-бурой почве различных экосистем. Установлена высокая отзывчивость микроорганизмов на внесение минеральных удобрений, которые способны нивелировать ингибирующее действие низких доз поллютантов.

Введение

В условиях техногенного загрязнения почв остается актуальной проблема поиска эффективных способов снижения негативного действия поллютантов на функционирование важнейших экологотрофических групп микроорганизмов, играющих важную роль в трансформации загрязняющих веществ.

Для повышения устойчивости микробных сообществ почв, загрязненных тяжелыми металлами (ТМ), многие исследователи рекомендуют увеличивать запасы органического вещества в почве (Лыков и др., 2004). Ряд ученых (Ананьева и др., 2002; Ананьева; 2003; Благодатская, Ананьева, 1996) для определения устойчивости почв к загрязнению предлагают использовать интегральный показатель функционирования микробных сообществ - микробный метаболический коэффициент.

По данным В.Г.Минеева (1999), токсическое действие тяжелых металлов проявляется в ингибировании и блокировании некоторых процессов метаболизма микроорганизмов, а также в изменении численности и состава микробных сообществ и, следовательно, в изменении направленности почвообразовательного процесса. Внесение минеральных удобрений ведет к увеличению доступных для микроорганизмов питательных элементов, что проявляется в активации ферментов, продуцируемых микроорганизмами. Минеральные удобрения, являясь мощным фактором преобразования природной среды, снижают негативное действие тяжелых металлов, усиливают физиологические барьерные функции растений, препятствуют поступлению в них ТМ.

Целью исследований явилось определение микробиологических показателей биологической устойчивости дерново-бурых почв разных экосистем при загрязнении их тяжелыми металлами и внесении минеральных удобрений.

Методика исследований

Исследования проводились в модельном опыте, заложенном в 2008 г. на дерново-бурой почве под лесом и на пашне. Для опыта использовали поверхностный 20 см слой, который после высушивания пропускали через сито 3 мм. Для загрязнения почв использовали уксуснокислый свинец, который вносили в сухом виде из расчета действующего вещества в дозе 400 и 600 мг/кг почвы. Почву тщательно перемешивали и помещали в емкости, послойно увлажняя и доводя влажность до 60% от полной влагоемкости. На дно сосудов для предотвращения просачивания воды помещали стерильные фильтры, по степени разложения которых судили об интенсивности минерализационных процессов, происходящих в почве. Минеральные удобрения вносим из расчета содержания азота в дозе равной 90 кг/га. Микроудобрения – молибдат аммония и борат натрия вносили с поливной водой из расчета 10 мг/кг. Сосуды с почвой помещали в полиэтиленовые пакеты для предотвращения чрезмерного испарения. Контроль за состоянием влажности почв осуществлялся путем взвешивания сосудов через 10 дней.

После месячного компостирования в почве определяли уровень потенциальной эмиссии CO₂ при температуре 28°C с добавлением и без добавления глюкозы. По интенсивности выделения CO₂ и активности окислительно-восстановительного фермента каталазы судили об устойчивости микробных систем дерново-бурых почв к свинцовому загрязнению. Параллельно из сосудов брали среднюю пробу почвы, в которой определяли численность и состав микробных сообществ методом предельных разведений, с последующим высевом суспензии на элективные среды (Звягинцев, 1980). Наряду с этим в почве определяли реакцию растений на ТМ загрязнение. Опыты проводились в трехкратной повторности. За изменением интенсивности потенциального дыхания, нитрификационной способности следили в течение 6 месяцев.

Базальное фоновое дыхание (БД) определяли по скорости выделения CO_2 почвой за 24 ч. инкубации при 28°C по методу И.Н.Шаркова (1984). Скорость базального дыхания выражали в мг CO_2 на 100 г почвы за 24 ч. субстрат индуцированное дыхание (СИД) определяли в подобных замкнутых сосудах с добавлением в почву раствора глюкозы (Ананьева и др., 1993). Потребление глюкозы микроорганизмами рассматривается как модель минерализации органического вещества в почве. По величине активности БД и СИД определяли микробный метаболический коэффициент $Q = \text{БД}/\text{СИД}$.

Скорость выделения CO_2 определяли в течение трёх дней, в нескольких последовательных экспозициях (после компостирования в течение 1, 2 и 6 месяцев). Одновременно определяли уровень активности каталазы как весьма чувствительного индикатора на возникновение стрессовых ситуаций в почве (Минеев и др., 1999) по методике А.Ш. Галстяна (1974).

Результаты и их обсуждение

Исследования показали, что дерново-бурые почвы разных экосистем (лес, пашня) характеризуются сравнительно высоким содержанием органического вещества в поверхностном корнеобитаемом слое. Им присущ фульватно-гуматный тип гумуса, они имеют высокую сумму обменных оснований (36,33 мг-экв/100 г), слабокислую реакцию почвенного раствора. Длительное использование этих уникальных для Пермского края почв в системе агроценозов изменило их морфологию, химизм и биологическую активность (Каменщикова и др., 2008). Представляло интерес провести сравнительную оценку устойчивости микроорганизмов к техногенным нагрузкам в почвах различных экосистем, оценить степень влияния минеральных удобрений на исследуемые биохимические показатели.

Установлено, что распахиwanie и длительное использование дерново-бурых почв под посев зерновых культур активизируют микробиологические процессы и способствуют усилению позиций автотрофных и олигонитрофильных бактерий в микробоценозе (таблица).

При загрязнении почв свинцом численность микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, снижается в соответствии с увеличением дозы загрязнителя, в то время как количество гетеротрофных микроорганизмов с повышением дозы уксуснокислой соли в почве возрастало. Уксуснокислый свинец, как носитель источника углерода, в первые месяцы после внесения стимулировал развитие гетеротрофных бактерий, но ингибировал развитие актиномицетов и олигонитрофильных бактерий. Ингибирующее действие вносимой соли усиливалось по мере увеличения дозы поллютанта. Негативное действие уксуснокислого свинца на развитие автотрофных бактерий с осо-

бой силой проявилось в целинной почве, в то время как численность гетеротрофных бактерий здесь возросла при высокой дозе загрязнителя на 54%, по сравнению с контролем, что обусловлено, вероятно, особенностью состава вносимой соли (уксуснокислый свинец – носитель органического углерода).

Внесение минеральных удобрений на целине не оказало существенного влияния на развитие автотрофных и олигонитрофильных бактерий, но ингибировало развитие гетеротрофных бактерий вследствие усиления позиций минерализаторов в микробоценозе.

В условиях техногенного свинцового загрязнения почв при внесении минеральных удобрений микроорганизмы почв лесных экосистем характеризовались большей устойчивостью, повышенным содержанием микромицетов и актиномицетов в микробоценозе, в отличие от распаханной почвы, где происходило резкое снижение содержания важнейших в микробоценозе гетеротрофных бактерий. Сокращение содержания бацилл и микромицетов в микробоценозе распаханной дерново-бурой почвы является показателем слабой их сопротивляемости к загрязнению и слабой устойчивости микробных систем. Нивелирование состава микробных систем в распаханной загрязненной почвах не наблюдалось даже при внесении минеральных удобрений.

Вносимые нами микроэлементы в виде растворов солей молибдата аммония и бората натрия стимулировали развитие олигонитрофильных бактерий на целине и, в меньшей мере, в распаханной почве, где, вероятно, в конкуренцию за микроэлементы вступают автотрофные бактерии, численность которых в 2,5-3 раза выше в целинной почве под лесом. Внесение микроэлементов совместно с минеральными удобрениями в загрязненные свинцом почвы снизило общее содержание микроорганизмов почти в 2 раза. Негативное действие на микроорганизмы в большей мере проявилось в распаханной почвах, где сократилось содержание гетеротрофных бактерий и бацилл, что подтверждает наши выводы о слабой устойчивости распаханной почвы к техногенному загрязнению и нецелесообразности внесения выбранных нами микроэлементов в загрязненную свинцом почву.

Изменение состава микробоценоза при распахиwании почв отразилось на активности окислительно-восстановительного фермента каталазы, принимаемого рядом исследователей (Хазиев, 1976; Звягинцев, 1980) за показатель экологического состояния почв. В почвах агроценозов активность каталазы была на 40% ниже, чем в лесной почве (рис.1).

Внесение уксуснокислого свинца понижало активность каталазы. При повышенной дозе поллютанта (600 мг/кг) активность каталазы на целине снизилась на 30%, по сравнению с контролем, в то время как в распаханной почве снижение этого

Влияние уксуснокислого свинца и минеральных удобрений на численность и состав микробных сообществ в дерново-бурой почве под лесом (целина) и пашней (агроценоз)

| Варианты опыта | Смб в мг CO ₂ /100 г, 24 ч. | Численность микроорганизмов на КАА, тыс.КОЕ/г | | Количество олигонитрофилов, тыс.КОЕ/г | Коэффициент минерализации |
|-----------------------------|--|---|--------------|---------------------------------------|---------------------------|
| | | Общая | Актиномицеты | | |
| Целина | | | | | |
| Контроль | 216.2 | 2070 | 633 | 1985 | 1.5 |
| Pb 400 | 191.1 | 1338 | 550 | 1353 | 0.7 |
| Pb 600 | 136.9 | 700 | 100 | 1090 | 0.4 |
| KNO ₃ + Pb 400 | 151.3 | 1400 | 400 | 912 | 3.0 |
| KNO ₃ +MЭ+Pb 400 | 121.2 | 1800 | 500 | 6000 | 3.0 |
| Агроценоз | | | | | |
| Контроль | 130.9 | 5500 | 600 | 6000 | 1.3 |
| Pb 400 | 104.5 | 4500 | 1200 | 5300 | 0.6 |
| Pb 600 | 110.5 | 3700 | 800 | 4800 | 0.6 |
| KNO ₃ + + Pb 400 | 144.0 | 5500 | 1400 | 3000 | 1.2 |
| KNO ₃ +MЭ+Pb 400 | 116.5 | 4800 | 550 | 4500 | 1.7 |

фермента не превышало 20% и не зависело от концентрации свинца в почве.

Минеральные удобрения снижали активность каталазы: на целине на 22%, в распаханной почве - на 5%, по сравнению с активностью каталазы в контрольных вариантах. Активность каталазы на целине при высокой дозе свинца на фоне минеральных удобрений снижалась и была близка к контрольной. В распаханной почве ингибирующее действие свинца на фоне минеральных удобрений на активность каталазы усиливалось и при дозе свинца 600 мг/кг активность каталазы была ниже, чем в контрольных вариантах, на 16%.

Микроэлементы на фоне минеральных удобрений способствовали усилению окислительных процессов, стимулируя развитие актиномицетов, что привело к усилению минерализации органического вещества. Внесение борсодержащих микроэлементов снижало активность каталазы, нивелировало положительное действие минеральных удобрений, снижало их положительный эффект.

В целом положительное действие минеральных удобрений и микроэлементов на активность каталазы в загрязненной свинцом почве в большей мере проявлялось на целине и в меньшей мере на пашне. Это дает нам основание сказать, что минеральные удобрения в агроценозе не снижают негативного действия свинца.

Эмиссия CO₂ из почв является одним из основных процессов углеродного цикла в наземных экосистемах. Микроорганизмы почв приносят около 90% всего потока CO₂ суши (Lynch, Wiseman, 1998), участвуют в переработке органического вещества, попадающего в почву. Устойчивость почв к поллютантам определяется устойчивостью микробных сообществ, и показателем этой устойчивости почв может служить отношение скорости дыхания микроорганизмов к их биомассе (микробный метаболический коэффициент). По мне-

нию Н.Д.Ананьевой (2003) и Е.В.Благодатской (1996), по величине этого показателя можно количественно оценить «глубину» нарушения почвы в экосистеме.

Определение интенсивности дыхания исследуемых почв в динамике показало значительное изменение эмиссии CO₂ со временем. Максимальное выделение CO₂ было установлено в первый день после месячного компостирования целинной почвы и равнялось 22,4 мг CO₂/100 г почвы за 24 ч., а минимальной эта величина была на 3-й день после 6 - месячного компостирования и варьировала в пределах 10-11мг CO₂/100 г за 24 ч.

В почве агроценозов активность выделения CO₂ была в 2 раза ниже, чем в целинных почвах леса (рис. 2), что соответствует содержанию в почве органического углерода, доступного для микроорганизмов.

Микроорганизмы исследуемых почв обладают высокой активностью к использованию легкогидролизуемого источника углерода (глюкозы), по скорости потребления которой судят о потенциальной биохимической активности микроорганизмов. Следует отметить, что скорость потребления вносимого в почву углеродсодержащего субстрата усиливалась со временем при компостировании почвы и отношение СИД/БД изменялось от 2 до 5. Большая потребность в дополнительных источниках углерода или отзывчивость на их внесение была выявлена в обедненной органическим веществом распаханной почве.

Ингибирующее действие уксуснокислого свинца на дыхательную активность почв усиливалось с увеличением дозы поллютанта и времени пребывания его в почве и в большей мере влияло на уровень базального дыхания. Так, при высоком уровне загрязнения почв свинцом на целине БД снизилось на 33, а СИД - на 26%, по сравнению с контролем. На пашне БД снизилось более чем на 50%,

а СИД - на 10%. Следовательно, уровень базального дыхания более объективно отражает изменения при антропогенной нагрузке и может быть использован при оценке экологического состояния почв.

Внесение минеральных азотсодержащих удобрений в целинную почву привело к значительному нарушению микробного равновесия и было близко по действию к внесению высоких доз поллютанта, в агроценозе отрицательное действие KNO_3 ингибировало дыхательную активность микроорганизмов только в первый месяц. По мере адаптации микроорганизмов к удобрениям в этом варианте уже на второй месяц наблюдали стимуляцию дыхательной активности.

Внесением минеральных удобрений мы снизили негативное действие свинца на БД, однако, способность к использованию вносимых органических субстратов (СИД) в этих вариантах была существенно ниже, чем в контрольных. Микробный метаболический коэффициент показывает, что степень нарушения в структуре микробных сообществ повышалась при совместном внесении удобрений и свинца и еще в большей мере проявлялась при внесении микроудобрений.

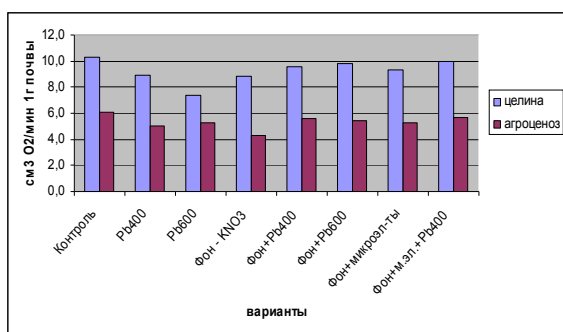


Рис.1 Активность каталазы при тяжелометалловом загрязнении

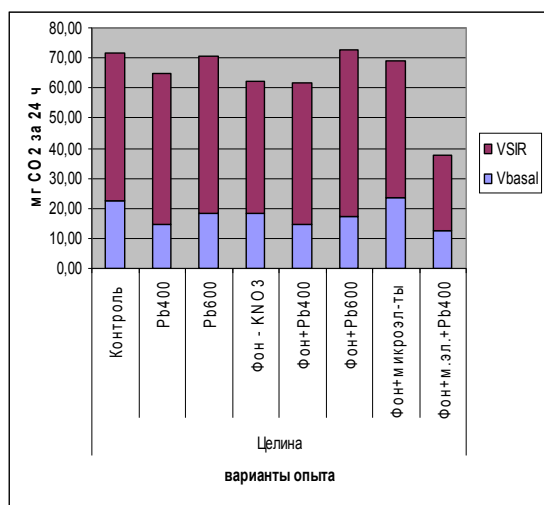


Рис. 2. Влияние свинцового загрязнения на эмиссию CO₂ под лесом

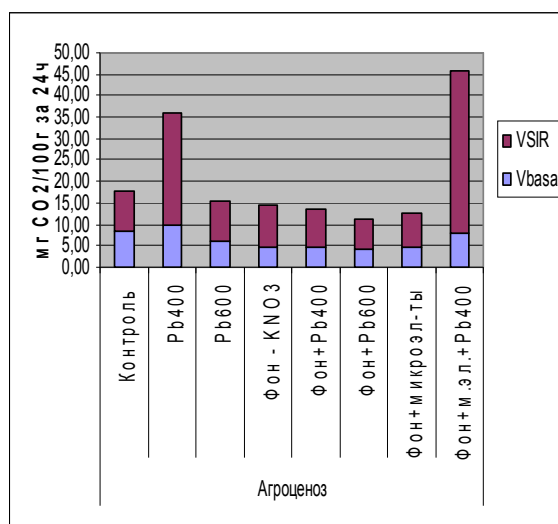


Рис. 3. Влияние свинцового загрязнения на эмиссию CO₂ в агроценозе

Дополнительными модельными опытами было установлено отрицательное воздействие борсодержащих микроудобрений на дыхательную активность микроорганизмов, что подчеркивает нецелесообразность их внесения для снижения токсического действия свинца. Для более полного восстановления микробного статуса загрязненных свинцом почв, особенно при высоком уровне загрязнения, необходимо внесение в почву, наряду с минеральными, органических удобрений.

Заключение

Сравнительным изучением свойств почв двух экосистем, формирующихся в одинаковых климатических условиях, выявлено следующее:

1. Высокая биологическая активность длительно используемых в агроценозе дерново-бурых почв и перестройка состава микробного сообщества в сторону усиления позиций автотрофных, олигонитрофильных бактерий приводит к быстрой минерализации органического вещества почвы, падению реального и потенциального плодородия и выражается в снижении уровня эмиссии CO₂, уменьшении Смб, каталазной активности, что является показателем низкой устойчивости почв агроландшафтов к техногенным нагрузкам.

2. Почвы лесного ценоза отличались наибольшей продукцией CO₂, микробной биомассой, вдвое превышающей биомассу агроландшафтов, высоким содержанием микромицетов, спорообразующих бактерий и актиномицетов в микробном сообществе, что может служить показателем высокой устойчивости естественных ландшафтов.

3. Загрязнение исследуемых почв уксуснокислым свинцом негативно сказалось на Смб, базальном дыхании, в меньшей мере повлияло на активность каталазы. По мере нарастания дозы поллютанта и длительности его пребывания в почве

влияние загрязнения усиливалось. Наибольшее снижение БД от поллютанта было зафиксировано после 6-месячного пребывания его в почве агроценоза и составило 25% от контроля, что свидетельствует о низкой устойчивости агроландшафта к техногенному загрязнению. По степени устойчивости к загрязнению уксуснокислым свинцом исследуемые нами показатели располагаются в следующий ряд: высота растений > активность каталазы > энергия прорастания семян > содержание нитратов > БД > СИД > СМБ > содержание актиномицетов, что позволяет последние использовать для оценки экологического состояния почв.

4. Минеральные удобрения способствовали усилению процессов потребления микроорганизмами вносимого в почву углеродсодержащего субстрата (глюкозы) - СИД. Положительное действие удобрений на дыхательную активность сглаживалось по мере их взаимодействия с почвой.

5. Минеральные удобрения снижали негативное действие низких доз свинца на БД на целине, но не снимали негативное действие поллютанта в агроземах. Это дает основание заключить, что минеральные азотсодержащие удобрения не способны снять негативного действия поллютанта на биохимическую активность микроорганизмов. Для инактивации загрязнителя в агроземах необходимо внесение органических удобрений.

6. Совместное внесение бор- и молибденсодержащих микроудобрений с минеральными удобрениями показало незначительное положительное действие на развитие спорообразующих и актиномицетов, повышение активности окислительного фермента каталазы. В длительном последствии их положительный эффект на активность дыхания и микробную биомассу (СМБ) не наблюдался. На фоне свинцового загрязнения прослеживалось отрицательное влияние.

Библиографический список

- Ананьева Н.Д.* Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв / Н.Д. Ананьева. М.: Наука, 2003. 223 с.
- Ананьева Н.Д.* Методические аспекты определения скорости субстрат-индуцированного дыхания почвенных микроорганизмов / Н.Д. Ананьева, Е.В. Благодатская, Д.Г. Орлинский // Почвоведение. 1993. № 11. С. 72-77.
- Ананьева Н.Д.* Оценка устойчивости микробных комплексов к природным и антропогенным воздействиям / Н.Д. Ананьева, Е.В. Благодатская, Т.С. Демкина // Почвоведение. 2002. №5. С.580-587.
- Благодатская Е.В.* Оценка устойчивости микробных сообществ в процессе разложения поллютантов в почве / Е.В. Благодатская, Н.Д. Ананьева. // Почвоведение. 1996. № 11. С.1341-1346.
- Галстян А.Ш.* Ферментативная активность почв Армении / А.Ш. Галстян. Ереван: Айастан, 1974. 260 с.
- Звягинцев Д.Г.* Методы почвенной микробиологии и биохимии / Д.Г. Звягинцев, И.В. Асеева, И.П. Бабьева, Т.Г. Мирчинк. М.: Изд-во МГУ, 1980. 224 с.
- Каменщикова В.И.* Влияние агрогенеза на экологические свойства дерново-бурых почв / В.И. Каменщикова, Л.В. Кувшинская, В.И. Усталова, Ю.С. Черных // Вестн. Перм. ун-та. Биология. 2008. Вып. 9(25). С.70-77.
- Минеев В.Г.* Влияние длительного применения средств химизации на агрохимические и микробиологические свойства дерново-подзолистой почвы / В.Г. Минеев, Н.Ф. Гомонова, Г.М. Зенова, Н.И. Скворцова // Агрохимия. 1999. №5. С.5-12.
- Лыков А.М.* Органическое вещество пахотных почв Нечерноземья. / А.М. Лыков, А.Л. Есков, М.П. Новиков. М.: РАСХН, ВНИИТИ-ОУ. 2004. 630 с.
- Хазиев Ф.Х.* Ферментативная активность почв / Ф.Х. Хазиев. М.: Изд-во Наука, 1976. 180 с.
- Шарков И.Н.* Определение интенсивности продуцирования почвой CO₂ адсорбционным методом / И.Н. Шарков // Почвоведение. 1984. №7. С.136-143.
- Lynch J.M., Wiseman A.* Environmental biomonitoring: The biotechnology ecotoxicology interface / J.M. Lynch, A. Wiseman. Cambridge Univ. press., 1998.

THE INFLUENCE OF MINERAL FERTILIZERS ON THE RESISTIBILITY OF MICROBIAL SYSTEMS OF THE LEAD ACETATE POLLUTED SOD-BROWN SOILS

V.I. Kamenshchikova, L.V. Kuvshinskaya, O.S. Lysova, O.A. Ignatova

A lead acetate influence on the content and microbiological activity of microorganisms inhabiting a sod-brown soil of various ecosystems has been investigated. There was established a high response of microorganisms on the placement of the mineral fertilizers which can smooth an inhibiting action of the low doses of pollutants.