

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ПОЛЛЮТАНТОВ НА ПОЧВЕННЫЙ МИКРОБИОЦЕНОЗ В УСЛОВИЯХ ЗАКАРПАТЬЯ ANTHROPOGENIC POLLUTANTS EFFECT ON THE SOIL MICROBIOCENOSIS UNDER TRANSCARPATHIA CONDITIONS

Микайло И.И.

I.I. Mykaylo

irin.mikaylo@gmail.com



Бобрик Н.Ю.

N.Y. Bobrik

nadjabobrik@mail.ru



Кривцова М.В.

M.V. Krivtsova

f-k-m-79@mail.ru



Николайчук В.И.

V.I. Nikolaichuk

nikolaichuk.vitaliy@yandex.ua



ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», биологический факультет, кафедра генетики, физиологии растений и микробиологии, ул. Волошина, 32

Uzhgorod National University, biological faculty, department of genetics, plant physiology and microbiology, 32, Voloshyna str.

ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», биологический факультет, кафедра генетики, физиологии растений и микробиологии, ул. Волошина, 32

Uzhgorod National University, biological faculty, department of genetics, plant physiology and microbiology, 32, Voloshyna str.

ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», биологический факультет, кафедра генетики, физиологии растений и микробиологии, ул. Волошина, 32

Uzhgorod National University, biological faculty, department of genetics, plant physiology and microbiology, 32, Voloshyna str.

ГВУЗ «Ужгородский национальный университет», биологический факультет, кафедра генетики, физиологии растений и микробиологии, ул. Волошина, 32

Uzhgorod National University, biological faculty, department of genetics, plant physiology and microbiology, 32, Voloshyna str.

Антропогенное воздействие на экосистемы оказывает существенное влияние на динамику микробиоценозов и протекание микробиологических процессов в почве. Проведен сравнительный анализ влияния поллютантов различного типа в условиях лабораторного эксперимента, а также в естественных условиях на территориях, находящихся под влиянием техногенной нагрузки. В лабораторном опыте исследовано влияние экзогенных поллютантов (разных концентраций соли меди, азотных удобрений) на численность некоторых эколого-трофических групп микроорганизмов. Проведены также мониторинговые исследования влияния железнодорожного транспорта на качественный и количественный состав микробиоценозов почвы отобранной на различном расстоянии от магистрали.

Результаты исследований показали, что под воздействием поллютантов антропогенного происхождения (соли тяжелых металлов и азотные удобрения) происходит изменение в структуре комплексов почвенных микроорганизмов, которое проявляется в уменьшении количества аммонификаторов, актиномицетов, олигонитрофилов в сравнении с контролем. В условиях мониторинга почв примагистральных территорий установлены другие тенденции изменения количественного состава почвенного микробиоценоза, что может быть связано с комплексным негативным влиянием железнодорожного транспорта. Так, в почвах территорий, которые прилегают к железнодорожному пути и испытывают максимальные нагрузки поллютантов, наблюдается снижение количества аммонификаторов и микробицетов, в то же время наблюдается увеличение количества актиномицетов и олигонитрофилов в сравнении с почвой

отдаленных от путей территорий. Число аммонификаторов уменьшается как в условиях лабораторного эксперимента, так и в почве примагистральных экосистем. Численность ассоциаций азотфиксаторов – микроорганизмов, наиболее чувствительные к действию поллютантов – отличалась от фонового уменьшением, при внесении нитратных удобрений в случае лабораторного эксперимента, и в почве примагистральных экосистем. Однако, под влиянием различных концентраций соли меди количественный состав азотфиксаторов не менялся.

Ключевые слова: поллютанты, почвенный микробиоценоз, азотфиксаторы, нитратные удобрения, ПДК металла.

Anthropogenic impact on ecosystems has a great impact on the microbiocenosis dynamics and the flow of the soil microbiological processes. A comparative impact analysis of the different types of pollutants under laboratory experiment conditions has been carried out, and as well in vivo on the technogenic burden area. The effect of exogenous pollutants (various concentrations of copper salts, nitrogen fertilizers) on the abundance of some ecological and trophic groups of microorganisms has been investigated in a laboratory experiment. Also the monitoring studies of railway transport effect on the soil microbiocenoses qualitative and quantitative composition, selected at the different distances from the railway track, have been performed.

Research results indicate that under the anthropogenic pollutants exposure (heavy metals and nitrogen fertilizers) a change in the structure of soil microorganism complexes occurs, which manifests in a decrease of ammonifiers, actinomycetes, oligonitrophilous compared to the control. The other trends of quantitative composition changing in soil microbiocenosis have been detected under the soil monitoring conditions of the pre-railway territories, which can be related to a complex railway transport negative impact. For example, soils of the territories those are adjacent to the railway track and are influenced by the maximum pollutants loads have the reduced amount of ammonifiers and micromycetes, also at the same time, have the increased amount of actinomycetes and oligonitrophilous compared to the soil from the railway remote areas. The number of ammonifiers decreases in both under laboratory experiment conditions and in the soil of the pre-railway ecosystems. Nitrogen-fixing bacteria association abundance - the most sensitive microorganisms to the pollutants effect – differed from the background by the quantity decrease under nitrogen fertilizers application conditions in the case of a laboratory experiment and in a pre-railway ecosystems soil as well. Nevertheless, the quantity composition of nitrogen-fixing bacteria had not changed under the effect of different copper salts concentrations.

Key words: pollutants, soil microbiocenosis, ammonifiers, nitrogen-fixing bacteria, nitrate fertilizers, metal MPC.

1. Введение

Одним из главных качественных показателей почвы является её микробиологическая активность. Микробиоценоз почвы характеризует её потенциальное плодородие, суммарный результат биохимических процессов, обусловленных жизнедеятельностью микроорганизмов [1]. Качественный и количественный состав комплексов почвенных микроорганизмов является также важным диагностическим показателем состояния почвы, что связано с высокой чувствительностью отдельных представителей микробных сообществ к изменению экологических условий [2].

В большинстве регионов страны почвы находятся под влиянием техногенной

нагрузки (4,5 млн. га), что приводит к их загрязнению, в том числе нитратами, пестицидами, тяжелыми металлами. При этом интенсивность загрязнения определяет степень негативных изменений биологических свойств почвы. Несмотря на высокую приспособленность микробиоты к постоянным изменениям окружающей среды, равновесие микробных ценозов может нарушаться вследствие антропогенного и техногенного влияния [3].

Даная проблема характерна и для Закарпатской области в связи с максимальной приближенностью сельскохозяйственных угодий к авто- и железнодорожным магистралям, а также высокой интенсивностью транспортных перевозок, что объясняется приграничным

расположением области. Следует отметить и дополнительное загрязнение почв отдельных районов Закарпатья тяжелыми металлами, в результате аварий на горнорудных предприятиях Румынии [4].

Сведения о влиянии загрязнения тяжелыми металлами на микробиологическую, ферментативную активность и дыхание почвы, видовой состав и численность педомикробиоты не однозначны и требуют уточнения. По данным ряда исследований численность почвенных микроорганизмов при загрязнении тяжелыми металлами может снижаться, не изменяться или даже увеличиваться, поскольку влияние загрязнителей на микробоценоз зависит от природы поллютантов, его содержания в почве и срока экспозиции [5; 6]. К факторам антропогенного воздействия, имеющих важное значение для формирования и функционирования микробных сообществ почвы можно отнести различные формы и дозы удобрений. Несбалансированное применение минеральных удобрений приводит к нарушению экологического равновесия в системе почва-растение-человек [7]. Нарушения такого рода проявляются в снижении плодородия почвы и контаминации растительной продукции нитратами в критических дозах [8].

Значительное негативное влияние на качественные и количественные характеристики почвы, а в частности на почвенные микробные комплексы, оказывают промышленные предприятия, транспорт различного вида. Установлено, что все отходы, остающиеся от прохождения пассажирских и грузовых поездов, попадают в почву, грунтовые воды вблизи железнодорожных путей и разносятся на близлежащие поля и угодья, загрязняя почвенный покров [9]. В почвах территорий, находящихся вдоль железнодорожного пути, наблюдается также значительное загрязнение тяжелыми металлами, что может быть связано с перевозкой сыпучего минерального сырья [10].

2. Исследование состояния микробного ценоза почвы под влиянием ксенобиотиков

2.1. Материалы и методы

Исследования проводились в лабораторных условиях на базе микробиологической лаборатории кафедры генетики, физиологии растений и микробиологии Ужгородского национального университета. На дерново-подзолистой почве были смоделированы различные уровни загрязнения тяжелыми металлами (солью меди) и азотными удобрениями (аммиачной и кальциевой селитрами). В емкости с почвой вносили $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в дозах 1, 2, 5 и 10 предельно допустимые концентрации (1ПДК = 0,4 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ на 100 см²). Одновременно моделировали эксперимент с внесением вдвое и втрое возрастающих доз удобрений: аммиачной селитры - 15 г, 30 г, 45 г на 100 см² и кальциевой селитры - 30 г, 60 г, 90 г на 100 см². Изменения микробного пейзажа почвы регистрировали на 15 сутки эксперимента. Контрольные показатели регистрировали при исследовании почвы без внесенного поллютанта.

В естественных условиях отбирали почву на расстоянии 0, 25, 50 и 100 м от железнодорожного пути (Ужгородский район). Анализ микробного ценоза почвы проводили с использованием дифференциально-диагностических питательных сред методом серийных разведений почвенной суспензии. Так, аммонифицирующие микроорганизмы учитывали на мясопептонном агаре (МПА), актиномицеты - на крахмал-аммиачном агаре (КАА), микромицеты - на среде Сабуро, олигонитрофилы - на среде Эшби и азотфиксаторы - на среде Эшби методом обрастания комочков почвы [11].

2.2. Результаты

Исследования показали, что под действием тяжелых металлов (сульфата меди) происходит перестройка микробного ценоза почвы. Так, при внесении в почву 1 ПДК соли меди наблюдали существенное

снижение всех эколого-трофических групп микроорганизмов в сравнении с контролем: аммонификаторов - на 55,1%, микромицетов - на 82,6%, актиномицетов и микроорганизмов, которые ассимилируют органические формы азота - на 88%, азотфиксаторов - на 7%. Исключение составляют олигонитрофилы, количество которых при внесении 1 ПДК меди наоборот выросло на 32%. Количественные изменения микробиоценоза почвы в условиях загрязнения солью меди показаны на рис. 1.

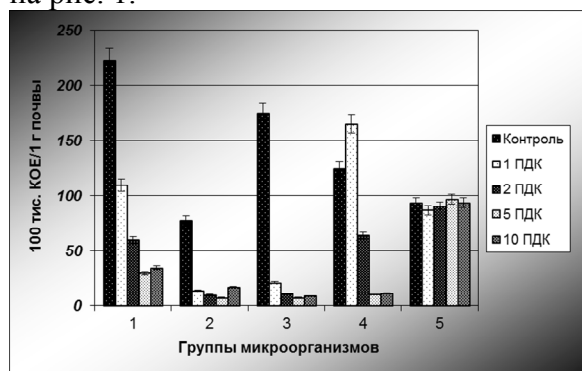


Рис 1. Изменения почвенного микробиоценоза в условиях загрязнения сульфатом меди

Примечание: 1-амонификаторы, 2 – микромицеты, 3 - актиномицеты, 4 – олигонитрофилы, 5 - азотфиксирующие микроорганизмы.

Таким образом, показано, что под влиянием 1 ПДК соли меди на микробиоценоз почвы наблюдается уменьшение количества всех эколого-трофических групп микроорганизмов. Однако, при внесении солей меди в почву на уровне 10 ПДК регистрировали тенденцию к незначительному повышению почти всех групп микроорганизмов: аммонификаторов - на 16,7% в сравнении с уровнем 5 ПДК, микромицетов - на 14,2%, актиномицетов - на 21,4%, олигонитрофилов - на 10%. Количество азотфиксаторов при внесении 10 ПДК соли меди достигало уровня контроля (93,3%). Результаты лабораторного исследования показали, что при внесении кальциевой и аммиачной селитры наблюдается тенденция к снижению численности аммонификаторов на среде МПА. Динамика изменения количественного состава различных эколого-трофических групп микроорганизмов при воздействии нитратных удобрений показана в таблице 1.

Результаты лабораторного исследования показали, что при внесении кальциевой и аммиачной селитры наблюдается тенденция к снижению численности аммонификаторов на среде МПА.

Таблица 1.

Количественный состав почвенного микробиоценоза в условиях загрязнения нитратными удобрениями

Доза удобрения	Группы микроорганизмов, $\times 10^5$ КОЕ/1 г абс. сухой почвы				
	Аммонификаторы	Микромицеты	Актиномицеты	Олигонитрофилы	Азотфиксаторы, %
Контроль	245 $\pm$ 2,5	77,5 $\pm$ 1,5	175 $\pm$ 1,5	125 $\pm$ 5	93,3
Кальциевая селитра					
30 г/см ²	75 $\pm$ 4,5	14,5 $\pm$ 0,5	22 $\pm$ 1	52 $\pm$ 4	76,6
60 г/см ²	45 $\pm$ 0,5	9 $\pm$ 4	13,5 $\pm$ 1,5	7 $\pm$ 1	73,3
90 г/см ²	55 $\pm$ 0,5	16 $\pm$ 1	27 $\pm$ 0,1	25 $\pm$ 0,5	56,6
Аммиачная селитра					
15 г/см ²	35 $\pm$ 1	5,5 $\pm$ 3,5	15,5 $\pm$ 2,5	41,5 $\pm$ 2	93,3
30 г/см ²	35 $\pm$ 1	18,5 $\pm$ 2	21,5 $\pm$ 4,5	15 $\pm$ 1,5	76,6
45 г/см ²	190 $\pm$ 3	73,5 $\pm$ 2,5	75 $\pm$ 2	88 $\pm$ 1	20

Результаты лабораторного исследования показали, что при внесении кальциевой и аммиачной селитры наблюдается тенденция к снижению численности аммонификаторов на среде МПА. Динамика изменения количественного состава различных

эколого-трофических групп микроорганизмов при воздействии нитратных удобрений показана в таблице 1. Так, внесение различных доз кальциевой селитры привело к уменьшению представителей данной группы в 3,3 - 5,4 раза. На среде Сабуро наблюдалось

повышение уровня микромицетов при наивысшей концентрации аммиачной селитры (45 г/см^2), в сравнении с контролем, при этом кальциевая селитра вызывала значительное уменьшение количества данной группы микроорганизмов в 3,8-6,6 раза. Четкую тенденцию снижения числа азотфиксаторов регистрировали в случае внесения кальциевой и аммиачной селитры на среде Эшби методом обрастания комочков почвы, при этом количество микроорганизмов уменьшалось пропорционально увеличению концентрации удобрения. Особенно резким

в сравнении с контролем оказалось уменьшение количества микроорганизмов данной группы под воздействием наиболее высоких концентраций аммиачной селитры (45 г/см^2) – в 4,6 раза, и в 1,6 раза – кальциевой селитры (90 г/см^2).

В результате мониторинговых наблюдений динамики микробных сообществ примагистральных экосистем также установлены существенные изменения микробных почвенных комплексов (табл. 2).

Таблица 2.

Количественный состав почвенного микробиоценоза в условиях антропогенной нагрузки (железнодорожный транспорт)

Расстояние от железнодорожного пути	Группы микроорганизмов, $\cdot 10^5$ КОЕ/1 г абс. сухой почвы				
	Аммонификаторы	Микромицеты	Актино-мицеты	Олигонитрофилы	Азотфиксаторы, %
0 м	$10,2 \pm 1,0$	$8,3 \pm 2,1$	$82,8 \pm 0,5$	$79,8 \pm 0,5$	13,3
25 м	$25,6 \pm 1,0$	$21,4 \pm 1,3$	$76,3 \pm 14,0$	$70,0 \pm 0,5$	56,7
50 м	$61,4 \pm 5,0$	$26,5 \pm 5,1$	$58,3 \pm 14$	$46,4 \pm 1,0$	63,3
100 м	$620,0 \pm 5,0$	$25,2 \pm 1,6$	$39,7 \pm 0,5$	$21,1 \pm 0,5$	100

Численность аммонификаторов (микроорганизмы осуществляющие минерализацию органических азотсодержащих соединений) закономерно увеличивалась с увеличением расстояния от железнодорожного пути. В точке отбора проб почвы 100 м количество аммонификаторов увеличивалось в 62 раза в сравнении с почвой территории. максимально приближенной к железнодорожной магистрали (табл. 2).

Анализ количества актинобактерий прижелезнодорожных территорий показал, что их количество уменьшается с увеличением расстояния от железнодорожного пути. Максимальное их количество зарегистрировано на расстоянии 0 м от железнодорожной магистрали, а на расстоянии 100 м их количество уменьшается в 1,4 раза ($58,3 \pm 14 \cdot 10^5$ КОЕ/1г абс. сух. почвы).

Наименьшее количество микромицетов обнаружено на расстоянии 0 м от железнодорожного пути ($8,3 \pm 2,1 \cdot 10^5$ КОЕ/1г абс. сух. почвы), что свидетельствует о замедлении естественного разложения органических

веществ. Уже на расстоянии 100 м от железнодорожной дороги количество микромицетов возрастает втрое. В почве, отобранной на расстоянии 0 м от магистрали, наблюдали повышенное количество олигонитрофилов ($79,8 \pm 0,5 \cdot 10^5$ КОЕ/1г абс. сух. почвы), что может свидетельствовать об относительно низкой обеспеченности этих почв азотом. На расстоянии 100 м количество микроорганизмов данной экологотрофической группы уменьшается почти в четыре раза.

Минимальную азотфиксирующую активность исследуемых почв регистрировали на расстоянии 0 м от железнодорожного пути (13,3%). Снижения данного показателя на фоне повышенной численности олигонитрофилов свидетельствует об ухудшении экологического состояния почвы. Численность азотфиксирующих микроорганизмов закономерно увеличивается с расстоянием от железнодорожного пути, при этом закономерно уменьшается количество олигонитрофилов.

3. Обсуждение результатов

Проведенные исследования показали, что почвенный микробиоценоз изменяется под влиянием разных видов поллютантов. При этом данная тенденция сохраняется как в лабораторных опытах, так и в почвах, которые находятся под влиянием антропогенного воздействия (железнодорожный транспорт). Исследования микробиоценозов почв, загрязненных тяжелыми металлами, нитратами и другими ксенобиотиками, имеют несомненное практическое значение. Изменения в структуре комплексов почвенных микроорганизмов, вызванные токсическим действием поллютантов, обладают биодиагностическим потенциалом. В то же время в популяциях микроорганизмов таких почв возможно появление штаммов, способных к активной деградации ксенобиотиков. Такие культуры, безусловно, перспективны для ремедиации природных сред.

Показано, что при внесении соли меди в дозе 1 ПДК происходит значительное уменьшение количества аммонификаторов, микромицетов, актиномицетов, азотфиксаторов, а в дозе 2 ПДК – еще и олигонитрофилов. Установленное нами незначительное повышение олигонитрофилов – микроорганизмов, которые развиваются на очень обедненных питательными веществами почвах, подтверждается литературными данными [12]. Наши исследования позволяют расположить различные почвенные эколого-трофические группы микроорганизмов по чувствительности к действию соли меди в следующий ранговый ряд: актиномицеты > микромицеты > аммонификаторы > азотфиксаторы > олигонитрофилы. Для большинства групп микроорганизмов загрязнения медью на уровне 1ПДК соответствует зоне стресса.

Изучение влияния азотных удобрений на микробный ценоз почвы показало, что под их воздействием также наблюдается выразительная тенденция к перестройке микробного почвенного комплекса: снижение уровня аммонификаторов, актиномицетов и

азотфиксаторов, также тенденция к возрастанию количества микромицетов и олигонитрофилов. Уменьшение численности большинства групп микроорганизмов под воздействием высоких доз азотных удобрений подтверждается данными других исследователей [10].

В результате проведения анализа количественного и качественного состава эколого-трофических групп микроорганизмов в почвах прижелезнодорожных территорий регистрировали следующие тенденции: повышение количества актинобактерий, олигонитрофилов, снижение аммонификаторов, микромицетов, азотфиксаторов при приближении к железнодорожному пути, что свидетельствует о неблагоприятном экологическом состоянии почвы. На расстоянии 100 м от железнодорожного пути происходит стабилизация микробного ценоза с преобладанием «агрономически полезных» групп микроорганизмов.

Таким образом, проведенные исследования указывают на необходимость постоянного мониторинга состояния микробных ценозов почв территорий в зонах воздействия поллютантов, а также изучения возможности использования почвенных микроорганизмов в качестве индикаторов загрязненности почв. Вместе с тем, почвы прилегающие к источнику техногенного загрязнения, могут рассматриваться как перспективные для поиска штаммов микроорганизмов-деструкторов данных ксенобиотиков с целью их последующего коммерческого использования для ремедиации природных объектов, загрязненных поллютантами.

Литература:

1. Schnabel U., Tietje O., Scholz R.W. (2004) *Uncertainty assessment for management of soil contaminants with sparse data*, Environ Manage, Vol. 33(6) – P. 911-925.
2. Свирскене А. (2003) *Микробиологические и биохимические показатели при оценке антропогенного воздействия на почвы*, Почвоведение, т. № 2.- С. 202-210.
3. Biro B., Bayoumi H., Balazsy S., Kecskes M. (1995) *Metal sensitivity of some symbiotic N₂-fixing bacteria*

and *Pseudomonas* strains, Acta Biologica Hungarica, Nr 1. – P. 9-16.

4. Копча Н., Бойко Н., Ніколайчук В., Чонка І. (2000) *Екологічні наслідки забруднення ріки Тиса важкими металами – мікробіологічний аспект*, Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології, №7. – С. 89.

5. Sarkar, B. (2002) *Heavy Metals in the Environment* CRC Press,. – 704 P.

6. Uricchio V. (2008) *Toxicological database of soil and derived products (BDT)*, Ann Ist Super Sanita, Vol. 44(1) – P. 81-87.

7. Патика В., Коць С., Волкогон В. (2003) *Біологічний азот*, К.: Світ. – 424 с.

8. Волкогон В. (2005) *Мікробіологія в сучасному аграрному виробництві*, Сільськогосподарська

мікробіологія: Міжвід. темат. наук. зб. – Чернігів,. – Вип. 1-2. – С. 6-29.

9. Стороженко Д., Сененко Н., Процько Я. (2009) *Вплив залізничного транспорту на якісні показники ґрунту*, Вісник Полтавської державної аграрної академії. - №4 – с. 114-116.

10. Андреюк К., Іутинська Г., Антипчук А. (2001) *Функціонування мікробних угруповань в умовах антропогенного навантаження*, К.: Обереги,. – 240 с.

11. Звягинцев Д. (1991) *Методы почвенной микробиологии и биохимии*, М.: Изд-во МГУ,. – 304 с.

12. Мислива Т., Герасимчук Л. (2011) *Вплив імпаکتного забруднення на біологічні властивості дерново-підзолистого ґрунту*, Вісник ХНАУ, №1., с. 262-270.