
БІОЛОГІЯ ҐРУНТІВ

УДК 631.46.631.445.41:631.84

І. М. Малиновська¹, Ю. І. Літвін²

МІКРОБНІ УГРУПОВАННЯ СІРОГО ЛІСОВОГО ҐРУНТУ, ЗАБРУДНЕНОГО ЗРОСТАЮЧИМИ ДОЗАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

¹Національний науковий центр «Інститут землеробства НААН»

²Національний авіаційний університет

Досліджували стан мікробних угруповань сірого лісового ґрунту, забрудненого важкими металами у дозі 5, 10, 100 ГДК, за наявності і відсутності вегетуючого фітоценозу. Встановлено, що індикаційними показниками на середньострокове забруднення ґрунту важкими металами є чисельність денітрифікаторів, автохтонних мікроорганізмів, чисельність та фізіолого-біохімічна активність азотобактера і полісахаридсинтезувальних бактерій, індекс педотрофності, коефіцієнт мінералізації азоту та фітотоксичність ґрунту. Показані масштаби і спрямованість змін мікробіологічних процесів залежно від рівня забруднення ґрунту важкими металами і наявності рослинного покриву.

Ключові слова: мікробіоценоз, сірий лісовий ґрунт, важкі метали, денітрифікатори, автохтонні, полісахаридсинтезувальні мікроорганізми, азотобактер, мінералізація, фітотоксичність.

И. М. Малиновская¹, Ю. И. Литвин²

¹Национальный научный центр «Институт земледелия НААН»

²Национальный авиационный университет

МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА СЕРОЙ ЛЕСНОЙ ПОЧВЫ, ЗАГРЯЗНЕННОЙ ВОЗРАСТАЮЩИМИ ДОЗАМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Исследовали состояние микробных сообществ серой лесной почвы, загрязненной тяжелыми металлами в дозе 5, 10, 100 ПДК, при наличии и отсутствии вегетирующего фитоценоза. Установлено, что индикаторными показателями на среднесрочное загрязнение почвы тяжелыми металлами являются численность денитрификаторов и автохтонных микроорганизмов, численность и физиолого-биохимическая активность азотобактера и полисахаридсинтезирующих бактерий, индекс педотрофности, коэффициент минерализации азота и фитотоксичность почвы. Показаны масштабы и направленность изменений микробиологических процессов в зависимости от уровня загрязнения почвы тяжелыми металлами и наличия растительного покрова.

Ключевые слова: микробиоценоз, серая лесная почва, тяжелые металлы, денитрификаторы, автохтонные, полисахаридсинтезирующие микроорганизмы, азотобактер, минерализация, фитотоксичность.

I. M. Malinovskaya¹, Y. I. Litvin²

¹National Scientific Center «Agryculture Institute of NAAS»

²National Aviation University

MICROBAL COMMUNITY OF GREY FOREST SOIL, POLLUTED BY INCREASING DOSES OF HEAVY METALS

The condition of microbial communities of grey forest soil polluted by heavy metals at a dose of 5, 10, 100 MPC at the presence and absence of vegetative phytocenosis has been examined. It is determined that indicator indices of medium-term pollution of soil by heavy metals are number of denitrifiers and autochthonous microorganisms, quantity and physiological and biochemical activity of azotobacter and polysaccharide synthesizing bacteria, nitrogen mineralization coefficient

and phytotoxicity of soil. The scale and orientation of microbiological process changes subject to the soil heavy metal pollution level and vegetable cover availability are indicated.

Key words: microbiocenosis, grey forest soil, heavy metals, denitrifiers, autochthonous, polysaccharide synthesizing microorganisms, azotobacter, mineralization, phytotoxicity.

Важкі метали відносяться до числа широко розповсюджених забруднювачів біосфери (Андреюк, 2001; Водяницький, 2005). На сьогоднішній день за ступенем небезпеки вони займають друге місце після пестицидів і значно випереджають такі широко відомі забруднювачі як двоокис вуглецю й сірки. Забруднення оточуючого середовища важкими металами обумовлено їх широким використанням у промисловому виробництві та недоліками у системах очищення, в результаті чого поллютанти потрапляють в навколишнє середовище разом з газопиловими викидами промислових підприємств, автотранспорту, домішками добрив, пестицидів тощо (Водяницький, 2005).

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Моделльний дослід був проведений з використанням сірого лісового крупнопилувато-легкосуглинкового ґрунту моніторингового полігону відділу адаптивних інтенсивних технологій зернових колосових культур та кукурудзи ННЦ «Інститут землеробства НААН» (дослідне господарство «Чабани», Києво-Святошинський район Київської області). У 0–20 см шарі ґрунту міститься: гумусу 2,74 %, лужногідролізованого азоту 9,33 мг, рухомого фосфору 36,8 мг та обмінного калію 15,3 мг на 100 г сухого ґрунту, $pH_{(КСІ)}$ – 5,6. Фітоценоз ділянок перелогу сформувався у результаті спонтанного заростання протягом 23 років і представлений, в основному, злаковими травами. Ґрунт відбирали восени і перед проведенням дослідів, його біологічну активність відновлювали шляхом зволоження та термостатування за 25 °С протягом 21 доби. Досліджували варіанти із штучно створеними фонами цинку і свинцю: 3,4 – перевищення ГДК у 5 разів; 5,6 – перевищення ГДК у 10 разів; 7,8 – перевищення ГДК у 100 разів. В якості контрольного зразка виступав ґрунт із природною концентрацією важких металів. При створенні фонів забруднення зважали на кислоторозчинну фракцію металів, оскільки саме вона вважається основною техногенною складовою у запасі важких металів у ґрунті.

За 8 діб до внесення важких металів у частину судин висівали насіння кукурудзи. У контрольні судини для вирівнювання вмісту азоту вносили розчин KNO_3 у відповідній концентрації.

Стан мікробних угруповань вивчали через 32 доби після внесення важких металів. Чисельність і фізіолого-біохімічну активність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп, спрямованість мікробіологічних процесів визначали методами, описаними раніше в наших публікаціях (Малиновська, 2011).

Статистичний аналіз результатів проводили з використанням сучасного комп'ютерного програмного пакету *Microsoft Office*.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з даних табл. 1, чисельність амоніфікувальних мікроорганізмів в результаті забруднення важкими металами зростає порівняно з контролем у ґрунті без рослин у 2,09–2,19 рази, у ґрунті з фітоценозом – на 26,4–31,4 %. Чисельність амоніфікувальних мікроорганізмів зростає за найменшої з досліджених доз важких металів і у подальшому не залежить від дози поллютанту. За короткотривалого забруднення (1 доба) внесення важких металів призводило до істотного зменшення чисельності амоніфікувальних мікроорганізмів як у варіантах без рослин, так і з фітоценозом. Отже, механізм впливу важких металів на чисельність амоніфікувальних мікроорганізмів змінюється з часом перебування ґрунту у забрудненому стані.

Чисельність автохтонних мікроорганізмів за короткотривалого забруднення ґрунту важкими металами теж істотно зменшувалася. За 32-добового інкубування ця закономірність збереглася, за виключенням варіанту із дозою важких металів 5 ГДК без фітоценозу, де відбувається підвищення чисельності автохтонних мікроорганізмів порівняно із незабрудненим ґрунтом (табл. 1). У ґрунті без рослин чисельність автохтонних мікроорганізмів зменшується прямо пропорційно рівню забруднення, а у ризосфері фітоценозу зменшується порівняно з контролем на 19,4–65,2 % і майже не залежить від рівня забруднення. Отже, механізми дії важких металів на мікроорганізми різних еколого-трофічних і функціональних груп розрізняються, а відносно деяких з них – змінюються з часом.

Рослини з їх кореневими виділеннями виступають у ролі протекторів щодо азотобактера, його чисельність у ризосфері рослин перевищує показники ґрунту без рослин: в контролі у 5,97 рази, за 5 ГДК – 9070, за 10 ГДК – у 14,9 рази (табл. 1). За максимального рівня забруднення важкими металами (100 ГДК) чисельність азотобактера у ґрунті без рослин перевищує його чисельність у ризосфері рослин. Можливо, за високих рівнів забруднення ґрунту важкими металами рослини не можуть виконувати протекторну функцію щодо азотобактера через біохімічний стрес. Про протекторну функцію рослин щодо азотобактера свідчать також результати вивчення фізіолого-біохімічної активності цих мікроорганізмів. Так, ВФК азотобактера у ризосфері рослин перевищує аналогічний показник ґрунту без рослин: у контролі у 2,94 рази, за 5 ГДК – у 195 рази, за 10 ГДК показники мають однакову величину, за максимального забруднення ґрунту важкими металами фізіолого-біохімічна активність азотобактера, також як і його чисельність, є максимальними у ґрунті без рослин (табл. 2). На нашу думку, азотобактер відноситься до важливої групи мікроорганізмів, які є індикаторами екологічної чистоти ґрунту, його чисельність зменшується при внесенні деяких поллютантів, зокрема нафтопродуктів (Малиновська, 2010, 2011). Підтвердженням цьому припущенню є отримані експериментальні дані щодо зміни фізіолого-біохімічної активності азотобактера у забрудненому ґрунті (табл. 2). Так, ВФК (вірогідність формування колоній) азотобактера у незабрудненому ґрунті перевищує показники варіантів із забрудненням 5 і 10 ГДК – у 72 рази, 100 ГДК – у 2,18 рази (без фітоценозу), у варіантах з фітоценозом відповідні показники склали 1,09, 212 і 15,8 рази (табл. 2). Отже, забруднення ґрунту важкими металами пригнічує фізіолого-біохімічну активність азотобактера і цей показник можна вважати індикаційним на забруднення сірого лісового ґрунту при рівнях забруднення 5–100 ГДК за відсутності рослинного покриву, при рівнях забруднення 10–100 ГДК – на ґрунтах із фітоценозом.

За короткострокового забруднення ґрунту важкими металами чисельність денітрифікаторів у ґрунті без рослин зменшується прямо пропорційно збільшенню дози забруднення. За 32-добового забруднення чисельність денітрифікаторів у ґрунті без рослин також зменшується пропорційно рівню забруднення: за 5 ГДК – у 5,47 рази, за 10 ГДК – 7,32, за 100 ГДК – у 16,9 рази. У присутності рослин чисельність денітрифікаторів знижується до певної величини, на яку майже не впливає доза поллютанту. Отже, групу денітрифікаторів можна вважати діагностичною на забруднення важкими металами при коротко- та середньострокових термінах забруднення на ґрунтах без вегетуючого фітоценозу.

Чисельність кислотоутворювальних мікроорганізмів є набагато більшою у ризосфері рослин порівняно з ґрунтом без фітоценозу, за виключенням максимальної дози важких металів, де спостерігається зворотна тенденція: чисельність і фізіолого-біохімічна активність кислотоутворювальних мікроорганізмів зменшуються саме у ризосфері рослин (табл. 1). Максимальне підвищення чисельності кислотоутворювальних мікроорганізмів у ризосфері рослин спостерігається за 10 ГДК – у 23,3 рази, за цього ж рівня забруднення спостерігали і максимальне підвищення їх фізіолого-біохімічної активності – у 25 разів. Оскільки органічні і мінеральні кислоти є важливими чинниками розчинності мінеральних елементів з важкодоступних форм, то можна вважати вказаний факт доказом з боку рослин інтенсифікації мікробіологічного розчинення мінеральних сполук у власній ризосфері. Рослини цілеспрямовано

підвищують чисельність мікроорганізмів, які здатні переводити у доступний їм стан необхідні їм мінеральні елементи. Забруднення ґрунту важкими металами за невідомої поки причини підсилює цей процес.

Чисельність мобілізаторів мінеральних фосфатів за відсутності забруднення важкими металами і за мінімальної дози важких металів в ризосфері рослин знижується, а за високих рівнів забруднення, навпаки, збільшується і, особливо, у варіанті 10 ГДК. Мобілізатори мінеральних фосфатів діють на важкорозчинні фосфати завдяки виділенню органічних і мінеральних кислот, а також високомолекулярних полісахаридів. Тому виникає протиріччя з даними щодо чисельності кислотоутворювальних мікроорганізмів. Можливо рослини кукурудзи мають такий склад кореневих виділень, який забезпечує мобілізацію важкодоступних фосфатів поза мікробіологічної мобілізації.

Чисельність і фізіолого-біохімічна активність полісахаридсинтезувальних мікроорганізмів у ґрунті, забрудненому важкими металами, є важливим індикаторним показником, оскільки бактеріальні полісахариди є неспецифічними протекторами щодо токсичної дії важких металів (Dudman, 1977). За короткочасного забруднення синтез полісахаридів ще не стає перевагою продуцентів у конкурентній боротьбі за виживання, тому чисельність полісахаридсинтезувальних мікроорганізмів знижується як у ґрунті без рослин, так і у ризосфері фітоценозу. За 32-добового інкубування забрудненого ґрунту чисельність полісахаридсинтезувальних мікроорганізмів зростає, особливо у ризосфері рослин, за 5 ГДК – в 2,24 рази, за 10 ГДК – 6,89, за 100 ГДК – в 1,67 рази (табл. 1). Максимальна чисельність полісахаридсинтезувальних мікроорганізмів спостерігається у варіанті забруднення 10 ГДК, подальше збільшення дози забруднення не призводить до зростання чисельності мікроорганізмів вказаної групи, можливо, через загальний токсичний вплив важких металів. Отже, підтверджені результати модельних досліджень (Dudman, 1977) щодо захисної дії бактеріальних полісахаридів відносно важких металів в умовах сірого лісового ґрунту.

Згідно літературних даних, важкі метали пригнічують мінералізацію органічних сполук у ґрунті (El-Shinnawi, 1976; Landa, 1978). Отримані нами результати узгоджуються з літературними даними: у ґрунті без рослин індекс педотрофності зменшується за 5 ГДК на 76,6 %, за 10 ГДК – 43,2, за 100 ГДК – на 133,6 %, у ризосфері фітоценозу витрачання органічної речовини суттєво знижується лише за максимального забруднення (табл. 3). Інтенсивність мінералізації сполук азоту зменшується у ґрунті без рослин за 5 ГДК у 3,20 рази, за 10 ГДК – 2,27, за 100 ГДК – у 1,57 рази, у ризосфері рослин, особливо за середнього і максимального рівня забруднення, мінералізація сполук азоту інтенсифікується на 73,4 %. Таким чином, спрямованість мінералізаційних процесів у забрудненому важкими металами ґрунті залежить від рівня забруднення і наявності рослинного покриття.

На прикладі рослин пшениці і сої раніше було показано, що активність мінералізації гумусових сполук у ризосфері рослин є нижчою, ніж у ґрунті без фітоценозу (Малиновська, 2007а, 2007б). Отримані дані підтверджують цю закономірність: активність мінералізації гумусу у кореневій зоні рослин кукурудзи нижча за таку ґрунту без рослин: без забруднення на 66,2 %, за 5 ГДК – 90,2, за 10 ГДК – 77,0, за 100 ГДК – на 18,4 % (табл. 3). Отже, у ґрунті без рослин, де відсутній постійний приток речовин, що легко утилізуються, у складі кореневих виділень, деградація гумусових сполук протікає інтенсивніше. Із підвищенням рівня забруднення ґрунту важкими металами рослини все менше впливають на процес мінералізації гумусових сполук.

Забруднення важкими металами призвело до суттєвого збільшення фітотоксичності ґрунту без фітоценозу за 5 ГДК на 8,40 %, за 10 ГДК – на 16,2 %, у ґрунті з фітоценозом збільшення фітотоксичності спостерігалось лише за 10 ГДК – на 15,7 % (табл. 3). Доза важких металів у 100 ГДК виявилася токсичною настільки, що насіння тест-рослин не проросло.

Таким чином, за середньотривалого забруднення сірого лісового ґрунту важкими металами спостерігаються істотні зміни стану мікробного угруповання,

Таблиця 1

Вплив важких металів на чисельність мікроорганізмів у сірому лісовому ґрунті, забрудненому важкими металами протягом 32 днів, млн. КУО*/ г абсолютно сухоґо ґрунту

№, з/п	Варіант	Амоніфікатори	Мобілізатори мінерального азоту	Оліготрофи	Азотобактер, % обростання грудочок ґрунту	Денітрифікатори	Нітрифікатори	Літотрофи	Целюлозоруйнівні бактерії	Полісахаридсинтезуючі	Автохтонні	Стрептоміцети	Мікроміцети	Мобілізатори мінеральних фосфатів	К ₂	Кислототворювальні
1	Контроль без рослин	240,6	93,9	75,3	0,670	128,1	0,248	83,8	153,3	5,82	21,9	44,2	0,023	23,3	0,611	0,390
2	Контроль + фітоценоз	730,9	68,7	21,4	4,00	121,8	0,484	117,4	65,0	5,54	18,5	28,8	0,173	10,0	0,313	2,58
3	5 ГДК без рослин	502,5	61,2	25,7	0,010	23,4	0,725	98,9	90,8	1,56	32,7	30,0	0,058	10,1	0,698	0,010
4	5 ГДК + фітоценоз	368,9	30,0	22,4	90,7	48,7	0,974	64,2	76,1	12,3	11,2	20,6	0,144	6,12	0,543	0,010
5	10 ГДК без рослин	526,3	90,4	30,4	0,670	17,5	1,08	127,9	101,4	7,02	19,6	56,5	0,031	11,3	0,170	0,390
6	10 ГДК + фітоценоз	923,9	150,7	78,4	10,0	59,0	0,496	150,7	83,7	37,9	13,1	39,0	0,246	19,9	0,406	9,09
7	100 ГДК без рослин	516,7	128,2	20,6	20,0	7,58	0,390	76,9	71,1	4,27	13,4	45,9	0,128	12,8	0,353	15,2
8	100 ГДК + фітоценоз	960,9	156,5	53,7	4,67	26,6	1,16	105,1	95,1	9,21	15,5	54,9	0,391	13,8	1,16	1,53
	НР ₀₅	15,3	6,11	3,16	1,82	4,45	0,160	5,68	2,00	0,54	2,97	1,99	0,009	0,94		0,005

Примітка: КУО* – колонієутворююча одиниця

Таблиця 2
Вірогідність формування колоній мікроорганізмів (λ , год⁻¹ · 10³) у сірому лісовому ґрунті, забрудненому важкими металами протягом 32 діб

№, з/п	Варіант	Амоніфікатори	Імобілізатори мінерального азоту	Олігонітрофіли	Денітрифікатори	Ліхотрофи	Автохтонні	Целюлозоруйнівні	Мікрощисти	Мобілізатори мінеральних фосфатів	Азотобактер	Кислототворювальні	Стрептоміцети
1	Контроль без рослин	1,50	0,158	5,56	0,836	1,28	4,73	4,14	1,69	2,67	0,723	0,263	0,559
2	Контроль + фітоценоз	0,367	0,153	3,11	13,5	4,33	6,08	1,20	2,98	3,82	2,12	0,721	0,639
3	5 Г/ДК без рослин	0,424	0,189	1,02	0,439	1,00	4,93	0,745	2,13	4,27	0,010	0,010	0,615
4	5 Г/ДК + фітоценоз	1,88	0,146	2,78	10,7	2,64	3,61	0,846	1,06	2,58	1,95	0,020	0,516
5	10 Г/ДК без рослин	1,53	0,054	2,46	0,192	2,81	2,97	0,451	0,556	2,76	0,010	0,010	0,580
6	10 Г/ДК + фітоценоз	2,47	0,065	2,83	13,0	2,06	4,74	2,49	2,24	1,62	0,010	0,252	0,558
7	100 Г/ДК без рослин	0,971	0,063	1,24	4,01	2,55	4,26	2,80	5,41	3,44	0,332	2,64	0,615
8	100 Г/ДК + фітоценоз	2,73	0,017	3,80	0,294	1,37	5,02	1,44	2,21	4,12	0,134	0,261	0,590

уповільнюється більшість досліджених мінералізаційних процесів, зростає накопичення токсичних речовин. Масштаби і спрямованість таких змін залежать від рівня забруднення ґрунту і наявності рослинного покриву.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Андреюк К. І.** Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження / К. І. Андреюк, Г. О. Іутинська, А. Ф. Антипчук та ін. – К. : Обереги, 2001. – 240 с.
- Водяницький Ю. Н.** Изучение тяжелых металлов в почвах / Ю. Н. Водяницький. – М. : ГНУ Почвенный институт им. В. В. Докучаева РАСХН, 2005. – 110 с.
- Малиновська І. М.** Мікробіологічні процеси в ризосфері рослин у забрудненому нафтопродуктами ґрунті / І. М. Малиновська, Н. А. Зінов'єва // Мікробіологія і біотехнологія. – 2011. – № 2. – С. 83-91.
- Малиновська І. М.** Особливості мікробних комплексів сірого лісового ґрунту перелогів та агроценозів / І. М. Малиновська, О. О. Черниш, О. П. Романчук // Збірник наукових праць Інституту землеробства. – К. : ЕКМО, 2007а. – Вип. 2. – С. 29-34.
- Малиновська І. М.** Спрямованість та інтенсивність мікробіологічних процесів у забрудненому нафтопродуктами темно-сірому опідзоленому ґрунті / І. М. Малиновська, Н. А. Зінов'єва // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2010. – № 4. – С. 17-23.
- Малиновська І. М.** Стан мікробіоценозу ризосфери сої за комплексного оброблення насіння фосфатмобілізуючими мікроорганізмами і *Bradyrhizobium japonicum 71T* / І. М. Малиновська // Агроекологічний журн. – 2007б. – № 3. – С. 79-83.
- Dudman W. F.** The role of surface polysaccharides in natural environments // Surface carbohydrates of the procariotic cell / Ed. I.W. Sutherland. – New York: Acad.Press, 1977. – P. 357-414.
- El-Shinnawi M. M, Omran M. S.** Effect of different levels of a trace element nutritional mixture on organic matter decomposition and the number of certain heterotrophs in soil // Rostl. Vyroba. – 1976. – Vol. 22, N 1. – P. 11-17.
- Landa E. R., Frank S. C.** Effect of mercuric chloride on carbon mineralization in soils // Plant and Soil. – 1978. – Vol. 49, N 1. – P. 179-183.

Рекомендує до друку
А. В. Боговін

Надійшла до редколегії 05.04.12