

ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВ ЭКОСИСТЕМ БАЛТИЙСКОГО РЕГИОНА

М.В. Куркина¹, П.В. Масленников¹, А.С. Уманский²

¹Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

²Калининградский государственный технический университет, Россия

Широкомасштабное экологическое загрязнение, возрастающее в последние десятилетия из-за городской, промышленной и сельскохозяйственной деятельности, может привести к серьезным угрозам здоровью человека и природным экосистемам [1]. Одним из самых загрязненных компонентов окружающей среды является почва. При значительной техногенной нагрузке она аккумулирует токсичные соединения, и сама становится источником экологической опасности для растений, животных и человека [2]. Загрязнение почвы органическими и неорганическими поллютантами влияет на свойства почвы, изменяя её функции и снижая видовое разнообразие [3]. В первую очередь почвенное загрязнение оказывает давление на чувствительные к загрязнению микроорганизмы, изменяя состав микробного сообщества [4]. Высокая чувствительность и индикационная способность микроорганизмов позволяет использовать их в качестве инструмента мониторинга антропогенных изменений с целью ранней диагностики техногенного повреждения почвенного покрова. Изучение структуры микробных сообществ почвы, выявление чувствительных и резистентных к загрязнению микроорганизмов важно для понимания способности экосистем к адаптации и устойчивости к условиям загрязнения, а также возможности использования микроорганизмов для биоремедиации трансформированных экосистем [5]. Доминирующая роль микроорганизмов в биогеохимических циклах побуждает исследователей к изучению биогеографии почвенных микробных сообществ. Были предприняты попытки понять, как микробное разнообразие почвы изменяется по всему земному шару, и как это разнообразие связано с физическими, химическими и биологическими характеристиками экосистем, а также с человеческой деятельностью, в том числе и урбанизацией [6]. Поэтому изучение почвенного покрова и микробных сообществ почвы является одним из перспективных направлений в почвоведении и экологии и позволяет проследить роль экологических и антропогенных факторов в изменении свойств почвы и, как следствие, ее функционировании. В связи с этим были изучены доминантные микробные сообщества почв юго-восточной части региона Балтийского моря (Калининградская область), выявлены вариации относительного обилия и встречаемости доминирующих почвенных микробных сообществ и определены наиболее важные геоэкологические факторы, определяющие их состав.

Объектами исследования служили различные экосистемы Калининградской области, расположенные в природных ландшафтах Калининградского полуострова и Куршской косы. Для изучения микробных сообществ почв на данных территориях были заложены постоянные ключевые участки. Площадь каждого участка составляла 100 м². Отбор проб почвы для микробиологического анализа осуществляли методом «конверта» с глубины 10 см с соблюдением стерильности [7]. При взятии проб измеряли температуру почвогрунтов, отбор почвы проводился в металлические бьюксы. Температуру почвы измеряли на глубине взятия пробы почвенным термометром (ГОСТ-112–51). Определение pH почвенной среды осуществляли с помощью портативного pH-метра HANNA марки HI8314. Влажность почвы определяли весовым методом. В образцах почв анализировали содержание тяжелых металлов рентгенфлуоресцентным методом на приборе Спектроскан Макс G производства ООО «НПО Спектрон». Сбор почвенных образцов проводили весной, летом и осенью, в апреле, июле и октябре соответственно в период с 2009 года по 2012 год. В данной работе представлены сведения о качественном и количественном составе микрофлоры за летний период.

Микробиологические исследования проводили в свежих образцах почв в первые сутки после отбора проб. Почвенные пробы освобождали от камней и корней растений, просеивали, тщательно перемешивали и брали среднюю пробу почвы массой 10 г., вносили ее в колбу с 90 мл стерильной воды для приготовления суспензии клеток почвенных микроорганизмов. Полученную суспензию хорошо взбалтывали на аппарате для встряхивания АБУ-6С в течение 5 минут, и после осаждения почвенных частиц, использовали для приготовления суспензий со степенью разведений от 10⁻² до 10⁻⁷. Для определения численности микроорганизмов из суспензий разных разведений осуществляли посев глубинным способом на плотные элективные питательные среды определенного состава.

Для выделения аммонифицирующих микроорганизмов использовали мясо-пептонный агар (МПА); микроорганизмы, использующие минеральные формы азота, в том числе и актиномицеты, выявляли на крахмало-аммиачном агаре (КАА); азотфиксирующие микроорганизмы – на среде Эшби; целлюлозоразрушающие микроорганизмы – на среде Гетчинсона; аэробные спорообразующие бактерии учитывали на питательной среде, состоящей из равных объемов мясо-пептонного агара и сусло-агара; микроскопические грибы – на среде Чапека.

Все микроорганизмы культивировали при температуре 28°C. Затем проводили количественный учет выросших на чашках Петри колоний микроорганизмов. Количество микроорганизмов рассчитывали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на грамм абсолютно сухой почвы. Полученные результаты обработаны статистически с применением программ Microsoft Excel и представлены в виде средних арифметических значений с указанием стандартных отклонений.

Установлено, что изученные экосистемы представлены различными типами почв, от песчаных неполно развитых на зарастающих дюнах Куршской косы (сосняк ветниково-булавоносный) до болотно-низинных-перегонно-торфяных на польдерах (двукисточниково-манниковый фитоценоз). Показатели pH почвы изменялись от 4,4 в березняке осиново-кленово-подмаренниково-крапивном на болотной низинной торфяно-глеевой почве до 7,4 в агрофитоценозе на камбисолях (табл. 1).

Таблица 1. Геоботаническая характеристика ключевых участков Калининградского полуострова и Куршской косы

Участок	Название фитоценоза	Тип почвы	pH почвы
1	березняк осиново-кленово-подмаренниково-крапивный	болотная низинная торфяно-глеевая на моренных песках	4,4
2	осоково-подмаренниково-люпиновый	дерново-глеевая среднесуглинистая на моренных супесях	6,4
3	агрофитоценоз (озимая рожь)	камбисоль окультуренная среднесуглинистая на моренных суглинках	7,4
4	ельник буково-кисличный	камбисоль среднесуглинистая на моренных суглинках	5,4
5	двукисточниково-манниковый	болотная низинная перегонно-торфяная	7,1
6	ольс крапивно-подмаренниковый	болотная низинная торфяная глеевая маломощная на морских отложениях	6,6
7	сосняк злаково-разнотравный	дерново-торфяно-среднеподзолистая маломощная песчаная на эоловых глауконитовых песках	6,4
8	сосняк мохово-лишайниковый	торфянисто-поверхностно-подзолистая маломощная песчаная на эоловых глауконитовых песках	7,2
9	сосняк ветниково-булавоносный	песчаная неполно развитая	7,2
10	разнотравно-злаковый	дерново-среднеподзолистая иллювиально-железистая окультуренная песчаная на древнеаллювиальных отложениях	6,9

Почвы исследованных экосистем характеризовались различной влажностью с наименьшими показателями в сосняках на Куршской косе, которые в летний период в среднем варьировали от 1,4 % в сосняке ветниково-булавоносном на песчаной незакрепленной растениями дюне до 3,2 % в сосняке злаково-разнотравном на дерново-торфяно-среднеподзолистой маломощной песчаной почве и наибольшими показателями в болотных низинных почвах в березняке осиново-кленово-подмаренниково-крапивном (94,9 %) и в двукисточниково-манниковом фитоценозе на польдерах (141,4 %). Температура почвы в летнее время в среднем за период с 2009 года по 2012 год колебалась от 14,3°C в болотной низинной торфяно-глеевой почве на моренных песках березняка осиново-кленово-подмаренниково-крапивного до 23,7°C в песчаной неполно развитой почве сосняка ветниково-булавоносного на не закрепленной растениями дюне Куршской косы.

Важным качеством почвы является плодородие. Его можно оценить по биологической активности, основу которой составляет численность почвенных микроорганизмов [8]. В этом плане наибольший интерес представляют основные физиологические группы микроорганизмов, участвующие в процессах почвообразования и самоочищения почвы.

Изучение количественного содержания микроорганизмов, участвующих в процессе аммонификации показало, что их наибольшая численность выявлена летом 2009 года в почвах ельника буково-кисличного и двукисточниково-манникового фитоценоза, а в период с 2010 по 2011 год аммонификаторы преобладали в березняке осиново-кленово-подмаренниковом на болотной почве. Летом 2012 года наибольшая активность аммонифицирующих микроорганизмов была отмечена в почвах агрофитоценоза и сосняках – злаково-разнотравном и ветниково-булавоносном на Куршской косе. Микроорганизмы, использующие минеральные формы азота, в том числе и актиномицеты, выявляли на крахмало-аммиачном агаре. Установлено, что их численность в почвах всех исследованных ключевых участков варьировала в значительных пределах, а суммарное количество микроорганизмов использующих минеральные формы азота за период с 2009 года по 2012 год было наибольшим в ельнике буково-кисличного на камбисолях.

Среди всех микроскопических организмов, обитающих в почве, особая роль принадлежит азотфиксаторам, способным связывать молекулярный азот воздуха. Результаты исследования численности азотфиксирующих микроорганизмов в почвах различных экосистем Калининградского полуострова и Куршской косы показали, что наибольшей азотфиксирующей активностью характеризовалась почва двукисточниково-манникового фитоценоза и березняка осиново-кленово-подмаренниково-крапивного в 2009 и 2010 годах соответственно. Важным показателем качества почвы является ее целлюлозолитическая активность. Целлюлоза (клетчатка) – наиболее распространенный полисахарид растительного мира. Целлюлозу в почве разлагают бактерии, грибы, актиномицеты. Скорость разложения клетчатки зависит от наличия в почве легкодоступного азота, фосфора и других элементов и в целом отражает энергию мобилизации и направленность хода микробиологических процессов. Проведенные исследования показали, что численность целлюлозоразрушающих микроорганизмов была наибольшей в 2009 году в почвах всех исследованных экосистем, а самое высокое их содержание выявлено в окультуренных камбисолях агрофитоценоза с озимой рожью. Одним из показателей деструкционной функции микроорганизмов в почве является интенсивность минерализационных процессов, на которую влияет ряд экологических факторов. Спрогнозировать направленность и интенсивность процесса минерализации можно с помощью спорообразующих бактерий, обладающих более мощным ферментативным аппаратом по сравнению с неспороносными бактериями. Выявлено, что наибольшим содержанием аэробных спорообразующих бактерий отличались болотные низинные перегойно-торфяные почвы двукисточниково-манникового фитоценоза на польдерах, а наименьшим – дерново-среднеподзолистые иллювиально-железистые окультуренные песчаные почвы на древнеаллювиальных отложениях разнотравно-злакового фитоценоза.

Почва разнотравно-злакового фитоценоза характеризовалась более высоким уровнем микроскопических грибов. В этой почве наряду с дерново-торфяно-среднеподзолистой и торфянисто-поверхностно-подзолистой почвами сосняков Куршской косы численность микромицетов преобладала по сравнению с другими исследованными ключевыми участками. Изучение количественного содержания микромицетов и их соотношения с основными группами микробного населения почвы важно для понимания степени нарушения экосистем и необходимо учитывать при изучении антропогенного воздействия на экосистемы. Например, увеличение численности микроскопических грибов в антропогенно-измененной почве можно связать с ее устойчивостью к неблагоприятным факторам среды. В процессе жизнедеятельности микромицеты выделяют в окружающую среду различные органические кислоты, которые, нейтрализуют токсическое действие тяжелых металлов, образуя с ними менее токсичные комплексы.

Просуммировав численность микроорганизмов на разных селективных питательных средах, можно судить о величине микробиологической активности, которая отражает биогенность почвы и является одним из показателей биологической активности почвы, обеспечивает ее плодородие и исключительную самоочищающую способность.

Проведенные исследования показали, что из всех исследованных ключевых участков, расположенных на территории Калининградского полуострова и Куршской косы наибольшей биологической активностью почвы в 2009 году характеризовался ельник буково-кисличный на камбисолях, в 2010 году – осоково-подмаренниково-люпиновый фитоценоз на дерново-глеевой среднесуглинистой почве на моренных супесях, в 2011 году – агрофитоценоз на камбисолях окультуренных среднесуглинистых на моренных суглинках и двукисточниково-манниковый фитоценоз на болотной низинной перегойно-торфяной почве, а в 2012 – агрофитоценоз (рис. 1).

На следующем рисунке представлена средняя за исследуемый период микробиологическая активность почв природных экосистем Калининградского полуострова и Куршской косы (рис. 2). Установлено, что агрофитоценоз и ельник буково-кисличный отличаются наибольшей численностью почвенных микроорганизмов, что свидетельствует об их высокой, по сравнению с другими ключевыми участками, биологической активности.

Почва является сложной и динамичной экосистемой, в которой происходят существенные физические, химические и биологические процессы. Накопление тяжелых металлов в почвах является одним из важных показателей загрязнения экосистем. Концентрация тяжелых металлов в исследуемых образцах почв не превышала ПДК. Исключение – мышьяк, во всех изученных экосистемах его концентрация в почвах превышала норму в 2–3,9 раза. При анализе содержания элементов в почвах участков исследования была выявлена положительная корреляция: As / Co ($r = 0,67$; $p < 0,05$), Zn / Ni ($r = 0,71$; $p < 0,05$), Zn / Cr ($r = 0,85$; $p < 0,05$), Ni / Co ($r = 0,67$; $p < 0,05$), Ni / Cr ($r = 0,59$; $p < 0,05$).

В процессе данной работы были изучены различные природные экосистемы, расположенные на территории Калининградского полуострова и Куршской косы. Проведенные исследования показали, что данные экосистемы отличаются не только характером почвенного покрова, но и видовым разнообразием растений, значениями pH почвенной среды и физическими показателями – влажностью и температурой. Установлено, что экосистемы представлены большим разнообразием почв, от песчаных неполно развитых на зарастающих дюнах Куршской косы до болотно-низинных-перегноино-торфяных на польдерах Калининградского полуострова. В целом на изученной территории встречаются разные типы почв: торфяные болотные, дерново-глеевые, дерново-подзолистые, подзолистые и бурые лесные почвы.

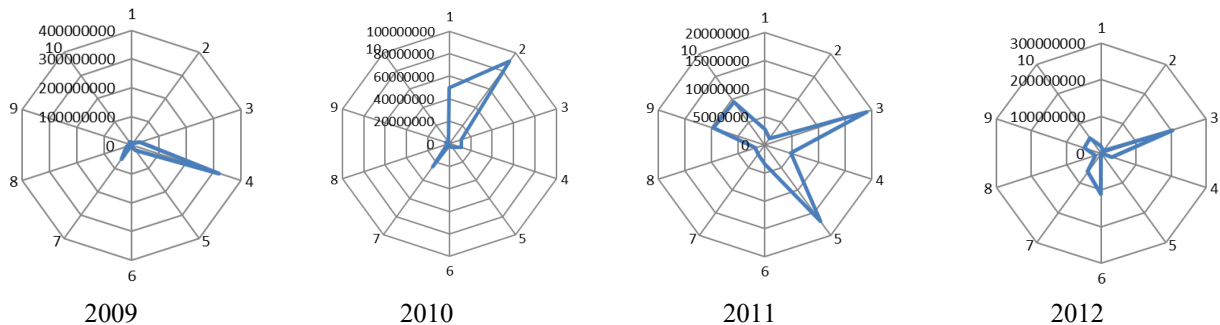


Рис. 1. Микробиологическая активность почв природных экосистем Калининградского полуострова и Куршской косы: 1 – березняк осиново-кленово-подмаренниково-крапивный; 2 – осоково-подмаренниково-люпиновый фитоценоз; 3 – агрофитоценоз (озимая рожь); 4 – ельник буково-кисличный; 5 – двукисточниково-манниковый фитоценоз; 6 – ольс крапивно-подмаренниковый; 7 – сосняк злаково-разнотравный; 8 – сосняк мохово-лишайниковый; 9 – сосняк веяниково-булавоносный; 10 – разнотравно-злаковый фитоценоз

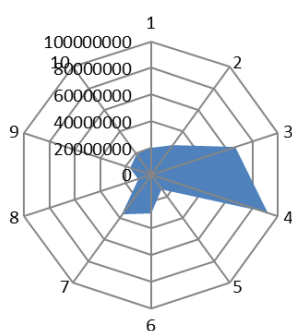


Рис. 2. Средняя микробиологическая активность почв природных экосистем Калининградского полуострова и Куршской косы

Определение численности представителей основных групп микробного сообщества почвы показало, что почвы природных экосистем Калининградского полуострова и Куршской косы отличаются количественным содержанием аммонифицирующих, азотфиксирующих, целлюлозоразрушающих микроорганизмов, микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, а также спорообразующих бактерий и микромицетов. В среднем за исследуемый период бурые лесные почвы агрофитоценоза и ельника буково-кисличного обладали наибольшей по сравнению с другими почвами численностью микроорганизмов, что указывает на их высокую биологическую активность. Данные показатели характеризуют состояние и устойчивость экосистем и отражают геоэкологические и биологические характеристики природных ландшафтов юго-восточной части Балтийского региона. Представленные природные ландшафты являются преобладающими на территории Калининградского полуострова и Куршской косы, что позволяет использовать их в качестве эталонных при исследовании урбанизированных экосистем для изучения трансформации микрофлоры и почвенного покрова под воздействием антропогенного фактора.

Данное исследование было поддержано в рамках реализации Программы повышения конкурентоспособности БФУ им. И. Канта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chen M., et al. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: Applications, microbes and future research needs // *Biotechnol. Adv.* 2015. Vol. 33. P. 745–755.
2. El fadeli S., Bouhouch R., El abbassi A., Chaik M., Aboussad A., Chabaa L., Lekouch N., Hurrell R.F., Zimmermann M.B., Sedki A. Health risk assessment of lead contamination in soil, drinking water and plants from Marrakech urban area, Morocco // *J. Mater. Environ. Sci.* 2014. Vol. 5. P. 225–230.
3. Pardo T., et al. Evaluation of the phytostabilisation efficiency in a trace elements contaminated soil using soil health indicators // *J. Hazard. Mater.* 2014. Vol. 268. P. 68–76.
4. Igbinsola E.O. Effect of cassava mill effluent on biological activity of soil microbial community // *Environ. Monit. Assess.* 2015. Vol. 187. P. 418.
5. Kurkina M.V., Dedkov V.P., Zotov S.I. An analysis of actinomycete complex structure in Cambisol of South-East Baltic for the purposes of environmental monitoring // *JMES*. 2017 Vol.8. P. 1258–1265.
6. H-K. Song, et al. Adams Environmental filtering of bacterial functional diversity along an aridity gradient // *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9. P. 866.
7. Теплер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2004. 256 с.
8. Мосина Л.В. Основы экотоксикологии. М.: Изд-во РГАУ – МСХА, 2013. 99 с.