УДК 630*907.1

ВЛИЯНИЕ ПОГОДЫ НА ФЛЮКТУАЦИЮ МИКРОБОЦЕНОЗА И ДЕГРАДАЦИЮ ПЕСТИЦИДОВ ПРИ БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОЧВЫ ПУЛОМ МИКРООРГАНИЗМОВ

Фрейберг И.А., Стеценко С.К.

ФГБУН «Ботанический сад УрО РАН», Екатеринбург, Россия, (620134, г. Екатеринбург, ул. Билимбаевская, 32а), e-mail: stets_s@mail.ru

Представлены результаты сравнительного исследования эффективности способа очистки почвы от пестицидной токсичности в лесных питомниках с помощью кооперативного действия микроорганизмов в разные по количеству осадков годы с характеристикой флюктуации основных таксономических групп микроорганизмов. Эксперименты проводились на основе мелкоделяночных опытов в лесном питомнике. В опыте исследовалось влияние на флюктуацию микроорганизмов и деструкцию пестицидов внесением их на трех видах подстилки: из насаждений березы (березовая), сосны (сосновая) и смешанных по породному составу насаждений (смешанная). Контролем служили делянки без внесения подстилки. Эффективность разложения пестицидов оценивалась по выходу сеянцев сосны нормального фенотипа. Также изучались активность каталазы, количественный учет микроорганизмов. Опыт проводился в разные по гидрологическим условиям годы. Показано, что в достаточно обеспеченный осадками год перенос в почву, загрязненную пестицидами, подстилки с сапрофитами оказывает положительное влияние на сеянцы независимо от состава насаждения. При неблагоприятных условиях для жизнедеятельности микроорганизмов не происходит деструкция пестицидов, о чем свидетельствует отсутствие различия с контролем по выходу сеянцев нормального фенотипа. При этом изменяется состав микробоценоза: снижается количество сапрофитных бактерий, способных разлагать сложные органические соединения.

Ключевые слова: сеянцы сосны, лесные питомники, выращивание леса, микроорганизмы, сапрофиты, разложение пестицидов.

EFFECTS OF WEATHER ON FLUCTUATIONS OF MICROBIAL DEGRADATION OF PESTICIDES IN SOIL AT THE BIOREMEDIATION BY MICROORGANISMS

Freiberg I.A., Stetsenko S.K.

Botanical Garden, Ural Branch RAS, Ekaterinburg, Russia, (620134 Ekaterinburg, ul. Bilimbaevskaya 32a). e-mail: stets_s@mail.ru

Results of effectiveness research method of cleaning soil from pesticide toxicity in forest nurseries due the cooperative action of microorganisms in different by rainfall ability years with description of fluctuations major taxonomic groups of microorganisms are presented. Researching was carried out on the basis of small plot experiments in forest nursery. Influence of fluctuation on microbial degradation of pesticides and their submission for three types of forest litter: birch, pine and mixed (taking from forest stand with different species) was investigated. Control plots were without making forest litter. The efficiency of pesticides decomposition assessed by the exit of pine seedlings normal phenotype. Also studied the activity of catalase and number of microorganisms. The experiment was conducted in years different by the hydrological conditions . It is shown that in a well provided rainfall year the addition the forest litter with saprophytes to the soil contaminated by pesticides, has a positive effect on seedlings, regardless of stand composition . Under unfavorable conditions for microbial activity the destruction of pesticides was not occur, as evidenced by the absence of differences with control plots by number of the seedlings with normal phenotype. This changes the composition microbocenosis: reduced number of saprophytic bacteria capable of degrading complex organic compounds.

Keywords: pine seedlings, forest nurseries, forest cultivation, microorganisms, saprophytes, decomposition of the pesticide.

Введение

Основываясь на положении о соединении популяционных групп микроорганизмов в сообщества и об авторегуляции их состава и количества, нами был предложен способ очистки почвы от пестицидного загрязнения с помощью кооперативного действия микроорганизмов, которые вносятся на насыщенной ими лесной подстилке в загрязненную почву лесного

питомника. Многолетние опыты по проверке предложенного способа подтвердили его эффективность в годы достаточного увлажнения, близкие по количеству осадков к среднегодовым. Учитывая значение для жизнедеятельности микроорганизмов гидрологических условий, мы считали целесообразным провести сравнительное исследование результатов эффективности предложенного способа очистки почвы от пестицидной токсичности в разные по количеству осадков годы с характеристикой флюктуации основных таксономических групп микроорганизмов.

Цель исследования

Цель работы – установить флюктуацию таксономических групп микробоценоза при колонизации загрязненной пестицидами почвы в разные по гидрологическим условиям годы и эффективность очистки почвы от пестицидного загрязнения почвы кооперативным действием микроорганизмов при внесении их на лесной подстилке.

В задачу входили исследования в зависимости от гидротермических условий года флюктуации крупных таксономических групп микроорганизмов и влияния на деструкцию пестицидов активности микробных сообществ лесной подстилки в зависимости от породного состава насаждений.

Методы исследования

Исследования проводились на основе мелкоделяночных опытов в питомнике с дерново-подзолистой среднесуглинистой почвой. Плотность пахотного горизонта почвы 1,03 г/см^3, pH солевой вытяжки 4,9, содержание гумуса 4,23%, подвижных калия и фосфора 1,6 и 5,2 мг на 100 г почвы соответственно. Таким образом, уровень почвенного плодородия не препятствует выращиванию стандартных сеянцев сосны и соответствует требованию необходимого окультуривания почвы лесных питомников согласно программе «Окультуривание и повышение плодородия почв лесных питомников», одобренной научно-техническим Советом Федеральной службы лесного хозяйства России (Москва, 1993 г.), а также ОСТу 56-93-87.

Однако в связи с тем, что в питомнике более 20 лет использовался широкий набор пестицидов (2,4-Д, далапон, симазин, ТМТД, фундазол, раундап и др.), почва питомника характеризуется высоким загрязнением. Об этом свидетельствует морфологическое состояние сеянцев сосны, которые в основном представлены тератоморфными сеянцами – условно нормальными и аномальными [6].

Опыт состоял их двух повторностей. Первая повторность (посев и выращивание) была приурочена к 2006-2007 гг., вторая – к 2009-2010 гг. Годы проведения опытных работ различались по гидротермическим условиям (рис. 1).

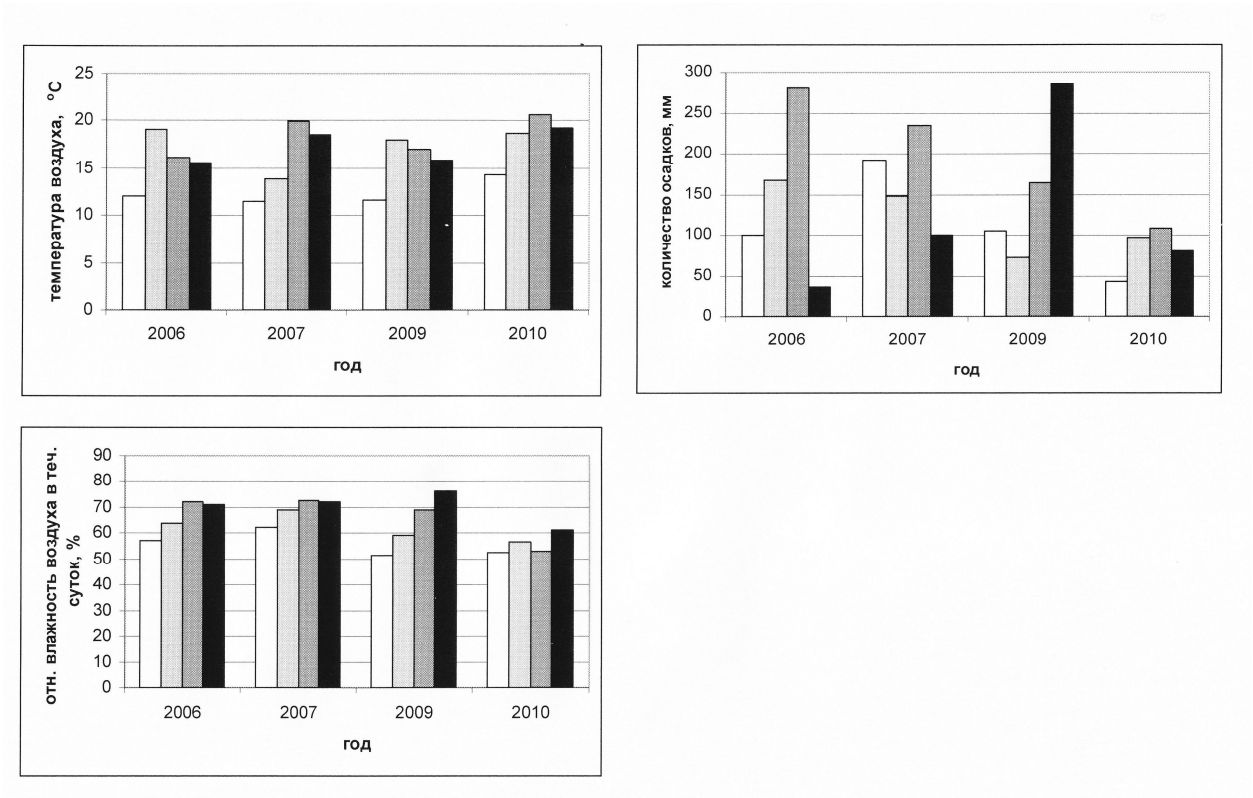

Рисунок 1. Погодные условия вегетационных периодов 2006-2007 гг. и 2009-2010 гг. (данные метеостанции Екатеринбург, Россия, WMO_ID=28440 предоставлены WEB-сайтом «Расписание Погоды», rp5.ru)

Данные на рисунке представлены по месяцам: - май, - июнь, - июль, - август.

В опыте исследовалось влияние на флюктуацию микроорганизмов и деструкцию пестицидов внесением их на трех видах подстилки: из насаждений березы (березовая), сосны (сосновая) и смешанного по породному составу насаждения (смешанная). Контролем служили делянки без внесения подстилки. Посев семян, обработка и уход за посевами осуществлялись теми же способами, которые обычно используются в лесных питомниках [4]. Лесная подстилка собиралась весной и вносилась в пахотный горизонт почвы (5-15 см) в количестве 20 кг/м^2, что составляет около 10% от веса 15-сантиметрового слоя почвы площадью 1 м^2. Сеянцы выращивались два года. В середине сентября их выкапывали, сортировали и оценивали согласно критериям, разработанным для определения фенотипов сеянцев сосны [6]. В опытах по принятым в биологии методикам изучалась активность каталазы [5]. Для оценки результатов опытов служило количество сеянцев нормального фенотипа. Количественный учет микроорганизмов (таксономических групп) выполнялся чашечным методом прямого микроскопического учета.

Результаты и их обсуждение

Действие на деструкцию пестицидов микроорганизмов при внесении подстилки из разных по породному составу насаждений в достаточно обеспеченный осадками год показано в таблице 1. Данные ее свидетельствуют о том, что перенос в почву, загрязненную пестицидами, подстилки с сапрофитами оказывает положительное влияние на сеянцы независимо от состава насаждения.

Таблица 1

Количество 2-летних сеянцев нормального фенотипа и активность каталазы при внесении в почву подстилки из насаждений разного породного состава

Подстилка	Первая повторность				Вторая повторность			
	Активность каталазы, мл O_2 на 1 г почвы за 1 мин			Сеянцы нормального фенотипа, %	Активность каталазы, мл O_2 на 1 г почвы за 1 мин			Сеянцы нормального фенотипа, %
	19.06.06	04.09.06	14.06.07		26.06.09	24.08.09	06.07.10	
Березовая	1,0	1,4	1,5	50,7	2,2	2,9	1,9	17,0
Сосновая	1,1	1,2	1,8	64,3	2,1	3,3	1,9	12,7
Смешанная	1,0	1,2	1,6	56,4	2,3	2,6	1,5	17,2
Контроль	0,8	1,0	1,2	1,9	1,9	2,5	1,3	17,2

В вариантах опыта первой повторности, приведенных в таблице 1, более высокий выход сеянцев нормального фенотипа коррелирует с активностью микробиологического потенциала различных подстилок, что проявляется в активности каталазы, которая коррелирует с численностью почвенных микроорганизмов [2].

Вторая повторность опыта – посев в 2009 г., выполнена по той же схеме, что и предыдущая. Но положительного результата получено не было. О том, что не произошла деструкция пестицидов, свидетельствует отсутствие различия с контролем по выходу сеянцев нормального фенотипа. Полагаем, что причина сохранения пестицидов заключается в неблагоприятной для жизнедеятельности микроорганизмов погоде и, возможно, в связи с этим изменением состава микробоценоза. В период, когда происходит адаптация к новым условиям и активизация жизнедеятельности микроорганизмов, осадков было в 2 раза меньше, чем в 2006 г., что не замедлило сказаться на состоянии микробоценоза, объем которого, судя по активности каталазы, резко меняется и снижается в 2010 г. (табл. 1). О более благоприятных условиях 2006 г. свидетельствует стабильная активность каталазы, которая повышается в течение вегетационного периода и на второй год (табл. 1).

Таблица 2

Соотношение таксономических групп микробоценоза при колонизации почвы, тыс. шт. на 1 г абс. сух. почвы /%

Вид лесной подстилки	Время наблюдений	Грибы		Бактерии		Актиномицеты		Всего	
		Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
Первая повторность опыта									
Березовая	07.05.06	20,2	5,26	357,9	93,28	5,6	1,46	383,7	100
	19.06.06	7,8	6,30	107,2	86,60	8,8	7,10	123,8	100
	19.09.07	53,0	13,77	261,7	67,97	70,4	18,26	385,0	100
Сосновая	07.05.06	71,1	18,74	289,7	76,32	5,6	1,48	379,6	100
	19.06.06	8,7	7,02	101,0	81,52	14,2	11,46	123,9	100
	19.09.07	96,6	21,78	288,8	65,12	58,1	13,10	443,5	100
Смешанная	07.05.06	118,6	14,68	681,0	84,28	8,1	1,00	808,0	100
	19.06.06	8,7	3,45	235,3	93,41	7,9	3,14	251,9	100
	19.09.07	80,9	15,96	380,1	74,98	46,0	9,07	507,0	100
Вторая повторность опыта									
Березовая	07.05.06	53,1	6,58	533,3	66,10	220,4	27,32	806,8	100
	19.06.06	78,1	14,30	414,1	75,81	54,0	9,89	516,2	100
	19.09.07	109,4	23,39	300,3	64,19	58,1	12,42	467,8	100
Сосновая	07.05.06	81,1	9,92	691,4	84,58	44,9	5,49	817,4	100
	19.06.06	59,7	11,10	367,3	68,30	110,8	20,62	537,8	100
	19.09.07	82,7	22,62	232,8	63,68	50,1	13,70	365,6	100
Смешанная	07.05.06	21,4	3,11	481,4	69,93	185,6	26,96	688,4	100
	19.06.06	35,1	9,71	273,8	75,76	52,5	14,53	361,4	100
	19.09.07	85,8	22,6	241,3	63,53	52,7	13,88	379,8	100

Однако для деструкции пестицидов важно не столько количество микроорганизмов, сколько наличие среди них сапрофитов. О том, как меняется их количество в микробоценозе при флюктуации можно судить по содержанию крупных таксономических групп. Методом прямого учета крупных таксономических групп микроорганизмов были установлены по вариантам опыта соотношения их в исходном микробоценозе и в период адаптации (табл. 2), а также динамика их при колонизации загрязненных почв питомника в разные по увлажнению годы (табл. 3). Как следует из таблицы 2, доминирующей в микробоценозе таксономической группой в течение всего периода адаптации во всех вариантах опыта независимо от влажности года были бактерии, хотя и наблюдалось их сокращение за счет увеличения содержания грибов и микромицетов. Особенно обращает на себя внимание повышение количества грибов в условиях второй повторности опыта. Такая же тенденция наблюдается и в отношении

актиномицетов. Это согласуется с литературными источниками о меньшей требовательности к влаге у грибов и актиномицетов [1].

Таблица 3

Динамика таксономических групп микроорганизмов в период их адаптации, тыс. шт. на 1 г абс. сух. почвы /%

Вид лесной подстилки	Время наблюдений	Грибы		Бактерии		Актиномицеты		Всего	
		Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
Первая повторность опыта									
Березовая	07.05.06	20,2	100	357,9	100	5,6	100	383,7	100
	19.06.06	7,8	38,6	107,2	30,0	8,8	157,0	123,8	32,2
	19.09.07	53,0	262,4	261,7	73,0	70,4	1257,1	385,0	100,3
Сосновая	07.05.06	71,1	100	289,7	100	5,6	100	379,6	100
	19.06.06	8,7	12,2	101,0	34,9	14,2	253,4	123,9	32,6
	19.09.07	96,6	135,9	288,8	99,7	58,1	1037,4	443,5	117,0
Смешанная	07.05.06	118,6	100	681,0	100	8,1	100	808,0	100
	19.06.06	8,7	7,3	235,3	34,6	7,9	97,5	251,9	31,2
	19.09.07	80,9	68,2	380,1	55,8	46,0	568,0	507,0	62,7
Вторая повторность опыта									
Березовая	07.05.06	53,1	100	533,3	100	220,4	100	806,8	100
	19.06.06	78,1	147,1	414,1	77,45	54,0	26,4	516,2	58,0
	19.09.07	109,4	206,0	300,3	56,3	58,1	26,4	467,8	58,0
Сосновая	07.05.06	81,1	100	691,4	100	44,9	100	817,4	100
	19.06.06	59,7	73,6	367,3	33,7	110,8	247,0	537,8	65,8
	19.09.07	82,7	101,6	232,8	33,7	50,1	112,0	365,6	44,7
Смешанная	07.05.06	21,4	100	481,4	100	185,6	100	688,4	100
	19.06.06	35,1	164,0	273,8	56,9	52,5	28,3	361,4	52,5
	19.09.07	85,8	400,9	241,3	50,1	52,7	28,40	379,8	55,2

Начало колонизации загрязненной пестицидами почвы сопровождалось значительным снижением общего количества микроорганизмов. В основном оно происходило за счет бактерий (табл. 3). Дальнейшая колонизация микроорганизмов в первой повторности опыта, в достаточно благоприятных термодинамических условиях, сопровождалась вполне удовлетворительной адаптацией микроорганизмов, о чем свидетельствует рост микроорганизмов всех таксономических групп при доминировании бактерий. Иначе обстояло дело во второй

повторности опыта, в условиях недостаточного увлажнения. Здесь в течение всего периода колонизации-адаптации наблюдается значительное сокращение бактерий (около 30 – 50% от начального). Известно, что семейство бактерий в основном представлено сапрофитами [3].

Таким образом, изменение гидротермических условий влечет за собой сокращение сапрофитов-деструкторов пестицидов, что объясняет неудачные результаты во второй повторности опыта. Следует отметить, что начавшееся сокращение количества микроорганизмов на первом этапе колонизации не затронуло группу грибов. В течение всего периода наблюдается увеличение этой группы микроорганизмов. Данные таблицы 3 свидетельствуют об успешной адаптации микроорганизмов аборигенов в условиях обеспечения влагой агрофитоценоза и замедлении восстановления их количества в сухих условиях.

Выводы

1. Флуктуация микроорганизмов особенно четко проявляется у бактерий, отрицательно реагирующих на снижение влажности среды, и в увеличении численности грибов и актиномицетов в более сухие периоды.
2. Первый этап колонизации сопровождается снижением как общего количества микроорганизмов, так и по отдельным таксономическим группам (особенно это заметно у бактерий). Исключение составляет группа грибов в сухой год.
3. При адаптации в достаточно влажный год количество микроорганизмов при доминировании бактерий полностью восстанавливается и обеспечивает дальнейшее разрушение пестицидов. При неблагоприятных гидрологических условиях снижение составляет 30-50% от первоначального, и соответственно падает.
4. Для разрушения пестицидов возможно использование заселенных микроорганизмами лесных подстилок из разных по породному составу насаждений.

Список литературы

1. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. – М. : МГУ, 1989. – 336 с.
2. Курбатов И.М., Двойнишникова Е.И. Катализная активность как показатель общей биологической активности почвы // Сб. докл. по ферментам почв. – Минск : Наука и техника, 1968. – С. 100-102.
3. Никитин Д.И. Экология бактерий // Жизнь растений. – Т. 1. – М. : Просвещение, 1974. – С. 314-320.
4. Новосельцева А.И., Смирнов Н.А. Справочник по лесным питомникам. - М. : Лесн. пром-сть, 1983. – 280 с.
5. Практикум по агрохимии / под ред. В.Г. Минеева. - М. : МГУ, 1989. – 304 с.

6. Фрейберг И.А., Ермакова М.В., Стеценко С.К. Влияние пестицидов на морфологию и физиолого-биохимические показатели сеянцев сосны обыкновенной // Лесоведение. – 2004. – № 2. – С. 55-60.

Рецензенты:

Терехов Г.Г., д.с.-х.н., заведующий отделом лесоведения, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук», г. Екатеринбург.

Кожевников А.П., д.с.-х.н., доцент, профессор кафедры лесоводства, ФГБОУ ВПО «Уральский государственный лесотехнический университет», г. Екатеринбург.