

ОПЫТ ОЧИСТКИ ПОЧВЫ ОТ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ЕСТЕСТВЕННОГО ПУЛА МИКРООРГАНИЗМОВ

Фрейберг И.А.¹, Стеценко С.К.¹, Терехов Г.Г.¹, Луганский В.Н.², Толкач О.В.¹

¹ *Ботанический сад УрО РАН, Екатеринбург, Россия e-mail: stets_s@mail.ru;*

² *Уральский государственный лесотехнический университет, Екатеринбург, Россия, e-mail: Lug32@yandex.ru*

Целью эксперимента было показать возможность очистки почвы лесных питомников от загрязнения раундапом с помощью кооперативного действия микроорганизмов, населяющих лесную подстилку. Проводилось изучение динамики ассоциаций микроорганизмов в процессе разрушения пестицида, количественного соотношения таксономических групп микробценоза при колонизации загрязненной раундапом почвы. Были выявлены наиболее благоприятные лесорастительные условия (тип леса) для взятия лесной подстилки с целью обогащения ассоциацией микроорганизмов загрязненной пестицидами почвы. Полученные данные позволяют считать, что процесс колонизации микроорганизмами загрязненной раундапом почвы на фоне однородных водно-физических свойств почвы в вариантах опыта и погодных условий, близких к среднегодовым, проходит вполне успешно и ведет к деградации пестицида. Динамика микроорганизмов свидетельствует об устойчивости естественного пула микроорганизмов при колонизации загрязненной почвы и возможности использования микробценозов на лесной подстилке с предпочтением взятия ее из сосняков разнотравного и травяного типов леса.

Ключевые слова: сосна, сеянцы сосны, разложение пестицидов, микробценоз, лесная подстилка, биоремедиация

EXPERIENCE IN PURIFICATION OF SOIL FROM ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS WITH NATURAL POOL OF MICROORGANISMS

Freiberg I.A.¹, Stetsenko S.K.¹, Terekhov G.G. ¹, Luganskiy V.N.², Tolkach O.V.¹

¹ *Botanical Garden, Ural Branch RAS, Ekaterinburg, Russia, e-mail: stets_s@mail.ru;*

² *Ural State Forest Engineering University, Ekaterinburg, Russia, e-mail: lxf@usfeu.ru*

The experiment shows the possibility of cleaning soil from pollution forest nurseries from Roundup using cooperative action of microorganisms that inhabit the forest litter. The study the dynamics of microbial associations in the process of destruction of the pesticide and the quantitative ratio of taxonomic groups microbocenosis during colonization of contaminated soil by Roundup was carried. Identified the most favorable site conditions (type of forest) for taking forest litter in order to enrich the association of microorganisms in the contaminated soil. The data obtained suggest that the process of colonization by microorganisms of soil contaminated by Roundup in homogeneous water-physical properties of the soil of the experimental variants and weather conditions that are close to the average annual indicators quite successful and leads to the degradation of the pesticide. Dynamics of microorganisms indicative of the stability of the natural pool of microorganisms colonize the contaminated soil and the possibility of using microbial of the forest litter with a preference for taking it out of mixed grass and grass pine forest types.

Keywords: pine, pine seedlings, decomposition of pesticides, microorganisms, forest litter, bioremediation

В последнее время среди многочисленных пестицидов, используемых в лесных питомниках, особенно большое распространение получило применение раундапа (фосфорорганического соединения). Из многочисленных литературных источников известно, что трансформация раундапа (основное действующее вещество глифосат) происходит в течение 1-3 лет [10]. Г.А. Жариков [2], разрабатывающий технологии очистки почв, при проведении фундаментальных исследований отмечает, что до сих пор отсутствует технология очистки почв от этих соединений.

Цель исследования

Целью нашей работы было показать возможность очистки почвы лесных питомников от загрязнения раундапом с помощью кооперативного действия микроорганизмов. Способ разработан и апробирован в отделе лесоведения Ботанического сада УрО РАН и основан на теоретическом положении о соединении популяционных групп микроорганизмов в сообщества и авторегуляции их состава и количества [6]. В качестве носителя микроорганизмов взята богатая микроорганизмами лесная подстилка [8]. Считаем, что из существующих способов очистки наиболее дешевым, в связи с близостью леса, является способ использования микроорганизмов. При этом внесение вместо подстилки навоза или компоста, хотя они и богаты микроорганизмами, совершенно недопустимо. Богатая органикой среда обеспечит потребность в ней микроорганизмов без дополнительного разрушения ими пестицидов.

В задачу исследований входило изучение динамики ассоциаций микроорганизмов в процессе разрушения пестицида, количественного соотношения таксономических групп микробиоценоза при колонизации загрязненной раундапом почвы, выявление наиболее благоприятных лесорастительных условий (тип леса) насаждений для взятия лесной подстилки с целью обогащения ассоциацией микроорганизмов загрязненной пестицидами почвы.

Методы исследования

Исследования проводились на основе мелкоделяночного опыта в питомнике с дерново-подзолистой среднесуглинистой почвой. Уровень почвенного плодородия отвечает 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.). В опыте исследовалось влияние на деструкцию раундапа микроорганизмов, внесенных на лесной подстилке из трех насаждений: чистого по породному составу березняка (10Б), расположенного в верхней трети макросклона юго-западной экспозиции. Тип леса – сосняк брусничный (С бр); смешанного по породному составу насаждения (5-6С 4-5Б), расположенного в средней части этого же склона. Тип леса – сосняк травяной (С тр). Чистого по составу сосняка (10С), приуроченного к нижней части, почти к подошве макросклона юго-восточной экспозиции. Тип леса – сосняк разнотравный (С ртр). Все три насаждения различаются по особенностям почв и характеру увлажнения. Б.П. Колесников с соавторами [3], характеризуя сосняк брусничный, отмечают, что ему свойственно занимать верхние части склонов с легкими различной мощности свежими, периодически сухими почвами. Для типов леса сосняк разнотравный и травяной свойственны сравнительно тяжелые свежие периодически влажные почвы.

Контролем в опыте служили делянки без внесения лесной подстилки. В каждый вариант опыта вносили раундап в дозе 3 л/га.

Посев семян, обработка и уход за посевами осуществлялись теми же способами, которые обычно используются в лесных питомниках [5], кроме регламентируемого правилами выращивания сеянцев полива. Лесная подстилка собиралась весной и вносилась в пахотный горизонт почвы (5-15 см) в количестве 20 кг/м², что составляет около 10% от веса 15-сантиметрового слоя почвы площадью 1 м². Сеянцы выращивались два года. В середине сентября их выкапывали, сортировали и оценивали согласно критериям, разработанным для определения фенотипов сеянцев сосны [9]. Для оценки успешной деструкции пестицида служило количество сеянцев нормального фенотипа, поскольку тератогенез сеянцев сосны (нарушение морфологии стволиков) является биоиндикатором загрязнения почвы пестицидами [10].

Количественный учет таксономических групп микроорганизмов выполнялся чашечным методом прямого микроскопического учета. Для оценки водно-физических свойств почвы, содержания гумуса и рН использовали принятые в почвоведении методики [7]. Работа выполнялась с учетом погодных условий.

Результаты и их обсуждение

Учет общего количества микроорганизмов и их таксономических групп, составляющих микробоценоз в исходных образцах подстилки (взяты 5 мая 2013 г.) свидетельствует об их приуроченности к типам леса с разными почвенными и гидрологическими условиями (табл. 1). Как следует из таблицы 1, в типе леса сосняк брусничный (С бр) с менее влажной почвой по сравнению с сосняками травяным и разнотравным, обеспеченных значительно большим количеством влаги, не только количество микроорганизмов, но и состав таксономических групп микробоценоза отвечает их экологическим требованиям. В типе леса сосняк брусничный наблюдается меньшее количество бактерий и наибольшее – актиномицетов, которые могут развиваться при низкой влажности субстрата [4]. Подстилка из влажных условий произрастания как сосновая, так и смешанная отличаются значительно большим количеством микроорганизмов, а среди таксономических групп преобладают бактерии. Особенно это относится к подстилке из сосняка разнотравного.

Таблица 1

Соотношение таксономических групп микробоценоза при колонизации почвы,
тыс. шт. на 1г абс. сухой почвы

Вид лесной подстилки, тип леса	Время наблюдени й	Грибы		Бактерии		Актиномицеты		Всего	
		кол-во	%	кол- во	%	кол-во	%	кол-во	%
Березовая, С бр	22.05.2013	13,0	1,94	112,0	16,68	546,5	81,38	671,5	100
	04.07.2013	126,1	19,14	395,8	60,07	137,0	20,79	658,9	100
	05.09.2013	84,3	13,00	303,6	45,00	281,0	42,00	669,7	100
	24.06.2014	123,6	64,34	41,8	21,75	26,7	13,89	192,1	100
	02.09.2014	48,8	17,74	137,3	49,92	88,9	32,32	275,0	100
Сосновая, С тр	22.05.2013	224,6	17,70	687,4	54,17	357,0	28,13	1269,9	100
	04.07.2013	131,8	26,29	166,2	53,10	103,3	20,61	501,3	100
	05.09.2013	243,3	30,19	412,6	51,04	152,4	18,86	808,4	100
	24.06.2014	72,7	50,37	54,4	37,93	16,3	11,36	143,4	100
	02.09.2014	65,7	38,13	99,8	57,92	6,8	3,94	172,3	100
Смешанная, С тр	22.05.2013	42,9	4,38	457,4	46,73	478,5	48,88	978,8	100
	04.07.2013	134,5	19,27	405,6	58,14	157,6	22,59	697,8	100
	05.09.2013	168,5	25,79	280,2	42,80	206,2	31,50	654,9	100
	24.06.2014	73,9	37,70	93,1	47,61	29,0	14,79	196,0	100
	02.09.2014	36,8	15,49	148,6	62,56	52,1	21,93	237,5	100
Контроль, Почва питомника	22.05.2013	98,1	17,15	349,8	61,16	124,0	21,68	571,9	100
	04.07.2013	130,4	23,78	304,1	55,45	113,9	20,77	548,4	100
	05.09.2013	229,4	32,92	269,7	38,71	197,7	28,37	696,8	100
	24.06.2014	48,1	59,16	30,6	37,63	2,6	3,19	81,3	100
	02.09.2014	26,7	32,96	52,0	64,19	2,3	2,83	81,0	100

При перенесении подстилок на загрязненную раундапом почву лесного питомника во всех случаях отмечается реакция микроорганизмов на изменившиеся почвенные условия. Это выражается в снижении общего количества микроорганизмов (табл. 1, 2).

Таблица 2

Динамика таксономических групп микроорганизмов в период их адаптации,

тыс. шт. на 1г абс. сухой почвы / %

Вид лесной подстилки, тип леса	Время наблюден ий	Грибы		Бактерии		Актиномицеты		Всего	
		кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
Березовая, С бр	22.05.2013	13,0	100,0	112,0	100,0	546,5	100,0	671,5	100,0
	04.07.2013	126,1	970,0	395,8	354,0	137,0	25,1	658,9	98,1
	05.09.2013	84,3	648,5	303,6	271,1	281,0	51,4	669,7	99,8
	24.06.2014	123,6	950,8	41,8	37,3	26,7	4,9	192,1	28,6
	02.09.2014	48,8	375,4	137,3	122,6	88,9	16,3	275,0	40,9
Сосновая, С ртр	22.05.2013	224,6	100,0	687,4	100,0	357,0	100,0	1269,0	100,0
	04.07.2013	131,8	58,70	266,2	38,70	103,3	28,9	501,3	39,5
	05.09.2013	243,3	108,30	412,6	68,00	152,4	42,7	808,4	63,7
	24.06.2014	72,7	32,4	54,4	7,9	16,3	4,6	143,4	11,3
	02.09.2014	65,7	29,3	99,8	14,5	6,8	1,9	172,3	13,6
Смешанна я, С тр	22.05.2013	42,9	100,0	457,4	100,0	478,5	100,0	978,8	100,0
	04.07.2013	134,5	313,5	405,6	88,7	157,6	32,9	697,8	70,3
	05.09.2013	168,5	392,8	280,2	61,3	206,2	43,1	654,9	66,9
	24.06.2014	73,9	172,3	93,1	20,4	29,0	6,1	196,0	20,0
	02.09.2014	36,8	85,8	148,6	32,5	52,1	10,9	237,5	24,3
Контроль	22.05.2013	98,1	100,0	349,8	100,0	124,0	100,0	571,9	100,0
	14.07.2013	130,4	132,9	304,1	86,9	113,9	91,9	548,4	95,9
	05.09.2013	229,4	233,8	269,7	77,1	197,7	159,4	696,8	121,8
	24.06.2014	48,1	49,0	30,6	8,7	2,6	2,1	81,3	14,2
	02.09.2014	26,7	27,2	52,0	14,9	2,3	1,9	81,0	14,2

Однако это едва ли можно связывать только с новыми условиями существования. Изменения количества микроорганизмов в сторону их уменьшения произошло и в почве питомника. Здесь оно составило всего 4 – 5%, в то время как во втором и третьем вариантах до 30 и 60%. Обращает на себя внимание поведение ассоциации микроорганизмов из типа леса сосняк брусничный.

Таблица 3

Водно-физические свойства в вариантах опыта

Водно-физические свойства	Дата	Варианты опыта, лесная подстилка			
		1. Березовая	2. Сосновая	3. Смешанная	Контроль
Плотность, г/см ³	4.07.13	0,75	0,79	0,78	0,97
	24.06.14	0,81	0,70	0,74	0,86
Полевая влажность, %	4.07.13	28,09	26,09	25,93	23,37
	24.06.14	24,48	28,93	28,42	23,57
Удельная масса, г/см ³	4.07.13	2,59	2,70	2,59	2,64
	24.06.14	2,60	2,70	2,60	2,60
Полная влагоемкость, % объема почвы	4.07.13	71	70	70	63

Снижение общего их количества здесь составляет всего 2%, но состав микробоценоза четко меняется. В этом случае при колонизации загрязненной почвы микроорганизмы попадают в более влажные благоприятные условия. В нем снижается ранее доминирующее количество актиномицетов, доминанта переходит к бактериям и сохраняется в течение всего первого года колонизации. В типах леса сосняка травяного и разнотравного доминировали бактерии. Они же продолжали сохранять свои позиции с некоторыми изменениями и при дальнейшей адаптации.

На второй год эксперимента в микробоценозе во всех вариантах преобладали как грибы, так и бактерии, с явным преобладанием последних к концу вегетационного периода (табл. 1,2). Общее количество микроорганизмов к этому времени при внесении подстилки из сосняка разнотравного и травяного увеличивается. В варианте внесения подстилки из сосняка брусничного увеличение происходит за счет актиномицетов.

Считаем, что процесс колонизации микроорганизмами почвы, загрязненной раундапом, на фоне однородных водно-физических свойств почвы в вариантах опыта (табл. 3) и погодных условий, близких к среднегодовым (рис. 1) проходит успешно и ведет к деструкции пестицида и в первый, и во второй год эксперимента. В вариантах опыта формируются 1 и 2-летние сеянцы сосны нормального фенотипа (табл. 4). Сопутствие сеянцев сосны разного фенотипа связано с неполным разрушением раундапа и диффузным распространением в почве пестицидов [1]. Однако количество тератоморфных растений в процентном отношении выше в контроле, чем в вариантах с подстилкой.

Таблица 4

Представленность 2-летних сеянцев сосны нормального фенотипа в вариантах опыта, %

Вариант, постилка, тип леса	1-летние сеянцы, %		2-летние сеянцы, %	
	всего	эффект подстилки	всего	эффект подстилки
1. Березовая. Сосняк бр.	72	9	36	12
2. Сосновая. Сосняк ртр.	69	6	40	16
3. Смешанная. Сосняк тр.	83	20	40	16
4. Контроль. Питомник	63	–	24	–

Внесение подстилки увеличивает выход сеянцев нормального фенотипа, но результаты его ниже ожидаемых, которые получались в прежние годы апробации метода. Причина, на наш взгляд, состоит в более низком количестве осадков в июне 2013 г. по сравнению с предыдущими годами и средними многолетними. Таким образом, еще раз подчеркиваем, что предлагаемый метод следует применять с учетом погодных условий, особенно в июне, и проводить поливы. Последних затруднений не должны представлять, так как они предусмотрены регламентом выращивания посадочного материала.

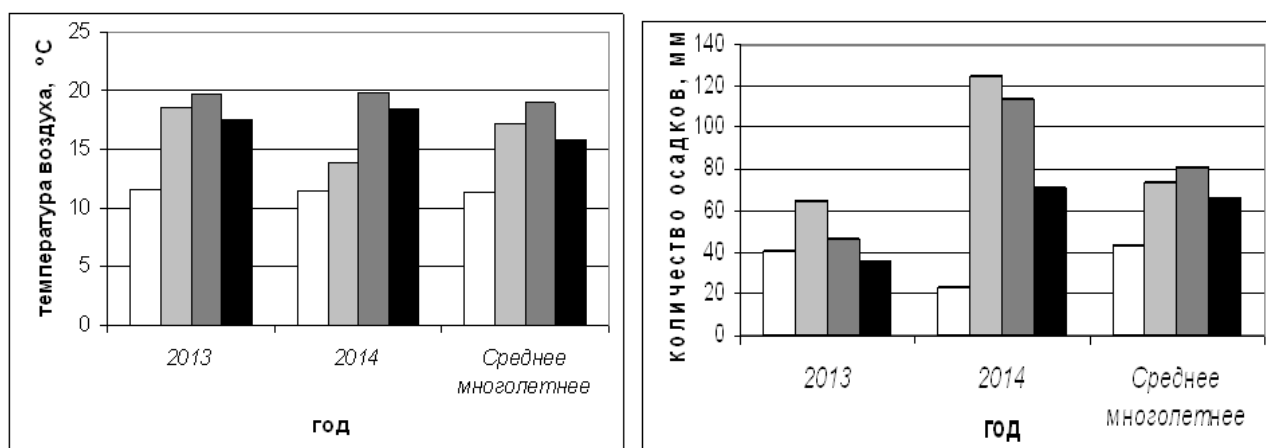


Рис. 1. Погодные условия вегетационных периодов 2013-2014 гг. (Данные метеостанции Екатеринбург, Россия, WMO_ID=28440 предоставлены WEB-сайтом "Расписание Погоды", rp5.ru)

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

Заключение

Результаты исследований позволяют положительно оценить предлагаемый способ очистки загрязненной пестицидом почвы пулом микроорганизмов. Эффективность его может быть повышена за счет полива. Динамика микроорганизмов свидетельствует об устойчивой колонизации загрязненной почвы и возможности использования микробоценозов из разных условий произрастания с предпочтением взятия ее из сосняков разнотравного и травяного типов леса.

Список литературы

1. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. – М.: МГУ, 1989. – 336 с.
2. Жариков Г.А. Создание новой технологии биоремедиации почв, загрязненных фосфорорганическими ядохимикатами с помощью микроорганизмов-деструкторов. Отчет о НИР (промежуточный). Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов. - 2006.
3. Колесников Б.П., Зубарева Р.С., Смолоногов Е.П. Лесорастительные условия и типы лесов Свердловской области. – Свердловск: АНСССР, УНЦ, 1973 г.
4. Красильников Н.А., Дуда В.И. Бактерии и актиномицеты/ Жизнь растений. – Т.1. – М.: Изд-во «Просвещение», 1974. – С. 181-197.
5. Новосельцева А.И., Смирнов Н.А. Справочник по лесным питомникам. – М.: Лесн. пром-сть, 1983. – 280 с.
6. Никитин Д.И. Экология бактерий // Жизнь растений. – Т. 1. – М.: Изд-во «Просвещение», 1974. – С. 314-320.
7. Почвенный институт АНСССР. Агрохимические методы исследования почв. – М.: Изд-во АНСССР, 1960. – 555 с.
8. Роде А.А., Смирнов В.Н. Почвоведение. – М.: Высшая школа, 1972. – 479 с.
9. 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.
10. Cox C. Glyphosate (Roundap)// Journal of pesticide reform. 1998. Vol. 18, N. 3, P. 3-16.

Рецензенты:

Аткина Л. И., д.с.-х.н., профессор, заведующая кафедрой ландшафтного строительства, Уральский государственный лесотехнический университет, г. Екатеринбург;

Менщиков С.Л., д.с.-х.н. заведующий лабораторией экологии техногенных лесных сообществ, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук», г. Екатеринбург.