

- записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. – 2011. – Т. 24(63). – № 1. – С. 156–163. – (Серія «Біологія. Хімія»).
8. Мікробні препарати у землеробстві. Теорія і практика / В.В. Волкогон, О.В. Надкернична, Т.М. Ковалевська [та ін.]. – К.: Аграрна наука, 2006. – 312 с.
 9. Поліщук К.В. Ефективність бактеріальних добрив за вирощування кукурудзи в умовах західного полісся // Збірник наукових праць ННЦ «Інституту землеробства НААН». – 2012. – Вип. 1–2. – С. 72–75.
 10. Bunemann E.K. Impact of agricultural inputs on soil organisms – a review / E.K. Bunemann, G.D. Schwenke, L. Van Zwieten // Australian Journal of Soil Research. – 2006. – Vol. 44. – P. 379–406.
 11. Плохинский Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н.А. Плохинский. – М.: Колос, 1969. – 256 с.

УДК 631.46:631.445.41:631.84

МІКРОБІОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ У ЗАБРУДНеноМУ ІОНАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ СІРОМУ ЛІСОВОМУ ҐРУНТІ

І.М. Малиновська¹, І.В. Домбровська², Ю.І. Літвін¹

¹ Національний авіаційний університет

² Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Досліджено перебіг мікробіологічних процесів у сірому лісовому ґрунті, забрудненому зростаючими дозами важких металів, упродовж доби. Встановлено, що в ґрунті без рослин підвищення рівня забруднення політантами призводить до уповільнення мінералізації сполук азоту та освоєння органічної речовини ґрунту, а в ризосфері рослин – до суттєвого прискорення. Інтенсивність респірації за невисоких рівнів забруднення ґрунту підвищується на 10,8–55,3%, а за високих – пригнічується у 2,0–2,7 раза. Активність мінералізації гумусу із зростанням дози важких металів збільшується на 34,3–75,1%, при цьому у ризосфері рослин активність мінералізації гумусу залежить від дози забруднювача більше, ніж у ґрунті без фітоценозу. За короткострокового терміну спостереження індикаторними групами на забруднення важкими металами виявилися азотобактер, меланінутворювальні мікроміцети і денітрифікатори.

Ключові слова: мікробіоценоз, еколого-трофічні групи, мінералізація, азот, гумус, фітотоксичність, ризосфера, забруднення, важкі метали.

Нині агроєкосистеми піддаються значному техногенному впливу, що спричиняє забруднення орних земель іонами важких металів. Політанти негативно впливають на ґрунтові мікроорганізми, фауну, рослини, що обумовлює необхідність визначення величини критичних відхилень у стані ценозів і прогнозування стану мікробних угруповань за певного вмісту політантів у ґрунті. Аналіз сучасних досліджень в цій галузі засвідчив про неоднозначність

впливу забруднення важкими металами на мікробні угруповання ґрунтів. Так, одні вчені стверджують про посилення, а інші, навпаки, – про послаблення мікробіологічної активності внаслідок внесення важких металів у великих концентраціях [1]. У низці робіт показано відсутність впливу важких металів на екотоксикологічні показники ґрунтових мікроорганізмів [2]. Недостатньо дослідженим залишається характер дії важких металів на мікроорганізми деяких еколого-трофічних і функціональних груп у складі мікробних угруповань. Метою

роботи було дослідити вплив іонів важких металів на чисельність та фізіолого-біохімічну активність ґрунтових мікроорганізмів, які здійснюють основні мінералізаційні і синтетичні процеси у ґрунтах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Модельний дослід був проведений з використанням сірого лісового ґрунту стаціонарного дослідження лабораторії інтенсивних технологій зернових колосових культур і кукурудзи ННЦ «Інститут землеробства НААН» (дослідне господарство «Чабани», Києво-Святошинський р-н Київської обл.): інтенсивний агрозем – польова сівозміна з насиченістю мінеральними добривами $N_{96}P_{108}K_{112,5}$ на фоні приорування побічної продукції рослинництва. Ґрунт відбирали восени, і перед проведенням дослідження відновлювали його біологічну активність шляхом зволоження та термостатування при 25 °C упродовж 21 доби. Досліджували варіанти із штучно створеними фонами цинку і свинцю: з перевищенням ГДК у 5, 10 та 100 разів. За контрольний зразок був ґрунт із природною концентрацією важких металів. Під час створення 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 посудин висівали насіння кукурудзи. У контрольні посудини для вирівнювання вмісту азоту вносили розчин KNO_3 у відповідній концентрації.

Стан мікробіоценозу вивчали через 1 добу після внесення важких металів. Чисельність і фізіолого-біохімічну активність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп, спрямованість мікробіологічних процесів визначали методами, описаними в попередніх публікаціях [3].

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

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами проведених досліджень встановлено, що внесення важких металів

у дозах 5–100 ГДК упродовж доби призводить до зменшення загальної кількості прокариотів та чисельності мікроорганізмів більшості досліджених еколого-трофічних груп (табл. 1). Із підвищенням рівня забруднення ґрунту іонами важких металів не зменшується чисельність олігонітрофілів і збільшується чисельність нітрифікаторів. Зниження чисельності амоніфікуючих мікроорганізмів у варіантах без рослин відбувається повільніше, ніж у варіантах із фітоценозом: максимальне зниження чисельності амоніфікаторів спостерігається при 100 ГДК – на 17,9%, тоді як у ризосфері фітоценозу чисельність мікроорганізмів уже при 5 ГДК знижується у 2,36 раза, а при 100 ГДК – у 5,3 раза. Можливо, на кількість амоніфікуючих мікроорганізмів впливає процес відмирання рослин, зумовлений внесенням іонів важких металів. Кількість рослин у різних варіантах дослідження була однаковою, і стадія їхнього відмирання на першу добу теж була однаковою – в'янення надземної біомаси. Однак чисельність амоніфікуючих мікроорганізмів зменшується пропорційно внесеній дозі полютанту. Тобто за короткострокового забруднення ґрунту клітини амоніфікуючих мікроорганізмів відчувають безпосередній вплив з боку іонів важких металів, а не тільки опосередкований вплив з боку рослин. Отримані дані щодо зниження чисельності органотрофів під впливом важких металів співпадають з результатами експериментів інших дослідників [1].

Денітрифікатори виявилися дуже чутливими до забруднення важкими металами за короткострокових термінів спостереження. У ґрунті без рослин їхня чисельність зменшується пропорційно збільшенню дози забруднення: при 5 ГДК – на 2,16%, 10 ГДК – у 39,4 раза, при 100 ГДК – у 67,5 раза. За наявності рослин відповідні показники зменшуються у 1,28, 57,0 і 207,4 раза. Отже, групу денітрифікаторів можна вважати діагностичною на забруднення важкими металами за короткострокових термінів забруднення. Механізм швидкого впливу важких металів на чисельність денітрифікаторів обумовле-

Таблиця 1

Вплив важких металів на чисельність мікроорганізмів у сірому лісовому ґрунті виробовж першої доби (інтенсивний агрозем), млн КУО/г абсолютно сухого ґрунту*

Варіант	Амоніфікатори	Імобілізатори мінерального азоту	Олігонітрофіли	Азотобактер, % одростання ґрунтового ґрунту	Денітрифікатори	Нітрифікатори	Педотрофи	Бактерії			Стрептоміцети	Мікроміцети	Мобілізатори мінеральних фосфатів	K _r	Меланіну-творювальні
								целюлозо-руйнівні	полісахарид-синтезуючі	автохтонні					
Контроль без рослин	530,6	125,6	38,4	58,7	18,9	0,238	171,6	145,0	6,87	23,6	16,6	0,109	36,8	0,918	0,020
Контроль + фітоценоз	551,5	154,8	62,4	94,0	159,7	0,205	256,8	189,4	3,80	20,2	18,3	0,152	62,4	1,364	0,035
5 ГДК без рослин	662,0	143,1	69,1	45,3	18,5	0,243	202,3	186,7	2,47	21,4	17,3	0,132	39,9	1,122	0,088
5 ГДК + фітоценоз	233,2	135,4	50,8	75,3	125,2	0,224	136,5	127,4	3,98	15,9	10,6	0,083	18,2	0,918	0,036
10 ГДК без рослин	492,0	91,6	40,4	0,667	0,480	0,280	124,0	199,6	2,40	19,4	13,6	0,180	26,0	1,010	0,118
10 ГДК + фітоценоз	113,5	69,6	50,7	30,7	2,80	0,265	126,2	188,8	2,65	17,4	9,84	0,102	11,0	0,453	0,040
100 ГДК без рослин	450,3	47,8	41,4	0,667	0,280	0,161	37,4	94,9	1,61	6,88	4,42	0,076	2,81	0,885	0,075
100 ГДК + фітоценоз	104,0	91,2	55,1	0,010	0,770	0,197	72,6	127,4	1,46	10,0	9,12	0,062	25,9	0,882	0,059
НІР ₀₅	14,2	7,13	5,23	2,85	0,462	0,036	4,00	3,12	0,15	1,99	0,08	0,02	3,01		0,002

Примітка: * КУО — колонієутворювальна одиниця, ГДК — гранично допустима концентрація.

но, можливо, їх дією на окисно-відновні ферменти [4].

Чисельність нітрифікаторів збільшується внаслідок внесення важких металів на 17,6–29,3% і тільки за максимальної дози важких металів (100 ГДК) – зменшується, можливо через їх токсичну дію на ферменти дихального ланцюга [4]. У кореневій зоні фітоценозу внесення важких металів зумовлює істотніше збільшення чисельності нітрифікаторів, ніж за відсутності рослин.

До групи мікроорганізмів-індикаторів екологічної чистоти ґрунту належать азотобактер, чисельність якого зменшується за внесення багатьох полютантів, зокрема важких металів і нафтопродуктів [3, 5, 6]. Особлива чутливість азотобактера до токсичної дії важких металів може бути зумовлена тим, що іони важких металів викликають у цього мікроорганізму інгібування одночасно синтезу білка, РНК і ДНК [4], тоді як у інших мікроорганізмів – переважно синтезу білка чи РНК. З наведених результатів видно, що чисельність азотобактера за внесення важких металів знижується: при дозі 5 ГДК у ґрунті без рослин – у 1,3 раза, у кореневій зоні фітоценозу – у 1,25, при 10 ГДК – у 88,0 і 33,6, при 100 ГДК – у 88,0 і 9400 разів відповідно. Отже, при невисоких рівнях забруднення кількість азотобактера повільніше зменшується у кореневій зоні фітоценозу, а при високих – за відсутності фітоценозу. Можливо, при невисоких рівнях забруднення рослини виконують протекторну функцію щодо азотобактера, а при високих не можуть її виконувати через біохімічний стрес.

Захисною реакцією мікроорганізмів на антропогенне забруднення вважається їх здатність до утворення меланоїдних пігментів [7]. Результати проведених нами модельних досліджень підтверджують цей висновок: забруднення важкими металами вже через добу спричиняє інтенсифікацію синтезу меланіноподібних пігментів і збільшення чисельності меланінсинтезуючих мікроміцетів при 5 ГДК у 4,40 раза, 10 ГДК – у 5,90, 100 ГДК – у 3,75 раза

(табл. 1). У кореневій зоні рослин кількість меланінутворювальних мікроміцетів майже не залежить від дози забруднювача, за винятком варіанта зі 100 ГДК, де спостерігається збільшення кількості їх КУО у 1,69 раза. Рослини за рівнів забруднення 5–10 ГДК на першому етапі виконують протекторну функцію щодо мікроорганізмів власної ризосфери, тому останні не мають необхідності синтезувати меланоїдні пігменти. Із збільшенням рівня забруднення істотно зростає не тільки чисельність меланінсинтезуючих мікроміцетів, а й їхня частка у загальній кількості мікроміцетів, особливо при 100 ГДК.

Відомо, що бактеріальні полісахариди є неспецифічними протекторами щодо токсичної дії важких металів [8]. Однак за короткочасного забруднення синтез полісахаридів ще не стає перевагою продуцентів у конкурентній боротьбі за виживання, тому чисельність полісахаридсинтезуючих мікроорганізмів знижується у ґрунті без рослин: при 5 ГДК – у 2,78 раза, 10 ГДК – у 2,86, 100 ГДК – у 4,27 раза (табл. 1). Показники зниження чисельності полісахаридсинтезуючих мікроорганізмів у кореневій зоні рослин є вдвічі нижчими від показників ґрунту без фітоценозу.

Більшість дослідників вважають, що мікроміцети, а в деяких випадках і стрептоміцети, більш стійкі до дії важких металів порівняно із бактеріями [5, 9]. Проведені колективом науковців [9] трилітні дослідження засвідчили про статистично достовірне зниження чисельності мікроміцетів при дозах свинцю 125–500 мг/кг ґрунту. За результатами проведених нами досліджень цей висновок підтверджується частково: на першу добу забруднення кількість КУО мікроміцетів при 5–10 ГДК зростає у ґрунті без рослин на 21–65%; у ризосферному ґрунті спостерігається зворотна тенденція – кількість КУО мікроміцетів зменшується майже удвічі вже за найменшої із внесених доз важких металів, до того ж кількість прокаріотів зменшується в ґрунті без рослин на 16–70%, а у ґрунті із фітоценозом – на 69–216%. Кількість КУО іншої міцеліальної форми – стрептоміцетів – у

ґрунті без рослин починає зменшуватися лише при дозі 10 і 100 ГДК, а у ризосфері рослин – при всіх використаних дозах у 1,73–2 рази. Отже, чутливість представників міцеліальної мікрофлори відрізняється залежно від дози важких металів, строку його дії і наявності або відсутності рослинного покриву.

Зростання концентрації важких металів у ґрунті спричиняє зниження інтенсивності процесів мінералізації сполук вуглецю і азоту [10]. Отримані нами дані свідчать, що впродовж першої доби коефіцієнт мінералізації сполук азоту зменшується тільки в ґрунті без рослин, а у ризосфері рослин відбувається інтенсифікація мінералізації сполук азоту при 5 ГДК у 2,06 раз, 10 ГДК – у 2,18, 100 ГДК – у 3,12 раз (табл. 2). Аналогічна закономірність спостерігається щодо освоєння органічної речовини ґрунту: в ґрунті без рослин із зростанням дози важких металів індекс педотрофності знижується, а в ризосфері рослин – істотно збільшується. Активність мінералізації гумусу із зростанням дози важких металів збільшується на 34,3–75,1%, до того ж у ризосфері рослин активність мінералізації гумусу залежить від дози забруднювача більше, ніж у ґрунті без фітоценозу. Таким чином, спрямованість мікробіологічних процесів у забрудненому важкими металами ґрунті залежить від наявності рослинного покриву і тривалості забруднення, що ускладнює створення системи діагностичних показників забруднення ґрунтів важкими металами.

Інтенсивність респірації мікробного угруповання є одним із найбільш використовуваних параметрів для вимірювання мікробіологічної активності ґрунту під дією

Таблиця 2

Показники інтенсивності мінералізаційних процесів і фітотоксичні властивості сірого лісового ґрунту за різних рівнів забруднення важкими металами

Варіант	Індекс педотрофності	Коефіцієнт оліготрофності	Коефіцієнт мінералізації азоту	Активність мінералізації гумусу, %	Інтенсивність респірації ґрунту, мг CO ₂ /кг ґрунту	Маса 100 рослин тест-культури – пшениці озимої, г		
						стебло	коріння	загальна маса
Контроль без рослин	0,323	0,072	0,236	13,7	106,6	13,0	8,21	21,2
Контроль + фітоценоз	0,466	0,113	0,281	7,88	226,0	9,25	8,80	18,1
5 ГДК без рослин	0,306	0,104	0,216	10,6	162,8	11,4	10,0	21,4
5 ГДК + фітоценоз	0,585	0,218	0,580	11,6	250,3	9,56	8,66	18,2
10 ГДК без рослин	0,252	0,082	0,186	15,6	165,6	6,81	6,81	13,6
10 ГДК + фітоценоз	0,530	0,447	0,613	13,8	260,0	9,10	8,10	17,2
100 ГДК без рослин	0,083	0,092	0,106	18,4	53,1	Унаслідок значної токсичності ґрунту насіння тест-культури не проросло		
100 ГДК + фітоценоз	0,698	0,530	0,877	13,8	84,3			
НІР ₀₅						0,25	0,15	

різних стресорів [1, 5, 9]. Забруднення сірого лісового ґрунту іонами важких металів у нашому модельному досліді зумовило значне збільшення активності респірації мікробного угруповання як у ґрунті без рослин, так й з фітоценозом: при 5 ГДК – на 52,8 і 10,8%, при 10 ГДК – на 55,3 і 15,0% відповідно (табл. 2). Внесення важких металів спричиняє біохімічний стрес мікробного угруповання, для подолання якого мікроорганізми підвищують метаболічну активність, що позначається на збільшенні активності респірації. За максимально використаної концентрації важких металів спостерігається зменшення інтенсивності «дихання» мікроорганізмів у 2,0–2,69 раза порівняно із незабрудненим ґрунтом. Необхідно відмітити, що у літературі представлено доволі суперечливі дані про зміну респіраторної активності мікроорганізмів під дією важких металів [5, 9]. Згідно з даними колективу авторів [9], продукція вуглекислого газу у варіантах, забруднених свинцем, упродовж місяця була на 30–60% нижчою, ніж на контролі. Однак більшість авторів наводять дані про посилення інтенсивності «дихання» мікроорганізмів зростаючими дозами важких металів [5].

ВИСНОВКИ

Забруднення важкими металами зумовило істотне збільшення фітотоксичності ґрунту тільки при 10 і 100 ГДК: при 10 ГДК фітотоксичність ґрунту без рослин збільшилася на 55,9%, а ґрунту із фітоценозом на 5,23%, що свідчить про протекторну функцію рослин не тільки відносно мікроорганізмів ризосфери, а й інших рослин. Доза важких металів при 100 ГДК виявилася токсичною настільки, що насіння тест-рослин не проросло.

Таким чином, короткотермінове забруднення важкими металами спричиняє струк-

турні і функціональні зміни у мікробному угрупованні сірого лісового ґрунту як через безпосередній вплив на ґрунтові мікроорганізми, так і опосередковано – через рослини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження / К.І. Андрух, Г.О. Іутинська, А.Ф. Антипчук та ін. – К.: Обереги, 2001. – 240 с.
2. *Insam H.* Heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora / H. Insam, T.C. Hutchinson, H.H. Reber // *Soil Biol. Biochem.* – 1996. – No. 28. – P. 691–694.
3. *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.
4. *Nies D.H.* Molecular microbiology of heavy metals / D.H. Nies, S. Silver. – Berlin: Springer, 2007. – 460 p.
5. Влияние осадков сточных вод, содержащих металлы, на микробные сообщества серой лесной почвы / С.Ю. Селивановская, С.Н. Киямова, В.З. Латыпова, Ф.К. Алимова // *Почвоведение.* – 2002. – № 5. – С. 588–594.
6. *Kolosvary I.* Data concerning the possibility of using the abundance of the *Azotobacter* cells as bioindicator of soil pollution / I. Kolosvary // *Stud. Univ. Babes-Bolyai. Biol.* – 1998. – No. 1–2. – P. 137–141.
7. *Жданова Н.Н.* Меланинсодержащие грибы в экстремальных условиях / Н.Н. Жданова, А.Н. Василевская. – К.: Наук. думка, 1988. – 196 с.
8. *Dudman W.F.* The role of surface polysaccharides in natural environments / W.F. Dudman, Ed. I.W. Sutherland // *Surface carbohydrates of the prokaryotic cell.* – New York: Acad. Press, 1977. – P. 357–414.
9. Микробиологические и биохимические показатели загрязнения свинцом дерново-подзолистой почвы / Д.Г. Звягинцев, А.В. Кураков, М.М. Умаров, З. Филипп // *Почвоведение.* – 1997. – № 9. – С. 1124–1131.
10. *Doelman P.* Effect of lead on the decomposition of organic matter / P. Doelman, L. Haanstra // *Soil Biol. Biochem.* – 1979. – Vol. 11. – No. 5. – P. 481–485.