

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОТЫ ПОЧВ В УСЛОВИЯХ РАДИОАКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ

А. В. Щур

ГУ ВПО «Белорусско-Российский университет»

Поступила в редакцию 14.08.2015 г.

Аннотация. Проводились экспериментальные исследования влияния биологически активных препаратов на микробоценозы и микоценозы радиоактивно загрязненной территории Чериковского лесного массива Могилевской области Республики Беларусь. В результате исследования были выполнены экологические группировки почвенной микрофлоры. Выявлена экологическая структура сообщества, ее полидоминантный характер.

Ключевые слова: индуцированная сукцессия, почвенные микроорганизмы, биологически активные препараты, лесные экосистемы, экологическая структура сообществ.

Abstract. Object of research are: micro biota of root dwelling a layer of soil. The work purpose – an estimation of influence of biologically active preparations «Baikal ЭМ-1», "Gidrogumat" and "Ekosil" on population soil microorganisms. In the course of work experimental researches of influence of biologically active preparations on microbocenosis were spent, mykocenosis is radioactive contaminations territory of the Cherikov forest. As a result of research ecological groupings soil microorganisms have been executed. The ecological structure of community, its polydominant character is revealed.

Key words: induced succession, soil microorganisms, biologically active preparations, wood ecosystems, ecological structure of communities

В настоящее время все большее распространение получают биологически активные препараты. Как показала мировая практика их использования, препараты весьма эффективны для повышения урожайности сельскохозяйственных культур, снижения уровня их заболеваемости, и, в некоторой степени, для повышения качественных характеристик получаемой продукции. Исследования по их использованию в сельском хозяйстве показывают эффективность в снижении накопления радионуклидов в продукции растениеводства за счет эффекта «биологического разбавления». Изучена эффективность использования биологически активных препаратов в природных сообществах с целью снижения перехода радионуклида в их продуктивную составляющую за счет иммобилиза-

ции ^{137}Cs в почве. Указанные научные разработки проводились сотрудниками Могилевского филиала РНИУП «Институт радиологии» совместно с УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия».

Наиболее широкое распространение на территории Республики Беларусь получили ряд современных биологически активных препаратов: микробиологическое удобрение «Байкал ЭМ-1», препарат на основе торфа «Гидрогумат» и регулятор роста растений «Экосил».

Эти препараты безвредны для человека, животных, водной фауны, полезных насекомых и почвенной микрофлоры. Воздействие указанных препаратов на почвенную фауну достаточно хорошо изучено только в агроэкосистемах. Процессы, протекающие в интактных сообществах, находящихся в условиях радиоактивного загрязнения, в

целом недостаточно изучены. Нельзя исключать, что использование в подобных экосистемах биологически активных препаратов может привести к индуцированным сукцессиям в различных ценозах (микоценозе, микробоценозе).

Целью исследований является изучение влияния биологически активных препаратов на почвенную микробиоту лесных экосистем, расположенных на радиоактивно загрязненных территориях.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Исследования проводились в среде естественных лесных биогеоценозов Чериковского района Могилевской области, расположенных на загрязненных радионуклидами территориях. Выбранный район Могилевской области – один из наиболее радиоактивно загрязненных районов Беларуси, где остро стоит проблема радиоактивного загрязнения продукции леса. Лесной массив, в котором расположены экспериментальные площадки находится на значительном (более 15 км) удалении от ближайшего населенного пункта, в связи с чем практически не посещается людьми и воздействие антропогенного фактора минимально.

Объектами исследований являлась почвенная микробиота корнеобитаемого слоя растительности нижнего яруса естественных лесных биогеоценозов.

Сделан подбор репрезентативных фитоценозов, расположенных на территориях при плотностях загрязнения земель ^{137}Cs 74–185 кБк/м² (в среднем 85.1 кБк/м²) и 370–555 кБк/м² (в среднем 392.2 кБк/м²), где заложены экспериментальные площадки. Эксперимент проводился в березняке брусничном на свежей (В₂) дерново-подзолистой супесчаной автоморфной почве на водноледниковых рыхлых супесях, подстилаемых песками с глубины 0.3 м.

Схема проведения экспериментов включает контрольный вариант – без обработки биопрепаратами, и двукратное за вегетационный период опрыскивание растительности нижнего яруса на экспериментальных площадках биопрепаратами – «Байкал ЭМ-1», «Гидрогумат» и «Экосил». Площадь делянки 25 м², повторность трехкратная. Проведены две обработки биопрепаратами «Гидрогумат», «Байкал – ЭМ-1» и «Экосил» выбранных экспериментальных участков лесных экосистем методом равномерного мелкодисперсного опрыскивания растительности ручным помповым опрыскивателем. Расход рабочей жидкости 20 см³/м² (200 л/га). Дозы внесения пре-

паратов определены в соответствии с рекомендациями разработчиков и результатами научных исследований по применению используемых препаратов для культурных ягодников: «Байкал – ЭМ-1» – 0.5 мл/л, «Гидрогумат» - 0.6 мл/л, «Экосил» - 0.15 мл/л воды. Перед и после второй обработки биопрепаратами на указанных участках проведен отбор проб. Микробиологические исследования проводили в свежих образцах почв и растительных остатков. В естественных минеральных почвах образцы брали по генетическим горизонтам. Изучение численности, структуры и видового состава микробиоты проводили методом посева на плотные питательные среды и прямыми микроскопическими методами. Использовали широкий набор питательных сред, позволяющий учесть и при необходимости выделить микроорганизмы с различными потребностями в питательных и энергетических веществах. Численность и биомассу бактерий, длину грибного мицелия и его биомассу (без массы грибных спор) определяли прямыми методами флуоресцентной микроскопии с использованием темноокрашенных поликарбонатных мембранных фильтров с диаметром пор 0.2 мкм для бактерий и 0.8 мкм для грибов. Фильтры для учета бактерий окрашивали акридином оранжевым, а фильтры для учета грибов – красителем FITC (флуоресцин-5-изотиоцианат). Учеты проводились в 30 полях зрения стандартной для этого метода сетки, вставленной в окуляр. Пересчеты длины мицелия грибов и численности бактериальных клеток проводили по общепринятым методикам. Все анализы выполнены в свежих почвенных образцах, расчеты сделаны на абсолютно сухую почву. Грибную биомассу определяли, принимая вес одного миллиметра мицелия равным 1.1×10^{-6} г. Для расчета биомассы бактерий вес одной бактериальной клетки считали равным 4×10^{-14} г. Анализ природного разнообразия почвенных микроорганизмов проводили на основе методов их обнаружения, выделения, культивирования и идентификации [1].

Статистическую обработку данных проводили по общепринятым методикам, используя стандартное программное обеспечение [2]. Сравнение структуры сообществ в контрольной и обработанной биопрепаратами почве проводилось по экологическим индексам [3].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наиболее серьезными характеристиками сукцессионных процессов в ценозе являются изменения численности (пула), биомассы и видового состава сообществ.

В таблице 1 представлены результаты изучения общей численности и биомассы бактериальных клеток в гумусово-аккумулятивном (A_1) и оподзоленном (A_2B) горизонтах почвы экспериментального участка.

Максимальный пул микроорганизмов в гумусово-аккумулятивном горизонте отмечен в варианте, с обработкой вегетирующих растений микробиологическим препаратом «Байкал ЭМ-1». Обработка им имеет самый значительный вклад в рост количества бактериальных клеток (на 118.3% по сравнению с контролем) и их биомассы (на 98,7% по сравнению с контролем) в почве опытного участка.

При сравнении эффектов влияния исследуемых препаратов на численность и биомассу ризосферной микробиоты, следует отметить, что применение «Гидрогумата» не содействует достоверным ее изменениям. В то же время применение «Экосила» привело к росту численности бактериальных клеток по сравнению с контролем на 26.0%, а биомассы – на 24.4% за счет процессов стимулирования роста и развития организмов. На численность бактерий и их биомассу в элювиальном горизонте (A_2B) почвы «Байкал ЭМ-1» также оказывает некоторое влияние. Обработка им вегетирующих растений приводила к повышению общего пула микроорганизмов 2.16 раза по сравнению с контролем, а биомассу в 2.33 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что обработки микробиологическим препаратом «Байкал ЭМ-1» приводят к значительному (в 2 и более раза) повышению общего пула и биомассы бактериальных клеток как в гумусово-аккумулятивном, так и в подзолистом горизонтах опытного

поля.

В таблице 2 представлены результаты изучения таксономического разнообразия и частоты встречаемости бактерий в почве опытного участка.

Следует отметить, что в контроле наиболее высокая встречаемость отмечена у *Bacillus pumilus Meyer et Gottheil*, *Bac. subtilis Cohn* и *Cyanobacterium sp.* Применение препаратов «Гидрогумат» и «Экосил» привело к увеличению частоты встречаемости вышеуказанных микроорганизмов.

Внесение микробиологического удобрения «Байкал ЭМ-1» привело к смене градиента встречаемости (более чем в 4 раза по сравнению с контролем увеличилась частота встречаемости *Clostridium nitrificiens*), значительному увеличению частоты встречаемости и появлению новых видов (*Azotobacter sp.*, *Lactobacterium sp.*) в почвенном сообществе, т.е. к индуцированию сукцессии микробоценоза.

Данные, представленные в таблице 3 демонстрируют изменение соотношения доминирующих видов в сообществе под воздействием применения препарата «Байкал ЭМ - 1». Полидоминирование подтверждается низкой степенью доминирования по Симпсону, высокими значениями индексов разнообразия Шеннона-Уивера ($H' = 3.282 - 3.451 \text{ бит/экз}$), значения индексов Менхиника, Маргалефа и Бергера-Паркера подтверждают отсутствие монодоминирования видов.

Таким образом, применение микробиологического препарата «Байкал ЭМ - 1» приводит к появлению в почве бактерий, до этого не встречавшихся в контроле и возрастанию количества

Таблица 1.

Общая численность ($\times 10^9$ клеток/г почвы) и биомасса (мг/г) бактериальных клеток в почве опытного участка.

№ варианта	Вариант опыта	Горизонт	Численность, х 10^9 клеток/г почвы	Биомасса, мг/г почвы
1	Контроль	A_1	19.11	0.78
		A_2B	4.43	0.21
2	Обработка препаратом «Гидрогумат»*	A_1	19.41	0.81
		A_2B	4.61	0.23
3	Обработка препаратом «Экосил»*	A_1	24.07	0.97
		A_2B	6.34	0.31
4	Обработка препаратом «Байкал ЭМ-1»*	A_1	41.71	1.55
		A_2B	9.57	0.49

Примечание: * - достоверно при $p=0.05$

Таблица 2.

Таксономическое разнообразие и частота встречаемости бактерий в почве опытного участка, %

Род, вид	Варианты опыта			
	Контроль	Гидрогумат*	Экосил*	Байкал ЭМ-1*
<i>Azotobacter</i> sp.	0	0	0	8
<i>Bacillus cereus</i> Frankland et Frank.	8	7	11	23
<i>Bac. laterosporus</i> Laubach	12	11	13	14
<i>Bac. licheniformis</i> Chester	9	12	12	23
<i>Bac. megaterium</i> de Bary	14	14	16	21
<i>Bac. mesentericus</i> Trevisan	15	16	16	17
<i>Bac. pumilus</i> Meyer et Gottheil	18	19	21	24
<i>Bac. subtilis</i> Cohn	16	16	17	31
<i>Bac. firmus</i> Bredemann et Wemer	13	14	13	21
<i>Clostridium nitrificiens</i>	11	12	14	46
<i>Cianobacterium</i> sp	16	17	19	33
<i>Lactobacterium</i> sp.	0	0	0	45

Примечание: * - достоверно при $p=0.05$

Таблица 3.

Экологические индексы биоразнообразия микробоценоза

Индекс	Контроль	Гидрогумат	Экосил	Байкал ЭМ-1
Индекс Менхиника	1.044	1.022	0.973	0.686
Индекс Маргалефа	1.562	1.547	1.518	1.332
Индекс Бергера-Паркера	0.136	0.138	0.138	0.150
Индекс Симпсона	0.099	0.099	0.098	0.096
Индекс Шеннона	3.282	3.278	3.294	3.451

микроорганизмов, участвующих в процессах биодеградации и трансформации органических веществ в почве опытного участка [4, 5]. Полученные нами данные не противоречат результатам, опубликованным другими исследователями [6-8].

В таблице 4 представлены результаты изучения таксономического разнообразия и частоты встречаемости грибов в почве опытного участка.

Из выявленного биоразнообразия микоценоза в почве наиболее часто встречаются и широко представлены грибы, представители рода *Penicillium*. Причем, внесение изучаемых препаратов приводило к увеличению их численности, что говорит об усилении процессов биодеградации органического вещества в почве, так как представленные грибы являются сапротрофными по типу питания.

Следует отметить, что данные грибы способны вырабатывать антибиотик пенициллин, обладающий антибиотическим и аллелопатическим

действием, что способствует снижению числа патогенных организмов в почве.

Кроме описанного рода, в почве отмечено повышение численности грибов *Acremonium butyri* W. Gams, *Mortiereiia longicollis* Dixon-Stewart, *Mortiereiia* sp., *Aureobasidium* sp., *Trichoderma* sp., *Mycelia sterilia*, *Ulodadium* sp., что, возможно, связано с действием на почвенную биоту изучаемых препаратов. Одновременно, в почве понизилась частота встречаемости некоторых патогенов, в частности, различных представителей рода *Fusarium* sp. [4, 5]

Данные, представленные в таблице 5 демонстрируют похожую с микробоценозом картину изменения соотношения доминирующих видов в микоценозе под воздействием применения препарата «Байкал ЭМ - 1», но при этом степень влияния указанных препаратов не столь высока как в случае с микробоценозом.

Таблица 4.

Таксономическое разнообразие и частота встречаемости грибов в почве опытного участка, %

Род, Вид	Варианты опыта			
	Контроль	Гидрогумат*	Экосил*	Байкал ЭМ-1*
<i>Penicillium canescens</i> Sopp	15	19	22	19
<i>P. cyaneum</i> (Bainier et Sartory) Biourge	12	13	16	11
<i>P. cydopium</i> Westling	10	10	13	12
<i>P. implicatum</i> Biourge	22	21	25	23
<i>P. frequentans</i> Westling	24	25	28	26
<i>P. oxalicum</i> Currie	21	22	25	23
<i>P. puberulum</i> Bainier	19	20	22	20
<i>P. spinulosum</i> Thorn	14	14	16	17
<i>P. steckii</i> Zaleski	17	20	18	22
<i>P. thomii</i> Maire	23	23	25	26
<i>P. varlabile</i> Sopp	17	17	22	24
<i>Penicillium</i> sp.	35	37	39	37
<i>Acremonium butyri</i> W. Gams	21	22	31	32
<i>Fusarium</i> sp.	62	50	32	28
<i>Mortiereiia longicollis</i> Dixon-Stewart	12	32	31	27
<i>Mortiereiia</i> sp.	16	34	32	34
<i>Mucor</i> sp.	50	32	31	29
<i>Aureobasidium</i> sp.	21	22	25	22
<i>Trichoderma</i> sp.	13	14	14	20
<i>Mycelia sterilia</i>	0	0,2	0,4	0,5
<i>Ulodadium</i> sp.	7	8	8	10

Примечание: * - достоверно при $p=0.05$

Таблица 5.

Экологические индексы биоразнообразия микоценоза

Индексы	Контроль	Гидрогумат	Экосил	Байкал ЭМ-1
Индекс Менхиника	1.012	0.984	0.963	0.976
Индекс Маргалефа	2.285	2.265	2.249	2.259
Индекс Бергера-Паркера	0.144	0.110	0.082	0.080
Индекс Симпсона	0.066	0.057	0.053	0.053
Индекс Шеннона	4.106	4.197	4.248	4.258

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя, следует отметить, что применение изучаемых препаратов приводит к повышению частоты встречаемости, общего пула и биомассы полезных микроорганизмов, принимающих участие в процессах биодинамики и трансформации органических веществ в почве опытного участка. Исследуемые препараты в различной степени способны индуцировать сукцессию микоценозов корнеобитаемого слоя почвы, влияя в разной степени на численность, биомассу и встречаемость микробиоты.

Наиболее эффективно применение «Байкала ЭМ-1», содействующего появлению в сообществе

новых форм микроорганизмов и увеличению автохтонной микрофлоры, активно участвующей в процессах азотфиксации, фосфатмобилизации и биodeградации органического вещества [4, 5].

Следовательно, исходя из приведенных данных, можно сделать вывод о том, что препараты положительно влияют на численность почвенных сапротрофных грибов, в тоже время приводит к сокращению численности ряда патогенных организмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Евдокимова Г.А. Биодинамика процессов трансформации органического вещества в почвах

Щур А. В.

северной фенноскандии / Г.А. Евдокимова, И.В. Зенкова, В.Н. Переверзев. — Апатиты: изд. Кольского научного центра РАН, 2002. — 154 с.

2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. — 5-е изд., доп. и перераб. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.

3. Сорокина Г.А. Современные подходы к биоконтролю состояния окружающей среды: учеб. пособие/под общ. ред. Г.А. Сорокиной. — Красноярск: Сиб. федер. ун-т, 2012. — С. 70-71.

4. Щур А.В. Динамические процессы в микробиоценозах лесной экосистемы при применении биологически активных препаратов в условиях радиоактивного загрязнения / А.В. Щур, В.П. Валько, О.В. Валько, И.И.Куницкий, А.А. Шумигай // Современные экологические проблемы устойчивого развития Полесского региона и сопредельных территорий: наука, образование, культура: материалы V Междунар. науч.-практ. конф., Мозырь, 25-26 окт. 2012 г. / УО МГПУ им. И.П. Шамякина; редкол.: О.Г. Акушко [и др.]. — Мозырь, 2012. — С. 99-102.

5. Щур А.В. Почвенные микоценозы лесной экосистемы при применении биологически активных препаратов в условиях радиоактивного загрязнения / А.В. Щур, В.П. Валько, О.В. Валько,

И.И. Куницкий, И.А. Карпечина, В.О. Подорожко, А.А. Шумигай // Актуальные проблемы экологии: материалы VIII междунар. науч.-практ. конф. (Гродно, 24-26 окт. 2012 г.). В 2 ч. / ГрГУ им. Я. Купалы; редкол.: И.Б. Заводник (гл.ред) [и др.]. — Гродно: ГрГУ, 2012. — Ч. 1. — С.170-172.

6. Никитин Е.Д. Сохранение и восстановление природных почв и экосистем как стабилизирующего экофона биосферы / Е.Д. Никитин, Д.Н. Щеглов, О.Г. Никитина, Е.П. Сабодина // Вестник Воронежского государственного университета, серия: химия, биология, фармация, — 2015, №3. — С. 64-70.

7. Мостовая А.С. Изменение микробиологической активности серых лесных почв в процессе естественного лесовосстановления / А.С. Мостовая, И.Н. Курганова, В.О. Лопес де Гереню, О.С. Хохлова, А.В. Русаков, А.С. Шаповалов / Вестник Воронежского государственного университета, серия: химия, биология, фармация, — 2015, №2. — С. 64-72.

8. Никитин Е.Д. Экофункции почв и природных зон в контексте их особой охраны и развития агрологии и почвоведения / Е.Д. Никитин, Д.Н. Щеглов, Е.П. Сабодина / Вестник Воронежского государственного университета, серия: химия, биология, фармация, — 2014 — №3. — С. 102-107.

Белорусско-Российский университет

Щур А. В., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, Заведующий кафедрой «Безопасность жизнедеятельности»

Тел. +375 222 222450

E-mail: shchur@yandex.ru

Belarus-Russian university

Shchur A. V., PhD (Ecology), Associate Professor, The chief of Department Safe ability to live

E-mail: shchur@yandex.ru

Ph.: +375 222 222450,