

На правах рукописи

МЕДВЕДЕВА Мария Владимировна

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА АЭРОТЕХНОГЕННОГО
ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ СЕВЕРОТАЕЖНОЙ ПОДЗОНЫ КАРЕЛИИ
(НА ПРИМЕРЕ КОСТМУКШСКОГО ГОКА)**

Специальность
03.00.27 - почвоведение,
03.00.07-микробиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2001

Работа выполнена на кафедре географии почв факультета почвоведения Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова

Научный руководитель: доктор биологических наук
А.С.Яковлев
доктор биологических наук
Л.М.Полянская,

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Д.И. Никитин
кандидат биологических наук
С.И. Решетников

Ведущее учреждение: Петрозаводский государственный университет

Защита диссертации состоится " " 2001 года в 15:30 мин в аудитории М-2 на заседании Диссертационного совета К.053.05.16 в МГУ им. М.В. Ломоносова по адресу: 119899, Москва, Воробьевы горы, МГУ им. М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Ученый совет.

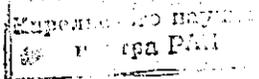
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке факультета почвоведения МГУ,
Автореферат разослан " " 2001 года

Приглашаем Вас принять участие в обсуждении диссертации на заседании совета по почвоведению и микробиологии в МГУ или прислать отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью, по адресу: 119899, Москва, ГСП, Воробьевы горы, МГУ, факультет почвоведения, Ученый совет.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук

150783 К

Л.Г.Богатырев



АКТУАЛЬНОСТЬ. Проблема аэротехногенного загрязнения лесных экосистем соединениями серы и тяжелыми металлами на сегодняшний день одна из наиболее значимых. Сокращение площади бореальных лесов под воздействием аэротоксикантов отмечено во многих странах (Niklgard, 1985; Tsvetkov, 1992; Tyler, 1972). Поступая в больших количествах с продуктами техногенеза и распространяясь на значительные расстояния от источника загрязнения, данные вещества способны создавать очаги их высокой концентрации. Тем самым они представляющие большую опасность для окружающих объектов природы и человека. Особенно это важно в отношении почв, которые способны к большей их аккумуляции, а затем постепенному высвобождению, что усиливает нагрузку на лесные экосистемы (Добровольский, 1986).

Почвы благодаря уникальным буферным свойствам способны противостоять мощному антропогенному прессу, одна из ведущих ролей в этом процессе принадлежит почвенной биоте. Однако устойчивость микробиоты небеспредельна. При увеличении технонагрузки возможны необратимые, деградационные изменения в педосфере, нарушение природного гомеостаза. В этой связи необходимы методы, которые быстро и на ранних этапах выявляют негативные явления.

Продукты техногенеза прямо или опосредованно провоцируют структурно-функциональные изменения микробиоценоза, определяемые методами биологической диагностики. Потому данные модельных лабораторных экспериментов и опытов *in situ* представляют большой теоретический и практический интерес, позволяют лучше понять механизмы реакции микробиоценоза на антропогенную нагрузку в условиях Восточной Финноскандии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ. Биологическая диагностика аэротехногенного загрязнения лесных почв северотаежной подзоны Карелии (на примере Костомукшского ГОКа).

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЙ:

- 1) определение характера и темпов изменения структуры и состава микробиоценоза изучаемых лесных почв;
- 2) определение ферментативной активности почв, подверженных воздействию аэротоксикантов промпредприятия;
- 3) изучение скорости минерализации углеродсодержащих материалов в исследуемых почвах;
- 4) изучение зависимости "расстояние-эффект" от структурно-функциональной организации микробиоценоза и уровня содержания

аэрополлютантов в почвах, расположенных на разном расстоянии от источника загрязнения;

5) изучение зависимости "доза-эффект" для реакции микробоценозов в модельном лабораторном опыте и опыте *in situ* с разными концентрациями солей тяжелых металлов.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА РАБОТЫ. Исследования в этом районе через 17 лет интоксикации лесных почв выполнены впервые. Выявлены региональные особенности микробоценозов лесных почв, находящихся в условиях техногенного загрязнения. Выделены наиболее информативные биопоказатели для почв, подверженных воздействию аэрополлютантов промпредприятия. Отмеченное изменение активности ферментов азотного цикла и оксидоредуктаз позволило констатировать переход микробоценоза в новую адаптивную зону. Выявлено неодинаковое действие различных солей тяжелых металлов на численность, структуру и физиологическую активность комплекса целлюлозоразрушающих микроорганизмов в техногенно нарушенных почвах. В модельных опытах установлен порог чувствительности отдельных физиологических групп микроорганизмов на градиент концентрации тяжелых металлов. Для данной биогеоклиматической зоны обоснована необходимость использования методов биологической диагностики при составлении картосхем интенсивности загрязнения почв, находящихся в условиях повышенной экологической опасности.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ. Рассматриваемые методы биологической диагностики рекомендуется использовать как наиболее информативные при оценке свойств почв и составлении долгосрочного прогноза состояния почв под хвойными лесами в условиях воздушного загрязнения.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Основные положения диссертации представлены на конференции «Биоиндикация и оценка повреждений организмов и экосистем» (Петрозаводск, 1997, 1998), Всероссийской конференции «Биологические основы изучения, освоения и охраны животного и растительного мира, почвенного покрова Восточной Фенноскандии» (Петрозаводск, 1999), Всероссийском совещании «Экологический мониторинг лесных экосистем» (Петрозаводск, 1999), Международной научно-практической конференции «Коренные леса таежной зоны Европы: современное состояние и проблемы сохранения» (Петрозаводск, 1999), Международной конференции "Сохранение биологического разнообразия Фенноскандии" (Петрозаводск, 2000), III съезде ДОП (Суздаль, 2000).

ПУБЛИКАЦИИ. По теме диссертации опубликовано 14 работ, 3 сданы в печать.

ОБЪЕМ РАБОТЫ. Диссертация изложена на листах машинописного текста, включает 38 таблиц и 20 рисунков. Работа состоит из следующих разделов: введения, 5 глав, заключения, списка литературы, включающего 240 отечественных и 134 иностранных работ.

Работа выполнена на кафедре географии почв факультета почвоведения Московского государственного университета и в Институте леса Карельского научного центра РАН в 1994-1999 годах.

Автор выражает большую признательность коллегам-микробиологам Института леса КарНЦ РАН к.б.н. Н.И. Германовой, к.б.н. Л.М. Загуральской за научно-практические консультации, д.с.-х.н. Н.Г. Федорец за всемерную помощь и поддержку на всех этапах научной работы, а также коллег Института леса (Мухос, Финляндия) H. Lippo, J. Poikolainen за помощь в проведении всех полевых работ в районе Костомукшского ГОКа.

Автор выражает также глубокую признательность к.б.н. Т.Г. Добровольской за консультации по теме диссертации.

ГЛАВА 1. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

1.1. Климат, рельеф, растительность:

Район исследования относится к северной основной климатической зоне, соответствующей северной таежной полосе данной территории (Яковлев, Воронова, 1959). Климат района обусловлен его географическим положением, преобладанием западного переноса в циркуляции атмосферы, воздействием местных факторов. Леса района исследования сохранили особенности, характерные для девственных таежных лесов. В лесном фонде отмечается абсолютное преобладание хвойных древостоев (сосна 86%, ель 13%), которые имеют сложную возрастную структуру, низкую продуктивность (IY-Y класс бонитета) и невысокий показатель полноты (0,5- 0,6).

Наибольшие нарушения ткани хвои кислыми осадками отмечали на участке, максимально приближенном к ГОКу (Летопись..., 1997).

1.2. Характеристика техногенного загрязнения:

Костомукшский ГОК - локальный источник выбросов аэрополлютантов. Загрязнителями являются твердая пыль, сернистый ангидрид, окислы азота. По интенсивности накопления тяжелых металлов образуется нисходящий ряд приоритетности: Fe - Ni - Cr - Zn - Cd - Pb - Cu - Mn (Лазарева и др., 1994).

Снижение отношения С : N в почве косвенно свидетельствует об изменении условий трансформации органических субстратов: резкое падение в 6,6 раза рассматриваемого показателя в иллювиальном В_г горизонте на участке, расположенном в 5-ти километровой зоне, отражает более глубокую деструкцию углеродсодержащих материалов в вышележащем почвенном горизонте - лесной подстилке. Содержание валового С (% от а.с.в.) снизилось в 1,3 раза по сравнению с контролем, накопление серы (в 1,7), фосфора (в 1,4 раза) происходило в лесных подстилках на участках, близко расположенных к ГОКу. Тенденция техногенного накопления магния в лесных подстилках наблюдалось по мере приближения к ГОКу.

Отмеченные изменения химических свойств произошли под воздействием сложной гаммы аэротоксикантов, поэтому важна оценка микроэлементного состава почв пробных площадей. Для исследования подвижности элемента удобно использовать коэффициент поглощения (концентрирования), равный отношению содержания металла в почве загрязненных участков к содержанию его в фоновых областях (Якушевская, 1973). Аккумуляция металлов лесными подстилками зависит от расстояния от источника загрязнения. Было установлено, что наибольший коэффициент концентрации имеют металлы в почвах, наиболее близко расположенных к ГОКу (рис. 1). На участках, более удаленных от источника эмиссии, коэффициенты накопления металлов ниже.

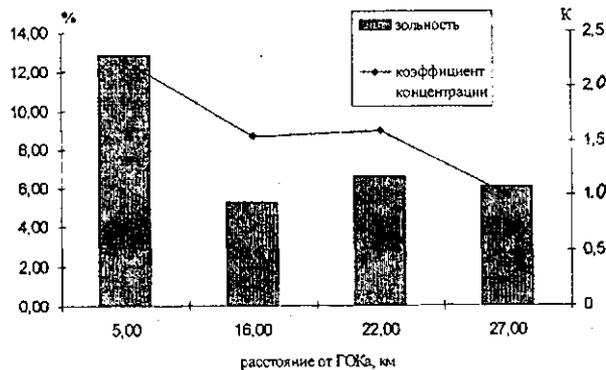


Рис. 1. Изменение зольности (%) и коэффициента концентрации (К) по градиенту загрязнения в органическом горизонте лесных почв

Изменение содержания рассматриваемых тяжелых металлов на загрязненных участках указывает на очень сложное их поведение как в отдельности, так и при совместном, комбинированном действии, а

педотрофности (ПА/КАА) (Аристовская, 1965; Никитин, Никитина, 1981), коэффициент минерализации (КАА/МПА) (Мишустин, 1972).

Влияние солей тяжелых металлов на комплекс целлюлозоразрушающих микроорганизмов изучали методом посева почвенной суспензии на фильтры, обработанные смесью солей тяжелых металлов.

Скорость минерализации целлюлозы в естественных условиях определяли аппликационным методом по степени разложения льняного полотна (Мишустин, 1971). Для выяснения влияния аэрополлютантов ГОКа на состояние биодеструктивного блока педоценоза был поставлен модельный опыт по разложению хвон сосны (Методическое руководство..., 1986).

Лабораторные биохимические методы включали определение активности уреазы по методике Переверзева с соавт. (1970) и протеазы по методике Купревича, Щербаковой (1966) колориметрически, каталазы - Круглова, Пароменской (1966) газометрически. Потенциальную и актуальную активность протеолитических ферментов изучали по степени разложения желатинового слоя фотоленки (Мишустин, Вострова, 1971).

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием пакетов STATGRAPHICS, Microsoft Excel 5.0

ГЛАВА 2. ВЛИЯНИЕ ЭМИССИЙ КОСТМУКШСКОГО ГОКА НА СРЕДУ ОБИТАНИЯ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОТЫ.

На фоне аэротехногенного загрязнения произошли заметные изменения зольности лесных подстилок. В среднем рассматриваемый показатель возрос в 3,2-3,6 раза по сравнению с контролем и составил 14% (рис. 1). При увеличении зольности лесных подстилок до 45% они уже не могут в полном объеме выполнять фильтрационные функции по отношению к поллютантам, медленно трансформируясь в техногенно нарушенные подстилки техногенно измененных почв (Лазарева, 1992).

Исследования химических свойств лесных почв показали, что при аэротехногенном загрязнении прежде всего изменения происходят в органическом горизонте. При этом нет резких изменений показателей кислотности среды, отклонения находятся на уровне контрольных низких значений (3,75-4,05). Снижение обменных K^+ и Na^+ в органическом горизонте в 1,5 и 1,9 раза соответственно выявили на участке, наиболее приближенном к ГОКу. Здесь же отмечали увеличение в 1,5 раза суммы Ca^+ и Mg^+ . Замещение K^+ и Na^+ на ионы Ca , Mg сопровождается изменением окислительно-восстановительного режима почв.

1.3. Почвы:

Подзолы северотаежной подзоны Карелии характеризуются укороченностью профиля (почвообразованием охвачено лишь 40-70 см почвенной толщи) и резкой дифференциацией на генетические горизонты. В нем выделяют АО, А2, В (f, hf, fh, h), С.

Почвы пробных площадей – подзолы иллювиально-железистые, сформировавшиеся на песчаной морене, представленные в автоморфных позициях ландшафта сосняков зеленомошных. Для органического вещества почв сосновых лесов отношение С : N достигает 30-40 в горизонте АО. Содержание общего углерода в лесных подстилках колеблется от 10 до 43%, в подзолистом горизонте 0,19%. Общий азот в подстилках и минеральном горизонте составил 0,1-1,6%, 0,02%, соответственно.

При изучении влияния аэрополлютантов Костомукшского ГОКа по программе “Состояние лесов Ленинградской области, Карелии и Финляндии” (1994) была предусмотрена закладка 4 стандартных пробных площадей, ориентированных по направлению господствующих ветров в данном районе, на расстоянии 5, 16, 22, 27 км от комбината. Последняя рассматривается в качестве контроля. Полевые исследования выполнены в сентябре 1996 - октябре 1998 г., образцы почв для микробнально-биохимических анализов отбирались из горизонтов АО', АО'', А2 (Методические рекомендации ..., 1981; Методы ..., 1991).

1.4. Методы исследования:

Валовой химический состав почв определяли по Аринушкиной (1970), агрохимические показатели - по общепринятым методикам (Агрохимические методы..., 1975). Валовое содержание Cu, Ni, Zn, Fe, S, Mn, Cd, Ni, Ca, Mg, Pb в почвенных пробах определяли методом атомной абсорбции и спектрометрии в аналитической лаборатории Института леса КарНЦ РАН.

Изучение структурно-функциональной организации микробоценоза проводили в свежих образцах общепринятым в почвенной микробиологии методом посева на твердые питательные среды (Методы..., 1991). При этом учитывали следующие группы микроорганизмов: бактерии (на МПА, КАА, среде Эшби, почвенном и голодном агаре), актиномицеты (на КАА), микроскопические грибы (на подкисленном СА). Комплекс целлюлозоразрушающих микроорганизмов изучали на среде Гетчинсона. С использованием данных по количественному учету микроорганизмов на твердых питательных средах вычислены индексы олиготрофности (ПА/МПА) и

также на разную степень их ассимиляции. Высокая миграционная способность тяжелых металлов способствует их быстрому продвижению по трофическим цепям, обуславливая большое токсико-микробиологическое действие (Якушевская, 1973).

ГЛАВА 3. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕСНЫХ ПОЧВ НА ФОНЕ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Для комплексной оценки состояния почв используется показатель численности различных групп микроорганизмов (Шутинская, 1981). На фоне аэротехногенного загрязнения отмечали расширение диапазона численности микроорганизмов отдельных эколого-трофических групп (табл. 1). При этом выявили, что более значительные изменения происходили в листовом подгоризонте лесных почв в пяти километровой зоне. Широкий размах отклонений численности бактерий, использующих органические формы азота, и ассоциации олигонитрофилов свидетельствовал об их чувствительности к экзотоксикантам в почвах загрязненных участков. Используя “атмосферную пыль”, бактерии группы “рассеяния” адекватно реагировали на изменение экологических микроусловий.

Накапливаясь в верхних горизонтах, тяжелые металлы постепенно ассимилируются и оказывают менее выраженное влияние на почвенное микронаселение. Результаты исследования показали, что в нижележащих подгоризонтах уменьшается количество эколого-трофических групп вовлеченных в “детоксикацию” экзополлютантов. В ферментативном горизонте лесных подстилок отмечали мало заметное изменение диапазона численности бактерий, использующих органические соединения азота. Расширение диапазона колебаний численности выявили для бактерий-олигонитрофилов наиболее загрязненных участков. Это можно рассматривать как возможный механизм адаптации к внешнему воздействию данной эколого-трофической группы.

Толерантность к тяжелым металлам некоторых микроорганизмов, в том числе микроскопических грибов, предполагает отсутствие заметного изменения их численности в почвах, подверженных воздействию аэрополлютантов. Микромицеты имели меньший размах колебаний численности по сравнению с бактериями. В АО' и АО'', а также в А2 горизонтах исследуемых почв этот показатель составил 195-486, 95-410, 6-23 тыс./г почвы соответственно.

По мере приближения к промпредприятию отмечали увеличение общей численности микроорганизмов (рис. 2). На рисунке хорошо прослеживается сопряженное возрастание общей численности

Диапазон колебаний численности микроорганизмов различных эколого-трофических групп на фоне многолетних трендов аэрополлютантов Костомукшского ГОКа (среднепогодные данные), тыс./г почвы

Расстояние от ГОКа, км, горизонт	Факторы				олиготрофы на ПА	учитываемые на ГА	Микромицеты	Активности*	Целлюлозоразрушающие
	МПА	КАА	олигонитрофилы на Эшби	олиготрофы на ПА					
5 АО	983-106680	3337-10100	2197-174720	88-9324	371-6804	194-672	177	1-108	
AO	98-4956	1824-14418	2016-5379	1344-3375	130-1531	165-595	131	3-98	
A2	4-36	45-313	20-237	1-345	26-230	5-24	416	1-11	
16 АО	541-12544	2376-9856	2448-146720	218-7056	209-2290	156-302		13-57	
AO	64-1776	1397-7504	998-7776	170-1792	156-898	40-382		3-62	
A2	14-38	30367	67-165	67-165	7-89	12-218		1-6	
22 АО	297-2552	1528-4756	3362-25636	214-8236	304-6032	116-434			
AO	485-1484	189-3404	460-5194	320-3604	76-2650	96-233		1-2	
A2	1-18	10-630	19-173	1-89	38-236	5-22		1-5	
27 АО	115-920	952-11868	1987-6348	179-4416	236-1987	313-534		2-4	
AO	420-3780	375-2297	567-3300	68-2016	139-2352	78-427		3-4	
A2	8-124	12-549	70-102	2-102	38-200	9-14		0,5-1	

* - данные 1997 года

микроорганизмов и коэффициента накопления тяжелых металлов органомным горизонтом исследуемых почв. Максимум рассматриваемых параметров наблюдали в импактной зоне от комбината.

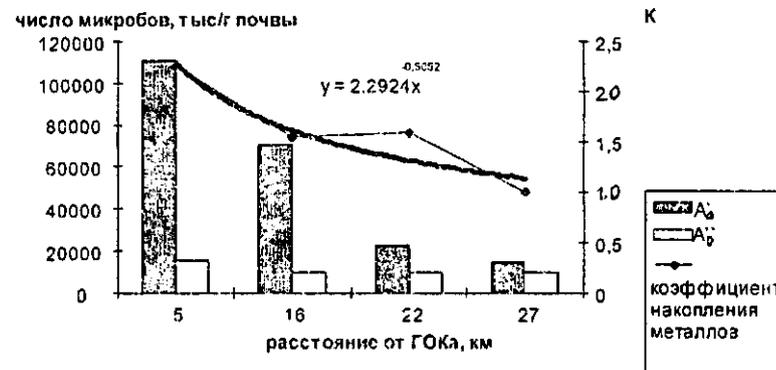


Рис. 2. Изменение общей численности микроорганизмов в зависимости от расстояния до источника выбросов поллютантов (многолетние средние данные)

Количественные изменения в микробоценозе наблюдались на ранних этапах загрязнения почв тяжелыми металлами, "провоцируя" нарушение его структуры (табл. 2). Прежде всего изменения произошли в составе аммонифицирующей микрофлоры. Постепенное возрастание численности спороспособных форм бактерий (>20%) отмечали при приближении к ГОКу в органомном и подзолистом горизонтах. Увеличение численности бактерий, использующих минеральные соединения азота, выявили на загрязненных участках. Количество эвтрофов было близко к численности бактерий олиготрофной ассоциации на пробных площадях, наиболее примыкающих к ГОКу. В пределах олиготрофной группировки увеличилась роль бактерий-олигонитрофилов и бактерий, растущих на ПА, на участках, близко локализованных от источника аэрогенного загрязнения. Несмотря на сложное поведение почвенной микробиоты в условиях антропогенного прессинга, существуют компенсаторные механизмы, которые обеспечивают некоторую стабильность микробоценоза, формируют его целостность, единство (Звягинцев, 1987). Значение отношения общей суммы бактерий эвтрофной ассоциации к общей сумме олиготрофов приближается к контрольному, где лидирующая роль принадлежит последним.

Таблица 2

Влияние аэрополлютангов Костомукшского ГОКа на структуру микробоценоза иллювиально-железистых подзолистых почв (среднемогилетские данные), тыс./г почвы

Расстояние от ГОКа, км	Горизонт	Эвтрофная ассоциация			Олиготрофная ассоциация			
		МПА		КАА	микро-мицеты	олиготрофы Эшби	олиготрофы на ПА	олиготрофы на голодном агаре
		общее	споры, %					
5	AO'	35908	89,4	6215	426	62632	3403	2481
	AO''	2509	44,8	5665	269	4324	2063	666
	A2	19	36,8	182	14	166	92	107
16	AO'	4880	3,8	5776	233	54922	3312	1468
	AO''	1564	22,3	3084	246	3508	875	570
	A2	25	32	154	20	116	34	107
22	AO'	1215	9,1	2748	228	11976	5633	3117
	AO''	1359	29,8	2008	54	3384	1491	1762
	A2	9	22,2	276	12	102	32	110
27	AO'	416	1,2	4642	459	4801	2498	2182
	AO''	1977	13,8	944	260	1930	1099	3761
	A2	41	9,8	251	11	81	107	111

Аэрополлютанты Костомукшского ГОКа оказали влияние на групповой состав микробоценоза лесных почв импактной зоны (5 км). Перегруппировка микробиоты почв, подверженных воздействию аэрополлютантов, произошла в сторону доминирования прокариот. Отмечалось возрастание спорообразующих форм бактерий и актиномицетов в органогенных горизонтах почв, близко расположенных к источнику аэротехногенного запыления (табл. 2).

Наблюдалось уменьшение процента микроскопических грибов в составе микробного сообщества в листовом подгоризонте лесных подстилок. В ферментативно-гумусовом подгоризонте процент микромицетов в микробоценозе на всех пробных площадях примерно одинаковый. Сложная почвенно-химическая обстановка в районе промпредприятия оказала влияние и на качественный состав микромицетов. Выявлено снижение доли представителей р. Mucor (в 1,6 раза) в лесных подстилках участков, максимально приближенных к промузлу. Представители р. Penicillium доминировали в составе микромицетов (>70%) на всех участках, при приближении к источнику загрязнения отмечается рост их относительной численности.

Стимуляция развития аммонифицирующих и целлюлозоразрушающих микроорганизмов несколько изменяет трофические потребности микробоценоза вследствие насыщения почв разными фракциями азот- и углеродсодержащих соединений. В ненарушенных почвах контрольных участков в листовом подгоризонте лесных подстилок коэффициент минерализации (КАА/МПА) больше 8,0 (табл.3).

Таблица 3.

Коэффициенты, характеризующие соотношение различных эколого-трофических групп микроорганизмов исследуемых почв

Расстояние от ГОКа, км	Горизонт	Коэффициент минерализации, КАА/МПА	Индекс олиготрофности, ПА/МПА	Индекс пелотрофности, ПА/КАА
5	AO'	4.5	0.3	0.7
	AO''	14.8	1.9	0.2
16	AO'	3.8	2.2	0.6
	AO''	8.8	1.5	0.4
22	AO'	3.1	2.3	1.0
	AO''	2.1	1.1	1.3
27	AO'	11.7	10.5	0.5
	AO''	0.63	0.5	3.0

По мере приближения к эпицентру загрязнения значение коэффициента постепенно снижается по сравнению с контролем. Особенно это четко проявилось в последний (1998г.) год наблюдения.

Низкие показатели коэффициента в зоне аэрогенного загрязнения свидетельствовали о достаточно высоком уровне минерализации азотсодержащих субстратов и меньшей иммобилизации азота микробной биомассой.

Увеличение коэффициента минерализации и иммобилизации отмечали в горизонте А2, что косвенно указывало на более глубокую минерализацию в нижележащих ярусах лесных почв, подверженных аэротехногенному воздействию. Возросшие показатели индекса Мишустина в АО'' и А2 горизонтах лесных почв на фоне аэротехногенного загрязнения характеризуют эти системы как "неблагоприятные для органической части почв" (Шатохина, Христенко, 1998).

Значения индекса олиготрофности в органогенном подгоризонте лесных почв снижались по мере приближения к ГОКу при одновременном увеличении индекса педотрофности. Обратная тенденция прослеживалась в подзолистом горизонте. Отмечали возрастание индекса олиготрофности в 1,6 и 4,6 раза при приближении к ГОКу.

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ХАРАКТЕР БИОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Изучение биохимических параметров (энзиматической активности) и целлюлозоразрушающей способности позволяет выявить начальные этапы ухудшения состояния лесных почв, подверженных воздействию аэрополлютантов (Андреюк и др., 1997). Результаты исследования показали что на фоне аэротехногенного загрязнения изменяется активность окислительно-восстановительных ферментов. Это еще раз доказывает необходимость проведения постоянных микробнально-биохимических исследований. Ингибирование энзимов цикла азота и окислительно-восстановительного типа в почвах, загрязненных тяжелыми металлами, отмечают многие исследователи (Григорян, Галстян, 1979; Евдокимова, 1995; Синицина, Стефурук, 1994). В наших исследованиях был выявлен стимулирующий эффект аэрополлютантов на активность почвенных энзимов (табл. 4).

По нашим наблюдениям, аэрополлютанты стимулировали активность энзимов-гидролитиков и окислительно-восстановительного типа в листовом подгоризонте лесных подстилок. На фоне возросших показателей активности почвенных энзимов в органогенном горизонте их показатели в подзолистом горизонте оставались на более низком

уровне, чем в контроле. Отсутствие зеркального отражения численности почвенных микроорганизмов и ферментативной активности в антропогенно измененных почвах отмечают многие исследователи (Звягинцев и др., 1976; Мишустин, 1972; Сорокин, 1993). Это связано с более высокой лабильностью численности по сравнению с их биохимической активностью.

Таблица 4.
Ферментативная активность подстилок и минерального горизонта исследуемых почв, расположенных на разном расстоянии от ГОКа (в расчете на 1 г почвы)

Расстояние от ГОКа, км	Горизонт	Каталаза, мл O ₂ за 5 мин	Уреаза, мг N-NH ₄	Протеаза, мг N-NH ₂
5	АО'	30.1	5.1	2.68
	АО''	14.2	4.0	1.20
	А2	2.7	1.8	0.01
16	АО'	17.1	4.4	2.48
	АО''	16.0	4.6	1.20
	А2	3.1	1.3	0.01
22	АО'	18.1	3.4	2.25
	АО''	16.2	4.6	0.97
	А2	3.2	1.6	0.01
27	АО'	16.8	4.3	2.40
	АО''	15.4	5.5	0.87
	А2	4.4	1.6	0.02

Специфика мониторинга техногенных загрязнений почв требует использования модельных полевых опытов *in situ* (Аристовская, 1980; Воробейчик, 1991, 1997). Результаты исследования показали, что наибольшая скорость минерализации целлюлозосодержащих материалов происходит в ферментативном слое (в среднем 55%), в минеральном горизонте она составляет 32,6% (рис. 3). Наименьшая скорость биотрансформации льняного полотна в верхнем (0-3 см) слое почвы (12,8%), в подзолистом горизонте скорость минерализации целлюлозы снижалась. Влияние аэрополлютантов на активность целлюлозоразрушения однозначно. При приближении к ГОКу отмечали возрастание скорости минерализации льняного полотна в АО' на 13,9; 13,9 и 17,4%, в подгоризонте АО'' стимулирующий эффект был более выражен: 26,7; 46,4 и 41,1% соответственно. В минеральном горизонте наблюдались сходные закономерности (рис. 3).

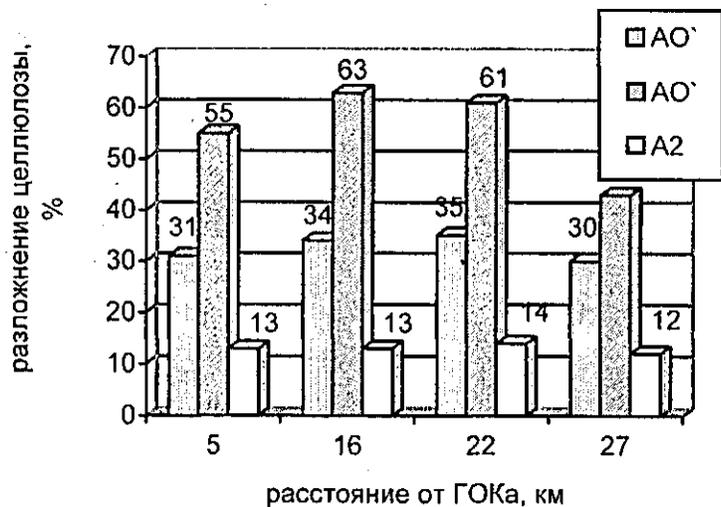


Рис. 3. Актуальная целлюлозолитическая активность исследуемых почв

Для характеристики пестроты почвенного покрова в зоне аэрогенного запыления использовали коэффициент варьирования признака CV% (Воробейчик, 1997). На участке импактной зоны значения коэффициента вариации возрастали. Увеличение значений коэффициентов (максимально в 3,7 раза) трудно сравнить с данными других исследователей полученными при изучении более продолжительной (> 50 лет) нагрузки азротехногенного загрязнения на лесные экосистемы и свидетельствующими об ингибирующем влиянии аэрополлютантов на скорость деструкции целлюлозы. При длительном загрязнении регистрируются более высокие показатели CV% (>140%) (Воробейчик, 1997; Евдокимова, 1998; Ohtonen, 1990).

При сопоставлении данных об изменении скорости минерализации льняного полотна и хвои лесообразующей породы под воздействием аэрополлютантов выявили, что максимум исследуемых параметров наблюдали на участках, расположенных на расстоянии 16 км от Костомукшского ГОКа (рис. 4). Наиболее интенсивно процессы биотрансформации происходят на 1 и 2 участке и постепенно замедляются по мере приближения к контролю.

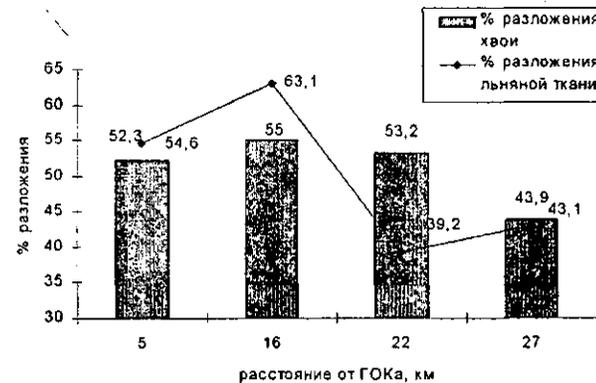


Рис. 4. Изменение скорости минерализации целлюлозы и хвои сосны в почвах, расположенных на различном расстоянии от ГОКа.

ГЛАВА 5. МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕХНОАГРУЗКИ НА ЛЕСНЫЕ ПОДСТИЛКИ

В модельных лабораторных опытах изучали влияние солей никеля и хрома на биологическую активность лесных почв. Для исследования использовали органогенный горизонт контрольных пробных площадей. Соли металлов, предварительно растворенные в воде, вносили в почву из расчета 40, 100, 500, 1000 мг/кг. Срок инкубирования 95 суток.

5.1 Влияние солей никеля на биологическую активность лесных почв.

В ходе эксперимента отмечено, что чувствительность различных групп микроорганизмов к солям никеля разная. Однако не только высокие >500 мг/кг, но и низкие (40-100 мг/кг) дозы никеля вызвали уменьшение численности отдельных эколого-трофических групп бактерий. При низкой концентрации никеля в почве (40 мг/кг), спустя 3 суток с момента постановки опыта, общая численность бактерий резко снижалась (рис. 5). Коэффициент минерализации, индексы олиго- и педотрофности возросли в 1,3-1,9 раза по сравнению с контрольными значениями при низком уровне техногенной нагрузки. При увеличении количества никеля в почве (100-500 мг/кг) изменения коснулись бактерий группы олиготрофов: снизились значения индексов олиго- и педотрофности. При максимальной дозе никеля произошла дальнейшая перегруппировка микробиоценоза: высокий процент участия спорообразующих бактерий в процессе аммонификации,

150783K

элиминирование актиномицетов могут изменить темп и направленность минерализации органического вещества.

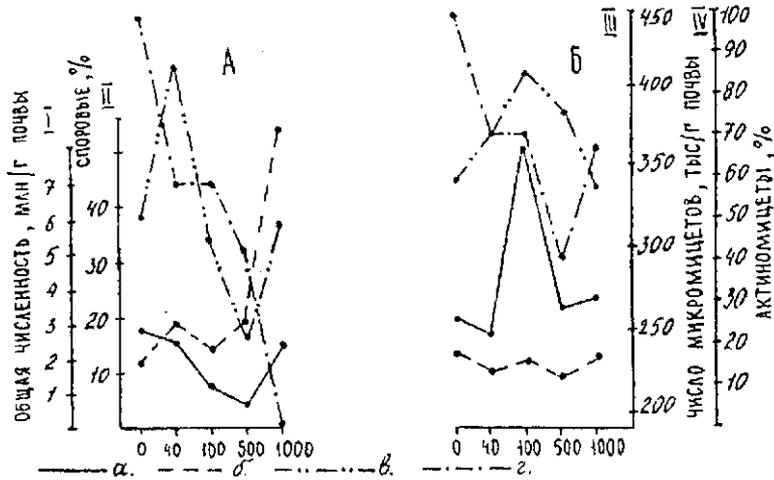


Рис. 5. Влияние одnorазовых доз металлов на численность почвенных микроорганизмов в условиях лабораторного опыта

По оси ординат: I-общая численность микроорганизмов (сумма бактерий (МПА, КАА, ПА, Эшби), микроскопических грибов (СА)) (а), тыс./г.почвы; II-численность спорообразующих, % от общего количества бактерий МПА (б),%; III-численность микроскопических грибов (в), тыс./г.почвы; IV-численность актиномицетов, процент к контролю (г), %. По оси абсцисс: доза металла, мг/кг почвы. А-никель, Б-хром.

Отмечен резкий скачок вверх индексов олиго-и педотрофности в 3,6 и 2,8 раза на фоне высоких концентраций никеля. Высокая пластичность бактериального населения "компенсировалась" толерантностью микроскопических грибов к различным дозам никеля. Четко выраженных изменений численности и состава микромицетов, учитываемых на СА, не наблюдалось даже при высоких дозах токсиканта в почве. Во всех вариантах опыта доминировали представители р. Мисог, р. Penicillium, которые составляли 1,3-3,2, 94,0-96,2% от общей численности.

При внесении разных концентраций никеля отмечено изменение численности и состава целлюлозоразрушающих микроорганизмов. Они были представлены исключительно микромицетами, количество которых на фоне высоких добавок металла превосходило общую численность целлюлозоразрушающих микроорганизмов контроля в 1,3 раза. Целлюлозоразрушающие

бактерии и актиномицеты оказались интолерантными к низким и высоким концентрациям металла.

Отмечено возрастание активности каталазы в 1,1-1,5 раза и уреазы в 1,3-1,6 раза по мере увеличения дозы вносимого никеля (табл. б). Стимуляцию каталазной активности в почве под воздействием тяжелых металлов часто связывают с возникновением защитной реакции почвенной микробиоты на изменения окислительно-восстановительного режима почв (Сенцова, Максимов, 1985; Gadd, 1990). Увеличение активности уреолитического фермента косвенно свидетельствовало о создании в почве резервного аммонийного азота.

Сложный характер изменений структурной и функциональной организации микробценоза под воздействием никеля наглядно иллюстрировали результаты учета численности эколого-трофических групп микроорганизмов спустя три месяца после постановки опыта. Общая численность микронаселения (МПА, КАА, ПА, Эшби) оставалась ниже контроля в 1,3 и 2,3 раза на фоне средних (40-100 мг/кг) и высоких (1000 мг/кг) концентраций никеля в почве. Отмечено снижение численности бактерий, потребляющих органические и минеральные соединения азота. Установлено снижение численности бактерий группы "рассеяния". Положительные изменения в структуре микробценоза были отмечены по прошествии 95 суток с момента постановки опыта: возросла численность флуоресцирующих форм бактерий в составе аммонифицирующей микрофлоры, в 1,5 раза увеличилась численность мицелиальных прокариот при дозе никеля 500 мг/кг. На фоне максимальных доз никеля вновь в структуре микробного сообщества появились актиномицеты, элиминирование которых наблюдалось ранее.

Во всех вариантах опыта не выявлено изменение численности микроскопических грибов, что указывало на их необычайную устойчивость к солям никеля.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что под воздействием никеля в почве происходил сдвиг трофических потребностей микроорганизмов в сторону усиления минерализации азотсодержащих веществ, изменение активности бактерий-аммонификаторов, разбалансировка главных этапов биотрансформации органического вещества, увеличение численности бактерий ассоциации олиготрофов.

Спустя 95 суток после начала опыта активность отдельных почвенных ферментов изменилась (Рис. 6). Стимуляция ферментативной активности в первые трое суток после постановки опыта сменилась ее снижением. Аактивность каталазы и уреазы уменьшилась. При этом

чувствительность каталазы к солям никеля была более выраженной: при увеличении никеля в среде отмечали постепенное снижение активности оксидоредуктазы. В диапазоне 500-1000 мг/кг выявили снижение работы уреолитического энзима в почве.

5.2. Реакция микробного сообщества почв на воздействие хрома.

Приоритетными в составе загрязнителей ГОКа являются Fe, Ni, Cr. Поэтому ставился эксперимент, целью которого было изучить влияние хрома на биологическую активность почв.

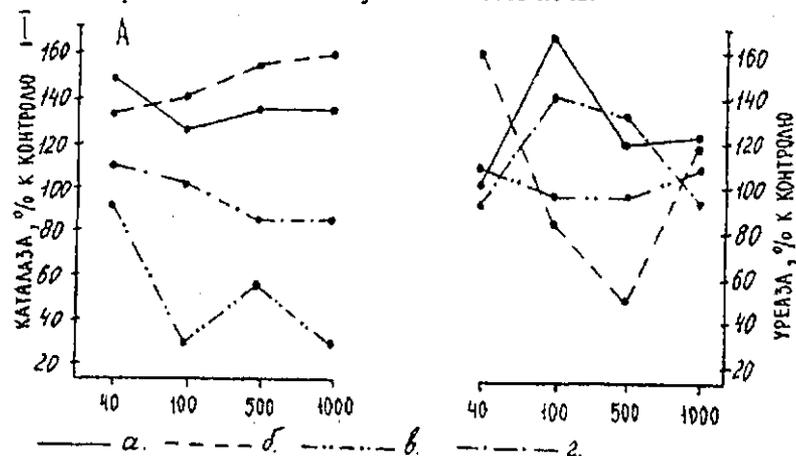


Рис.6. Влияние различных доз металлов на динамику энзиматической активности почв.

По оси ординат: I-активность каталазы: спустя 3 суток с момента постановки опыта (а), -95 суток (в), мл O_2 за 5 мин; II-активность уреазы: спустя 3 суток с момента постановки опыта (б), -95 суток (г), мг аммонийного азота. По оси абсцисс: доза металла, мг/кг почвы. А-никель; Б-хром.

Как показали результаты исследований, наиболее чувствительными к солям хрома были бактерии. На фоне низких и средних доз металла (40, 100 мг/кг) выявили некоторую общую тенденцию направленности изменений численности и структуры бактериального комплекса (рис. 5). Отмечено снижение общего количества бактерий, использующих органические соединения азота. Численность бактерий-олиготрофов оставалась на уровне контроля при заданных концентрациях хрома. Содержание бактерий эвтрофной и олиготрофной групп повысилась при концентрации хрома 500 мг/кг на фоне пятикратного увеличения численности бактерий, использующих органические формы азота. Общее количество бактерий, потребляющих минеральные соединения азота, возросла в 5 раз при заданной

концентрации хрома. Актиномицеты были более чувствительны к изменению условий: их численность снизилась в 1,5 раза по сравнению с контролем. Бактерии-олигонитрофилы и бактерии-олиготрофы оказались интолерантными к хромю. Увеличение их количества в 2,1 и 2,7 раза наблюдалось при среднем уровне техногенной нагрузки.

При высоких концентрациях хрома в почве (1000 мг/кг) отмечен стимулирующий эффект этого металла на определенные эколого-трофические группы микроорганизмов: увеличилось содержание микроорганизмов, потребляющих минеральные соединения азота, бактерий-олигонитрофилов и бактерий-олиготрофов. Однако количество мицелиальных прокариот было ниже контроля в 1,5 раза при заданной концентрации хрома в почве.

В присутствии разных доз хрома несколько изменилась естественная трофическая структура микробсообщества. На фоне низких концентраций (40 и 100 мг/кг) микрофлора тяготела к утилизации "рассеянных" элементов минерального питания: индексы олиго- и педотрофности возросли в 2 раза. Снижение рассматриваемых показателей отмечали при средних дозах хрома (500 мг/кг). Наиболее выраженные деформации трофической структуры происходили на фоне высоких концентраций хрома (1000 мг/кг): при данном режиме антропогенной нагрузки значение коэффициента Мишустина увеличилось при одновременном снижении индекса олиготрофности.

Изменения трофической структуры микробсообщества почв свидетельствуют о том, что под воздействием хрома происходит ускорение круговорота азота, а следовательно, наблюдается большая обеспеченность почв метаморфизированными азотсодержащими соединениями, более доступными для дальнейшей микробной биотрансформации.

Тесная трофическая связь процессов превращения азота и углерода предопределила необходимость проведения исследований влияния солей хрома на круговорот второго элемента-биофила - углерода. Результаты показали изменение состава и численности комплекса целлюлозоразрушающих микроорганизмов под воздействием хрома. На фоне низких доз металла (40-100 мг/кг) отмечали стопроцентное доминирование миксобактерий. При концентрации хрома 500 мг/кг миксобактерии регистрировали эпизодически, наблюдали увеличение численности мицелиальных микроорганизмов в составе целлюлозоразрушителей исследуемых почв. На фоне высоких концентраций металла комплекс целлюлозоразрушителей был представлен темноокрашенными актиномицетами, численность которых

в 2,5 раза превышала контрольную. Во всех вариантах опыта выявлены четко видимые зоны разложения фильтра.

Влияние солей хрома на активность почвенных ферментов не имело строго выраженной закономерности (Рис.6).

По прошествии трех месяцев с начала эксперимента, в лесной почве, инкубированной с солями хрома (концентрация 500 и 1000 мг/кг), уменьшилась численность бактерий, использующих органические формы азота. Отмечено низкое количество спорообразующих форм бактерий в составе аммонифицирующей микрофлоры, что свидетельствует о компенсации наблюдавшихся ранее сдвигов. Число актиномицетов и бактерий, потребляющих минеральные соединения азота, было высоким. Последние сохраняли доминирующее положение в составе эвтрофной ассоциации. Условия среды оказались благоприятными для активности бактерий олиготрофной группы: существенных сдвигов в их составе не произошло.

На фоне высоких доз хрома коэффициент минерализации снизился к концу опыта, сохраняя, однако, более высокие значения, чем в контроле (в 1,5-2 раза). Изменения рассматриваемых индексов свидетельствует о том, что чувствительность разных трофических групп к антропогенному воздействию существенно различается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В зоне хронического аэротехногенного загрязнения в почвенном покрове накапливаются тяжелые металлы. При этом наибольшее накопление загрязнителей приходится на верхние органические горизонты, являющиеся средой обитания микробного населения. В результате техногенного загрязнения почв наблюдаются глубокие изменения в структуре и жизнедеятельности микробного сообщества. В то же время микробное сообщество не является пассивным объектом физико-химической "репрессии", он реагирует на изменения условий ростом численности устойчивых к загрязнителям популяций, специфической ферментативной активностью и в ряде случаев ускорением минерализации субстрата.

Тем не менее имеются естественные границы устойчивости почвенной микробиоты. В модельных опытах удалось установить предельные концентрации отдельных загрязнителей, при которых не восстанавливается природное равновесие и микробный комплекс остается деформированным, что отражается в его трофической структуре и в ферментативной активности почв.

Используемый в работе метод посева не дает возможность оценить общую биомассу микробного комплекса, однако является наиболее адекватным для изучения трофической структуры. Этот метод позволил проследить перестройку микробного под влиянием различных загрязнений и установить новую иерархию популяций.

Полученные результаты являются основанием для дальнейшего изучения реакции микробных сообществ и ферментативной активности почв на загрязнение тяжелыми металлами и в перспективе разработки методической основы установления норм ПДК конкретных загрязнителей и их сочетаний, привязанных к определенным биогеоклиматическим условиям.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что аэрополлютанты Костомукшского ГОКа модифицируют прямо или косвенно среду обитания почвенной микробиоты. В импактной зоне существенно возрастает зольность лесных подстилок. Замещение K^+ и Na^+ на ионы Ca и Mg сопровождается изменением окислительно-восстановительного режима почв. Снижение отношения $C : N$ в почве косвенно свидетельствует об изменении условий трансформации органических субстратов.

2. В результате аэротехногенного загрязнения тяжелыми металлами изменяется трофическая структура микробных сообществ лесных почв. На фоне общего роста численности микроорганизмов возрастает роль спороспособных форм бактерий. Увеличивается численность эвтрофного и педотрофного комплексов. Отмечается высокая толерантность почвенных грибов к изучаемым загрязнителям.

3. В противоположность ранее полученным данным, в которых было показано ингибирование в почвах ферментов цикла азота и окислительно-восстановительного типа, нами был выявлен стимулирующий эффект аэрополлютантов на активность почвенных энзимов. Отмечено увеличение активности энзимов-гидролитиков и оксидоредуктаз в листовом подгоризонте лесных подстилок, хотя в горизонте A2 их активность была ниже, чем в контроле. В то же время установлено снижение активности ферментов азотного цикла.

4. Выявлена неоднозначность действия тяжелых металлов на комплекс целлюлозоразрушающих микроорганизмов и их физиологическую активность. Максимум скорости минерализации целлюлозного субстрата наблюдается на участках, расположенных на расстоянии 16 км от Костомукшского ГОКа. Полученные результаты хорошо описываются уравнениями экспоненциальной зависимости и

могут быть использованы при мониторинговых исследованиях лесных почв.

5. Изучена чувствительность различных компонентов микробного комплекса к градиенту концентрации солей никеля и хрома. Показано, что для разных эколого-трофических групп существует разный порог устойчивости. Так, весьма чувствительными к солям никеля оказались актиномицеты и комплекс бактерий, использующих органические формы азота, а толерантными - спорообразующие бактерии и микромицеты. Соли хрома также подавляли ценоз бактерий, использующий органические соединения азота, однако как при низких, так и при высоких дозах внесения загрязнителя возрастала численность бактерий, утилизирующих на минеральные формы азота.

6. Обоснована необходимость использования методов биологической диагностики при экологическом мониторинге почв, находящихся в зоне воздействия предприятий-источников аэрополлютантов, в первую очередь соединений тяжелых металлов.

ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ ОПУБЛИКОВАНЫ И ПОДГОТОВЛЕНЫ СЛЕДУЮЩИЕ РАБОТЫ

1. Медведева М.В., Германова Н.И. Биондикация аэротехногенного загрязнения почв бореальных лесов (на примере Костомукшского ГОКа) // Биондикационная оценка поврежденных организмов и экосистем Тез. докл. науч. конф., Петрозаводск, июнь 1997г., Петрозаводск: ПГУ, 1997.
2. Медведева М.В. Изучение воздействия технонагрузки на состояние микробного звена лесных экосистем в модельных опытах // Тез. докл. II съезда Рус. бот. общества, СПб., 1998.
3. Медведева М.В., Германова Н.И., Бахмет О.Н. Использование методов биологической диагностики для мониторинга состояния почв // Состояние и мониторинг лесов на рубеже XXI века. Материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 1998.
4. Медведева М.В., Яковлев А.С. Влияние технонагрузки на состояние почвенной биоты // Антропогенное воздействие на природу Севера и его экологические последствия, Тез. докл. Всерос. совещ., Апатиты, 1998.
5. Евстратова Л.П., Медведева М.В. Исследование биологической активности антропогенно измененных почв в Карелии // Там же
5. Медведева М.В., Германова Н.И. Оценка некоторых биологических параметров почв, подверженных воздействиям аэротоксикантов промпредприятия // Экология таежных лесов: Тез. докл. междунар. конф. Сыктывкар, 1998.
6. Медведева М.В., Евстратова Л.П. Сравнительный анализ реакции почвенной биоты на различное антропогенное воздействие // Биондикация-98, Тез. докл. Междунар. школы-семинара молодых ученых. Петрозаводск, 1998.

7. Медведева М.В., Бахмет О.Н., Яковлев А.С. Биотрансформация органического вещества лесных почв в условиях аэротехногенного загрязнения // Биологические основы растительного мира, почвенного покрова Восточной Финноскандии: Тез. докл. Междунар. конф., Петрозаводск, 1999.
8. Медведева М.В., Яковлев А.С. Некоторые микробиологические аспекты сохранения бореальных лесов Карелии // Коренные леса таежной зоны Европы: современное состояние и проблема сохранения: Тез. докл. Междунар. конф., Петрозаводск, 1999. С. 155
9. Медведева М.В., Германова Н.И., Яковлев А.С., Полянская Л.М. Микробиохимический мониторинг лесных, загрязненных аэрополлютантами почв // Экологический мониторинг лесных экосистем, Тез. докл. Всерос. совещ. Петрозаводск, 1999.
10. Евстратова Л.П., Медведева М.В. Значение методов биологической диагностики // Там же
11. Медведева М.В., Бахмет О.Н. Почвенная микробиота – индикатор состояния почв в районе техногенного загрязнения: Тез. докл. III съезда ДОП. Суздаль, 2000.
12. Медведева М.В., Бахмет О.Н. Современное состояние микробного ценоза почв, загрязненных аэрополлютантами в условиях северо-запада России // Лесоведение (в печати).
13. Медведева М.В., Яковлев А.С. Современное состояние микробного ценоза лесных почв, подверженных воздействию аэрополлютантов Костомукшского ГОКа // Сохранение биологического разнообразия Финноскандии. Тез. докл. междунар. конф. Петрозаводск, 2000.
14. Медведева М.В. Влияние эмиссий Костомукшского ГОКа на биологическую активность лесных почв // Лесное хозяйство. 2000. №3.