

Ответная реакция почвенного микробного сообщества на одновременное воздействие металлов и органического вещества

П. Ю. ГАЛИЦКАЯ, А. А. САВЕЛЬЕВ, С. Ю. СЕЛИВАНОВСКАЯ

*Институт экологии и природопользования
Казанский (Приволжский) федеральный университет
420008, Казань, ул. Кремлевская, 18
E-mail: svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru*

Статья поступила 06.03.2015

Принята к печати 19.06.2015

АННОТАЦИЯ

Органическое вещество и металлы оказывают разнонаправленные эффекты на почвенные микроорганизмы. Представлены результаты оценки ответной реакции микробного сообщества почвы на одновременное внесение органического вещества и металлов, входящих в состав компоста из осадка сточных вод. При увеличении в почве $C_{\text{орг}}$ до $2,1 \pm 0,4 \%$ и подвижных форм Cd, Cr, Cu, Ni, Pb и Zn до $1,1 \pm 0,03$, $3,8 \pm 0,8$, $6,0 \pm 1,2$, $2,1 \pm 0,5$, $3,2 \pm 0,7$ и $12,3 \pm 2,7$ мг/кг соответственно наблюдается рост уровня микробной биомассы по сравнению с контрольной почвой в течение двух сезонов после обработки почвы. Респираторная активность почв опытных вариантов увеличивается в первый сезон и снижается к концу второго сезона до уровня контрольного варианта. Значение метаболического коэффициента не превышает уровня контрольного варианта. Анализ данных методом главных компонент выявил, что основным фактором, определяющим изменчивость микробного сообщества, является изменение содержания органического вещества в почве.

Ключевые слова: почва, компосты, микробная биомасса, респирация, метаболический коэффициент, металлы.

Загрязнение почвы металлами чаще всего является результатом антропогенной активности. В ряде случаев токсичные металлы поступают в почву совместно с органическими соединениями, например при размещении на почве осадков сточных вод и их компостов [McGtath et al., 1995; Selivanovskaya et al., 2003; Hargreaves et al., 2008; Nwachukwu, Pulford, 2011]. Эти органические отходы используются в качестве заменителя традиционных органических удобрений,

таких как навоз, чаще всего при возделывании декоративных или технических культур.

Изменение структуры и функционирования почвенных микробных сообществ под действием как органического вещества, так и токсичных металлов вызывает широкий интерес исследований [Giller et al., 1998, 2009; Vig et al., 2003; Gomes et al., 2010; Chodak et al., 2013; Tripathy et al., 2014; Колесников и др., 2014; Bouriou et al., 2015]. Это

связано с тем, что микроорганизмы осуществляют процессы круговорота веществ в почве и в целом обеспечивают ее плодородие и продуктивность [Schloter et al., 2003]. Внесение органического вещества благотворно влияет на микробную биомассу и активность почвенных сообществ, что позволяет использовать этот прием для восстановления качества почвы [Nair, Ngouajio, 2012; Jannoura et al., 2014; Shi, Marschner, 2014]. Металлы же, особенно при их высоком содержании, неблагоприятно влияют на микробную активность почв, причем наибольшую роль играет их подвижная фракция [McGtath et al., 1995; Vig et al., 2003; Rost et al., 2011; Nwachukwu, Pulford, 2011]. Воздействия металлов чрезвычайно разнообразны – от прямого действия на клетки микроорганизмов до опосредованного, связанного с изменением биохимических процессов в почве.

Для оценки эффектов, вызванных антропогенными факторами, используют широкий спектр параметров, характеризующих состояние микробного сообщества, поскольку только совокупность данных позволяет получить адекватную оценку. К числу наиболее часто применяемых параметров относятся микробная биомасса, оцениваемая по содержанию углерода, респирация, метаболический коэффициент [Vig et al., 2003; Selivanovskaya et al., 2003; Schloter et al., 2003; Niemeyera et al., 2012; Blagodatskaya, Kuzyakov, 2013; Chodak et al., 2013]. Углерод микробной биомассы ($C_{\text{мик}}$) является частью органического углерода почвы, более лабильным показателем изменений среды при загрязнении почвы металлами, чем общее содержание органического вещества, поскольку изменения биомассы микроорганизмов почвенных сообществ при изменении условий проявляются в первую очередь [Brookes, 1995; McGtath, 1995; Giller et al., 1998; Vig et al., 2003]. Важность этого параметра определяется и тем, что микробная биомасса обеспечивает устойчивость почвенных экосистем [Ouni et al., 2013]. Показано, что в почвах, загрязненных металлами в высоких концентрациях, микробная биомасса существенно ниже по сравнению с незагрязненными [Varajas-Aceves, 2005; Niemeyera et al., 2012]. В

то же время умеренные концентрации не оказывают существенного эффекта, а в ряде случаев приводят и к незначительной стимуляции процессов [Khan, Scullion, 2002; Nwachukwu, Pulford, 2011]. Интенсивность минерализации органического вещества почвы, оцениваемая на основании респираторной активности, широко используется в лабораторных и полевых исследованиях как критерий, чувствительный к токсическому действию металлов [Khan, Scullion, 2000; Rost et al., 2011; Nwachukwu, Pulford, 2011; Chodak et al., 2013]. Кроме того, этот показатель часто используется в качестве критерия для оценки почвенного плодородия и отражает доступность органического вещества для почвенных микроорганизмов, поскольку весь углерод, теряемый почвой в процессе дыхания, должен проходить через микробный пул. В качестве меры устойчивости почв к различным природным и антропогенным воздействиям, показателя, отражающего нарушение и стресс почвенного сообщества, вызванного в частности металлами, рядом авторов предлагается метаболический коэффициент ($q\text{CO}_2$) – отношение респираторной активности к микробной биомассе [Anderson, Domsch, 1990; Khan, Scullion, 2000; Niemeyera et al., 2012; Blagodatskaya, Kuzyakov, 2013; Tripathy et al., 2014; Spohna, Chodak, 2015]. Поскольку в условиях стресса микроорганизмы перераспределяют энергию с роста на поддержание, этот параметр может быть наиболее чувствительным при загрязнении почвы металлами.

Таким образом, внесение в почву токсичных металлов и органического вещества вызывает разнонаправленные эффекты: органическое вещество стимулирует биологическую активность, тогда как металлы оказывают негативный эффект на микробные сообщества почвы. Эффекты, вызванные одновременным поступлением в почву органического вещества и металлов, изучены недостаточно. В настоящей работе представлены данные об ответной реакции почвенного микробного сообщества на одновременное поступление в почву металлов и органического вещества в составе компостов из осадка сточных вод.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали серую лесную почву со следующими характеристиками: $C_{\text{орг}}$ – $0,7 \pm 0,1 \%$, $N_{\text{общ}}$ – $0,2 \pm 0,03 \%$, pH $5,7 \pm \pm 0,1$, Zn – $15,1 \pm 3,1$ мг/кг, Cd – $0,4 \pm \pm 0,03$ мг/кг, Ni – $24,8 \pm 5,4$ мг/кг, Cr – $47,1 \pm \pm 14,8$ мг/кг, Cu – $31,4 \pm 19,6$ мг/кг, Pb – $9,9 \pm 2,1$ мг/кг, глина – 11 %, песок – 24 %, пыль – 63 %, ил – 2 %. Исследования проводили на территории лесного питомника “Матюшенский” (Республика Татарстан, Россия).

Органическое вещество и металлы вносили в почву в составе компоста, приготовленного из осадка сточных вод станции очистки г. Казани. Характеристика компоста: $C_{\text{орг}}$ – $35 \pm 6 \%$, $N_{\text{общ}}$ – $1,7 \pm 0,3 \%$, pH $6,1 \pm 0,1 \%$, Zn – 546 ± 74 мг/кг, Cd – $12 \pm 2,0$ мг/кг, Ni – 77 ± 14 мг/кг, Cr – 167 ± 42 мг/кг, Cu – 312 ± 45 мг/кг, Pb – 166 ± 37 мг/кг.

Компост вносили в трех дозах на участки размером $2,5 \times 3,5$ м, расположенные рандомизированно, в четырех повторностях. После внесения почву вскапывали на глубину 20 см. Количество внесенного компоста соответствовало в среднем 40, 62, 75 г $C_{\text{орг}}$ /кг почвы (варианты K1, K2, K3). Количество органического вещества обусловлено дозами внесения компоста. В контрольную почву компост не вносили (вариант C). После внесения компоста участки засеивали семенами сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*). Почвенные пробы отбирали четыре раза в первый вегетационный сезон и два раза во второй. Почвы отбирали между рядами посевов из поверхностного слоя 0–20 см. Пробы брали в пяти повторностях с каждого участка и усредняли, после чего доставляли в лабораторию и хранили при 4 °С. Часть почвы высушивали до постоянного веса, размалывали и подвергали химическому анализу. Для биологического анализа пробы после хранения в холодильнике выдерживали при комнатной температуре 24 ч. Все анализы проводили в пяти повторностях, результаты выражали на массу сухой почвы.

Содержание органического углерода ($C_{\text{орг}}$) определяли мокрым сжиганием $0,167$ М $K_2Cr_2O_7$ с последующим титрованием $0,1$ М $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ [ГОСТ..., 1992]. Валовое содержание металлов в почвах определяли после мокрого сжигания образца концент-

рированной HNO_3 и 3%-ного H_2O_2 . Содержание подвижных форм металлов определяли после экстракции ацетатно-аммонийным буфером, pH 4,8, в течение 1 ч. Оценку содержания металлов проводили методом атомной абсорбционной спектроскопии на приборе AAnalyst-300 (Perkin-Elmer, Nalwalk, USA).

Углерод почвенной микробной биомассы ($C_{\text{мик}}$) определяли экстракционно-фумигационным методом с последующим определением содержания углерода в соответствии с ISO 14240-2 [1997]. Почвенную базальную респирацию (выделение CO_2 без добавления субстрата) определяли в соответствии с F. Schinner et al. [1995]. Метаболический коэффициент (qCO_2) рассчитывали как отношение базальной респирации к почвенной микробной биомассе [Anderson, Domsch, 1990].

Статистический анализ проводили в системе R [R Core Team, 2015]. Для многомерного дисперсионного анализа совокупности показателей микробной биомассы, респираторной активности и метаболического коэффициента использовали функцию $aov()$. Для вычисления канонической корреляции совокупности указанных показателей с содержанием $C_{\text{орг}}$ и концентрациями металлов использовалась функция $canoco()$, для вычисления доли объясненной дисперсии – дисперсионный анализ линейной модели, реализованный функциями $lm()$ и $summary.lm()$. Статистический анализ методом главных компонент проводили с использованием функции пакета $vegan$ [Oksanen et al., 2014]. На рисунках и в таблицах представлены средние значения и стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Внесение компоста в почву привело к увеличению содержания $C_{\text{орг}}$. Так, содержание $C_{\text{орг}}$ в образцах почвы K1, K2, K3, отобранных сразу после внесения компоста, составило $1,5 \pm 0,3 \%$, $1,9 \pm 0,3$ и $2,1 \pm 0,5 \%$, что оказалось выше, чем в варианте C (рис. 1). Выявлена прямо пропорциональная зависимость содержания органического вещества в почве от дозы его внесения. В течение двух вегетационных сезонов происходило незначительное снижение содержания $C_{\text{орг}}$, что свидетельствовало о минерализующей активности микроорганизмов. Однако необходимо от-

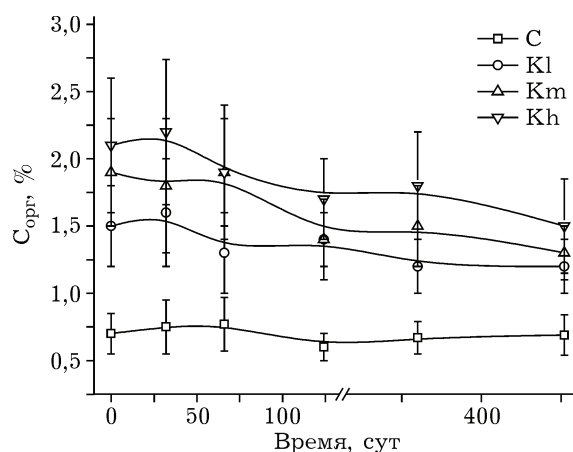


Рис. 1. Изменение содержания органического углерода в динамике эксперимента

метить, что и к концу эксперимента в опытных вариантах содержание $C_{орг}$ не достигло уровня контрольного варианта.

Характерной особенностью компостов из осадка сточных вод является присутствие в них металлов. Поэтому их применение для увеличения содержания органического вещества почвы неизбежно приводит и к одновременному увеличению содержания металлов. Как видно из данных, представленных в табл. 1, максимальное превышение (в 4,5 раза) по сравнению с контрольным обнаружено в варианте Kh для кадмия. Валовое содержание остальных металлов оказалось в 1,5 раза выше контрольного варианта. Увеличение дозы компоста приводило к увеличению содержания металлов, исключение составили хром и свинец, для которых такого выраженного тренда не обнаружено. Определение валового содержания металлов в динамике эксперимента не выявило достоверных изменений.

Поскольку основное влияние на почвенную биоту оказывают металлы, находящиеся в подвижной форме, помимо валового со-

держания в почвенных образцах определялась их фракция, извлекаемая ацетатно-аммонийным буфером. Данные представлены в табл. 2. Внесение компостов привело к увеличению содержания подвижных форм металлов, причем увеличение не носило дозо-зависимого характера. В начале эксперимента максимальная кратность превышения их содержания над уровнем контрольного варианта составила для Cd, Cr, Cu, Ni, Pb и Zn 4,6, 2,4, 2,8, 1,5, 1,5 и 2,0 раза соответственно. В течение всего эксперимента практически во всех опытных вариантах содержание подвижной фракции металлов превышало контрольный вариант. Исключение составили варианты K1 и Km для никеля и Km для свинца.

Кроме изменения характеристик абиотической составляющей почвенной системы, проанализирована ответная реакция микробного сообщества. Характеристиками являлись общая микробная биомасса, респираторная активность и метаболический коэффициент.

Результатом внесения органического вещества в основном является увеличение биомассы и респирации микробного сообщества почвы, тогда как эффект от внесения металлов может выражаться как в снижении, так и в увеличении респирации в зависимости от концентрации металлов и практически всегда в снижении биомассы [Brookes, 1995; McGrath et al., 1995; Giller et al., 1998, 2009; Barajas-Aceves, 2005]. Рассмотрим полученные результаты с этой точки зрения.

Уровень микробной биомассы в образцах почвы, отобранных на участках контрольного варианта в течение двух вегетационных сезонов, варьировался от 0,12 до 0,49 мг $C_{мик}$ /г (рис. 2). Полученные значения микробной биомассы сопоставимы с данными, представленными в литературе. В целом отмечался достаточно низкий уровень биомассы – 0,05–

Т а б л и ц а 1

Валовое содержание металлов в почвах, обработанных компостом

Вариант	Содержание металлов, мг/кг					
	Zn	Cu	Cd	Ni	Cr	Pb
C	15,1 ± 2,0	31,4 ± 7,4	0,4 ± 0,1	24,8 ± 6,2	47,1 ± 11,2	9,9 ± 2,0
K1	18,7 ± 3,8	54,6 ± 12,1	1,7 ± 0,3	32,1 ± 7,1	93,9 ± 24,1	15,4 ± 2,9
Km	26,2 ± 5,9	58,5 ± 15,7	1,7 ± 0,4	34,4 ± 7,8	89,8 ± 21,2	14,1 ± 3,2
Kh	28,1 ± 6,2	62,3 ± 16,5	1,9 ± 0,4	38,2 ± 9,1	96,3 ± 18,7	17,8 ± 3,8

Т а б л и ц а 2

**Содержание металлов (подвижная форма, экстрагируемая ацетатно-аммонийным буфером)
в почвах, обработанных компостом**

Время отбора проб, сут	Вариант			
	С	К1	Км	Кн
Кадмий, мг/кг				
0	0,1 ± 0,02	0,3 ± 0,05	0,2 ± 0,05	0,4 ± 0,07
32	0,1 ± 0,01	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,12	1,1 ± 0,03
66	0,2 ± 0,02	0,6 ± 0,15	0,2 ± 0,04	0,4 ± 0,05
124	0,1 ± 0,01	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,09	0,8 ± 0,2
360	0,2 ± 0,04	0,4 ± 0,06	0,2 ± 0,05	0,6 ± 0,15
452	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,04	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,04
Хром, мг/кг				
0	1,1 ± 0,03	2,0 ± 0,06	1,5 ± 0,2	2,7 ± 0,9
32	1,0 ± 0,02	2,4 ± 0,06	2,6 ± 0,4	3,5 ± 0,9
66	1,5 ± 0,03	2,0 ± 0,04	2,2 ± 0,5	3,8 ± 0,8
124	1,2 ± 0,03	2,7 ± 0,08	2,0 ± 0,4	2,4 ± 0,5
360	1,1 ± 0,02	2,3 ± 0,06	2,0 ± 0,5	2,7 ± 0,5
452	1,3 ± 0,03	3,0 ± 0,05	1,3 ± 0,3	3,8 ± 0,9
Медь, мг/кг				
0	1,6 ± 0,4	3,8 ± 0,9	4,6 ± 1,1	4,2 ± 0,8
32	1,5 ± 0,04	5,7 ± 1,1	5,6 ± 0,9	5,5 ± 1,2
66	2,0 ± 0,5	6,8 ± 1,4	4,2 ± 0,8	6,0 ± 1,2
124	1,7 ± 0,04	2,3 ± 0,5	4,4 ± 1,2	4,2 ± 0,7
360	1,6 ± 0,03	3,3 ± 0,3	4,2 ± 1,0	3,7 ± 0,6
452	1,5 ± 0,04	3,2 ± 0,4	4,8 ± 0,7	3,4 ± 0,4
Никель, мг/кг				
0	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,04	0,8 ± 0,07	1,2 ± 0,3
32	0,8 ± 0,2	1,0 ± 0,06	0,7 ± 0,1	1,2 ± 0,4
66	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,05	1,0 ± 0,2	2,1 ± 0,5
124	1,0 ± 0,2	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,2
360	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,07	0,6 ± 0,1	0,9 ± 0,1
452	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,09	0,7 ± 0,15	1,2 ± 0,2
Свинец, мг/кг				
0	1,1 ± 0,2	1,7 ± 0,4	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,09
32	1,2 ± 0,3	2,3 ± 0,5	1,0 ± 0,2	3,2 ± 0,7
66	0,3 ± 0,04	1,4 ± 0,3	0,8 ± 0,2	2,6 ± 0,6
124	0,7 ± 0,07	1,0 ± 0,2	0,5 ± 0,41	2,0 ± 0,4
360	0,5 ± 0,06	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,2	1,1 ± 0,03
452	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,2 ± 0,06	1,8 ± 0,04
Цинк, мг/кг				
0	4,3 ± 0,8	6,0 ± 1,2	8,7 ± 1,3	7,6 ± 1,9
32	3,7 ± 0,9	8,4 ± 1,8	12,8 ± 3,2	11,0 ± 2,5
66	6,2 ± 1,5	13,5 ± 3,8	9,5 ± 2,1	12,3 ± 2,7
124	5,0 ± 1,2	11,6 ± 3,1	9,7 ± 2,0	11,7 ± 1,2
360	3,1 ± 0,9	9,2 ± 1,4	8,8 ± 1,4	8,7 ± 1,0
452	3,3 ± 0,8	6,4 ± 1,2	7,5 ± 1,1	8,5 ± 1,8

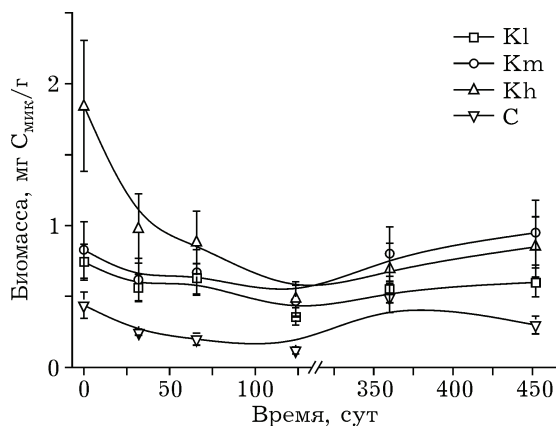


Рис. 2. Изменение уровня микробной биомассы в динамике эксперимента

2,0 мг $C_{\text{мик}}/\text{г}$ почвы [McGtath et al., 1995; Bastida et al., 2008; Fernandez et al., 2005; Chodak et al., 2013; Blagodatskaya, Kuzyakov, 2013].

Внесение компоста привело к увеличению уровня микробной биомассы почвенного микробного сообщества во всех вариантах опыта, причем ответная реакция имела дозо-зависимый эффект (см. рис. 2). Обнаруженная зависимость сохранялась на протяжении двух вегетационных сезонов. Уровень биомассы опытных вариантов достоверно отличался от такового в контрольном варианте, при этом для различных вариантов максимальные значения биомассы отмечены в разные периоды времени. Так, для Kh максимальный уровень биомассы (1,8 мг $C_{\text{мик}}/\text{г}$) зафиксирован сразу после внесения компоста, для Km (0,9 мг $C_{\text{мик}}/\text{г}$) – на 452 сутки, а в варианте K1 существенных колебаний не обнаружено.

Увеличение микробной биомассы на начальном этапе может быть результатом внесения, во-первых, микроорганизмов в составе компоста, во-вторых, дополнительных питательных элементов, количество которых достаточно, чтобы не только увеличить метаболическую активность аборигенной микрофлоры, но и обеспечить процесс роста [Blagodatskaya, Kuzyakov, 2013]. Такой эффект согласуется с данными литературы [Moreno et al., 1999]. Снижение уровня микробной биомассы в опытных образцах в течение первого месяца, вероятно, связано с отмиранием привнесенной или неадаптировавшейся к изменившимся условиям аборигенной микрофлоры. Это подтверждается тем, что наблюдаемый эффект наиболее выражен в вариан-

те с высокой дозой компоста. Несмотря на это, даже к концу второго вегетационного сезона уровень $C_{\text{мик}}$ в опытных вариантах сохранялся выше контрольного. В литературе представлены разноречивые данные об ответной реакции микробного сообщества на компоненты осадков сточных вод или компостов на их основе. Так, показано, что внесение органического вещества приводит к увеличению микробной биомассы почв, особенно в первый месяц [Fernandes et al., 2005]. В то же время отмечается и отсутствие положительного эффекта, и даже в ряде случаев ингибирующий эффект в отношении микробной биомассы [Barajas-Aceves et al., 2005]. Несмотря на отсутствие снижения уровня биомассы в эксперименте, нами сопоставлены значения содержания металлов в образцах почв (см. табл. 1) с представленными в литературе концентрациями, снижающими уровень микробной биомассы [McGtath et al., 1995; Giller et al., 1998, 2009; Barajas-Aceves et al., 2005]. Показано, что их содержание в исследуемых образцах почв оказалось ниже значений, описанных в литературе, что согласуется с отсутствием негативного эффекта в отношении микробной биомассы в данном эксперименте.

Респираторная активность микробного сообщества серой лесной почвы контрольного варианта варьировала в интервале от 0,02 до 0,26 мг $\text{CO}_2\text{-C}/\text{г} \cdot 24 \text{ ч}$ (рис. 3). Необходимо отметить, несмотря на то, что используемая

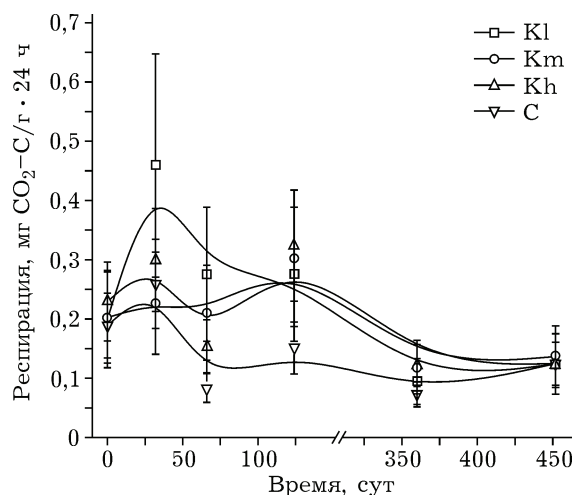


Рис. 3. Изменение респираторной активности почвенного микробного сообщества в динамике эксперимента

в эксперименте почва характеризовалась низким содержанием органического вещества, уровень ее респираторной активности оказался сопоставим с активностью более богатых почв с содержанием органического вещества на уровне 1,5–2 % [Bastida et al., 2008; Chodak et al., 2013].

Результаты анализа респираторной активности в почвенных образцах опытных участков, отобранных сразу после внесения компоста, продемонстрировали, что в целом уровень респирации соизмерим с контрольным вариантом (см. рис. 3). Достоверно выше оказались значения респирации в образцах опытных вариантов на 66-е и 124-е сутки исследования. Отмечен дозо-зависимый эффект. Во второй вегетационный сезон минерализующая активность опытных образцов соизмерялась с таковой в контрольном варианте, а ее абсолютные значения оказались существенно ниже по сравнению с активностью в первый вегетационный сезон.

Таким образом, оценка интенсивности респираторной активности почвы на протяжении двух вегетационных сезонов позволила выявить появление стимулирующего эффекта от внесения компоста в течение первого вегетационного сезона и его существенное снижение практически до уровня контрольного варианта в течение следующего сезона.

Согласно данным, представленным в литературе, уровень респираторной активности может как увеличиваться, так и снижаться в результате внесения в почву компостов. Так, стимулирующий эффект в течение 1–2 лет после внесения компостов из осадка сточных вод отмечается авторами ряда публикаций, которые связывают это с благотворным влиянием дополнительного органического субстрата [Fernandes et al., 2005]. В то же время эффект увеличения респираторной активности может зависеть от присутствия токсичных компонентов, в частности металлов, за счет дополнительной энергетической нагрузки на почвенные микроорганизмы, связанной с формированием толерантности. В этом случае внесенный субстрат расходуется в большей мере на дыхание микроорганизмов, чем на построение клеток [Giller et al., 1998]. Согласно данным литературы, такой эффект наблюдается при внесении осадка сточных вод с содержанием Cd

815 мг/кг [Moreno et al., 1999], Cu – 182, Ni – 98, Zn – 325 мг/кг [Khan, Scullion, 2000]. В то же время, согласно выводам других авторов, присутствие металлов в почве может вызывать снижение почвенного дыхания. Такое снижение обнаружено в случае присутствия в почве Cd 25 и 50 мг/кг [Dar, 1997], Zn 800 мг/кг [Rost et al., 2011], Pb 500 мг/кг [Dar, 1997]. Сравнение данных, представленных в литературе, с содержанием металлов в образцах исследуемых почв показывает, что в этом случае содержание металлов ниже значений, при которых наблюдались существенные нарушения в энергетическом метаболизме микробных клеток [McGath et al., 1995].

Значения метаболического коэффициента на необрабатываемых компостом участках в течение двух вегетационных сезонов изменялись от 0,05 до 2,47 мг CO₂-C/мгС · 24 ч (рис. 4). При анализе почвенных образцов вариантов K1, Km, Kh значения qCO₂ оказались существенно ниже таковых в контрольном варианте (см. рис. 4). Эта закономерность вполне объяснима и связана с высоким уровнем микробной биомассы. Необходимо отметить, что значения метаболических коэффициентов второго вегетационного сезона оказались в 1,2–3 раза ниже по сравнению с первым.

Поскольку увеличение метаболического коэффициента используется как универсальный индикатор почвенного стресса под влиянием металлов [Brooks, 1995; Giller et al., 1998; Moreno et al., 1999; Jiang et al., 2003], отсутствие существенного увеличения значений метаболического коэффициента в на-

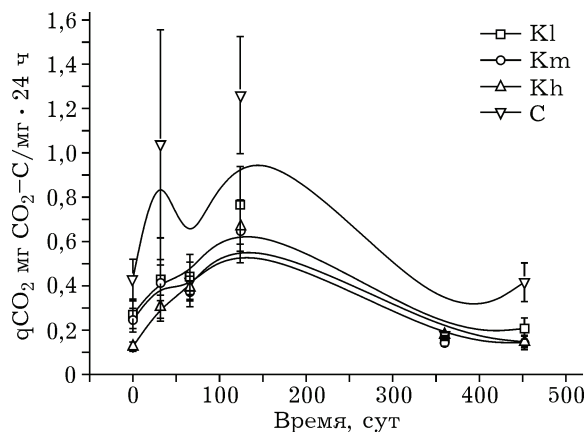


Рис. 4. Изменение метаболического коэффициента в динамике эксперимента

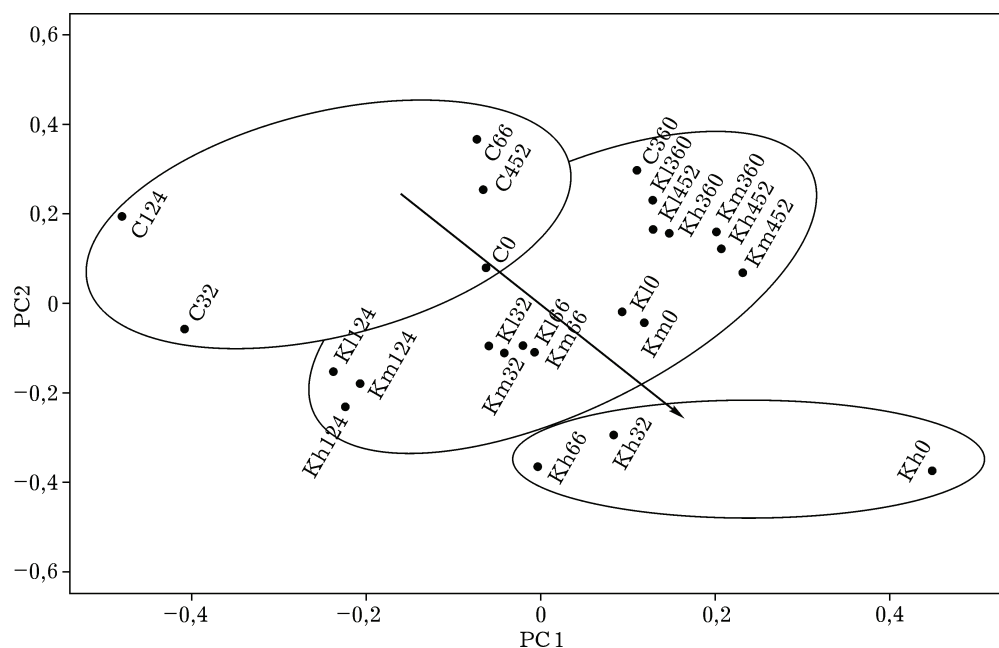


Рис. 5. Анализ данных методом главных компонент. Буквы в подписях к точкам означают вариант обработки почвы, цифры – время отбора проб

шем случае может свидетельствовать об отсутствии негативного влияния на почвенное микробное сообщество.

Таким образом, получены данные, характеризующие микробные сообщества, которые отбирались в различные временные интервалы с участков, содержащих различающееся количество органического вещества и металлов. Совокупность этих результатов не позволила напрямую выявить общую закономерность в ответной реакции микробных сообществ. Поэтому на заключительном этапе проведен ординационный анализ методом главных компонент (рис. 5). Для этого каждый из почвенных образцов представлен в виде вектора из трех численных характери-

стик: биомассы, дыхания и метаболического коэффициента. Каждый объект зашифрован в виде наименования анализируемого варианта и времени отбора пробы. Данные стандартизовались вычитанием среднего и делением на среднеквадратическое отклонение. Проведенный анализ позволил выделить три группы, последовательно расположенные вдоль линии, отражающей изменение содержания $C_{орг}$. Расположение групп имеет направление от образцов C0–C452 (с низким содержанием органического вещества) к образцам Kh0, Kh32 и Kh66, характеризующимся его максимальным содержанием.

На заключительном этапе проведен дисперсионный анализ данных (табл. 3). Для

Т а б л и ц а 3

Результаты дисперсионного анализа связи показателей микробной биомассы, респираторной активности, метаболического коэффициента и факторов ($C_{орг}$ и металлы)

Фактор	Коэффициент канонической корреляции	Объясненная дисперсия совокупности показателей, %	Статистика Фишера (F)	Уровень значимости
$C_{орг}$	0,85	72,1	56,9	<0,001
Cd	0,61	37,8	13,4	0,001
Cr	0,80	64,2	39,5	<0,001
Cu	0,71	50,9	22,8	<0,001
Ni	0,67	45,4	18,3	<0,001
Pb	0,58	33,7	11,2	0,003
Zn	0,74	54,6	26,5	<0,001

Результаты дисперсионного анализа (уровень значимости) показателей микробного сообщества

Показатели микробного сообщества	Фактор						
	C _{орг}	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
Микробная биомасса	<0,001	0,316	0,001	0,024	0,024	0,030	0,165
Респираторная активность	0,005	0,002	0,001	0,012	0,007	0,014	0,001
qCO ₂	0,001	0,553	0,045	0,011	0,802	0,291	0,140
Совокупность показателей	<0,001	0,021	<0,001	0,002	0,006	0,038	0,001

исключения влияния на изменчивость показателей их изменения во времени предварительно удалялась зависимость показателей от времени (использовалась линейная регрессия). Дисперсионный анализ канонической корреляции совокупности показателей биомассы, респирации и qCO₂ с содержанием C_{орг} и концентрациями металлов в рамках линейной модели показал, что фактор C_{орг} объясняет 72,1 % дисперсии (уровень значимости <0,001), тогда как для всех остальных факторов это значение существенно ниже и в среднем составляет 47,8 %. Дополнительно проведен многомерный и одномерный дисперсионный анализы. В табл. 4 представлены уровни значимости для многомерного (MANOVA) и одномерного дисперсионных анализов изменчивости отдельных показателей в зависимости от содержания C_{орг} и концентраций металлов. Полученные данные подтвердили, что влияние содержания органического вещества выше, чем влияние металлов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одновременное поступление в почву органического вещества и металлов, которое происходит при внесении компостов из осадков сточных вод, приводит к изменению микробных сообществ, оцениваемых по уровню микробной биомассы, респираторной активности и метаболическому коэффициенту. При содержании в почве C_{орг} до 2,1 ± 0,4 % и подвижных форм Cd, Cr, Cu, Ni, Pb и Zn до 1,1 ± 0,03, 3,8 ± 0,8, 6,0 ± 1,2, 2,1 ± 0,5, 3,2 ± 0,7 и 12,3 ± 2,7 мг/кг соответственно наблюдается увеличение уровня микробной биомассы по сравнению с контрольной почвой (C_{орг} 0,7 ± 0,04 % и подвижных форм

Cd, Cr, Cu, Ni, Pb и Zn 0,2 ± 0,02, 1,5 ± 0,03, 2,0 ± 0,5, 1,0 ± 0,2, 1,2 ± 0,3 и 6,2 ± 1,5 мг/кг соответственно) в течение двух сезонов после обработки почвы. Респираторная активность почв опытных вариантов увеличивается в первый сезон и снижается к концу второго до уровня контрольного варианта. Эти эффекты связаны со снятием лимитирования по углероду, которое традиционно испытывают почвенные микроорганизмы. Рассчитанный метаболический коэффициент, уровень которого не превышает контрольный вариант, свидетельствует о том, что в этих условиях микробное сообщество не испытывает стресса. Согласно результатам анализа данных методом главных компонент, основным фактором, определяющим изменчивость микробного сообщества, является содержание органического вещества в почве.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-04-04520.

ЛИТЕРАТУРА

- ГОСТ 26213-91. Метод определения органического вещества. М.: Изд-во стандартов, 1992. 6 с.
- Колесников С. И., Казеев К. Ш., Татлок Р. К., Тлехас З. Р., Денисова Т. В., Даденко Е. В. Биодиагностика устойчивости бурых лесных почв Западного Кавказа к загрязнению тяжелыми металлами, нефтью и нефтепродуктами // Сиб. экол. журн. 2014. № 3. С. 493–500.
- Anderson T. H., Domsch K. H. Application of eco-physiological quotients (qCO₂ and qD) 15 on microbial biomasses from soils of different cropping histories // Soil Biol. Biochem. 1990. Vol. 22. P. 251–255.
- Barajas-Aceves M. Comparison of different microbial biomass and activity measurement methods in metal-contaminated soils // Biores. Technol. 2005. Vol. 96, N 12. P. 1405–1414.
- Bastida F., Kandeler E., Moreno J. L. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size

- and activity of soil microbial community under semiarid climate // *Appl. Soil Ecology*. 2008. Vol. 40, N 2. P. 318–329.
- Blagodatskaya E., Kuzyakov Y. Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches // *Soil Biol. and Biochem.* 2013. Vol. 67. P. 192–211.
- Bourrioug M., Alaoui-Sehmer L., Laffray X., Benbrahim M., Aleya L., Alaoui-Sossé B. Sewage sludge fertilization in larch seedlings: Effects on trace metal accumulation and growth performance // *Ecol. Engineering*. 2015. Vol. 77. P. 216–224.
- Brookes P. C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals // *Biol. Fertil. Soils*. 1995. Vol. 19. P. 269–279.
- Chodak M., Gofebiewski M., Morawska-Pfoskonka J., Kuduk K., Niklinska M. Diversity of microorganisms from forest soils differently polluted with heavy Metals // *Appl. Soil Ecol.* 2013. Vol. 64. P. 7–14.
- Dar G. H. Impact of lead and sewage sludge on soil microbial biomass and carbon and nitrogen mineralization // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1997. Vol. 58. P. 234–240.
- Fernandes S. A. P., Bettiol W., Cerri C. C. Effect of sewage sludge on microbial biomass, metabolic quotient and soil enzymatic activity // *Appl. Soil Ecol.* 2005. Vol. 30, N 1. P. 65–77.
- Giller K. E., Witter E., McGrath S. P. Heavy metals and soil microbes // *Soil Biol. Biochem.* 2009. Vol. 41, N 10. P. 2031–2037.
- Giller K. E., Witter E., McGrath S. P. Toxicity of heavy metals to micro-organisms and microbial processes in agricultural soils: a review // *Ibid.* 1998. Vol. 30. P. 1389–1414.
- Gomes N. C. M., Landi L., Smalla K., Nannipieri P., Brookes P. C., Renella G. Effects of Cd- and Zn-enriched sewage sludge on soil bacterial and fungal communities // *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 2010. Vol. 73. P. 1255–1263.
- Hargreaves J. C., Adl M. S., Warman P. R. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture // *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2008. Vol. 123. P. 1–14.
- ISO 14240-2: Soil quality – Determination of soil microbial biomass – part 2: Fumigation-extraction method, International Organization for Standardization, 1997. 4 p.
- Jannoura R., Joergensen R. J., Bruns C. Organic fertilizer effects on growth, crop yield, and soil microbial biomass indices in sole and intercropped peas and oats under organic farming conditions // *Europ. Journ. Agronomy*. 2014. Vol. 52. P. 259–270.
- Jiang X. J., Luo Y. M., Liu S. L. Changes in soil microbial biomass and Zn extractability over time following Zn addition to a paddy soil // *Chemosphere*. 2003. Vol. 50. P. 855–861.
- Khan M., Scullion J. Effect of soil on microbial responses to metal contamination // *Environmental Pollution*. 2000. Vol. 110. P. 115–125.
- Khan M., Scullion J. Effects of metal (Cd, Cu, Ni, Pb or Zn) enrichment of sewage sludge on soil microorganisms and their activities // *Appl. Soil Ecol.* 2002. Vol. 20. P. 145–155.
- McGath S., Chaudri A. M., Giller K. E. Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants // *J. Industrial Microbiol.* 1995. Vol. 14. P. 94–104.
- Moreno J. L., Hernandez T., Garcia C. Effects of cadmium-contaminated sewage sludge compost on dynamics of organic matter and microbial activity in an arid soil // *Biol. Fertil. Soil*. 1999. Vol. 28. P. 230–237.
- Nair A., Ngouajio M. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system // *Appl. Soil Ecol.* 2012. Vol. 58. P. 45–55.
- Niemeyera J. C., Lolata G. B., Carvalho G. M., Da Silva E. M., Sousa J. P. Nogueira M. P. Microbial indicators of soil health as tools for ecological risk assessment of a metal contaminated site in Brazil // *Ibid.* 2012. Vol. 59. P. 96–105.
- Nwachukwu O. I., Pulford I. D. Microbial respiration as an indication of metal toxicity in contaminated organic materials and soil // *J. Hazardous Materials*. 2011. Vol. 185. P. 1140–1147.
- Oksanen J., Blanchet F. G., Kindt R., Legendre P., Minchin P. R., O'Hara R. B., Simpson G. L., Solyomos P., Stevens M. H. H. Wagner H. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.2-0, 2014. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Ouni Y., Lakhdar A., Scelza R., Scotti R., Abdelly C., Barhoumi Z., Rao M. A. Effects of two composts and two grasses on microbial biomass and biological activity in a salt-affected soil // *Ecol. Eng.* 2013. Vol. 60. P. 363–369.
- R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. <http://www.R-project.org>.
- Rost U., Joergensen R. G., Chander K. Effects of Zn enriched sewage sludge on microbial activities and biomass in soil // *Soil Biol. Biochem.* 2011. Vol. 33. P. 633–638.
- Schinner F., Ohlinger R., Kandeler E., Margesin R. *Methods in Soil Biology*. Heidelberg, Berlin: Springer Verlag, 1995.
- Schlotter M., Dilly O., Munch J. C. Indicator for evaluating soil quality // *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2003. Vol. 98. P. 255–262.
- Selivanovskaya S. Y., Latypova V. Z., Artamonova L. A. Use of sewage sludge compost as the restoration agent on the degraded soil of // *J. of Environ. Sci. and Health – Part A Toxic, Hazardous Substances and Environmental Engineering*. 2003. Vol. 38, N 8. P. 1549–1556.
- Shi A., Marschner P. Soil respiration and microbial biomass after residue addition are influenced by the extent by which water-extractable organic C was removed from the residues // *Europ. Journ. Soil Biol.* 2014. Vol. 63. P. 28–32.

- Spohna M., Chodak M. Microbial respiration per unit biomass increases with carbon-to-nutrient ratios in forest soils // *Soil Biol. Biochem.* 2015. Vol. 81. P. 128–133.
- Tripathy S., Bhattacharyya P., Mohapatra R., Som A., Chowdhur D. Influence of different fractions of heavy metals on microbial ecophysiological indicators and enzyme activities in century old municipal solid waste amended soil // *Ecol. Engineering.* 2014. Vol. 70. P. 25–34.
- Vig K., Megharaj M., Sethunathan N., Naidu R. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review // *Advances in Environ. Res.* 2003. Vol. 8. P. 121–135.

Response of the Soil Microbial Community to Simultaneous Influence of Metals and Organic Substance

P. Yu. GALITSKAYA, A. A. SAVELIEV, S. Yu. SELIVANOVSKAYA

*Institute of Environmental Sciences Kazan Federal University
420008, Kazan, Kremlyovskaya str., 18
E-mail: svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru*

Organic substances and metals have multidirectional effects on soil microorganisms. The response of a soil microbial community to simultaneous introduction of an organic substance and metals was assessed (the metals were a part of a sewage sludge compost). The increase of C_{org} to $2,1 \pm 0,4$ % and mobile Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn forms to $1,1 \pm 0,03$, $3,8 \pm 0,8$, $6,0 \pm 1,2$, $2,1 \pm 0,5$, $3,2 \pm 0,7$ and $12,3 \pm 2,7$ ppm⁻¹ correspondingly resulted in the growth of microbial biomass in comparison to the control soil, two seasons after soil treatment. Respiratory activity of the studied soils increased during the first season and decreased by the end of the second season to the level of control plots. The value of metabolic quotient did not exceed the control level. The principal components analysis of the obtained data revealed that the major factor defining variability of the microbial community was the content of organic substance in the soil.

Key words: soil, composts, microbial biomass, respiration, metabolic quotient, metals.