

Реакция альго-цианобактериальных комплексов на возрастающие концентрации ионов меди в почве под различными сельскохозяйственными культурами

© 2016. Л. И. Домрачева^{1,2}, д.б.н., профессор, Е. А. Горностаева³, к.б.н., ст. преподаватель,
¹Вятская государственная сельскохозяйственная академия,
 610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,
²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,,
 167982, Россия, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
³Вятский государственный университет,
 610000, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
 e-mail: dli-alga@mail.ru

Под влиянием возрастающих концентраций ионов меди в почве происходят изменения в количественном статусе альго-цианобактериальных комплексов. Изменяются структурные показатели данных комплексов. Эти изменения обусловлены не только действием тяжёлого металла (меди), но в определённой степени зависят от той сельскохозяйственной культуры, под которой происходит развитие водорослей и цианобактерий в почве, вследствие особенностей развития корневой системы, особенностей выноса питательных веществ из почвы и выделяемых экзометаболитов.

Ключевые слова: водоросли, цианобактерии, микробные комплексы, медь, структура популяций, численность фототрофов, сельскохозяйственные культуры.

The reaction of algo-cyanobacterial complexes on increasing concentration of copper ions in soil under different agricultural crops

L. I. Domracheva^{1,2}, E. A. Gornostaeva³,
¹Vyatka State Agricultural Academy,
 133 Oktyabrsky Prospect, Kirov, Russia, 610017,
²Institute of Biology
 of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS,
 28 Kommunisticheskaya st., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982,
³Vyatka State University,
 36 Moskovskaya st., Kirov, Russia, 610000,
 e-mail: dli-alga@mail.ru

Studying the influence of increasing concentration of copper ions (3, 150, 300 mg/kg) on algo-cyanobacterial complexes in soil under crops of wheat, mustard and peas has shown change in quantitative and structural indices of these complexes. Under all cultures a high degree of negative relative dependence between the doses of copper ions and the number of eukaryotic green algae and seaweed diatoms is revealed (with correlation coefficients from -0.5150 to -0.9977). The increasing concentration of copper also has a negative effect on development of prokaryotic phototrophs (cyanobacteria) under crops of mustard and peas (with correlation coefficients from -0.9614 to -0.9738). At the same time the increasing concentration of copper practically doesn't influence the development of cyanobacterial complexes under wheat crops (coefficient of correlation -0.0090). Fluctuations of the amount of algae and cyanobacteria in soil under the influence of copper ions lead to change in algo-cyanobacterial population structure of complexes. As a rule, technogenic influence leads to the effect of cyanofitization which is shown in increase of the share of cyanobacteria in phototrophic structure of the populations under the influence of various pollutants. Here the effect of cyanofitization of algo-cyanobacterial complexes is observed only in the option with introduction of copper ions increasing concentration under wheat, where the contribution of cyanobacteria to the structure of phototrophic complexes increases from 66.9% in control to 87.3% (Cu²⁺ 300 mg/kg). Thus in agroecosystems a certain impact is made by higher plants on the development of phototrophic microbial groups owing to certain features of root system development and of carrying out nutrients from soil and allocated exometabolites which is shown in intensity of algae and cyanobacteria reproduction in soil under various cultures.

Keywords: algae, cyanobacteria, microbial complexes, copper, population structure, abundance of phototrophs, crops.

Развитие микробных комплексов в почве постоянно находится под влиянием абиотических и биотических факторов. В почве агроэкосистем к природным воздействиям присоединяются и антропогенные. В частности, кроме агрохимикатов (минеральных удобрений, пестицидов, стимуляторов роста) в почвы сельскохозяйственного назначения в результате аэротехногенного загрязнения поступают поллютанты, являющиеся выбросами промышленных предприятий, которые могут распространяться в радиусе десятков километров от источника загрязнения [1]. В числе приоритетных загрязнителей оказываются ионы тяжёлых металлов (ТМ), которые кардинальным образом меняют состав и метаболизм микробных сообществ [2, 3]. Результатами подобных воздействий являются изменение видового и группового состава микробных комплексов, смена доминантов, изменение функциональной активности (дыхания, фотосинтеза, азотфиксации) у соответствующих групп микроорганизмов [4, 5]. Одно из последствий загрязнения почвы – увеличение доли наноформ бактерий, так называемый феномен нанотрансформации [6]. Характерной особенностью такого состояния является уменьшение клеточного размера и высокая устойчивость клеток к физическим и химическим воздействиям.

Ярко выраженными ответными реакциями на действие поллютантов обладает фототрофный микробный комплекс почвы, включающий различные отделы водорослей и цианобактерии (ЦБ). Проблему взаимодействия фототрофов и поллютантов исследуют в нескольких направлениях. Так, на уровне альгологически чистых культур изучают изменение морфологических, физиологических и биохимических свойств клеток водорослей и ЦБ при их контакте с токсикантами. В частности, это проявляется в появлении уродливых клеток, изменении их объёма и линейных размеров; изменении концентрации хлорофилла, феофитина и малонового диальдегида – продукта перекисного окисления липидов; интенсивности фотосинтеза и биохемилюминесценции [7, 8]. Другое важное направление исследований связано с вопросами диагностики и состояния почвы при её загрязнении по изменению качественного и количественного состава альгогруппировок. Доказано, например, что загрязнение почвы приводит к снижению видового разнообразия, монофикации альгоценозов, выходу на лидирующие позиции при разных типах загрязнения

отдельных видов и группировок водорослей или ЦБ [9].

Цель данной работы – изучить реакцию альго-цианобактериальных комплексов почвы на возрастающие концентрации ионов меди под такими сельскохозяйственными культурами, как пшеница, горох и горчица.

Материалы и методы

Эксперимент был заложен на опытном поле ВГСХА. Почва дерново-подзолистая, средне-суглинистая; pH – 4,1; гумус – 1,86%; P_2O_5 – 145,5 мг/кг; K_2O – 127,5 мг/кг; S – 13,3 мг/кг; Cu – 0,22 мг/кг (фоновое содержание). Площадь учётной делянки – 0,24 м². Повторность опыта 3-кратная.

Для опыта в качестве объектов исследования были выбраны представители разных семейств: злаковые – пшеница (*Triticum aestivum*) сорта Ирень, бобовые – горох (*Pisum sativum*) сорта Лучезарный, крестоцветные – горчица белая (*Sinapis alba*), лабораторная всхожесть которых составила 92, 99 и 95% соответственно.

В качестве поллютанта использована медь в виде соли ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) в концентрациях – 3, 150 и 300 мг/кг, что соответствует 1, 50 и 100 ПДК для почвы. Водные растворы токсикантов вносили в почву после посадки семян, проливая 10–15 см верхнего горизонта. Были выделены контрольные варианты для каждой серии опытов, без внесения соли меди.

Образцы почвы для количественного анализа альго-цианофлоры были отобраны с глубины 0–5 см после уборки урожая в сентябре. При прямом учёте под микроскопом [10] выделены следующие группы микрфототрофов: ЦБ, а также водоросли – зелёные одноклеточные и диатомовые.

Для количественного анализа влияния возрастающих концентраций меди на численность фототрофных микробных комплексов в почве под посевами различных сельскохозяйственных культур использовали методы первичной статистической обработки результатов эксперимента. Вывод о наличии между показателями (возрастающими концентрациями Cu^{2+} в почве и численностью фототрофов) коррелятивной зависимости делали после вычисления коэффициента корреляции Пирсона (r).

Результаты и обсуждение

Результаты количественного анализа показали, что в почве под посевами пшеницы

Таблица 1

Влияние возрастающих концентраций меди на численность фототрофных микробных комплексов в почве под пшеницей (тыс. клеток/г)

Вариант	Водоросли		Водоросли, всего	Цианобактерии	Фототрофы, всего
	зелёные	диатомовые			
Контроль	670±50	600±100	1270±150	2570±600	3840±750
Cu ²⁺ 3 мг/кг	500±150	200±50	700±200	2800±90	3500±400
Cu ²⁺ 150 мг/кг	430±150	100±0	630±150	2430±500	3060±650
Cu ²⁺ 300 мг/кг	300±50	100±0	400±50	2730±340	3130±390

Таблица 2

Величины коэффициентов корреляции между численностью различных групп фототрофов и концентрацией ионов меди в почве под различными культурами

Культура	Водоросли зелёные	Водоросли диатомовые	Водоросли, всего	Цианобактерии	Фототрофы, всего
Пшеница	-0,8955	-0,6627	-0,7772	-0,0090	-0,7999
Горчица	-0,9823	-0,5150	-0,9960	-0,9614	-0,9685
Горох	-0,9977	-0,7124	-0,9444	-0,9738	-0,9694

Таблица 3

Влияние возрастающих концентраций меди на численность фототрофных микробных комплексов в почве под горчицей (тыс. клеток/г)

Вариант	Водоросли		Водоросли, всего	Цианобактерии	Фототрофы, всего
	зелёные	диатомовые			
Контроль	470±100	100±0	570±100	4230±460	4800±560
Cu ²⁺ 3 мг/кг	430±50	160±50	590±100	3370±280	3960±380
Cu ²⁺ 150 мг/кг	370±50	100±0	470±50	2670±800	3140±850
Cu ²⁺ 300 мг/кг	267±5	100±0	367±5	1230±40	1597±45

под влиянием возрастающих концентраций Cu²⁺ в почве происходит, в первую очередь, неуклонное снижение численности водорослей от 1270 тыс. кл./г в контроле до 400 тыс. кл./г в варианте с внесением ионов Cu²⁺ 300 мг/кг (табл. 1).

Наиболее остро на ионы меди реагируют диатомовые водоросли. В то же время в комплексе ЦБ снижения численности клеток по вариантам практически не наблюдается. Вычисленные коэффициенты корреляции ($r_{\text{зелёные водоросли}} = -0,8955$, $r_{\text{диатомовые водоросли}} = -0,6627$) показывают, что высокая степень отрицательной коррелятивной зависимости между возрастающими концентрациями Cu²⁺ в почве и численностью фототрофов наблюдается только для водорослей, в то время как для ЦБ этот показатель равен -0,0090 (табл. 2).

Иная реакция фототрофных комплексов наблюдается в почве под посевами горчицы белой (табл. 3). Незначительное снижение численности водорослей отмечено в вариантах Cu²⁺ 150 мг/кг и Cu²⁺ 300 мг/кг за счёт представителей отдела Chlorophyta при нейтральной реакции диатомовых водорослей. Одновременно происходит существенное снижение общей численности фототрофов, обуслов-

ленное снижением численности популяций ЦБ от 4230 тыс. кл./г в контроле до 1230 тыс. кл./г при максимальной концентрации Cu²⁺ в почве. Таким образом, в почве под посевами горчицы выявлен высокий уровень отрицательной коррелятивной зависимости между численностью ЦБ и концентрацией Cu²⁺, вносимых в почву перед посевом ($r = -0,9614$).

Под посевами гороха все группировки микрофототрофов проявляют тенденцию к снижению численности клеток в вариантах с возрастающими концентрациями Cu²⁺ в почве (табл. 4). Так, численность эукариотных водорослей при максимальной концентрации ионов меди ниже в 2,6 раза, чем в контроле; для ЦБ снижение численности в варианте Cu²⁺ 300 мг/кг, по сравнению с контролем, происходит в 2,5 раза. Коэффициенты корреляции между численностью различных групп фототрофов и концентрацией Cu²⁺ составляют $r = -0,9977$ для зелёных водорослей, $r = -0,7124$ – для диатомовых водорослей, $r = -0,9738$ – для ЦБ (табл. 2).

Анализ структуры популяций альго-цианобактериальных комплексов (рис.) показывает, что на момент наблюдения (сентябрь) во всех вариантах и под всеми выращиваемыми

культурами доминируют ЦБ, что нормально для конца вегетационного сезона в умеренной зоне. Аксиомой является факт, что в ходе сезонной сукцессии её завершающие стадии характеризуются массовым размножением ЦБ и в агроэкосистемах, и в природных экосистемах. Однако в данном опыте степень доминирования ЦБ в контрольном варианте (при одинаковом фоновом содержании меди в почве) под разными культурами разная, составляя 66,9% – под пшеницей, 88,1% – под горчицей и 81,2% – под горохом.

Уровень доминирования ЦБ повышается по мере увеличения концентрации Cu^{2+} в почве под пшеницей с 66,9% (в контроле) до 87,3 (при Cu^{2+} 300 мг/кг). Под горчицей, напротив, уровень доминирования ЦБ снижается с 88,1 (в контроле) до 77,0% (при Cu^{2+} 300 мг/кг). А в почве под горохом уровень доминирования ЦБ в фототрофных комплексах остаётся практически на одном уровне во всех вариантах.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что на характер развития альго-цианобактериальных комплексов оказывает влияние не только содержание в почве такого поллютанта, как Cu^{2+} , но и высшее растение, под которым и размножаются

водоросли и ЦБ. Влияние высшего растения на микрофототрофы может быть как прямым (интенсивность развития корневой системы, густота стояния, которая определяет уровень освещения почвы), так и опосредованным (характер и объём корневых выделений, определяющий в свою очередь степень сорбции ТМ растением). Поэтому повышенная сорбционная активность той или иной культуры может стать причиной снижения прессы поллютанта на микробные комплексы почвы.

Показательно, что и в контрольном варианте с фоновым содержанием меди в почве плотность альго-цианобактериальных популяций под разными культурами разная (табл. 5). Так, минимальная численность фототрофов отмечена в почве под пшеницей, что вполне объяснимо мощным развитием мочковатой корневой системы данного злака. При этом характерной особенностью альго-цианобактериальных популяций в данном варианте является угнетение размножения не водорослей, а ЦБ. Наиболее интенсивное размножение фототрофных микроорганизмов происходит под посевами гороха.

Таким образом, в результате проведённых исследований установлено, что возрастающие концентрации Cu^{2+} в почве приводят

Таблица 4
Влияние возрастающих концентраций меди на численность фототрофных микробных комплексов под горохом (тыс. клеток/г)

Вариант	Водоросли		Водоросли, всего	Цианобактерии	Фототрофы, всего
	зелёные	диатомовые			
Контроль	670±50	370±100	1040±150	4500±890	5540±1040
3 мг/кг	650±70	170±50	820±120	3840±350	4660±310
150 мг/кг	500±100	130±30	630±130	3040±180	3670±310
300 мг/кг	300±110	100±30	400±140	1830±300	2230±440

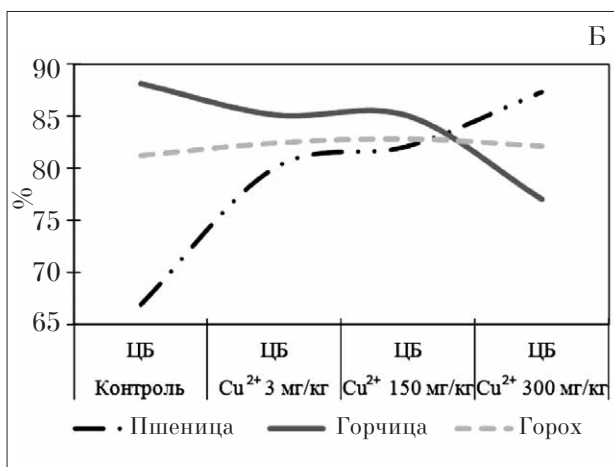
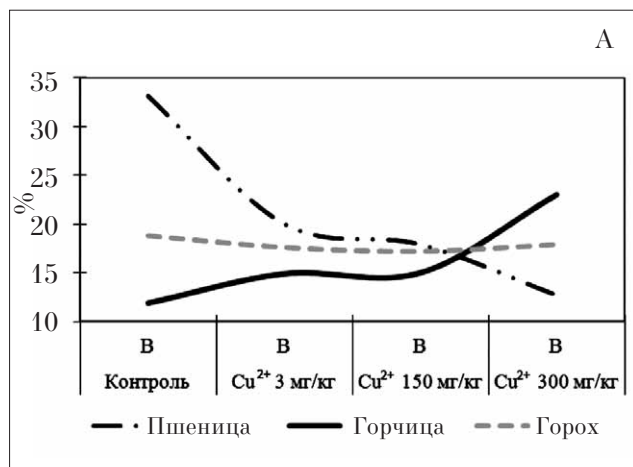


Рис. Влияние возрастающих концентраций ионов меди на структуру фототрофных популяций в почве под различными культурами (%).
Примечание: В – водоросли, ЦБ – цианобактерии

Влияние высших растений на численность микробных фототрофных популяций в почве, тыс. кл./г

Культура	Водоросли	Цианобактерии	Фототрофы, всего
Пшеница	1270±150	2570±600	3840±750
Горчица	570±100	4230±460	4800±560
Горох	1040±150	4500±890	5540±1040

к перестройке альго-цианобактериальных комплексов, характер которой определяется не только содержанием данного ТМ в почве, но и влиянием высшего растения.

Установлено, что возрастающие концентрации меди приводят к снижению численности эукариотных водорослей под всеми выращиваемыми культурами с коэффициентами корреляциями от $r=-0,5150$ до $r=-0,9977$. Следовательно, именно водоросли проявляют повышенную чувствительность к данному ТМ.

Не столь однозначна реакция прокариотных фототрофов. Если в цианобактериальных группировках в почве под горчицей и горохом возрастающие концентрации меди так же, как и в случае водорослей, приводят к снижению плотности популяции в несколько раз, то под посевами пшеницы численность ЦБ во всех вариантах опыта остаётся практически на одном и том же уровне.

Колебания численности водорослей и ЦБ в почве под действием ионов меди приводят к изменению структуры альго-цианобактериальных популяций. Как правило, следствием техногенного воздействия является эффект цианофитизации [11], который проявляется в увеличении доли ЦБ в структуре фототрофных популяций под воздействием различных поллютантов. В данном опыте эффект цианофитизации альго-цианобактериальных комплексов наблюдается только в варианте с внесением возрастающих концентраций ионов меди под пшеницу, где вклад цианобактерий в структуру фототрофных комплексов увеличивается с 66,9 (в контроле) до 87,3% (Cu^{2+} 300 мг/кг). Однако в случае других растений данный эффект не наблюдается: под горчицей происходит незначительное снижение доли ЦБ по мере увеличения дозы меди, а в почве под горохом структура популяций остается практически одинаковой во всех вариантах. Вероятно, в данном случае на интенсивность размножения водорослей и ЦБ и на структуру альго-цианобактериальных группировок определено воздействие оказывает не только поллютант, но и высшее растение через корневые экссудаты и характер развития корневой системы.

Литература

1. Ермаков А.А., Карпова Е.А., Малышева А. Т., Михайлова Ю.И., Рыжова И.Н., Сидоренкова Н. К. Оценка аэротехногенной нагрузки тяжёлых металлов на земли сельскохозяйственного назначения Московской области // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 4. С. 77–83.
2. Левин С.В., Гузев В.С., Асеева И.В., Бабьева И.П., Марфенина О.Е., Умаров М.М. Тяжёлые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту // Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ, 1989. С. 5–14.
3. Фокина А.И., Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И., Горностаева Е.А., Огородникова С.Ю. Тяжёлые металлы как фактор изменения метаболизма у микроорганизмов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 2. С. 5–18.
4. Krumova E.T., Stoitsova S.R., Paunova-Krasteva T.S., Pashova S.B., Angelova M.B. Copper stress and filamentous fungus *Humicola lutea* 103 – ultrastructural changes and activities of key metabolic enzymes // Can. J. Microbiol. 2012. V. 58. № 12. P. 1335–1343.
5. Lelong A., Jolley D.F., Soudant P., Hegaret H. Impact of copper exposure on *Pseudonitzschia spp.* physiology and domoic acid production // Aquat. Toxicol. 2012. V. 118–119. P. 37–47.
6. Чернов И.Ю., Добровольская Т.Г., Лысак Л.В. Проблемы и перспективы изучения биоразнообразия почв // Почвы в биосфере и жизни человека: монография. М.: ФГБОУ МГУЛ, 2012. С. 35–69.
7. Горностаева Е.А., Домрачева Л.И. Влияние ионов никеля и меди на цианобактерии и цианобактериальные комплексы // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Материалы II Международной научно-практической конференции, посвящённой 105-летию со дня рождения профессора Эмилии Адриановны Штиной, 19–23 октября 2015 г. Киров: Вятская ГСХА, 2015. С. 87–92.
8. Fan J., Ho L., Hobson P., Brookes J. Evaluation the effectiveness of copper sulfate, chlorine, potassium permanganate, hydrogenate peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity // Water Res. 2013. V. 47. № 14. P. 5153–5164.
9. Кондакова Л.В., Домрачева Л.И. Использование водорослей для биоконтроля состояния почвы при её химическом загрязнении // Водоросли: таксономия, экология, использование в мониторинге. Екатеринбург: УрО РАН, 2001. С. 294–299.

10. Домрачева Л.И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. Сыктывкар, 2005. 336 с.

11. Горностаева Е.А. Влияние ионов меди и никеля на почвенные цианобактерии и цианобактериальные сообщества: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Москва: МГУ им. М.В. Ломоносова. 2015. 26 с.

References

1. Ermakov A.A., Karpova E.A., Malysheva A. T., Mikhaylova Yu.I., Ryzhova I.N., Sidorenkova N. K. Evaluation of aerial technogenic load of heavy metals on agricultural land in Moscow Region // *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2015. № 4. P. 77–83. (in Russian)

2. Levin S. V., Guzev V. S., Aseeva I. V., Babyeva I. P., Marfenina O. E., Umarov M. M. Heavy metals as a factor of anthropogenic impact on soil microbiota / *Mikroorganizmy i okhrana pochv*. M.: Izd-vo MGU. P. 5–14. (in Russian)

3. Fokina A.I., Ashikhmina T.Ya., Domracheva L.I., Gornostaeva E.A., Ogorodnikova S.Yu. Heavy metals as a factor of microorganisms metabolism changes (review) // *Teoreticheskaya i prikladnaya ecologia*. 2015. № 2. P. 5–18. (in Russian)

4. Krumova E.T., Stoitsova S.R., Paunova-Krasteva T.S., Pashova S.B., Angelova M.B. Copper stress and filamentous fungus *Humicola lutea* 103 – ultrastructural changes and activities of key metabolic enzymes // *Can. J. Microbiol.* 2012. V. 58. № 12. P. 1335–1343.

5. Lelong A., Jolley D.F., Soudant P., Hegaret H. Impact of copper exposure on *Pseudo-nitzschia* spp. physi-

ology and domoic acid production // *Aquat. Toxicol.* 2012. V. 118–119. P. 37–47.

6. Chernov I. Y., Dobrovolskaya T.G., Lysak L.V. Problems and perspectives of soil biodiversity study // *Pochvy v biosfere i zhizni cheloveka: monografiya*. Moskva: MGUL, 2012. P. 35–69. (in Russian)

7. Gornostaeva E. A., Domracheva L. I. The Influence of ions of cadmium and copper on cyanobacteria and cyanobacterial complexes // *Vodorosli i tsianobakterii v prirodnykh i seleskokhozyastvennykh ekosistemakh: Materialy II nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 105-letiyu so dnya rozhdeniya professora Emilii Adrianovny Shtinoy, 19–23 oktyabrya 2015 g.* Kirov: Vyatskya GSKHA, 2015. P. 87–92. (in Russian)

8. Fan J., Ho L., Hobson P., Brookes J. Evaluation of the effectiveness of copper sulfate, chlorine, potassium permanganate, hydrogen peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity // *Water Res.* 2013. V. 47. №. 14. P. 5153–5164.

9. Kondakova L.V., Domracheva L.I. Algae as a means of biocontrol over the state of chemically polluted soil // *Vodorosli: taksonomiya, ecologiya, ispolzovaniye v monitoringe*. Yekaterinburg: UrO RAN, 2011. P. 294–299. (in Russian)

10. Domracheva L.I. «Flowring» of the soil and the laws of its development. Syktyvkar, 2005. 336 p. (in Russian)

11. Gornostaeva E.A. Influence of copper and nickel ions on soil cyanobacteria and cyanobacterial associations: Abstr. diss. ...kand. of Biology. Moskva: MGU im. M.V. Lomonosova. 2015. 26 p. (in Russian)