

Белик Антон Викторович – ассистент кафедры экологии и земельных ресурсов ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», кандидат биологических наук, г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: belik@bio.vsu.ru.

Румянцева Ирина Васильевна – ассистент кафедры экологии и земельных ресурсов ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», кандидат сельскохозяйственных наук, г. Воронеж, Российская Федерация; e-mail: riw86@rambler.ru.

Information about authors

Devyatova Tatyana Anatolyevna – Head of the Department of Ecology and Land Resources, FSBEI HE «Voronezh State University», DSc in Biology, Professor, Voronezh, Russian Federation; e-mail: devyatova@bio.vsu.ru.

Yablonskikh Lydia Alexandrovna - Professor of the Department of Ecology and Land Resources, FSBEI HE «Voronezh State University», DSc in Biology, Professor, Voronezh, Russian Federation; e-mail: lidij-jblonskikh@yandex.ru.

Belik Anton Viktorovich – Assistant of the Department of Ecology and Land Resources FSBEI HE «Voronezh State University», PhD in Biology, Voronezh, Russian Federation; e-mail: belik@bio.vsu.ru.

Rumyantseva Irina Vasilyevna – Assistant of the Department of Ecology and Land Resources, FSBEI HE «Voronezh State University» PhD in Agriculture, Voronezh, Russian Federation; e-mail: riw86@rambler.ru.

DOI: 10.34220/issn.2222-7962/2019.2/5

УДК 631.45

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФИТОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЫ И ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

доктор биологических наук, профессор **И.Д. Свистова**

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный педагогический университет», г. Воронеж, Российская Федерация

Изучена чувствительность различных методов определения фитотоксической активности почвы и почвенных микромицетов. Метод почвенной вытяжки недостаточно чувствителен, рекомендовано использовать метод почвенных пластинок и метод инициированного микробного сообщества (ИМС). Изучены 18 видов тест-растений, как показатель фитотоксической активности для почвы и почвенных микромицетов предложено определять ингибирование роста корня проростка редиса. Метод ИМС позволяет выявить роль биогенного фактора в развитии почвенного фитотоксикоза. Фитотоксическая активность почвы рекомендована в качестве параметра микробиоиндикации почвы в урбозкосистемах на примере города Воронеж.

Ключевые слова: фитотоксическая активность, методы определения, почва, почвенные микромицеты, микробиоиндикация.

METHODOLOGICAL APPROACHES TO THE DETERMINATION OF PHYTOTOXIC ACTIVITY OF SOIL AND SOIL MICROORGANISMS

DSc (Biology), Professor **I.D. Svistova**

FSBEI HE Voronezh State Pedagogical University, Voronezh, Russia

Abstract

The sensitivity of various methods for determining the phytotoxic activity of soil and soil micromycetes has been studied. The method of soil extraction is not sensitive enough. It is recommended to use the method of soil plates and the method of initiated microbial community (IMC). 18 species of test plants have been. Root growth inhibition of radish has been proposed to use as an indicator of phytotoxic activity for soil and soil micromycetes. The IMC method

enables to reveal the role of biogenic factor in the development of soil phytotoxicosis. Phytotoxic soil activity is recommended as a parameter of soil microbioreindication in urban ecosystems using the example of Voronezh city.

Keywords: phytotoxic activity, determination methods, soil, soil micromycetes, microbioreindication.

Фитотоксическая активность почвы широко используется в качестве одного из показателей ее биологической активности [1, 5, 7]. Под этим термином понимают способность почвы ингибировать рост и развитие растений в результате накопления токсических веществ. Абиогенные причины развития фитотоксикоза почвы могут определяться повышением содержания тяжелых металлов, нефтепродуктов, пестицидов и других загрязнителей, а также значительным подкислением или защелачиванием. К биогенным факторам относятся микробные токсины, которые выделяются в почву определенными токсигенными видами микроскопическими грибами (микромикетами), бактериями и актиномикетами [8, 12, 13].

В литературе известны различные методы определения фитотоксической активности почвы, причем разные исследователи используют свои вариации и единицы оценки, что затрудняет сравнение результатов, полученных авторами. Элюатный метод предусматривает приготовление вытяжки из почвы, замачивание семян растений в этом растворе и наблюдение за процессом их прорастания; некоторые авторы используют прямой метод оценки прироста побегов растений в почвенном экстракте; в вегетационных опытах применяют полив растений, выращенных на стерильном песке вытяжкой из почвы, и наблюдение за приростом биомассы [3]. Отмечают, что этим методом можно оценить токсический эффект на растения только веществ, экстрагируемых из почвы водой.

Контактный метод определения фитотоксической активности почвы предусматривает непосредственный контакт тест-растений (как правило, используют семена растений) с почвенными пластинками [6]. В этом случае на всхожесть семян и рост проростков оказывают влияние как экстрагируемые водой, так и сорбированные почвенными частицами вещества. Новая модификация этого метода – метод инициированного микробного сообщества (ИМС) – позволяет

оценить роль почвенного микробного сообщества в развитии фитотоксикоза почвы [2]. Для этого инициируют микробную сукцессию на поверхности почвенной пластинки путем напыления крахмала как широко используемого многими микроорганизмами трофического субстрата. Через определенное время инкубации в стерильных условиях при оптимальной влажности на поверхности почвенной пластинки формируется микробное сообщество, и семена тест-растений раскладываются на поверхность прямо на выросшие колонии микроорганизмов. Считается, что чем больше разница между показателями в опытах с почвенными пластинками и с ИМС, тем больше вклад биогенного фактора. Если разница небольшая, основной вклад играет накопление в почве загрязнителей.

Также в работах разных авторов в качестве тест-растений используют травянистые однодольные (овес, пшеницу) или двудольные растения (кресс-салат и другие) или древесные растения (березу, тополь) [9-11].

Целью работы было изучение информативности различных методов определения фитотоксической активности почвы и выделенных нами ранее из почвы изолятов 8 видов микромикетов, а также поиск чувствительного тест-растения.

Объект исследования – почва пригородной зоны (залежь, чернозем выщелоченный) и почва различных городских зон г. Воронежа (рекреации – физически преобразованный чернозем, селитебная зона – урбанозем, транспортная зона на расстоянии 1 м от полотна дороги – интрузем). В каждом варианте опыта отбирали 5 почвенных проб, которые анализировали отдельно. Всего было выбрано 10 точек отбора проб: контроль (Рамонский район Воронежской области), рекреации (2 точки), селитебная зона (3 точки), транспортная зона (4 точки).

Исследованные изоляты микромикетов относятся к классу *Deuteromycetes*, или несовершенные грибы, и выделяются из чернозема выщелоченного в ранге типичных видов. Изоляты получены из

коллекции чистых культур кафедры биологии растений и животных Воронежского государственного педагогического университета. Микромицеты выращивали на жидкой среде Чапека в течение 7 суток при 28 °С. В фильтрате замачивали семена растений или выдерживали побеги в течение 1 суток (контроль – замачивание в воде), затем промывали водой и использовали для опытов. Семена проращивали в чашках Петри на увлажненной фильтровальной бумаге во влажной камере в течение 3 суток при 28 °С, оценивали всхожесть семян и рост надземной и подземной части проростка. Побеги древесных растений выдерживали в почвенной вытяжке в течение 3 часов (контроль – в воде), определяли прирост побега через 2 суток инкубации в воде [3].

В качестве тест-растений использовали семена растений 7 семейств: Мятликовые (пшеница, кукуруза, овес), Мотыльковые (горох, люпин, вика), Маревые (сахарная свекла, марь белая), Сельдерейные (редька масличная, кресс-салат, редис), Амарантовые (амарант, щирица), Гвоздичные (звездчатка, гипсофила), Сложноцветные (василек, трехреберник), а также побеги березы.

Фитотоксическую активность почвы определяли элюатным методом: семена тест-растений замачивали на сутки в 10 %-й почвенной вытяжке, промывали водой и проращивали аналогично описанному выше.

Контактный метод выполняли в двух модификациях. Метод почвенных пластинок: 100 г почвы увлажняли до 60 % полной полевой влагоемкости, вносили в чашку Петри, выравнивали поверхность и раскладывали 50 мелких или 20 крупных семян. Через 3 суток выдержки оценивали всхожесть семян и рост проростка. Контроль опыта – проращивание семян на увлажненной фильтровальной бумаге [6].

Метод ИМС. Формировали почвенную пластинку, затем ее поверхность опудривали растворимым крахмалом, что инициирует развитие микробной сукцессии и формирует амилитическое микробное сообщество. Пластинку с крахмалом инкубировали при 28 °С в стерильных условиях в течение двух недель, поддерживая постоянную влажность. Затем на поверхность выросших

колоний микроорганизмов на почве раскладывали семена тест-растений. Через 3 суток снимали результат опыта [2].

Все опыты проведены в 5 биологических повторях.

Результаты и их обсуждение

На изолятах микромицетов нами была изучена чувствительность 18 тест-растений к токсическому действию микотоксинов (табл. 1). Наиболее чувствительными к микотоксинам оказались семена из двудольных растений – редиса, из однодольных – озимой пшеницы. Часто используемый в работах кресс-салат обладал низкой чувствительностью.

Из тестируемых показателей наиболее чувствительным оказалось ингибирование роста корня проростка, хотя у одного вида грибов – *Fusarium solani* – сильнее проявлялось влияние на всхожесть семян. Это, вероятно, связано тем, что данный вид является фитопатогеном и входит в комплекс возбудителей корневой гнили. Достаточно хорошее соответствие в реакции на микотоксины почвенных грибов обнаружено и на древесных растениях. В дальнейшем как тест-объект использовали редис (сорт «Жара»).

Нами проведена сравнительная оценка чувствительности трех методов определения фитотоксической активности почвы, подверженной разным видам урбаногенной нагрузки (табл. 2, 3).

Всеми методами выявлена одинаковая тенденция в городских почвах Воронежа: возрастание фитотоксической активности в ряду рекреации < селитебные зоны < транспортные зоны. Однако чувствительность методов заметно различалась.

При использовании метода элюатного тестирования различия с контролем (пригородная почва) обнаружено только в почве транспортной зоны, фитотоксическая активность была в 2,2-2,4 раза выше по показателям ингибирования всхожести семян и роста корня тест-растения.

При использовании контактного метода почвенных пластинок (рисунок) различия с контролем обнаружены уже для почвы рекреационных зон (фитотоксическая активность возрастала в 1,2-1,4 раза), в селитебных зонах рост составил до

1,5-3,5 раз, а в транспортных зонах – до 4,1-4,4 раз. Эти результаты хорошо соответствуют росту уровня загрязнения почвы в городских зонах Воронежа [4].

Наибольшую чувствительность продемонстрировал контактный метод с ИМС. Различия с контролем достигали в почве селитебной зоны города 2,6-4,3 раз, а в почве транспортной зоны – 4,6-5,9 раз. Это указывает на важную роль почвенного микробного сообщества в развитии фитотоксикоза городских почв. Полученные нами ранее данные о ходе микробной сукцессии в почве г. Воронеж и преобладании токсигенных видов микромицетов хорошо соответствуют такому заключению.

В наиболее нарушенных и загрязненных почвах селитебной и транспортной зон средние показатели фитотоксической активности заметно сдвинуты в сторону максимальных значений, что указывает на возрастание микромозаичности почвы в этих городских зонах.

Из тестируемых показателей наиболее информативным оказался рост корня проростка тест-растения, выраженный в процентах ингибирования по сравнению с контролем опыта. Различия с контрольной почвой по этому показателю выражены сильнее, чем по показателю всхожести семян. Это свидетельствует о том, что зародышевый корень прорывает оболочку семени, в основном, за счет питательных веществ семядолей, а токсины, ингибирующие рост корня, в наибольшей степени сорбируются семенной кожурой.

Заключение

Таким образом, в качестве наиболее чувствительного метода для определения фитотоксической активности почвы рекомендовано использовать контактный метод почвенных пластинок. По разнице результатов, полученных этим методом и методом ИМС, можно установить вклад биогенного фактора в фитотоксикоз почвы, однако последний метод требует заметно большего времени.

В качестве тест-растения более удобны двудольные растения, а именно редис (сорт Жара), т.к. более крупные семена пшеницы требуют большего количества повторов опыта.

Из ростовых показателей наиболее информативным является расчет ингибирования роста корня проростка.

Для оценки микромозаичности почвы необходимо в каждой точке отбора анализировать не средний образец, составленный из нескольких проб, а каждую пробу отдельно, и сравнивать средний показатель фитотоксической активности с диапазоном минимального – максимального значения.

В целом фитотоксическая активность почвы может быть рекомендована в качестве параметра биоиндикации почвы в различных экосистемах.

Таблица 1

Фитотоксическая активность изолятов почвенных микромицетов на разных тест-растениях, % ингибирования

Виды микромицетов	Редис			Пшеница			Береза прирост побега
	всхожесть семян	рост		всхо- жесть семян	рост		
		корня	гипокотыля		корня	колеоптиля	
<i>Penicillium daleae</i>	26	36	21	12	18	4	23
<i>Penicillium rubrum</i>	53	100	33	47	74	28	98
<i>Penicillium funiculosum</i>	48	85	62	20	42	46	77
<i>Aspergillus ustus</i>	22	34	24	13	8	5	27
<i>Aspergillus clavatus</i>	100	100	61	76	68	60	75
<i>Fusarium solani</i>	77	36	15	79	18	12	31
<i>Gliocladium virens</i>	17	46	18	12	18	13	5
<i>Rhizopus stolonifer</i>	14	24	7	5	10	2	3

Таблица 2

Фитотоксическая активность почвы разных зон г. Воронежа по показателю всхожести семян редиса

Ингибирование, %	Контроль	Городские зоны		
		рекреации	селитебные	транспортные
<i>Почвенная вытяжка</i>				
<u>min-max</u>	<u>3-6</u>	<u>2-7</u>	<u>4-5</u>	<u>5-10</u>
средн.	4,3	4,7	4,7	9,3
max превышение контроля	-	1,1	1,1	2,2
<i>Почвенные пластинки</i>				
<u>min-max</u>	<u>2-4</u>	<u>3-4</u>	<u>2-5</u>	<u>4-16</u>
средн.	2,7	3,7	4,0	11,0
max превышение контроля	-	1,4	1,5	4,1
<i>Почвенные пластинки с ИМС</i>				
<u>min-max</u>	<u>3-5</u>	<u>4-7</u>	<u>8-11</u>	<u>7-19</u>
средн.	3,7	5,3	9,7	17,0
max превышение контроля	-	1,4	2,6	4,6

Таблица 3

Фитотоксическая активность почвы разных зон г. Воронежа по показателю роста корня проростка редиса

Ингибирование, %	Контроль	Городские зоны		
		рекреации	селитебные	транспортные
<i>Почвенная вытяжка</i>				
<u>min-max</u>	<u>4-5</u>	<u>4-6</u>	<u>3-7</u>	<u>6-13</u>
средн.	4,3	5,3	5,3	10,3
превышение контроля	-	1,2	1,2	2,4
<i>Почвенные пластинки (нативная почва)</i>				
<u>min-max</u>	<u>7-10</u>	<u>8-14</u>	<u>7-30</u>	<u>27-42</u>
средн.	8,3	10,0	28,7	36,3
превышение контроля	-	1,2	3,5	4,4
<i>Почвенные пластинки с ИМС</i>				
<u>min-max</u>	<u>8-10</u>	<u>7-15</u>	<u>22-40</u>	<u>42-54</u>
средн.	8,7	10,7	39,0	51,3
превышение контроля	-	1,3	4,3	5,9

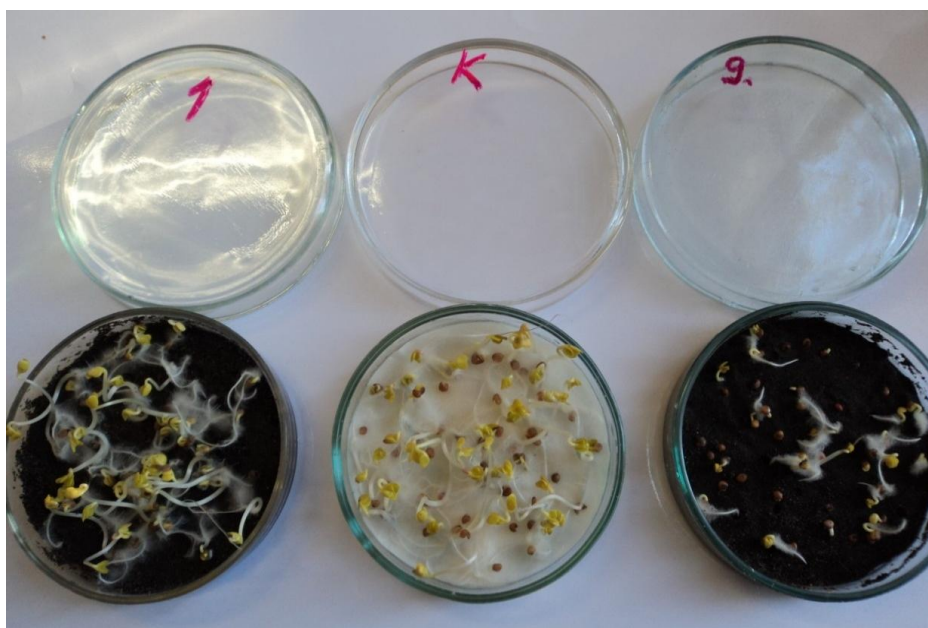


Рис. 1. Рост проростков тест-растения на почвенной пластинке: К – контроль опыта, 1 – почва пригородной зоны, контроль, 9 – почва транспортной зоны г. Воронеж

Библиографический список

1. Звягинцев, Д. Г. Биология почв / Д. Г. Звягинцев, И. П. Бабьева, Г. М. Зенова – М. : Академия, 2005. – 445 с.
2. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д. Г. Звягинцева – М., 1991. – 304 с.
3. Методы экспериментальной микологии / под ред. В. И. Билай. – Киев : Наукова думка, 1982. – 552 с.
4. Назаренко, Н. Н. Микробиологическая индикация почв урболандшафтов : моногр. / Н. Н. Назаренко, И. Д. Свистова. – Воронеж, 2013. – 135 с.
5. Стахурлова, Л. Д. Биомониторинг черноземов в различных экосистемах / Л. Д. Стахурлова, И. Д. Свистова // Доклады Российской сельскохозяйственной академии. – 2011. – № 6. – С. 28-29.
6. Теппер, Е. З. Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер, В. К. Шильникова, Г. И. Переверзева. – М. : Дрофа, 2004. – 246 с.
7. Экологический мониторинг / под ред. Т. Я. Ашихминой. – М. : Академический проект, 2005. – 416 с.
8. Экология микроорганизмов / под ред. А. И. Нетрусова. – М. : Академия, 2007. – 382 с.
9. Kent, A. D. Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems / A. D. Kent, E. W. Triplett // Annual Review of Microbiology. – 2002. – Vol. 56. – P. 211-236.
10. Patkowska, E. Antagonistic activity of selected bacteria occurring in the soil after root chicory cultivation / E. Patkowska, M. Konopiński // Plant, Soil and Environ. – 2014. – Vol. 60. – № 7. – P. 320-324.
11. Romanenko, G. A. Plant - microbe interactions: fundamental and applied research in Russia / G. A. Romanenko // Biology of Plant - Microbe interactions. Proc. Int. Congr. S.-Peterburg – St. Paul. USA, 2003. – V. 4. – P. 19-23.
12. van der Heijden, M. G. A. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems / M. G. A. van der Heijden, D. Bardgett, N. M. van Straalen // Ecol. Lett. – 2008. – Vol. 11. – № 3. – P. 296-310.
13. Zhang, F. Biological processes in the rhizosphere: a frontier in the future of soil science / F. Zhang // The Future of Soil Science. – Wageningen, 2006. – P. 155-157.

References

1. Zvyagintsev D. G., Bab'eva I. P., Zenova G. M. *Biologiya pochv* [Soil biology]. Moscow: Akademiya Publ., 2005, 445 p. (in Russian).
2. Zvyagintsev D. G. (ed.) *Metody pochvennoj mikrobiologii i biokhimii* [Methods of soil microbiology and biochemistry]. Moscow, 1991, 304 p. (in Russian).
3. Bilaj V. I. (ed.) *Metody ehksperimental'noj mikologii* [Methods of experimental Mycology]. Kiev: Naukova dumka, 1982, 552 p. (in Russian).
4. Nazarenko N. N., Svistova I. D. *Mikrobiologicheskaya indikaciya pochv urbolandshaftov* [Microbiological indication of soil urbolandscape]. Voronezh, 2013, 135 p. (in Russian).
5. Stahurlova L. D., Svistova I. D. *Biomonitoring chernozemov v razlichnyh ehkosistemah* [Biomonitoring of chernozem soil in different ecosystems]. *Doklady Rossijskoj sel'skohozyajstvennoj akademii* [Reports of the Russian Agricultural Academy]. 2011, № 6, pp. 28-29 (in Russian).
6. Tepper E. Z., Shil'nikova V. K., Pereverzeva G. I. *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on Microbiology]. Moscow: Drofa Publ., 246 p. (in Russian).
7. Ashihmina T. Y. *Ehkologicheskij monitoring* [Ecological monitoring]. Moscow: Akademicheskij proekt, 2005, 416 p. (in Russian).

8. Netrusov A. I. (ed.) *Ehkologiya mikroorganizmov* [Ecology of microorganisms]. Moscow: Akademiya Publ., 2007. 382 p. (in Russian).
9. Kent A. D., Triplett E. W. Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. *Annual Review of Microbiology*. 2002. Vol. 56. P. 211-236.
10. Patkowska E., Konopinski M. Antagonistic activity of selected bacteria occurring in the soil after root chicory cultivation. *Plant, Soil and Environ.* 2014. Vol. 60. № 7. P. 320-324.
11. Romanenko G. A. Plant - microbe interactions: fundamental and applied research in Russia. *Biology of Plant - Microbe interactions. Proc. Int. Congr. S.-Peterburg - St. Paul. USA*, 2003. V. 4. P. 19-23.
12. van der Heijden M. G. A., Bardgett D., van Straalen N. M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 2008. Vol. 11. № 3. P. 296-310.
13. Zhang F. Biological processes in the rhizosphere: a frontier in the future of soil science. *The Future of Soil Science*. Wageningen, 2006. P. 155-157.

Сведения об авторе

Свистова Ирина Дмитриевна – доктор биологических наук, профессор кафедры биологии растений и животных ФБГОУ ВО «Воронежский государственный педагогический университет», Воронеж, Российская Федерация; e-mail: i.svistova@mail.ru.

Information about the author

Svistova Irina Dmitrievna –Doctor of Biological Sciences, Professor, FSBEI HE "Voronezh State Pedagogical University", DSc in Biology, Voronezh, Russian Federation; e-mail: i.svistova@mail.ru.

DOI: 10.34220/issn.2222-7962/2019.2/6

УДК 631.468

ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ ЭКОЛОГИИ ПОЧВЕННЫХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ ВОРОНЕЖСКОЙ ОБЛАСТИ

доктор биологических наук **О.П. Негрбов**¹

О.О. Маслова²

С.О. Негрбов¹

С.С. Рубцов¹

1 – ФБГОУ ВО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж, Российская Федерация

2 – ФБГОУ ВО «Воронежский государственный педагогический университет», г. Воронеж,
Российская Федерация

Начало комплексных исследований почв в Воронежской области заложено в работах по Каменной степи экспедиции В.В. Докучаева и его сотрудников П.А. Костычева, Г.Н. Высоцкого, А.А. Силантьева, Н.А. Димо, М. Рузского и др. В этих работах заложены биоценологические принципы изучения экосистем почв, с учетом роли почвенных беспозвоночных в формировании почв. Наиболее значимый период развития почвенной зоологии (30-70-е гг. XX в.) неразрывно связан с именем М.С. Гилярова. В середине 50-х годов XX века М.С. Гиляровым была сформирована новая парадигма. В ней была развита система взглядов относительно оценки всей почвенной фауны как открытой биоценотической системы. К.К. Сент-Илер опубликовал одну из первых работ по почвенной зоологии в окрестности Воронежа. В Воронежском государственном университете на кафедре зоологии группой специалистов Л.И. Игнатъевой, А.И. Портнихиной и П.М. Дровяниковой под руководством К.К. Сент-Илера продолжены исследования по мезофауне. В.С. Петров один из первых исследовал видовой состав и распределение семейства Lumbricidae Воронежской