

УДК 57.044; 631.46

Оценка общей численности бактерий при загрязнении почв висмутом

Судьина Л.В., Минникова Т.В., Колесников С.И., Цепина Н.И., Тер-Мисакянц Т.А.,
Неведомая Е.Н., Казеев К.Ш.

Южный федеральный университет

Аннотация

Представлены результаты оценки общей численности бактерий при загрязнении почв висмутом. Установлено, что, независимо от химической формы соединения, загрязнение висмутом почв приводит к снижению общей численности почвенных бактерий. Исходя из формы химического соединения висмута, усредненный ряд токсичности висмута для почв по общей численности бактерий имеет вид: нитрат висмута (70) > карбонат висмута (81) = оксид висмута (81). Наибольшую экотоксичность оказывает нитрат висмута за счет хорошей растворимости и большей подвижности в почвенном растворе катионов Bi^{3+} . При сравнении устойчивости почв к загрязнению висмутом получен следующий ряд: чернозем обыкновенный (81) > серопески (77) > бурая лесная почва (73). Установленная последовательность определяется генетическими свойствами исследованных почв: гранулометрическим составом, реакцией почвенной среды, содержанием органического вещества и биологической активностью почв.

Ключевые слова: ВИСМУТ, ЗАГРЯЗНЕНИЕ, ОБЩАЯ ЧИСЛЕННОСТЬ БАКТЕРИЙ, ЧЕРНОЗЕМ ОБЫКНОВЕННЫЙ, БУРАЯ ЛЕСНАЯ КИСЛАЯ ПОЧВА, СЕРОПЕСКИ

Почвенная микрофлора отличается высокой чувствительностью к воздействиям и первой реагирует на загрязнение тяжелыми металлами [1, 2, 3, 4]. Висмут (Bi) является одним из представителей тяжелых металлов с достаточно высоким коэффициентом технофильности [5]. В связи с введением в ряде стран законодательств [6] о запрете применения токсичного свинца в производстве и заменой его рядом металлов, в том числе и висмутом, его повышенное содержание регистрируют во всех компонентах

окружающей среды [7]. В результате концентрация висмута в почве может достигать 930-1891 мг/кг, превышая фоновое содержание в 100-300 раз [8, 9]. Накапливаясь в почве в высоких концентрациях, как и другие тяжелые металлы, висмут оказывает токсическое действие на почвенную микробиоту [10, 11]. Однако исследования о воздействии на микробоценоз почв при загрязнении висмутом в литературе встречаются крайне редко [10]. Общая численность бактерий является одним из лучших показателей состояния редуцентов в экосистеме. Высокая чувствительность и информативность общей численности бактерий при загрязнении почв другими поллютантами показана в предыдущих исследованиях [12, 13, 14].

Цель исследования – оценить изменение общей численности бактерий при загрязнении почв висмутом.

Материалы и методы

Объектами изучения выбраны почвы, отличающиеся по своим генетическим свойствам: чернозем обыкновенный, бурая лесная почва и серопески (чернозем супесчаный). Характеристика генетических свойств почв и мест отбора представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика генетических свойств почв и мест отбора проб почв

| Тип почв (гранулометрический состав) | Место отбора | Географические координаты | Тип угодья | Содержание гумуса % | pH |
|--|--|--|----------------------------|---------------------|-----|
| Чернозем обыкновенный (тяжелосуглинистый) | г. Ростов-на-Дону, Ботанический сад ЮФУ | 47°14'17.54" с.ш. 39°38'33.22" в.д. | пашня | 3,7 | 7,8 |
| Буряя лесная кислая почва (тяжелосуглинистая) | Республика Адыгея, пос. Никель | 44° 10.649' с.ш. 40° 9.469' в.д. | грабово-буковый лес | 1,8 | 5,8 |
| Серопески или чернозем супесчаный (легкосуглинистый) | Ростовская область, Усть-Донецкий район. | 47° 46.015' с.ш. 40° 51.700' в.д. | разнотравно-злаковая степь | 2,3 | 6,8 |

Образцы почв были отобраны из верхнего пахотного слоя (0-10 см), поскольку именно в нем задерживаются тяжелые металлы [15]. Фоновое содержание висмута в объектах исследования составляет: в черноземе обыкновенном – 0,27 мг/кг, бурой лесной почве — 0,28 мг/кг, серопесках — 0,14 мг/кг. Содержание висмута в почвах определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS). При анализе литературных данных не обнаружено, в каких формах соединения висмута попадают в почву. Вероятно, это могут быть оксиды, а также растворимые и нерастворимые соли. Данные формы соединений характерны для большинства тяжелых металлов, загрязняющих почву [15].

Определение биологических свойств почв проводили через 10 суток после загрязнения. Более длительный срок инкубации увеличивает различия в состоянии почвы, инкубированной в лаборатории, от ее состояния в естественных условиях.

Моделирование эксперимента по загрязнению почв проводили в трехкратной повторности в лабораторных условиях общепринятыми в биологии и экологии почв методами [16]. Почвы загрязняли оксидом висмута Bi_2O_3 , карбонатом висмута $(\text{BiO})_2\text{CO}_3$, нитратом висмута $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ в разных концентрациях: 1,5; 3; 15; 30; 150 и 300 мг/кг. Исследовали соединения висмута (III), поскольку трехвалентное состояние висмута является наиболее стабильным в природе [17]. Учитывая растворимость соединений, внесение оксида, карбоната и нитрата висмута в почву различалось. Нитрат висмута растворяли в воде и вносили в почву при первом поливе. Оксид и карбонат висмута растирали с небольшим количеством сухой почвы, а затем тщательно перемешивали с остальной почвой инкубационного сосуда, после чего проводили полив. Почву (0,5 кг) инкубировали при оптимальной влажности (60% от полевой влагоемкости) и температуре 20-22 С в трехкратной повторности.

Общую численность бактерий в почве (в млрд. бактерий в 1 г почвы) определяли с помощью люминесцентной микроскопии в падающем свете в модификации Звягинцева и Кожевина. Яркие зеленые клетки хорошо заметны на темном или красном фоне почвенных частиц и препарата, причем микроскопия в отраженном свете позволяет учитывать и адсорбированные клетки, которые, как правило, не видны в проходящем свете [18]. Приготовленные из почвенной суспензии (1:100) препараты окрашивали раствором акридинового оранжевого (разведение 1:10000). Окрашенные препараты

высушивали при комнатной температуре. Препараты просматривали на люминесцентном микроскопе Carl Zeiss Axio Lab при увеличении X 40. Количество микробных клеток, содержащихся в 1 г почвы, вычисляли по формуле:

$$M = (4 \cdot a \cdot n \cdot 10^{10}) / p$$

где: M — количество клеток в 1 г почвы; a — среднее число клеток в поле зрения; p — площадь поля зрения (мкм²); n — показатель разведения; в данном случае n=100, что приемлемо для верхних горизонтов основных типов почв [16].

Для проверки достоверности результатов численности бактерий под воздействием различных химических соединений висмута был проведен дисперсионный анализ с последующим определением наименьшей существенной разности (НСР).

Результаты и обсуждение

В результате изучения изменения общей численности бактерий при загрязнении висмутом трех типов почв установлено, что в большинстве случаев, независимо от химической формы, внесение висмута приводит к значительному снижению данного показателя (рис. 1-3).

При внесении в чернозем обыкновенный 3 мг/кг нитрата висмута общая численность бактерий снижалась на 17%, однако та же доза карбоната и оксида висмута не вызывала достоверного снижения. Внесение 15 мг/кг оксида, карбоната и нитрата висмута вызывало снижение численности бактерий на 15, 17 и 26 % от контроля, соответственно. При увеличении загрязняющей дозы (30-300 мг/кг) всех форм висмута наблюдалось ингибирование общей численности бактерий для оксида на 17-42 %, для карбоната – на 29-41 % и для нитрата висмута – на 34-46 % (рис. 1). Наибольшую токсичность для чернозема проявил нитрат висмута. Оксиды как нерастворимые соединения тяжелых металлов оказывают меньшее токсическое действие на почву, чем водорастворимые соли металлов [1]. Аналогичные результаты получены при изучении загрязнения чернозема обыкновенного другими тяжелыми металлами [12, 19].

При внесении в бурую лесную почву 1,5 мг/кг нитрата висмута наблюдали ингибирование общей численности бактерий на 11% от контроля. Однако доза 1,5 мг/кг оксида и карбоната висмута не вызывала изменений от контрольных значений.

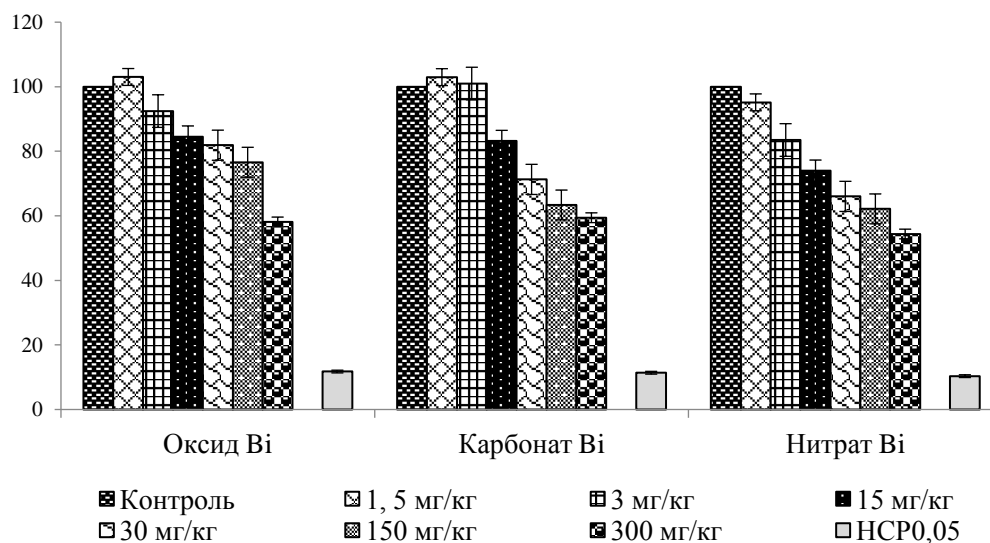


Рис. 1. Изменение общей численности бактерий при загрязнении висмутом чернозема обыкновенного, % от контроля

При увеличении вносимой дозы оксида и нитрата висмута до 3 мг/кг снижалась общая численность бактерий на 14 и 22 % от контроля. Карбонат висмута в дозе 3 мг/кг не давал достоверного снижения показателя. При дозе 30 мг/кг всех форм висмута также наблюдали снижение численности почвенных бактерий на 31, 29, 50 %. С увеличением концентрации до 150 и 300 мг/кг оксида, карбоната и нитрата висмута наблюдалось ингибирование общей численности бактерий на 44-48 %, 39-66 % и 61-69 % от контроля, соответственно (рис. 2).

Полученные результаты подтверждаются исследованиями воздействия других тяжелых металлов (Cr, Ni, Cu, Pb) на бурую лесную кислую оподзоленную почву. При внесении 10 и 100 ПДК через 30 суток экспозиции общая численность бактерий снижалась до 50-60 % от контрольных значений [20]. Комплексные соединения висмута с меркаптоэтанолом, тиоглицерином и меркаптоэтиламином проявляли выраженное ингибирующее действие на рост почвенных бактерий. Относительные значения КОЕ составляли менее 2% при концентрации 50 мкг/кг Вi и 6% при концентрации 25 мкг/кг Вi в бурых лесных почвах Японии [10]. При дозе 50 мкг/кг комплексные соединения Вi с глутатионом ингибировали рост бактерий на 9% в бурой лесной почве.

Внесение 3 мг/кг оксида и нитрата висмута в серопески снижало общую численность почвенных бактерий на 14 и 21 % соответственно, от контрольных значений

(рис. 3).

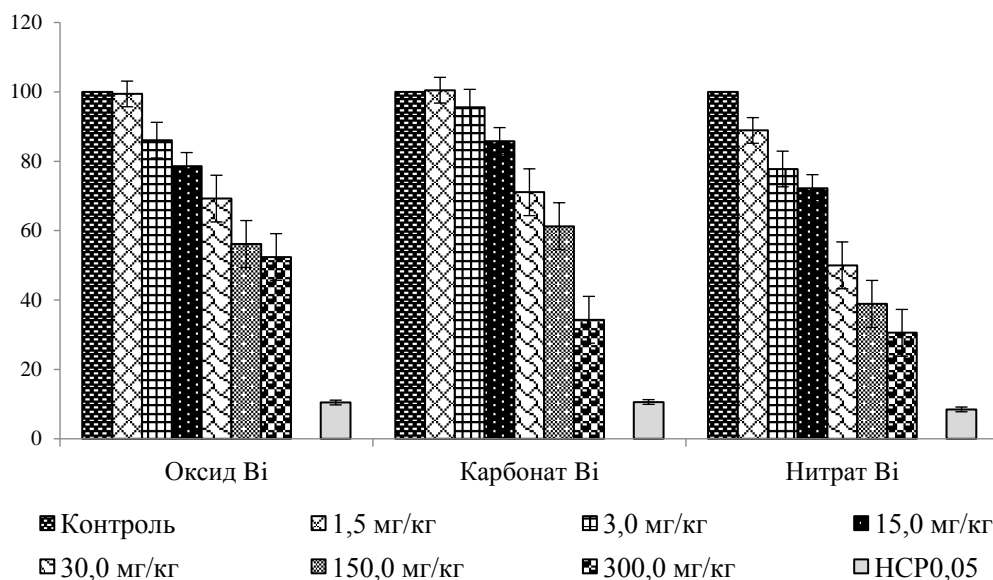


Рис. 2. Изменение общей численности бактерий при загрязнении висмутом бурой лесной почвы, % от контроля

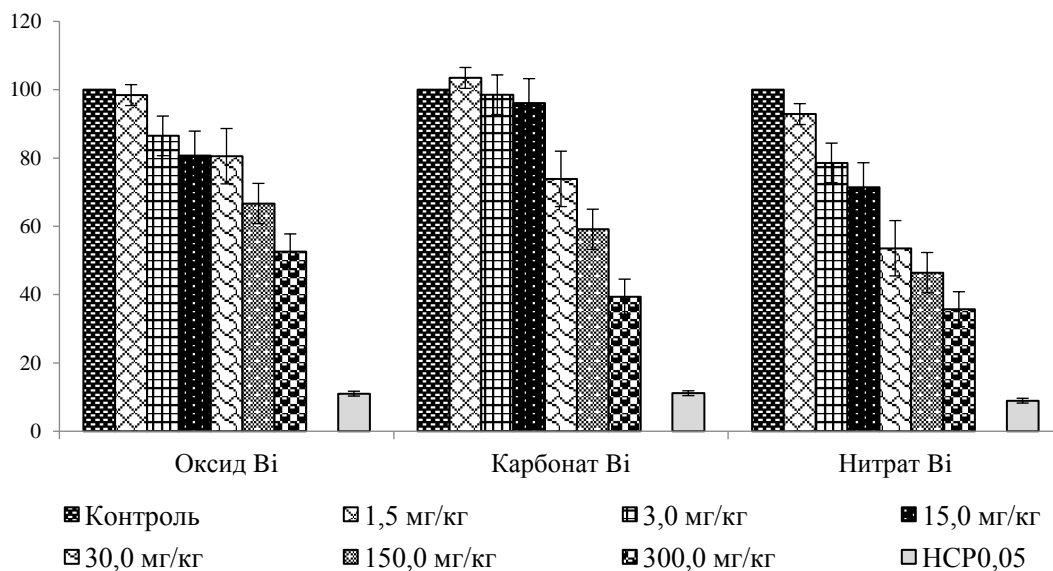


Рис. 3. Изменение общей численности бактерий при загрязнении висмутом серопесков, % от контроля

При этом карбонат висмута в дозе 3 мг/кг не оказывал влияния на микроорганизмы. При увеличении вносимой в почву дозы оксида и нитрата висмута до 15 мг/кг установлено ингибирование бактерий на 19 и 29 %, соответственно. Карбонат висмута при

внесении данной дозы в серопески не оказывал достоверного ингибирующего эффекта на бактерии. При увеличении концентрации оксида, карбоната и нитрата висмута до 300 мг/кг общая численность бактерий серопесков была ингибирована на 47 %, 61 % и 64 % относительно контроля.

Исходя из химической формы загрязнителя, усредненный ряд токсичности висмута для почв по общей численности бактерий имеет вид: нитрат висмута (70) > карбонат висмута (81) = оксид висмута (81). Наибольшую экотоксичность оказывает нитрат висмута за счет хорошей растворимости и большей подвижности в почвенном растворе катионов V^{3+} . Практически нерастворимые в воде формы проявили несколько меньшее негативное воздействие. При изучении влияния различных форм химических соединений висмута на биологические свойства почв установлено снижение их биологических показателей, что приводит к ухудшению свойств. При малых дозах загрязнения висмут, независимо от формы соединения, не оказывает существенного влияния на биологические показатели почв. Тем не менее, токсичность висмута возрастает с увеличением дозы, вносимой в почву. Степень снижения показателей зависит от концентрации загрязняющего вещества и химической формы.

При сравнении устойчивости почв к загрязнению висмутом получен следующий ряд: чернозем обыкновенный (81) > серопески (77) > бурая лесная почва (73).

Установленная последовательность определяется эколого-генетическими свойствами исследованных почв, гранулометрическим составом, реакцией почвенной среды, содержанием органического вещества и биологической активностью. Черноземы являются наиболее гумусированными почвами с богатым разнообразием почвенных микроорганизмов. Бурые лесные кислые почвы проявили чувствительность к химическому загрязнению, так как из исследованных почв они имеют наиболее низкое содержание гумуса в верхнем горизонте и кислую реакцию среды. Серопески обладают легким гранулометрическим составом, более бедным содержанием гумуса [21]. Нейтральная среда почвы и высокое содержание органики являются благоприятными условиями для жизнедеятельности и размножения разнообразных микроорганизмов, обеспечивающих устойчивость почвы к неблагоприятному воздействию тяжелых металлов.

Заключение

В результате изучения изменения общей численности бактерий при загрязнении висмутом трех типов почв установлено, что в большинстве случаев, независимо от химической формы, загрязнение соединениями висмута приводит к значительному ингибированию данного показателя. Токсичность висмута возрастает с увеличением дозы, вносимой в почву. Исходя из химической формы загрязнителя, усредненный ряд токсичности висмута для почв по общей численности бактерий имеет вид: нитрат висмута (70) > карбонат висмута (81) = оксид висмута (81). Наибольшую экотоксичность оказывает нитрат висмута за счет хорошей растворимости и большей подвижности в почвенном растворе катионов Bi^{3+} . При сравнении устойчивости почв к загрязнению висмутом получен следующий ряд: чернозем обыкновенный (81) > серопески (77) > бурая лесная почва (73). Установленная последовательность определяется эколого-генетическими свойствами исследованных почв, гранулометрическим составом, реакцией почвенной среды, содержанием органического вещества и биологической активностью.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках госзадания (Южный федеральный университет, проект № 0852-2020-0029) и государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации (грант Президента РФ НШ-2511.2020.11).

Список использованных источников

1. Колесников С.И. Агроэкологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами: автореф. дисс. ... докт. с-х. наук. – Краснодар. – 2001. – 35 с.
2. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Экологическое состояние и функции почв в условиях химического загрязнения. – Ростов н/Д: Изд-во Ростиздат. – 2006. – 385 с.
3. Kolesnikov S.I., Kazeev K.Sh., Val'kov V.F., Ponomareva S.V. Ranking of Chemical Elements According to Their Ecological Hazard for Soil // Russian Agricultural Sciences. – 2010. – Vol. 36. – Iss.1. – P. 32-34.
4. Водяницкий Ю.Н. Загрязнение почв тяжелыми металлами и металлоидами. – М.: Московский государственный университет им М.В. Ломоносова. – 2017. – 192 с.
5. Касимов Н.С., Власов Д.В. Технофильность химических элементов в начале XXI века // Вестник Московского Университета. География. Серия 5. – 2012, № 1. – С. 15-22.

6. Directive on the restriction of the use of certain hazardous substances in electrical and electronic equipment // Journal reference Eur-lex. Europa.EU L – 2003. – Vol. 37. – P. 19-23.
7. Dobrowolski R., Dobrzyńska J., Gawrońska B. Determination of bismuth in environmental samples by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using combined chemical modifiers // Environmental Monitoring Assessment. – 2015. – Vol. 187. – Iss.1. – P. 4125.
8. Elekes C.C., Busuioc G. The mycoremediation of metals polluted soils using wild growing species of mushrooms // Latest Trends on Engineering Education. – 2010. – Iss.1. – P. 36–39.
9. Юргенсон Г.А., Горбань Д.Н. Особенности распределения висмута в почвах, техноземах и растениях Шерловогорского рудного района // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017, №7. – С. 111–116.
10. Murata T. Effects of bismuth contamination on the growth and activity of soil microorganisms using thiols as model compounds // Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering. – 2006. – Vol.41. – Iss.2. – P. 161-72.
11. Omouri Z, Hawari J, Fournier M, Robidoux P.Y. Bioavailability, and chronic toxicity of bismuth citrate to earthworm *Eisenia Andrei* exposed to natural sandy soil // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2018. – Vol.147. – Iss.1. – P. 1-8.
12. Kolesnikov S.I., Popovich A.A., Kazeev K.Sh., Val'kov V.F. The Influence of Fluorine, Boron, Selenium, and Arsenic Pollution on the Biological Properties of Ordinary Chernozems // Eurasian Soil Science. – 2008. – Vol.41. – Iss.4. – P. 400-404.
13. Kolesnikov S.I., Tsepina N.I., Sudina L.V., Minnikova T.V., Kazeev K.Sh., Akimenko Yu.V. Silver ecotoxicity estimation by the soils state biological indicators // Applied and Environmental Soil Science. – 2020(10). – P. 1-9.
14. Kolesnikov S.I., Yaroslavtsev M.V., Spivakova N.A., Kazeev K.Sh. Comparative Assessment of the Biological Tolerance of Chernozems in the South of Russia towards Contamination with Cr, Cu, Ni, and Pb in a Model Experiment // Eurasian Soil Science. – 2013. – Vol.46. – Iss.2. – P. 176-181.
15. Kabata-Pendias A Trace Elements in Soils and Plants. – Boca Raton, FL: CrcPress, – 2010. – 548 p.
16. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Акименко Ю.В., Даденко Е.В. Методы биодиагностики наземных экосистем: Монография. – Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2016. – 356 с.
17. Egorysheva A.V., Ellert O.G., Zubavichus Y.V., Gajtko O.M., Efimov N.N., Svetogorov R.D., Murzin V.Yu. New complex bismuth oxides in the Bi₂O₃–NiO–Sb₂O₅ system and their properties // Journal of Solid State Chemistry. – 2015. – Vol. 225. – P. 97–104.
18. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

Судьина Л.В., Минникова Т.В., Колесников С.И., Цепина Н.И., Тер-Мисакянц Т.А.,
Неведомая Е.Н., Казеев К.Ш. Оценка общей численности бактерий при загрязнении почв висмутом

**Электронный научно-производственный журнал
«АгроЭкоИнфо»**

19. Kolesnikov S.I., Evreinova A.V., Kazeev K.Sh., Val'kov V.F. Changes in the Ecological and Biological Properties of Ordinary Chernozems Polluted by Heavy Metals of the Second Hazard Class (Mo, Co, Cr, and Ni) // Eurasian Soil Science. – 2009. – Vol. 42. – Iss.8. – P. 936-942.

20. Колесников С.И., Кузина А.А., Евстегнеева Н.А., Казеев К.Ш. Оценка устойчивости бурых лесных оподзоленных почв черноморского побережья Кавказа к химическому загрязнению // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2016. – Т. 189. – № 1. – С. 66-70.

21. Вальков В.Ф., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Почвы Юга России. – Ростов-на-Дону: Издательство «Эверест». – 2008. – 276 с.

Цитирование:

Судьина Л.В., Минникова Т.В., Колесников С.И., Цепина Н.И., Тер-Мисакянц Т.А., Неведомая Е.Н., Казеев К.Ш. Оценка общей численности бактерий при загрязнении почв висмутом [Электрон. ресурс] // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2020. – №4. – URL: https://agroecoinfo.narod.ru/journal/STATYI/2020/4/st_432.pdf (дата обращения дд.мм.гггг).