

УДК 631.46:628.3

АКТИВНОСТЬ И СТРУКТУРА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПРИ ОБРАБОТКЕ ПОЧВЫ НЕТРАДИЦИОННЫМИ МЕЛИОРАНТАМИ

С.Ю. Селивановская

Аннотация

В обзоре представлены данные о современных методах оценки состояния почвенных микробных сообществ, об использовании в качестве почвенных мелиорантов органических отходов, о влиянии компонентов отходов на биохимическую активность и структуру сообществ микроорганизмов почв.

Ключевые слова: активность, структура микробных сообществ, почва, осадок сточных вод, твердые бытовые отходы.

Большая численность и разнообразие микроорганизмов в почвах обуславливают их высокий метаболический потенциал. Микробные характеристики почв признаются чувствительными индикаторами почвенного «здоровья», поскольку существует очевидная взаимосвязь между микробным разнообразием, качеством почвы и растений и устойчивостью почвенных экосистем в целом. Более того, микроорганизмы быстро реагируют на стрессовые факторы, изменяя активность, биомассу и структуру сообществ. Исходя из этого, изменение состояния почвенных микробных сообществ является основанием для регулирования уровня антропогенного воздействия на почвы.

Одним из способов поддержания продуктивности агроэкосистем и защиты почвы от истощения является применение нетрадиционных мелиорантов из органических отходов. К нетрадиционным мелиорантам относятся осадки сточных вод (ОСВ), органическая фракция твердых бытовых отходов (ТБО) и компосты на их основе. Однако поскольку такие отходы содержат также и металлы, и органические токсичные вещества, их применение в качестве мелиорантов может не только влиять на почвенное плодородие и, соответственно, на урожайность растений, но и оказывать различные эффекты на состав и активность почвенных микроорганизмов.

Вне зависимости от того, каким способом поступают токсичные соединения в почву, для оценки их воздействия на почвенные микроорганизмы используют ряд подходов:

– лабораторные экотоксикологические исследования, в которых, как правило, оценивается влияние токсикантов, вносимых в почву в лабораторных условиях, на численность или отдельные функции групп организмов;

– полевые экотоксикологические исследования, включающие отбор загрязненных и незагрязненных почв в полевых условиях и проведение экотоксикологических тестов, таких, как инокуляция тест-организмами и последующая оценка их выживаемости или активности;

– мониторинг окружающей среды, предполагающий отбор проб почвы и оценку в них численности, активности функционирования отдельных групп или видов и структуры сообщества. Эти исследования, в свою очередь, можно подразделить на те, в которых функция или организм изучается в условиях естественного загрязнения, и те, в которых загрязнение осуществляется в планированных полевых экспериментах.

Спектр методов, используемых для оценки состояния почвенных микробных сообществ достаточно широк [1–9]. Наиболее часто для анализа ответной реакции микроорганизмов на различные антропогенные воздействия привлекаются такие показатели, как уровень микробной биомассы и интенсивность биохимических процессов [4, 7, 9–11]. Почвенная микробная биомасса может быть определена как биомасса организмов, живущих в почве, размеры которых менее 10 мкм [12]. Предполагается, что уровень микробной биомассы – интегральный показатель состояния почвы, поскольку углерод микробной биомассы является одной из фракций почвенного органического вещества, которая наиболее чувствительна к загрязнению [6, 7, 12, 13]. Метаболическая активность микроорганизмов менее чувствительна по отношению к токсичным веществам, поскольку, как правило, определенные процессы могут осуществляться разными таксонами микроорганизмов и элиминация отдельных таксонов под действием негативных факторов может не привести к изменению определяемого процесса. В целом почвенная микробная активность ведет к высвобождению питательных веществ, доступных для растений, а также к минерализации и мобилизации поллютантов и ксенобиотиков. В качестве показателей биохимической активности чаще всего используют минерализующую, иначе респираторную, и ферментативные активности почв.

Существенно меньше публикаций посвящено изучению воздействия токсикантов на структуру сообществ и биологическое разнообразие микроорганизмов [8, 9, 14–16]. Ранее анализ структуры почвенных микробных сообществ базировался на технике культивирования микроорганизмов на средах, предназначенных для выявления максимального количества видов. Однако в настоящее время установлено, что менее 0.1% микроорганизмов, обитающих в почве, могут быть выявлены методом посева на известные среды [8, 17].

Одним из наиболее распространенных методов, основным на анализе культивируемых членов микробного сообщества, является определение физиологического профиля сообщества [8, 18–22]. Этот метод воплощен в виде коммерческого продукта, известного как система BIOLOG®. Процедура включает оценку способности микроорганизмов метаболизировать 95 различных источников углерода. Утилизация каждого из субстратов фиксируется по восстановлению тетразолиевого красителя. Различия в наборе утилизируемых субстратов служат индикатором различий в физиологических функциях микробных сообществ.

В связи с ограничениями методов, использующих учет культивируемых организмов, в последнее время все большее внимание уделяется методам анализа, которые не требуют культивирования микроорганизмов.

Основой таких методов служит а) экстракция из почвы и идентификация молекул, которые являются характерными для конкретных микроорганизмов или групп, или б) техника флюоресцентного микрокопирования. В качестве молекул, пригодных для этих целей используют жирные кислоты фосфолипидов и нуклеиновые кислоты. Техника микрокопирования включает либо гибридизацию флюоресцентно меченных зондов с нуклеиновыми кислотами, экстрагируемыми из почвы, либо их гибридизацию с клетками непосредственно в почве.

Анализ состава жирных кислот фосфолипидов (PLFA) используется как не зависящий от культивирования метод оценки структуры почвенных микробных сообществ [8, 20, 21, 23]. Жирные кислоты фосфолипидов являются перспективными индикаторами, так как присутствуют в клетках всех живых организмов. Фосфолипиды присутствуют только в клеточных мембранах, при гибели клеток мембраны разрушаются и фосфолипиды быстро метаболизируются, поэтому жирные кислоты могут быть важными индикаторами активной микробной биомассы. Важным свойством этих молекул является их уникальность для каждой специфической группы организмов, например, для аэробов и анаэробов, сульфат редуцирующих и метан окисляющих бактерии, цианобактерий, микромицетов, *Bacillus* spp. и т. д., что позволяет успешно использовать их как в таксономии бактерий, так и при описании микробных сообществ. Присутствие и разнообразие характерных жирных кислот в почве свидетельствуют о наличии конкретных организмов или групп организмов. Однако существует и ряд ограничений при использовании этого метода. Во-первых, не для всех организмов известны соответствующие характеристические молекулы, а в ряде случаев обнаруженные в почвенных образцах жирные кислоты не могут быть связаны с конкретными организмами. Во-вторых, при стрессах бактерии и грибы продуцируют разное количество таких молекул, более того, их набор в условиях стресса может отличаться набора, синтезируемого в нормальных условиях. В целом же данные, представленные в литературе, свидетельствуют о достаточно активном применении этого метода.

Из всех молекул, присутствующих в клетке, нуклеиновые кислоты признаны наиболее успешными при анализе структуры микробного сообщества. Среди ряда процедур, основанных на анализе нуклеиновых кислот, наиболее полезными являются процедуры, основанные на определении первичной структуры последовательностей рибосомных генов (рДНК) или их продуктов – рРНК [8]. Наиболее широко в качестве филогенетического маркера используют ген РНК малой субъединицы рибосомы (16S рРНК). Нуклеиновые кислоты, присутствующие в малых субъединицах рибосомы пригодны для анализа по следующим причинам. Во-первых, они универсальны для всех типов жизни – доменов бактерий, архей и эукариотов. Во-вторых, эти молекулы состоят как из строго консервативных участков, так и участков с достаточно вариабельными последовательностями. В-третьих, ценность филогенетической информации, содержащейся в генах рДНК, повышается за счет относительно большого размера молекулы (около 1.5 kb) и наличия вторично структурированных доменов.

И, наконец, эти молекулы легко подвергаются амплификации с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) и сиквенс-анализу (определению последовательностей отдельных генов 16S рРНК).

В последнее время широко применяются методы оценки почвенных микробных сообществ, основанные на анализе рРНК в противоположность анализу генов рДНК, кодирующих рРНК [8, 24, 25]. Анализ, основанный на учете рРНК, имеет ряд преимуществ. Рибосомы обеспечивают синтез белка, поэтому их содержание прямо коррелирует с микробной активностью. Поскольку количество копий рРНК в клетке значительно превышает количество рДНК, они гораздо проще поддаются регистрации.

Процедура анализа микробного сообщества на основе исследования нуклеиновых кислот включает три этапа. На первом этапе получают суммарную фракцию 16S рДНК (16S рРНК). Для этого используют либо технологию рекомбинантных ДНК (набор образовавшихся в результате рестрикции эндонуклеазами фрагментов ДНК встраивают в плазмидный или фаговый вектор, а затем клонируют в клетках *Escherichia coli*), либо проводят амплификацию генов 16S рРНК методом ПЦР. Амплификацию генов осуществляют из суммарного препарата нуклеиновых кислот с использованием специфической для этих генов пары праймеров, комплементарных консервативным участкам на 3-м и 5-м концах гена.

Для оценки разнообразия филоотипов в сообществе полученные ампликоны разделяют на фракции. Наиболее традиционным методом разделения индивидуальных ампликонов является стандартная процедура клонирования в клетках *Escherichia coli*. В последнее время чаще используют методы разделения ПЦР-амплификатов с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, содержащем денатурирующий градиент. Последний достигается либо созданием перепада температур (TGGE), либо добавлением денатурирующих агентов (DGGE) [8, 15, 16, 26–28]. Кроме этого, для разделения ампликонов применяют следующие методы: метод, основанный на конформационном полиморфизме одноцепочечных молекул ДНК (SSCP), метод, основанный на полиморфизме продуктов терминальной рестрикции ДНК, различающихся длинами фрагментов, (T-RFLP), рестрикционный анализ амплифицированной рДНК (ARDRA) [9, 14, 16, 19, 29–32]. Завершающим этапом анализа является определение последовательностей отдельных выделенных генов 16S рРНК.

Вторая группа методов основана на технике флюоресцентного микроскопирования. Метод флюоресцентной гибридизации нуклеиновых кислот в среде обитания (FISH) позволяет проводить прямую идентификацию и количественное определение отдельных видов или групп микроорганизмов. В процедуре FISH 16S рРНК интактных клеток гибридизуют с флюоресцентно-мечеными таксон-специфичными олигонуклеотидными зондами и регистрируют с помощью сканирующей конфокальной лазерной микроскопии. Гибридизация с зондами ненарушенных клеток исключает артефакты, связанные с проблемами, возникающими при ДНК экстракции и ПЦР амплификации [8, 33–35]. По мнению многих авторов, FISH является действенным инструментом не только при изучении индивидуальных организмов в популяции, но и имеет потенциал при изучении

динамики популяций, контроля поведения микроорганизмов, интродуцированных в природные сообщества, например, при биоремедиации почв.

Выше микробные параметры были разделены на отдельные группы, однако для наиболее полной характеристики состояния микробного сообщества авторы, как правило, оценивают сразу комплекс показателей. Такого же принципа мы будем придерживаться при дальнейшем рассмотрении публикаций.

Эффекты, которые оказывают нетрадиционные мелиоранты на почвенные микробные сообщества, обусловлены присутствием в их составе одновременно большого количества органического вещества, что делает их привлекательными для увеличения плодородия почв, и токсичных компонентов, в частности, металлов. Последнее, в свою очередь, ограничивает их применение. Поэтому большое количество публикаций посвящено изучению определения концентраций металлов, которые оказывают негативный эффект при внесении отходов. Так, в условиях лабораторного эксперимента индийскими учеными проведена оценка влияния Cd и Pb на микробную биомассу и минерализацию органических веществ микроорганизмами трех типов почв, предварительно обработанных ОСВ [36, 37]. Показано, что внесение чистого осадка увеличивало содержание органического углерода, уровень микробной биомассы и респираторной активности. Дополнительное внесение Cd в дозе 10 мг/кг не влияло на изучаемые параметры, тогда как доза 25 и 50 мг/кг снижала активность минерализации, а также уровень микробной биомассы вне зависимости от внесения осадка. Аналогичные исследования с внесением Pb показали, что концентрации, отрицательно влияющие на изучаемые параметры, равны 250 и 500 мг/кг. Наибольшее снижение активности процессов минерализации отмечено в песчаной почве по сравнению с глинистой, что, по мнению авторов, связано со снижением подвижности металлов за счет адсорбции или хелатирования металлов на глинистых минералах, обменном органическом остатке и фракциях оксидов. Сравнение ответного отклика микробных сообществ почв, различающихся по содержанию органического вещества и текстуре, позволило авторам заключить, что содержание глины в почве является более важным фактором в процессе детоксикации металлов, чем содержание органического вещества.

Лабораторный 120-суточный эксперимент, включающий внесение в аридную почву двух типов компостов из ОСВ с низким (2 мг/кг) и высоким (815 мг/кг) содержанием Cd, на фоне Zn (755–776 мг/кг), Cu (214–275 мг/кг) и Ni (101–105 мг/кг) позволил установить, что внесение обоих компостов увеличивало содержание общего органического углерода и гуминовых веществ [38]. Одновременно внесение компоста с высоким содержанием Cd увеличивало его содержание в почве и ингибировало минерализацию наиболее лабильной фракции углерода. Высокое содержание Cd нивелировало положительный эффект от добавления органического вещества и, как следствие, вызывало снижение уровня микробной биомассы и стимулировало метаболическую активность, выражаемую в виде метаболического коэффициента. Оценка ферментативной активности почвы показала, что ответная реакция в большей части зависит от свойств фермента. Так, добавление Cd негативно влияло на уровень дегидрогеназной активности, не влияло на активность протеазы и β -глюкозидазы и стимулировало уреазные и фосфатазные активности.

Инкубационные опыты с использованием закрытого статического микрокосма проведены для оценки влияния ОСВ, обогащенного Zn, на ряд параметров биологической активности песчаной почвы [39]. Авторами показано, что добавление Zn (от 50 до 800 мг/кг) к ОСВ, содержащему Cd, Zn, Pb, Cu, Ni, Co, и последующее их внесение в почву в дозе 25 т/га вызывают изменения микробных параметров различной интенсивности. Наибольший эффект отмечен в случае респираторной активности и метаболического коэффициента. Менее подвержен влиянию Zn процесс минерализации азота. Микробная биомасса, протеазная активность и активность аммонификации аргинина практически не менялись. Представляет интерес установленная авторами обратная зависимость уровня продукции CO₂ от содержания Zn, связанная, по мнению авторов, со снижением способности утилизировать субстрат. Скорее всего, внесение высоких концентраций Zn вызывает гибель небольшой в процентном отношении части метаболически активных микроорганизмов, которые наиболее чувствительны к токсичным соединениям. Это объясняет как существенное снижение метаболической активности, так и практически неизменный уровень микробной биомассы, что, в свою очередь, выражается в значительном снижении метаболического коэффициента.

Оценка влияния ОСВ, искусственно загрязненных Ni, Cu и Zn, на ряд параметров пяти видов почв, различающихся по содержанию органического вещества и глины, проведена английскими авторами [40]. Полученные результаты подтверждают выдвинутую авторами гипотезу о том, что доступность металлов контролируется физико-химическими свойствами почвы, и поэтому одинаковое внесение металлов в почвы с контрастными свойствами оказывает различные эффекты на биологическую активность. Действительно, изучение микробной биомассы, респираторной активности, метаболического коэффициента, активности минерализации азота, анализ содержания эргостерола и соотношения бактериальных и грибных жирных кислот продемонстрировали, что ответная реакция микробных сообществ существенно различается в разных типах почв. Авторы считают, что при оценке доступности и токсичности металлов, например при разработке их предельно допустимых значений, необходимо учитывать не только уровень почвенной кислотности, но и содержание органического вещества и глины.

Лабораторные исследования применены для определения экологической дозы Ni в почве, обработанной ОСВ [41]. Обнаружено, что значения ED₅₀, установленные на основе определения микробной биомассы, активности дегидрогеназы, респирации и содержания АТФ для почвы, обработанной осадками, оказались выше по сравнению с необработанной почвой.

Возможность широкого использования ОСВ для улучшения аридных почв изучена испанскими авторами [42, 43]. Потенциальные последствия их внесения были оценены на основании изменения ряда почвенных ферментативных активностей, а также уровня микробной биомассы, соотношения углерода микробной биомассы к общему органическому углероду почвы, базального дыхания и метаболического коэффициента. Авторами показано, что органическое вещество благотворно действует на микробиологическую активность почв, увеличивая микробную биомассу, базальное дыхание, а также уровень дегидрогеназной,

протеазной и фосфатазной активностей. Повышение метаболического коэффициента авторы связывают с гипотезой энергетической оптимизации и объясняют стрессом микробного сообщества, вызванного внесением в почву легкодоступного субстрата. К сожалению, авторы не приводят содержания металлов в почвах и осадках.

Выраженный положительный эффект от внесения ОСВ фабрики, перерабатывающей бумагу, выявлен в 280-дневном инкубационном эксперименте [44]. Показано, что внесение осадка в дозе 50 т/га в две почвы, различающиеся по текстуре и химическим свойствам, увеличивало содержание органического углерода и скорость минерализации, однако и к концу эксперимента уровень органического углерода оставался выше контрольного варианта. Увеличение содержания подвижных форм Mn, Zn и Cu не коррелировало с активностью дегидрогеназы, β -гликозидазы, уреазы и фосфатазы и не оказывало негативного эффекта на их уровень. Впрочем, авторы отмечают, что содержание подвижных форм металлов к концу инкубационного периода снижается как в результате увеличения рН почвы, так и за счет реакций преципитации и адсорбции разнозаряженными коллоидами. В целом авторы отмечают, что внесение осадка оказывает положительный эффект на почвенную ферментативную активность, однако указывают, что ингибирующий эффект при незначительном количестве металлов, внесенных с осадками, может быть замаскирован положительным эффектом от внесения органического вещества, а также внесением ферментов с органическими добавками в виде осадков.

В двухмесячном инкубационном эксперименте было показано, что внесение компостов из ОСВ и отходов хлопчатника в дозе 48 т/га приводит к увеличению уровня микробной биомассы и ее респираторной активности [10]. Сравнение эффектов от компостов разного возраста выявило, что зрелый компост вызывает меньшее нарушение микробного сообщества. Так, после внесения зрелого компоста микробное сообщество возвращается в исходное состояние уже через 18 суток, тогда как при воздействии незрелого компоста сообщество не способно восстановиться даже через 2 месяца инкубирования. По мнению авторов, определяющую роль в формировании ответного отклика микроорганизмов играет органическое вещество компостов. Об этом свидетельствует начальное увеличение удельной скорости дыхания и его последующее снижение, обусловленное преодолением микробами временного нарушения, а не постоянного стресса, вызванного присутствием металлов.

Анализ свойств микробных сообществ, таких, как микробная биомасса, субстрат-индуцированное дыхание, активности ферментов арилсульфатазы, гликозидазы и дегидрогеназы были использованы для оценки эффективности ремедиации почв, загрязненных металлами [45]. Показано, что обработка почв органическими удобрениями, такими, как компосты из ОСВ либо из ТБО в дозе 100 т/га, приводит к увеличению анализируемых показателей, то есть оказывает восстанавливающий эффект на почвенное микробное сообщество. Авторы указывают, что активность арилсульфатазы и уровень микробной биомассы являются наиболее точными индикаторами изменений качества почв.

Годовой лабораторный эксперимент, главная цель которого состояла в определении максимальной концентрации металлов, вызывающих негативный

эффект на процесс минерализации азота, проведен австрийскими авторами [46]. Для этого шесть различных типов почв обрабатывали пятью осадками, отобранными на различных станциях очистки, в дозах 60 и 240 т/га для того, чтобы создать почвы с широким спектром содержания металлов, старили образцы в течение года, выращивали в них смесь бобовых культур, после чего определяли доступный азот. Авторами показано, что предельные концентрации металлов в почвах, используемых для выращивания пищевой продукции, имеют существенный «запас прочности». Действительно, концентрации Cu и Zn, оказывающие негативный эффект на изучаемый процесс, оказались в 2.5–4 раза выше установленных предельных значений.

Российскими авторами продемонстрировано, что способ обработки осадков влияет на степень их воздействия на микробные сообщества [47–52]. При исследовании влияния анаэробно сброженного, компостированного и необработанного ОСВ крупного промышленного города на микробные сообщества серой лесной почвы выявлено, что наибольший стимулирующий эффект на синтез микробной биомассы, дыхательную и азотфиксирующую активность почвы оказывал компостированный ОСВ. Слабовыраженный угнетающий эффект на микробоценоз почвы оказывает ОСВ, не подвергнутый биологической обработке. Полученные результаты позволили авторам рекомендовать компостирование как наиболее эффективный способ переработки осадков. Последующее исследование микробных сообществ почв лесных питомников, где компосты применяли в качестве нетрадиционного мелиоранта, выявило, что при внесении компоста в дозе до 90 т/га наблюдается временная дестабилизация микробного сообщества, выражаемая в изменении уровня микробной биомассы, респираторной активности, метаболического коэффициента и азотфиксирующей активности. Через два года после внесения компоста достоверное негативное влияние компонентов компоста на микробные сообщества отсутствует, что свидетельствует о преодолении почвенным микробным сообществом стресса, вызванного антропогенным вмешательством. Авторы утверждают, что ответная реакция почвенных микробоценозов на внесение осадков сточных вод определяется балансом разнонаправленных эффектов воздействия органического вещества и токсичных компонентов, в частности металлов, входящих в их состав. При малом содержании металлов доминирующим является положительное влияние органического вещества, и почвенные процессы стимулируются. Высокое содержание металлов снижает благотворный эффект органического вещества и ингибирует образование микробной биомассы, активность азотфиксации и численности азотобактера. В то же время присутствие высоких доз металлов стимулирует респираторную активность почвенных микроорганизмов. И в этом аспекте увеличение метаболического коэффициента (qCO_2) является очень чувствительным показателем стресса, испытываемого почвой после внесения осадков с высоким содержанием металлов.

Несмотря на то что лабораторные исследования предоставляют детальную информацию о негативных эффектах, вызываемых поллютантами, ряд авторов отдает предпочтение результатам, полученным в полевых экспериментах [7, 53]. Основными аргументами являются утверждения о том, что, во-первых, металлы, поступающие в почву, длительное время находятся в иных формах, нежели

в лабораторных экспериментах, во-вторых, их воздействие на микроорганизмы носит иной характер. По мнению этих авторов, лабораторные эксперименты являются недостаточными для определения предельных концентраций металлов, не оказывающих негативного влияния на почвенные сообщества. С целью установления порогов концентраций, негативно влияющих на микробные сообщества, авторами были проанализированы почвы, длительное время подвергавшиеся обработке ОСВ с высоким содержанием металлов. Долговременные полевые опыты были заложены на нескольких экспериментальных площадках Англии, Швеции, Германии и США [4–6, 20, 54–56]. Так, опытные площадки Ли Валлей и Луддингтон обрабатывали ОСВ с добавлением по отдельности Zn (16000 мг/кг), Cu (8000 мг/кг), Ni (4000 мг/кг) и Cr (8000 мг/кг), а также незагрязненными осадками. Осадки вносили в 1968 году однократно в дозе 125 т/га или ежегодно в дозе 31 т/га в течение 4 лет. Контролем служили площадки с внесенными минеральными удобрениями. Опытные площадки, расположенные близ английского города Вобурн, обрабатывали естественно загрязненными осадками ежегодно с 1942 по 1961 гг. в дозах 8.2 и 16.4 т/га. Контрольные участки удобряли навозом. Естественно загрязненными ОСВ обрабатывали также поля опытной станции Ултуна (Швеция). Осадки вносили в дозах 14 т/га каждые два года с 1956 по 1988 гг. В течение 10 лет ежегодно обрабатывали незагрязненными осадками и осадками с высоким содержанием металлов (Pb – 2400, Cd – 40, Cr – 2400, Cu – 2400, Ni – 400, Hg – 50, Zn – 6000 мг/кг) участки в Брауншвейге (Германия). В 1975 и 1976 гг. внесение высоких осадков (100, 112 и 224 т/га) осуществляли на экспериментальных участках Фаирленда и Белтсвилла (штат Мэриленд, США). Исследователями Корнуэльского университета в 1978 г. был заложен полевой эксперимент, в котором однократно был внесен ОСВ, содержащий Zn, Cu, Cd, Ni, Cr и Pb в количестве 4127, 1112, 81, 169, 111 и 653 мг/кг соответственно.

В результате многолетних опытов было установлено, что внесение осадков увеличивало содержание органического вещества в почвах [4–6, 20, 53–56]. Влияло внесение осадков и на валовое содержание металлов в почве, а также на содержание их подвижных форм. Особенно резкое увеличение содержания металлов отмечено при однократном внесении высоких доз осадков с большим содержанием металлов [56]. В большинстве же случаев было отмечено их повышение, однако содержание металлов не достигало или находилось на уровне значений, установленных в качестве предельных для почв, обработанных осадками.

Внесение осадков изменяло уровень биомассы и функционирование микробных сообществ. На примере почв Вобурна, Ли Валлей, Луддингтона и Ултуны рядом авторов показано, что длительное воздействие металлов, вносимых с большими дозами осадков, приводило к снижению уровня микробной биомассы в почвах [5–7, 20, 53]. В то же время внесение загрязненных осадков в Корнуэле и Брауншвейге не привело к существенному изменению микробной биомассы [54, 56]. Позднее, анализируя почвы, ранее обрабатываемые осадками, Чандер с соавторами на основе корреляционного анализа сделал вывод о том, что содержание микробной биомассы необязательно уменьшается с увеличением содержания металлов в почве [13]. Это еще раз подчеркивает значение других факторов окружающей среды, например, различий характеристик внесенного

органического вещества. Суммируя данные полевых исследований, МакГраф с соавторами установил пороговые значения содержания ряда металлов, вызывающие негативное влияние на микробную биомассу [7]. Необходимо отметить, что при внесении загрязненных осадков существенно изменяется соотношение микробной биомассы и органического углерода ($C_{\text{микр}}/C_{\text{орг}}$). Связь между $C_{\text{микр}}$ и $C_{\text{орг}}$ может быть индикатором функционирования экосистем. В загрязненных почвах это соотношение составляет, как правило, 1–4%, в загрязненных может варьировать от 0.19 до 2.1% [7, 13, 54]. Уменьшение этого соотношения, наблюдаемое в загрязненных почвах, связано с низкой эффективностью конверсии потребляемого углерода, уровень его снижения сопоставим с уровнем металлов в почве. Более того, если в незагрязненных почвах существует линейная корреляция между уровнем органического углерода в почве и уровнем микробной биомассы, то в почвах, загрязненных металлами, такая корреляция отсутствует.

Несколько менее значимой, по мнению авторов, является оценка скорости минерализации органического вещества, определяемой в основном по уровню базального дыхания. Результаты определения уровня базального дыхания очень разноречивы. Внесение металлов с ОСВ приводит как к интенсификации, так и к снижению базального дыхания, что связано с природой минерализуемого субстрата и типом почв. Так, увеличение дыхания наблюдается при содержании в почве Cu, Zn, Ni, и Cd 32–107, 190–404, 13–26 и 0.83–3.19 мг/кг соответственно [54]. Содержание Cu и Zn в почве более 1000 мг/кг снижает уровень дыхания [5]. Другие авторы отмечают, что скорость минерализации органического вещества существенно не зависит от дозы металлов, присутствующих в почвах [5–7, 53].

Измеряемая в незагрязненной почве в квазистационарных условиях скорость базального дыхания, отнесенная к единице микробной биомассы (удельная скорость дыхания, или $q\text{CO}_2$), была предложена как физиологическая характеристика микробного сообщества [3]. При анализе почв, обрабатываемых ОСВ, выявлены более высокие значения $q\text{CO}_2$ по сравнению с почвами, не загрязненными металлами [5, 6, 21, 53, 54]. Авторами была показана прямая корреляция между уровнем загрязнения почв и значением удельной скорости дыхания. Предполагается, что основным объяснением изменения $q\text{CO}_2$ является перераспределение энергии между процессом роста клеток и поддержания их остальных функций. Гиллер с соавторами [53] высказывает мнение о том, что указанный коэффициент может использоваться при оценке как влияния металлов в условиях лабораторных экотоксикологических исследований, так и долговременного воздействия металлов в полевых условиях. Однако интерпретация изменений значений этого коэффициента различна. Так, в лабораторных исследованиях увеличение $q\text{CO}_2$ вызвано эффектом, который может быть определен как резкое нарушение экосистемы, а не как долговременный стресс.

Влияние ОСВ на азотфиксирующие организмы продемонстрировано в работах, проведенных в разные годы с почвами Вобурна, Ултуны и Брауншвейга [5–7, 53]. В поле зрения авторов оказались гетеротрофные и автотрофные свободноживущие диазотрофы. Подавление нитрогеназной активности отмечено при различных концентрациях металлов в почвах, что связано в первую очередь

со свойствами самой почвы. Так, например, существенное снижение нитрогеназной активности гетеротрофных diaзотрофов установлено в почве Вобурна при концентрации Zn, Cu и Cd 150–300, 50–140 и 4–12 мг/кг соответственно. В то же время в старых пахотных почвах Брауншвейга подавление азотфиксации отмечено при концентрации Cd 0.7–2.5 мг/кг в условиях примерно равных концентраций Zn и Cu [7]. Подавление нитрогеназной активности в почвах с увеличенным содержанием металлов отмечено также и для автотрофных микроорганизмов. Однако добавление в почву умеренно загрязненных осадков тоже снижало распространенность автотрофных diaзотрофов, что связано, по мнению авторов, с внесением доступного азота и углерода. Как показано рядом авторов, подвержена влиянию металлов и активность азотфиксации, осуществляемая симбиотическими микроорганизмами [5, 6]. Авторами продемонстрировано, что именно подавление активности *Rhizobium leguminosarum* обуславливает снижение урожая белого клевера. Высокая чувствительность симбиотических микроорганизмов позволила авторам, несмотря на трудности их культивирования, рекомендовать их в качестве индикатора почвенного загрязнения металлами.

Не менее широко применяется для оценки влияния металлов в полевых условиях ферментативная активность почв. Чаще всего для этих целей используется дегидрогеназная активность. Показано, что в почвах Вобурна и Корнуэлла, загрязненных металлами, активность этого фермента существенно ниже по сравнению с незагрязненными почвами, причем отмечена строгая корреляция между уровнем активности фермента и содержанием металлов в почве [5, 6, 56]. Поскольку дегидрогеназа является эндоцеллюлярным ферментом, ее активность, по мнению авторов, может служить мерой микробной биомассы. В то же время, увеличивающаяся нагрузка осадков не влияла на активность фосфатазы и уреазы, уровень которых зависел в первую очередь от типа почвы. Подтверждением этому могут служить результаты определения активностей дегидрогеназы, фосфатазы, протеазы, глюкозидазы, каталазы и уреазы в почвах Брауншвейга [6]. Активность большинства из изученных ферментов стимулировалась органическим веществом осадка. Только уреазы и дегидрогеназы продемонстрировали снижение активности.

Авторы предыдущих статей демонстрировали неоднозначное влияние ОСВ, содержащих металлы. В то же время в литературе представлены данные и об однозначно благотворном применении ОСВ, когда их внесение не оказывает негативного влияния на почвенные микробные сообщества. Так, четырехлетнее внесение анаэробно сброженного осадка в дозах 8 и 24 т/га, повышая содержание подвижных форм металлов (Zn, Cu, Pb, Ni), не оказывало негативного действия на численность бактерий, грибов и актиномицетов и стимулировало активность дегидрогеназы и почвенного дыхания [57]. Положительный эффект при использовании умеренных доз ОСВ был установлен в долговременном полевом эксперименте в Швеции (Лунд и Мальме) [58]. Внесение осадков в дозах 1 и 3 т/га каждые 4 года в течение 12 лет приводило к увеличению содержания органического углерода и незначительно влияло на содержание металлов, за исключением Cu, Zn и Hg. Оценка широкого спектра параметров: базального дыхания, микробной биомассы, нитрифицирующей и потенциальной

денитрифицирующей активностей, активности кислой и щелочной фосфатазы – и последующая обработка результатов методом дискриминантного анализа и методом основных компонент позволили заключить, что обработка почв осадками влияет на ряд биологических параметров. При этом изменение большинства параметров коррелировало с изменением содержания органического вещества в почве. Авторы отмечают отсутствие каких-либо негативных эффектов по отношению к почвенным микроорганизмам, более того, многие из наблюдаемых эффектов свидетельствуют об улучшении качества почв. Увеличение уровня биомассы и респираторной активности микробных сообществ темно-красной тропической почвы при внесении ОСВ рассматривалось как положительный эффект [11]. Авторы обнаружили, что пятикратное внесение ОСВ приводит к переходу микробного сообщества в новое стабильное состояние. Ограничением в дозе вносимого ОСВ служит количество азота, которое может потребляться выращиваемыми растениями.

Заключение о благотворном влиянии на почвенные микробные сообщества различных органических удобрений (анаэробно сброженного ОСВ, компоста из ТБО, остатка после получения биогаза из твердых бытовых отходов, навоза) сделали шведские исследователи [59]. Авторы отмечают, что, несмотря на различия в качестве органических удобрений, ответная реакция микробных сообществ, которая оценивалась по респираторной активности, метаболическому коэффициенту активных и покоящихся микроорганизмов, активности минерализации азота, аммоний окисляющей активности, достоверно не различалась.

В последнее время для характеристики влияния почвенных мелиоранов авторы все чаще оценивают либо структуру микробных сообществ, либо одновременно биологическую активность почв и структуру микробных сообществ. Для итогового заключения чаще всего привлекают методы многопараметрового анализа. В работе Флайшбах с соавторами показано, что с изменением структуры сообщества может быть связано изменение биологической активности почвы [54]. Так, при увеличении содержания металлов в почве существенно изменяется соотношение респираторной активности бактерий и грибов в сторону последних. По мнению авторов, результатом длительного воздействия металлов может стать формирование более толерантного в отношении металлов сообщества, в состав которого входят в основном грибы. Аналогичная закономерность была установлена при сравнении содержания эргостерола в почвах, содержащих различные количества металлов [13]. Показано, что в почвах, загрязненных металлами, содержание эргостерола, индикатора грибной биомассы, существенно выше по сравнению с его содержанием в незагрязненной почве. Снижение биоразнообразия в микробном сообществе, выражаемое в уменьшении количества таксономических единиц, устанавливаемых методом амплификации рибосомальной ДНК, выявлено при длительной обработке почв осадками с повышенным содержанием Zn [60]. Изменение структуры микробного сообщества в почвах Ли Валлей и Лудингтона показано в работе Баас с соавторами [21]. В качестве оценочных авторы использовали три показателя: анализ жирных кислот фосфолипидов, тест «Biolog» для определения пептидных карт метаболических различий микробного сообщества и изменение толерантности микробного сообщества. Продемонстрировано, что толерантность

микробных сообществ обеих загрязненных почв была достоверно выше по сравнению толерантностью сообществ незагрязненных почв, причем эффект носил дозозависимый характер. Наиболее сильно увеличивалась специфическая толерантность сообществ, то есть толерантность по отношению к основному загрязняющему металлу. Фосфолипидный профиль образцов почв, обработанных всеми видами осадков, также отличался от образцов незагрязненных почв, однако интерпретация результатов была затруднена из-за достоверного влияния такого параметра, как влажность почвы. Не обнаружено различий в метаболической активности сообществ, оцениваемых с помощью теста BIOLOG.

Интересны результаты, полученные в полевом восьмилетнем эксперименте, когда в почву под пастбищем вносили ОСВ, искусственно загрязненный цинком [29]. При параллельном исследовании биологической активности и структуры микробных сообществ не было обнаружено какого-либо изменения респираторной, фосфатазной и сульфатазной активностей и биомассы микроорганизмов. В то же время с применением метода T-RFLP авторы выявили существенное воздействие ОСВ, загрязненных высокой дозой цинка (400 мг/кг), на все исследованные группы микроорганизмов. Наибольшее изменение было выявлено при анализе разнообразия микромицетов. Так, обнаружено достоверное увеличение относительного содержания некоторых фрагментов ДНК, соответствующих определенным видам, тогда как некоторые виды были элиминированы из состава сообщества. Бактерии оказались наиболее устойчивыми к долговременному воздействию цинка.

Несколько иные результаты были получены при исследовании активности и состава бактериального сообщества почв, обрабатываемых с 1956 года ОСВ и другими органическими и минеральными удобрениями [30]. Внесение ОСВ каждые два года в дозе 8 т/га (по органическому веществу) приводило к изменению соотношения базального и субстрат-индуцированного дыхания почвенных микроорганизмов и снижению активности аммоний окисляющих бактерий. Авторы установили, что важным фактором, влияющим на изменение активности и состава сообщества, является кислотность почв. Так, почвы, обрабатываемые ОСВ, имели рН 4.6 и характеризовались увеличенным значением метаболического коэффициента, что свидетельствует о снижении способности микроорганизмов конвертировать органическое вещество в микробную биомассу. Анализ 16S рРНК генов методами T-RFLP и DGGE показал, что изменение рН приводит и к снижению количества видов в составе микробных сообществ в отношении как эубактерий в целом, так и аммоний-окисляющих бактерий. Изменения в последней группе бактерий при внесении ОСВ были наиболее выражены. Авторы считают, что состав аммоний-окисляющих бактерий более тесно связан с активностью сообщества, чем состав эубактерий в целом.

Биологическая активность и характеристика микробных сообществ почв, загрязненных металлами, служили индикаторами при оценке разных способов их ремедиации [14]. В качестве мелиорантов авторы использовали компосты из ОСВ, ТБО, леонардит, перегнившую смесь соломы и навоза. Ремедиация также включала засев почвы растениями (*Agrostis stolonifera* L.). Влияние ремедиации оценивали на основании изменения микробной биомассы, почвенных ферментов (дегидрогеназы, арилсульфатазы, β -гликозидазы, фосфатазы) и структуры

микробного сообщества, которую анализировали методом ARDRA. Последующий кластерный анализ результатов позволил разделить анализируемые образцы на несколько групп. Формирование наиболее крупных кластеров, разделивших образцы, на которые высевали или не высевали растения, позволило авторам утверждать, что наибольшее влияние на различия в структуре сообществ оказывают коревые экссудаты. Действительно, в ризосферу поступают значительные количества органических веществ, которые могут быть использованы как источник энергии. Вторым фактором, приводящим к изменению структуры микробных сообществ, являются различия в сложности и качестве органического вещества в составе почвенных мелиорантов. Формирование различных кластеров, включающих образцы с одним типом обработки, по мнению авторов, поддерживает теорию о вкладе качества субстрата в сдвиг в структуре сообществ или, другими словами, теорию о том, что вклад вносят почвенные условия, складывающиеся под влиянием ремедиационных мероприятий. Третьим фактором являются различия в химических свойствах среды обитания, например, рН. При пониженных значениях рН повышается растворимость металлов, что способствует селекции более устойчивых к их действию микроорганизмов. В целом же авторы отмечают, что, несмотря на то, что внесенные мелиоранты существенно изменяют почвенные свойства, в составе сообществ присутствует большое количество микроорганизмов исходной почвы.

Совокупность аналогичных почвенных характеристик изучалась для выявления эффектов, проявляемых различными типами компостов [15]. Авторы выявили, что внесение четырех типов компостов (из ТБО, зеленых отходов, навоза и ОСВ) в течение 12 лет приводило к увеличению биологической активности почв. Внесение компостов изменяло и состав микробных сообществ, который оценивали по биоразнообразию нитрификаторов и бактерий в целом, разделяя фрагменты ДНК методом DGGE. В целом в почвах, обработанных компостами, было обнаружено большее разнообразие обеих групп микроорганизмов, однако, на структуру сообщества тип компоста влияния не оказывал.

Не обнаружили различий в структуре микробных сообществ, оцениваемой по изменению количества видов различных групп (бактерий, архей, актиномицетов и нитрификаторов) и итальянские авторы [16]. Для того чтобы исключить ложные результаты, авторы использовали набор праймеров для ПЦР, обеспечивающих целевую амплификацию различных участков 16S рДНК, и различные техники получения генетических отпечатков (DGGE, ARDRA, RISA). При внесении компоста из ТБО в дозах 12 и 24 т/га авторы обнаружили некоторое увеличение активности ферментов дегидрогеназы, уреазы, фосфатазы и β -гликозидазы, протеазы, нитрат-редуктазы, однако это увеличение не было достоверным.

Анализ представленной литературы свидетельствует о широком спектре ответных реакций микробных сообществ на внесение нетрадиционных мелиорантов и трудностях, а порой невозможностях сравнения полученных результатов, что может быть обусловлено огромным числом факторов. Обработка почв органическими отходами, как загрязненными, так и незагрязненными металлами чаще всего приводит к изменению микробных сообществ и, как следствие, их метаболической активности. Такое изменение может быть вызвано одно-

временно действием токсичных веществ и внесенным органическим веществом. При этом степень изменения зависит как от концентрации и свойств металлов, так и от характеристики самой почвы. По мнению большинства авторов, какая-либо мелиорация почв может считаться полезной, если она существенно не воздействует на биологические компоненты почв. Вопрос заключается в том, как быстро сообщество может вернуться к устойчивому состоянию. В любом случае, как отмечает Одум [61], стресс, обнаруживаемый на уровне экосистемы, должен быть причиной для беспокойства, так как может служить сигналом нарушения гомеостаза.

Summary

S.Yu. Selivanovskaya. Activity and Structure of Microbial Communities of Soils Treated with Unconventional Amendments.

This review contains information about modern methods of assessment of soil microbial community status, use of organic waste as soil amendments, influence of waste compounds on biochemical activity and structure of soil microbial communities.

Key words: activity, structure of microbial communities, sewage sludge, municipal solid wastes.

Литература

1. *Ананьева Н.Д., Благодатская Е.В., Демкина Т.С.* Оценка устойчивости почвенных микробных комплексов к природным и антропогенным воздействиям // Почвоведение. – 2002. – № 5. – С. 580–587.
2. *Полянская Л.М., Лукин С.М., Звягинцев Д.Г.* Изменение состава микробной биомассы в почве при окультуривании // Почвоведение. – 1997. – № 2. – С. 206–212.
3. *Anderson T.H., Domsch K.H.* The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils // Soil. Biol. Biochem. – 1993. – V. 25. – P. 393–395.
4. *Хазиев Ф.Х., Гулько А.Е.* Ферментативная активность почв агроценозов и перспективы ее изучения // Почвоведение. – 1991. – № 8. – С. 88–103.
5. *Brookes P.C.* The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals // Biol. Fertil. Soils. – 1995. – V. 19. – P. 269–279.
6. *McGrath S.P.* Effects of heavy metals from sewage sludge on soil microbes in agricultural ecosystems // Toxic Metals in Soil-Plant Systems. – N. Y.: John Wiley & Sons Ltd, 1994. – P. 247–274.
7. *McGrath S.P., Chaudri A.M., Giller K.E.* Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants // J. Industr. Microb. – 1995. – V. 14. – P. 94–104.
8. *Hill G.T., Mitkowski N.A., Aldrich-Wolfe L., Emele L.R., Jurkonie D.D.* Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities // Appl. Soil Biol. – 2000. – V. 15. – P. 25–36.
9. *Peres-Piqueres A., Ede-Hermann V., Alabouvette C.* Response of soil microbial communities to compost amendments // Soil Biol. Biochem. – 2006. – V. 38. – P. 460–470.
10. *Sanchez-Monedero M.A., Mondini C., Noili M., Leita L.* Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter // Waste Manag. – 2004. – V. 24. – P. 325–332.

11. *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. – V. 30. – P. 65–77.
12. *Schlöter M., Dilly O., Munch J.C.* Indicators for evaluation soil quality // *Agricult. Ecosyst. Environ.* – 2003. – V. 98. – P. 255–262.
13. *Chander K., Dyckmans J., Joergensen R., Meyer B., Raubach M.* Different sources of heavy metals and their long-term effects on microbial properties // *Biol. Fertil. Soils.* – 2001. – V. 34. – P. 241–247.
14. *Perez-de Mora A., Burgos P., Madejon E., Cabrera F., Schlöter M.* Microbial community structure and function in soil contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendments // *Soil Biol. Biochem.* – 2006. – V. 38. – P. 3427–3441.
15. *Ros M., Pascual J.A., Garcia C., Hernandez M.T., Insam H.* Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts // *Soil Biol. Biochem.* – 2006. – V. 38. – P. 3443–3452.
16. *Crecchio C., Curci M., Pizzigallo M.D.R.* Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity // *Soil Biol. Biochem.* – 2004. – V. 36. – P. 1595–1605.
17. *Torsvik V., Golsoyr J., Daae F.* High diversity in DNA of soil bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1990. – V. 5. – P. 782–787.
18. *Konopka A., Oliver L., Turco J.R.F.* The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology // *Microb. Ecol.* – 1998. – V. 35. – P. 103–115.
19. *Viti C., Giovannetti L.* Characterization of cultivable bacterial communities in Cr-polluted and unpolluted soils using Biolog and ARDRA approaches // *Appl. Soil Ecol.* – 2005. – V. 28. – P. 101–112.
20. *Baath E., Diaz-Ravina M., Frostegard A., Campbell C.D.* Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial communities // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1998. – V. 64, No 1. – P. 238–245.
21. *Baath E., Frostegard A., Diaz-Ravina M., Tunlid A.* Microbial community-based measurements to estimate heavy metal effects in soil: the use of phospholipid fatty acid patterns and bacterial community tolerance // *Royal Swed. Acad. Sci., Ambio.* – 1998. – V. 27, No 1. – P. 58–61.
22. *Bending G.D., Turner M.K., Rayans F., Marx M.C., Wood M.* Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes // *Soil Biol. Biochem.* – 2004. – V. 36. – P. 1785–1792.
23. *Frostegard A., Tunlid A., Baath E.* Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communities from two soils types experimentally exposed to different heavy metals // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1993. – V. 59. – P. 3605–3617.
24. *Felske A., Akkermans A.D.L.* Partial homogeneity of abundant bacterial 16S rRNA molecules in grassland soils // *Microb. Ecol.* – 1998. – V. 36. – P. 31–36.
25. *Felske A., Engelen B., Nubel U.* Direct ribosome isolation from soil to extract bacterial rRNA for community analysis // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1996. – V. 62. – P. 4162–4167.
26. *Muyzer G., Dewaal E.C.* Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1993. – V. 9. – P. 695–700.
27. *Muyzer G., Smalla K.* Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology // *Antonie van Leeuwenhoek.* – 1998. – V. 73. – P. 127–141.
28. *Chu H., Lin X., Fujii T., Morimoto S.* Soil microbial biomass, dehydrogenase activity, bacterial community structure in response to long-term fertilizer management // *Soil Biol. Biochem.* – 2007. – V. 39. – P. 2971–2976.

29. *Macdonald C.A., Singh B.K., Peck J., Schaik A.P., Speir T.W.* Long-term exposure to Zn-spiked sewage sludge alters soil community structure // *Soil Biol. Biochem.* – 2007. – V. 39. – P. 2576–2586.
30. *Enwall K., Nyberg K., Bertilsson S., Cederlund K.* Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil // *Soil Biol. Biochem.* – 2007. – V. 39. – P. 106–115.
31. *Schwieger F., Tebbe C.C.* A new approach to utilize PCR-Single-Strand-Conformation Polymorphism for 16S rRNA gene-based microbial community analysis // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1998. – V. 64. – P. 4870–4876.
32. *Peters S., Koschinsky S., Schwieger F., Tebbe C.C.* Succession of microbial communities during hot composting as detected by CR-Single-Strand-Conformation Polymorphism-Based genetic profiles of small subunit rRNA genes // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2000. – V. 66. – P. 930–936.
33. *Amann R., Ludwig W., Schleifer K.H.* Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation // *Microbiol. Rev.* – 1995. – V. 59. – P. 143–169.
34. *Assmus B., Hutzler P., Kirchhof G.* In situ localization of *Azospirillum brasilense* in the rhizosphere of wheat with fluorescently labeled, rRNA-targeted oligonucleotide probes and scanning confocal laser microscopy // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1995. – V. 61. – P. 1013–1019.
35. *Ludwig W., Bauer S.H., Bauer M., Held I., Kirchhof G., Schuze R., Huber I.* Detection and in situ identification of representatives of a widely distributed bacterial phylum // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1997. – V. 153. – P. 181–190.
36. *Dar G.H.* Impact of lead and sewage sludge on soil microbial biomass and carbon and nitrogen mineralization // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* – 1997. – V. 58. – P. 234–240.
37. *Dar G.H., Mishra M.M.* Influence of the cadmium on carbon and nitrogen mineralization in sewage sludge amended soils // *Environ. Pollut.* – 1994. – V. 84. – P. 285–290.
38. *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. – V. 28. – P. 230–237.
39. *Rost U., Joergensen R.G., Chander K.* Effects of Zn enriched sewage sludge on microbial activities and biomass in soil // *Soil Biol. Biochem.* – 2001. – V. 33. – P. 633–638.
40. *Khan M., Scullion J.* Effect of soil on microbial responses to metal contamination // *Environ. Pollut.* – 2000. – V. 110. – P. 115–125.
41. *Moreno J.L., Garcia C., Landi L., Falchini L., Nannipieri P.* The ecological dose value (ED₅₀) for assessing Cd toxicity on ATP content and dehydrogenase and urease activities of soil // *Soil Biol. Biochem.* – 2001. – V. 33. – P. 483–489.
42. *Garcia C., Hernandez T.* Effect of bromacil and sewage sludge addition on soil enzymatic activity // *Soil Sci. Plant Nutr.* – 1996. – V. 42, No 1. – P. 191–195.
43. *Pascual J.A., Garcia C., Hernandez T., Ayuso M.* Changes in the microbial activity of the arid soil amended with urban organic wastes // *Biol. Fertil. Soils.* – 1997. – V. 24. – P. 429–434.
44. *Madejon E., Burgos P., Lopez R., Cabrera F.* Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues // *Biol. Fertil. Soils.* – 2001. – V. 34. – P. 144–150.
45. *Perez-de Mora A., Ortega-Calvo J.J., Cabrera F., Madejon E.* Changes in enzyme activities and microbial biomass after “in situ” remediation of heavy metal-contaminated soil // *Appl. Soil Ecol.* – 2005. – V. 28. – P. 25–137.
46. *Munn K.J., Evans J., Chalk P.M.* Mineralization of soil and legume nitrogen in soil treated with contaminated sewage sludge // *Soil Biol. Biochem.* – 2000. – V. 32. – P. 2031–2043.

47. Селивановская С.Ю., Латыпова В.З., Киямова С.Н., Алимova Ф.К. Микробная биомасса и биологическая активность серых лесных почв при внесении осадков городских сточных вод // Почвоведение. – 2001. – № 2. – С. 227–233.
48. Селивановская С.Ю., Киямова С.Н., Латыпова В.З., Алимova Ф.К. Влияние осадков сточных вод, содержащих металлы, на микробные сообщества серой лесной почвы // Почвоведение. – 2002. – № 5. – С. 588–594.
49. Jakimova M.V., Selivanovskaya S.Yu., Hung Y-T., Latypova V.Z. Composting of municipal solid waste // OCEESA J. – 2000. – V. 17. – P. 52–56.
50. Selivanovskaya S.Yu., Latypova V.Z. Effects of composted sewage sludge on microbial biomass, activity and pine seedlings in nursery forest // Waste Manag. – 2006. – V. 26. – P. 1253–1258.
51. Селивановская С.Ю., Киямова С.Н., Латыпова В.З. Выбор критериев для экспериментального определения нагрузки многокомпонентных органических отходов на микробные сообщества почвы // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2005. – Т. 147, кн. 1. – С. 5–13.
52. Селивановская С.Ю., Латыпова В.З., Губаева Л.А. Микробиологические процессы в серой лесной почве, обработанной компостом из осадка сточных вод // Почвоведение. – 2006. – № 4. – С. 495–501.
53. Giller K.E., Witter E., McGrath S.P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review // Soil Biol. Biochem. – 1998. – V. 10–11. – P. 1389–1414.
54. Fliessbach A., Martens R., Reber H.H. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge // Soil Biol. Biochem. – 1994. – V. 26. – P. 1201–1205.
55. Hani H., Siegenthaler A., Candinas T. Soil effect due to sewage sludge application in agriculture // Rodriguez-Barrueco C. (ed.). Fertilizer and Environment. – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996. – P. 267–274.
56. Kelly J.J., Hagglom M., Robert L.T.I. Effects of the land application of sewage sludge on soil heavy metal concentrations and soil microbial communities // Soil Biol. & Biochem. – 1999. – V. 31. – P. 1467–1470.
57. Brendecke J.W., Alexson R.D., Pepper I.L. Soil microbial activity as an indicator of soil fertility: long-term effects of municipal sewage sludge on an arid soil // Soil Biol. Biochem. – 1993. – V. 25. – P. 751–758.
58. Johansson M., Stenberg B., Torstensson L. Microbial and chemical changes in two arable soils after long-term sludge amendments // Biol. Fertil. Soils. – 1999. – V. 30. – P. 160–167.
59. Odlare M., Pell M., Svensson K. Changes in soil chemical and microbiological properties during 4 years of application of various organic residues // Waste Manag. – 2007. – V. 27. – P. 111–119.
60. Moffett B.F., Nicholson F.A., Uwakwe N.C., Chambers B.J., Hill T.C.J. Zinc contamination decreases the bacterial diversity of agricultural soils // FEMS Microbiol. Ecol. – 2003. – V. 43. – P. 13–19.
61. Odum E.P. Trends expressed in stressed ecosystems // BioSci. – 1985. – V. 35. – P. 419–422.

Поступила в редакцию
26.05.08

Селивановская Светлана Юрьевна – доктор биологических наук, профессор кафедры прикладной экологии Казанского государственного университета.

E-mail: Svetlana.Selivanovskaya@ksu.ru