Глава 3
БИОТА В ПОЧВЕННОЙ СРЕДЕ

Чем занимаются почвенные биологи

Совокупность живых организмов на нашей планете образует биосферу[1]. Часть биосферы, населенная живыми существами, для которых почва - естественная среда обитания, находится в сфере интересов почвенных биологов. В почвенной биосфере мы встречаемся с высшими растениями и животными, с микроорганизмами, разнообразие видов которых на любом уровне, от микроскопического до глобального, не перестает поражать воображение. В любом масштабе сообщество живых организмов и среда обитания, с которой оно взаимодействует, образуют *экосистему.* Экосистеме приданы условные границы, необходимые для упрощения исследований биологических явлений. Все, что находится внутри границ экосистемы, может быть изучено с позиций состава присутствующих видов, их жизненных циклов, влияния видов на окружающую среду и влияния среды на них. Все, что находится вне границ экосистемы, может рассматриваться как источники потоков вещества и энергии, входящих в экосистему и одновременно как реципиенты потоков вещества и энергии, выходящих из экосистемы (см. подробнее гл. 5).

Размер и масштаб почвенной экосистемы в значительной степени определяются исследовательскими интересами почвенного биолога. Мы можем провести границы экосистемы вокруг одного почвенного горизонта или почвенного профиля, где может изучаться поступление и вынос вещества и энергии только внутри горизонта или профиля. Для рассмотрения микробиологических процессов такой подход весьма полезен, поскольку биологическая среда даже в своем очень малом объеме исключительно разнообразна. Например, количество бактерий в Юг плодородной почвы равно численности человеческого населения планеты, а 1 кг почвы содержит 500 миллиардов бактерий, 10 миллиардов актиномицетов и почти миллиард грибов. Даже число особей микрофауны в одном килограмме почвы может приблизиться к 500 миллионам. К этой микробной массе добавляется масса корней, общая длина которых у одного растения может превысить 600 км в верхнем метровом слое почвы.

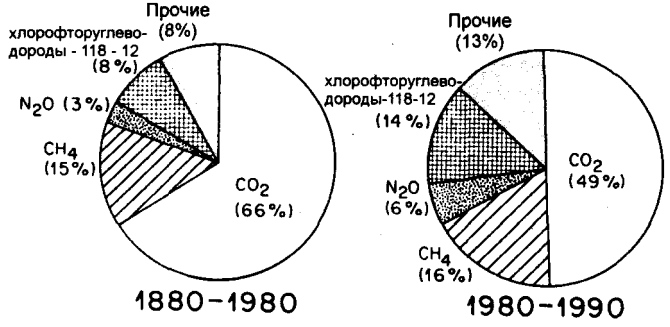
Мы можем провести границы экосистемы вокруг блока "растительное сообщество - пахотная почва", и в таком случае мы будем успешно изучать циклы элементов питания растений и влияние на них разных систем землепользования. Можно мыслить еще шире и провести грани-

[1] Это - узкое понимание биосферы. По В.И. Вернадскому, биосфера - биота и окружающая среда. *(Прим. Ред.).*

ЭМИССИЯ РЕДКИХ ГАЗОВ И ГЛОБАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ

Сельское хозяйство и климат всегда были неразрывно связаны друг с другом. Возможное глобальное повышение температуры в будущем столетии и последующие изменения в распределении осадков неизбежно скажутся на сельскохозяйственном производстве и демографической ситуации. Грядущие климатические изменения могут быть вызваны ростом концентраций некоторых газов в нашей атмосфере, таких как двуокись углерода (CO_2), метан (CH_4) и закись азота N_2O.

Мы уже знаем, что сельское хозяйство и связанные с н им виды деятельности, например, сведение леса частично способствуют поступлению в атмосферу «парниковых» газов.



Уменьшение доли CO_2 в составе парниковых газов

В 1880-1980 гг. основной причиной парникового эффекта был CO_2. Примерно одинаковые количество CO_2 поступали в результате превращения природных экосистем в сельскохозяйственные земли (потери углерода, накопленного в растениях и почвенном гумусе) и сжигания ископаемого топлива. В 1980-х эмиссия парниковых газов усилилась, а доля CO_2 в ней уменьшилась. Сильно сократился вклад обезлесивания (до 20-60% антропогенного CO_2), более существенным стало участие других газов в создание парникового эффекта: хлорофторуглеводородов (CFC), метана, закиси азота.

Сельское хозяйство само по себе и увеличение площадей сельскохозяйственных земель, особенно во влажных тропиках, были главными источниками парниковых газов в 1980-х. На основании ряда компьютерных моделей разработаны прогнозы увели-

чения роли эмиссии N_20 и CH_4 в будущих глобальных изменениях. Около 70% CH_4 и 90% N_2O поступают в атмосферу из почв. Почвы, вместе с тем, могут быть и хранилищем этих газов, поэтому соотношение между обеими функциями почвы (эмиссия и связывание газов) подлежит исследованию. Так, недавно было обнаружено заметное сокращение потребления CH_4 на фоне азотных удобрений. Оно имеет место даже при поступлении N с кислотными дождями в леса Северо-Востока США. Чистая величина выделения CH_4 и N_2O как естественными так и культурными экосистемами, равно как и соотношения микробиологических превращений обоих газов в глобальном масштабе точно не известны. Данные о главных процессах в круговоротах С и N могут быть весьма полезны для определения стратегии улучшения использования земель, при котором одновременно стимулируется как продукция газов, так и их поглощение почвой.

Имеются ли какие-нибудь возможности возврата части углерода, потерянного при вовлечении территорий в сельскохозяйственный оборот? Безусловно, имеются. Таковы: минимальная вспашка, способствующая увеличению содержания гумуса и применяемая в большинстве развитых стран; рекультивация и облесение деградированных земель, обеспечивающие накопление С в почве и надземной фитомассе; земледелие под пологом леса в развивающихся странах, которое может значительно увеличить запасы С. Поэтому особенно велика роль почвенных биологов с их фундаментальными исследованиями, направленными на разработку способов рационального использования земель и эффективного земледелия.

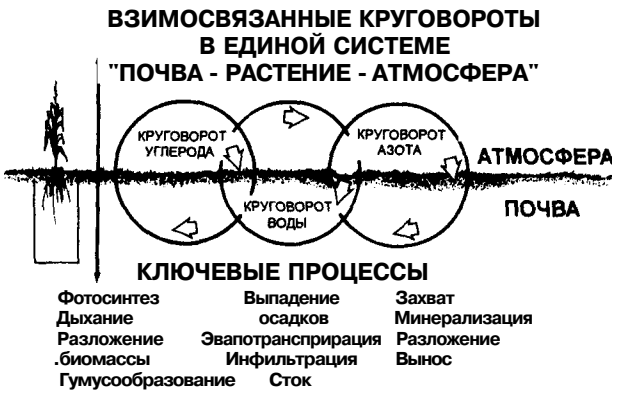
цу экосистемы по границе страны или целого континента, даже всей биосферы. Биосферный уровень стал в последние годы объектом внимания широкой общественности в связи с явлениями парникового эффекта и его влияния на глобальные климатические изменения, а также глобальной ролью экосистем, гасящей или, напротив, усиливающей негативные эффекты.

На любом уровне почвенно-биологических исследований, будь то уровень микроскопический, локальный, региональный, глобальный, следует стремиться найти такие способы функционирования наземных экосистем, чтобы они были рациональны биологически, не опасны для окружающей среды, приемлемы социально и политически, сохраняли бы природные ресурсы. Для решения столь грандиозной задачи необходимы фундаментальные исследования в области почвенной биологии, которые должны создать научную базу для разумного компромисса между стремлением общества к максимальной экономической выгоде и

необходимостью полного сохранения окружающей среды. В прошлом наши знания об окружающей среде не были так жестко ориентированы на столь широкие проблемы; отчасти из-за того, что исследованиями решались частные, утилитарные вопросы, отчасти оттого, что сами ученые - почвенные биологи, еще не представляли себе огромных масштабов проблемы, как это стало очевидным сейчас. Фундаментальная биология почв будет продолжать свои исследования для удовлетворения собственного любопытства, она будет непрерывно уточнять полученные данные, уже выстроенные в монументальную пирамиду знания, и продолжать добывать информацию для решения прикладных задач. Проблемы фундаментальной биологии далеко не всегда будут совпадать с проблемами, волнующими общество, но будущие поколения будут благодарны биологам XX века за фундаментальность их исследований.

Циклы элементов питания

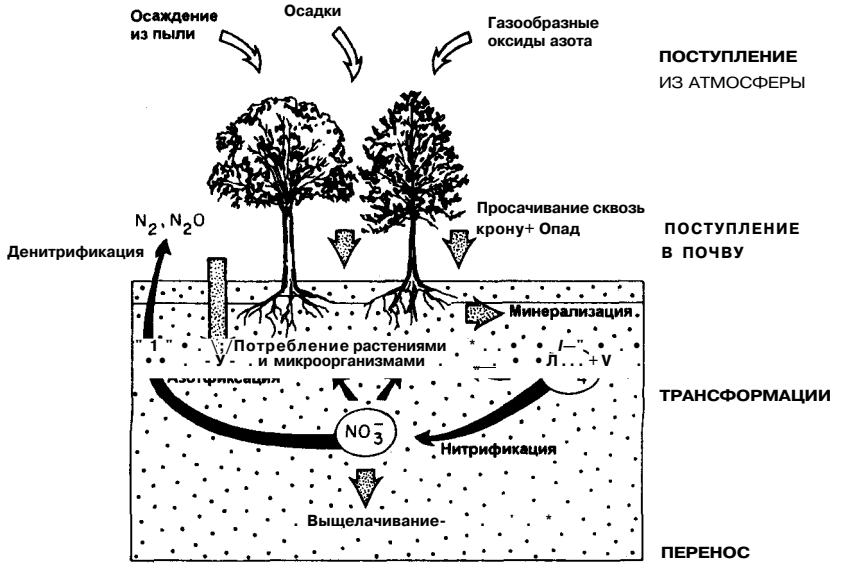
Элементы питания постоянно потребляются растениями и возвращаются ими в почву. Цикл химического элемента обычно включает поглощение элемента из почвы, возврат в нее со смертью организма и микробным разложением его остатков (в течение этого времени возможны несколько микробных циклов), переход элемента в доступное для нового поглощения состояние. Однако это не значит, что циклы всегда замкнуты и эффективны. Существуют долговременные тренды обеднения или обогащения многих экосистем тем или иным элементом питания и, вместе с тем, существуют *черные дыры* (например, глубоководные впадины), откуда элементы питания могут быть извлечены только в геологическом масштабе времени. Тем не менее, циклы элементов питания абсолютно необходимы для поддержания жизни на Земле.



Циклы (круговороты) таких элементов, как углерод (С) и азот (N) в почве тесно связаны с круговоротом воды *(гидрологическими* циклами). Вода - самое распространенное на Земле химическое соединение, абсолютно необходимое для любых проявлений жизни. Она существует в трех различных физических состояниях, называемых *фазами:* твердой, жидкой и газообразной (см. подробнее в гл. 5). Вода относится к возобновляемому ресурсу, несмотря на то, что она потребляется сельским хозяйством и промышленностью в огромных количествах. Тепло, необходимое для таяния или испарения, оказывает влияние на глобальные климатические изменения. Для циклов элементов питания вода выступает в первую очередь как способ перемещения вещества, или переносчик - так, без просачивания воды через почвенный профиль не имело бы смысла говорить о выносе нитратов. Количество воды и ее доступность растениям определяют характер многих физических, химических и биологических процессов в системе "почва-растение-атмосфера". И, наоборот, жизненные циклы корней растений определяют создание *макропор,* обеспечивающих просачивание воды (см. подробнее в гл. 5). Понимание уникальности воды как единственного растворителя и переносчика элементов питания в сельскохозяйственных и природных экосистемах определяет необходимость дополнительных фундаментальных исследований. Особенно важно, чтобы изучение циклов элементов питания сопровождалось гидрологическими исследованиями, ориентированными на поиск новых возможностей использования земель в целях повышения их продуктивности.

Круговорот азота в наземных экосистемах

Лесные экосистемы. Уникальность азота среди других элементов питания заключается в том, что источником его является атмосфера, а его преобразования и перенос в экосистемах обусловлены почти исключительно круговоротом воды и биотическими процессами. Азот может поступать в лесные экосистемы в различных формах: с жидкими осадками (выпадениями) в формах аммония (NH_{4+}), нитратов (NO_3) и азота органических соединений (связанных с углеродом); поступление "сухих" аэрозолей, содержащих перечисленные соединения и пары азотной (HNO_3) кислоты; сорбированного аммиака (NH_3) и газообразных оксидов азота (NO_X), биологическая фиксация газообразного азота (N2). Поступление азота в экосистему из атмосферы начинается с его контакта с древесным ярусом, где он может потребляться как непосредственно деревьями, так и населяющими их живыми организмами. Азот, не использованный древесным ярусом, поступает в растворах на поверхность почвы *(стволовой сток),* где в борьбу за него вступают растения, микроорганизмы-деструкторы или *нитрификаторы* (превращающие NH_{4+} в NOз-). Конкуренция за азот между этими группами биоты определяет



КРУГОВОРОТ АЗОТА В ЛЕСНОМ ЦЕНОЗЕ

интенсивность роста растений и степень сохранения азота в лесной экосистеме. В отличие от многих других элементов питания, представленных большими запасами неорганических форм - стабилизаторов и постоянного источника доступных для растений соединений, азот редко накапливается в виде неорганических соединений в почвах. (Ощутимое накопление NH_4^+ может иметь место в переувлажненных почвах с торфом и специфическими глинистыми минералами; однако NH_4^+ может изредка встретиться в аэробных {окислительных} обстановках, поскольку избыток NH_4- обычно превращается нитрификаторами в NO_3-).

Нитрификация (образование NO_3- микроорганизмами) и вынос нитратов становятся заметными только после того, как потребность в азоте растений и микробов-деструкторов окажутся в основном удовлетворенными, т.е. в экосистеме будет иметь место состояние так называемого N-*насыщения.* Дополнительное поступление азота в N-насыщенную экосистему приводит к образованию больших количеств NO_3-, независимо от химических форм привнесенного азота, при единственном условии, что эти формы биологически доступны. Нитраты почти не связываются в почвенной толще, и нитрификация превышающая потребность микроорганизмов и растений в азотном питании, приводит лишь к выносу NO_3- в растворе. Повышенные концентрации NO_3- представляют определенную экологическую угрозу поскольку повышают потенциал следующих неблагоприятных процессов: а) подкисление почв и вод;

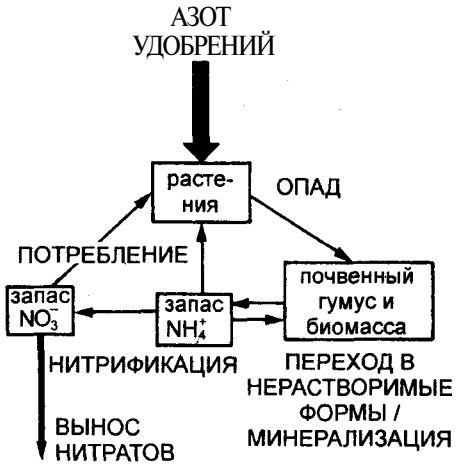
б) эвтрофикация водоемов; в) образование NOx газов, уменьшающих количество озона; г) загрязнение нитратами питьевой воды.

Азот является главным лимитирующим фактором развития лесных экосистем в северном полушарии, и именно поэтому можно считать, что он активно удерживается в лесных круговоротах. Однако оценки ежегодного накопления азота показали, что в большей части лесных экосистем он накапливается весьма активно, так что его запасы должны были бы быть на 1-2 порядка выше, чем реально определимые запасы. Создается впечатление, что могло бы иметь место устойчивое состояние азотного баланса, при котором поступление было бы равно выносу, однако такое бывает редко. Новые данные по лесным экосистемам с высоким уровнем азотного питания показали неполную корректность популярных представлений об эффективности круговорота азота в лесах. Выяснилось, что потери азота путем выноса NO_{3-} весьма значительны на разных объектах исследования: в Адирондакских лесах шт. Нью-Йорк, Онтарио в Канаде, в южных Аппалачах штатов Теннесси и Северная Каролина, на побережье в Орегоне. Почему это случается? Лабораторные исследования показали, что при низких значениях pH происходит падение нитрификационной активности. Почвы перечисленных районов отличаются очень низкими значениями pH, иногда <4. Высокая скорость нитрификации в этих очень кислых почвах может быть результатом *гетеротрофной нитрификации* (превращения органических форм азота в NO_{3-}), но эту гипотезу не мешало бы еще проверить.

Азот играет также заметную роль в экологических сукцессиях. Растения-азотфиксаторы "прокладывают путь" своим последователям улучшая азотный баланс почв; последователи же вытесняют предшественников в конкурентной борьбе за свет и влагу при условии благоприятного азотного режима. Стало также ясно, что азотфиксаторы создают относительно благоприятный режим питания для своих последователей, не только улучшая азотный режим, но и вызывая *деградацию* почвенного фосфора (P) и калия (K), уменьшение содержания кальция (Ca), и магния (Mg), в результате чего их последователи, более активные в отношении обеспечения себя элементами питания, получают определенное преимущество в конкурентных отношениях. В связи с этим возникает ряд интересных экологических вопросов. Например, не создает ли красная ольха, как активный азотфиксатор, неблагоприятные условия для себя самой путем активизации выноса избыточного NOJ, тем самым снижая собственную устойчивость и "прокладывая путь" последующим видам, лучше приспособленным к высокой кислотности, меньшей доступности P, и использующим накопленный ольхой азот? Может ли сукцессия "красная ольха —> хвойные породы" на Тихоокеанском Северо-Западе быть результатом изменений в элементах питания, вызванных существованием самой ольхи? Эти и другие общие экологические проблемы представляют сейчас большой интерес для биологов.

Азот и сельское хозяйство: главные темы исследований. Почвенные биологи и их коллеги в смежных дисциплинах собрали огромное количество информации о круговороте азота, и она была успешно использована в прикладных целях - для увеличения производства пищи, кормов, горючего и волокна. Для удовлетворения мировых потребностей в этих продуктах в пахотные почвы за последние 40 лет было внесено огромное количество азота, что, безусловно, вызвало увеличение содержания N в почвах, водах, пожнивных остатках, промышленных и бытовых стоках. Особую заботу общественности вызывает накопление NO'_3 в поверхностных и грунтовых водах с такими нежелательными последствиями, как эвтрофикация и токсические эффекты. В США пахотные угодья получают на 40% больше N (из всех источников), чем его отчуждается с урожаем, и каждый год происходит перераспределение азотных соединений как внутри пахотных экосистем, так и вне их. Не возникает особых сомнений в том, что количество вносимого в почву азота превышает потребности сельскохозяйственных культур, в почве накапливается NO'_3, который в дальнейшем выносится в воды и поступает в атмосферу. Объектом прикладных исследований является поиск максимального эффекта от внесения азотных удобрений, при минимальном накоплении подвижных форм N в почве.

Результаты прикладных исследований могут быть интересны и биологам, разрабатывающим теоретические проблемы: какова судьба внесенного с удобрениями N в биокруговороте, особенно того азота, который не отчужден с урожаем? Сколько N пожнивных остатков или микробной массы в конце концов минерализуется, окисляется, выносится из почв, или переходит в аммиачную форму после окончания вегетационного периода? В каких случаях мелиоративные меры, такие как дробное внесение азотных удобрений или искусственное ингибирование нитрификации способствуют увеличению микробиологического потребления N в весеннее время? Может ли после этого фиксированный азот подвергаться выносу осенью и зимой? Ответы на эти кардинальные вопросы настоятельно необходимы почвоведам-практикам, чтобы оценивать существующие системы земледелия и их альтернативы.



Слишком высокие дозы азотных удобрений приводят к чрезмерному выносу нитратов

Что определяет баланс N_2O/N_2?

Фундаментальные исследования передвижения газообразного N из почвы в атмосферу направлены на выяснение механизмов этих процессов. Ближайшей целью может быть управление процессами для задач земледелия, более отдаленные глобальные цели - оценка долговременного воздействия внесения азотных удобрений на экономику и окружающую среду. Проблема сокращения газообразных потерь азота при аммонификации обычно анализируется путем изучения процессов нитрификации (тем не менее, поиск приемлемого на практике ингибитора денитрификации остается актуальной задачей микробиологов). Были получены общие оценки потерь азота путем *хемоденитрификации* (немикробиологическим переходом N в газообразную форму) или побочных реакций при нитрификации. Исследования же газообразных потерь азота в аммиачной форме основывались на расчетах образования NH_3 из навоза или мочевины при их поверхностном внесении или внесении аммиачных удобрений с ирригационными водами.

Оксид азота N_2O, образующийся в ходе денитрификации, привлекает внимание широкой общественности в последнее время, как один из газов, способствующий развитию парникового эффекта, вызывающего глобальные изменения климата и нарушения в поведении озона. Фундаментальные исследования в этой области теперь направлены на выяснение относительного значения нитрификации, хемоденитрификации и микробной денитрификации как процессов, обеспечивающих поступление оксидов азота в атмосферу не только с полей, но и из других наземных экосистем, пресноводных водоемов и океанов. Анализ каждого из перечисленных процессов предполагает решение вопроса о том, зависит ли количество образующегося оксида азота от какого-то определенного источника N, и если так, то почему? Какими процессами определяется соотношение N_2O/N_2 в газообразных продуктах денитрификации? Некоторые исследователи полагают, что NH_3 поступает в значительных объемах в атмосферу из обычно не учитываемых источников азота, например, из активно растущих, а также увядающих листьев. Это предположение требует дополнительной проверки и подсчетов, поскольку суб-

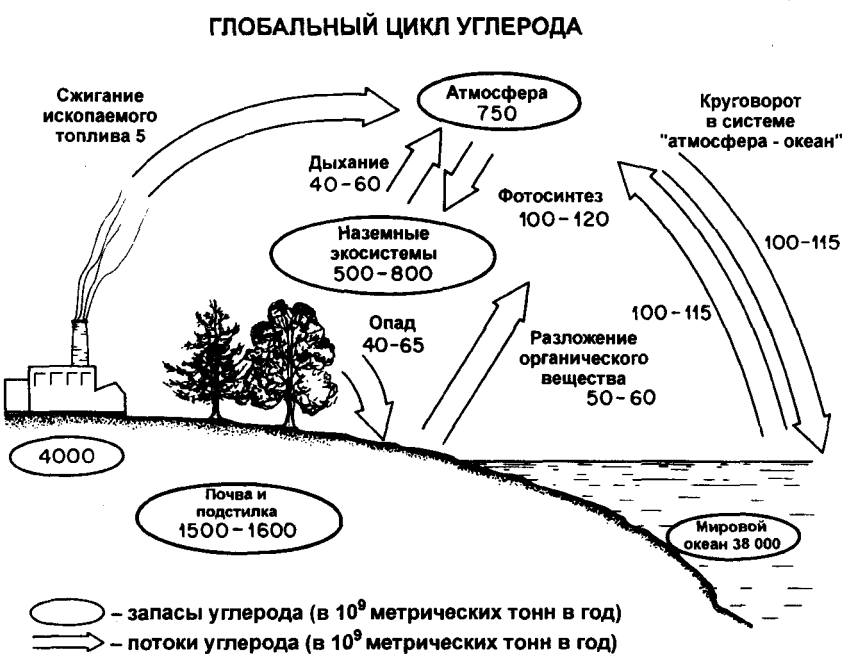
цикл NH_3 глобального N цикла не может не влиять на выпадение кислых осадков и на вынос N в его глобальном круговороте.

Глобальный круговорот углерода

Органическое вещество в почвах мира (включая гумус и живое вещество) содержат в 3 раза больше углерода чем вся наземная растительность. Почвы аридных и семиаридных районов накапливают углерод в неорганических соединениях, в первую очередь в карбонатах кальция (см. гл. 2). Эти формы углерода образуют существенную часть его глобального цикла, поскольку они находятся почти на поверхности и подвержены эрозии и переотложению. Ежегодно почвенный покров мира отдает в атмосферу около 5% почвенных запасов углерода за счет образования углекислого газа из органического вещества. Такое поступление почвенного углерода в атмосферу более чем в 10 раз превышают его поступление в результате сжигания углерода горючих ископаемых, однако почвенный резерв углерода восполняется продукцией биомассы.

Почвенное органическое вещество существует в разных формах, в том числе в виде свежих и не полностью разложившихся растительных остатков на земной поверхности (подстилки или другие виды детрита), в виде гумуса, распределенного в почвенном профиле. Значительная часть почвенного запаса углерода трансформируется в результате деятельности человека. Например, ведение сельского хозяйства в странах умеренного климата в течение полувека привело к потерям органического вещества, составляющим 20-40% от исходного содержания. Часть потерь связана с эрозией почв, однако, еще больше углерода теряется в виде эмиссии CO_2 в атмосферу, все более усиливающейся со временем. Осушение торфяников для земледелия также весьма неблагоприятно сказывается на запасах углерода. Другими словами, сельское хозяйство оказывается нарушителем природного баланса, сложившегося между поступлением фитомассы и микробных остатков и освобождением С при их разложении. По имеющимся оценкам, поступление CO_2 в атмосферу с сельскохозяйственных земель планеты составляет около 20% от поступления CO_2 при сжигании ископаемого топлива.

Растущие концентрации CO_2 в атмосфере могут привести к глобальному потеплению, которое, по-видимому, в свою очередь, способствует более активной минерализации органического вещества в тундровых и торфяных почвах, что усиливает потери CO_2 и ускоряет темпы глобальных климатических изменений. До недавнего времени тундровые и различные заболоченные почвы, а также торфяники выступали в качестве мировых хранилищ почвенного углерода; особенно после отступания последних материковых ледников. Ожидаемые потери С тундровыми и болотными экосистемами во время глобального потепления при разных вариантах климатических сценариев изучались в лабораториях на мо-



нолитах, взятых из соответствующих почв, а также путем компьютерного моделирования. Мы знаем теперь, что в результате таяния арктических льдов вследствие глобального потепления климата будут иметь место абсолютные потери С из тундровых почв, оказавшихся в более теплых и влажных условиях (чем те, в которых почвы сформировались).

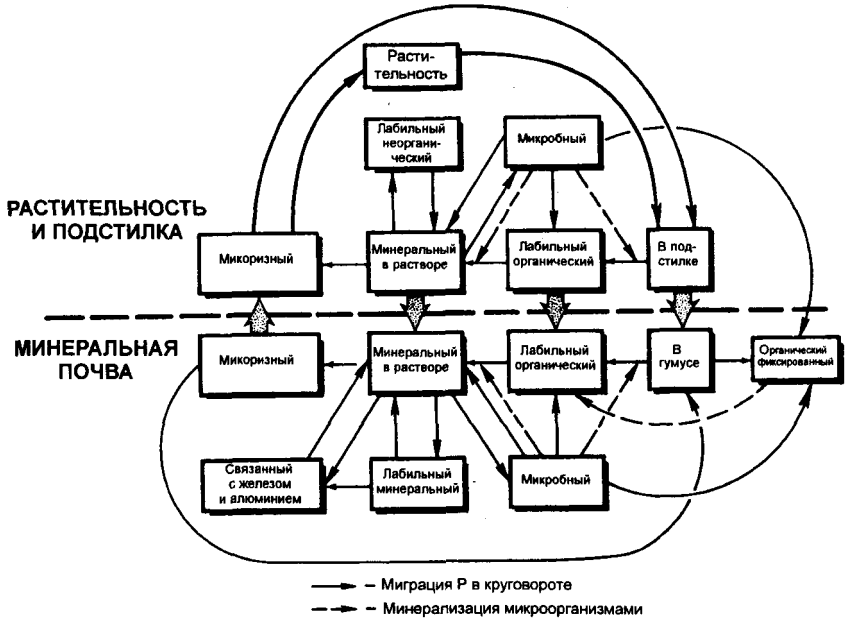
Современные исследования глобального цикла С включают по возможности более точные оценки запасов почвенного С и в частности, углерода антропогенных источников. Наиболее активное сведение лесов под сельскохозяйственные угодья в настоящее время имеет место в тропиках, так что тропические почвы, по-видимому, оказываются основным источником ежегодных поступлений С в атмосферу (до 60% от величин поступлений С за счет сжигания ископаемого топлива). Динамика и балансы почвенного органического вещества специально исследуются на ключевых участках с известными недавними изменениями видов использования Территории прямыми и косвенными методами, в том числе путем изучения изменений изотопного состава С в почвенном органическом веществе, например, при смене естественной растительности сельскохозяйственными культурами (см. гл. 2).

Круговорот фосфора в наземных экосистемах

Фосфор (P) относится к ключевым элементам в биосфере поскольку его электронные структуры обеспечивают быстрое образование и разрушение химических связей с биологическими молекулами (например, с протеинами, аденозин-трифосфатом). Такая химическая лабильность объясняет его активность как "энергетического челнока", а также его ключевое положение в знаменитой биомолекуле ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты). Большая часть фосфора поступает в наземные экосистемы из почвообразующих пород, небольшие его количества привносятся из атмосферы. Обычно фосфор не встречается в газообразной форме, его вынос путем выщелачивания ничтожен, т.к. фосфор сильно связан в минералах почв. Поэтому, потери фосфора почвами невелики по сравнению с обеднением почв другими химическими элементами, если не принимать во внимание эрозионные потери в составе почвенного мелкозема (другие главные элементы питания растений {C и N} существуют и в газообразном виде в течение какой-то части своих циклов, поэтому возможность их улетучивания существенно больше). Фосфор активно перераспределяется внутри экосистем за счет почвенных и ландшафтных процессов. Фосфор, участвующий в быстро протекающих круговоротах и имеющий высокую вероятность участия в составе живых организмов, называется *биологически активным*. Важная роль фосфора в переносе биохимической энергии и биосинтезе влияет и на поведение ряда других элементов-биогенов - C, N, S: они аккумулируются в биосфере в количествах, пропорциональных накоплению биологически активного P.

Вынос фосфора из почв незначителен и идет лишь в течение коротких промежутков времени, однако, за весь период почвообразования он достигает значительных объемов; баланс фосфора может использоваться для расчетов скорости внутрипочвенного выветривания. Старые (т.е. сильно выветрелые) почвы чаще встречаются в условиях более влажного и жаркого климата. В процессе выветривания почв фосфор переходит из форм, связанных с Ca, в железо- и алюмофосфорные соединения, при том, что значительные его количества сохраняются в органическом веществе. Максимум биологически активного фосфора приходится на средние стадии эволюции почв. Дальнейшее выветривание приводит к потерям фосфора в результате выщелачивания и эрозии. Остаточный фосфор в почвах представлен нерастворимыми формами неорганического или органического фосфора; и те и другие мало доступны растениям. Перечисленные процессы трансформации фосфора определяют его круговорот в управляемых человеком и природных экосистемах.

Внутреннее регулирование круговорота фосфора чрезвычайно существенно для функционирования экосистем, поскольку поступление



ЦИКЛ ФОСФОРА В ТРОПИЧЕСКОЙ ЭКОСИСТЕМЕ

фосфора извне далеко не обеспечивает потребностей экосистем. Они преимущественно ограничивается в мощным слоем "корни-подстилка", и поступление фосфора в нижележащие почвенные горизонты минимально. Таким образом, круговорот фосфора можно представить себе состоящим из двух почти не связанных между собой частей: круговорот в системе "растительность - корни - подстилка" и в минеральной толще почв. При нарушении человеком сложившего круговорота в системе "растительность-подстилка-корни" зрелого лесного ценоза фосфор перемещается в резерв неорганических компонентов почвенного раствора, где весьма вероятно его вхождение в состав слабо растворимых соединений Fe и Al, что снижает его потенциальную доступность растениям. Возможно, что повторные внутренние круговороты с их активным противодействием переходу Р в минеральный резерв возникли как механизм защиты от невосполнимых потерь фосфора.

Микоризный симбиоз "грибы-корни растений" является еще одним важным адаптационным механизмом, развившимся в результате низкой биодоступности фосфора. Грибной компонент симбиоза увеличивает сорбирующую поверхность, но не никак не стимулирует величины сорбции путем химических либо физических воздействий. (Есть, однако, несколько исключений из этого общего правила, когда партнер-гриб выделял органические кислоты, мобилизующие Р или проникал гифами

в скопления органического вещества). Фосфор грибных гифов обменивается на углерод, фиксированный симбиотическим растением.

Микробная биомасса выполняет функции хранителя лабильного запаса фосфора в почве, на содержание которого она способна влиять, поскольку участвует в его минерализации. Третье место по скорости круговорота после растворимого и лабильного неорганического фосфора занимает микробный фосфор.

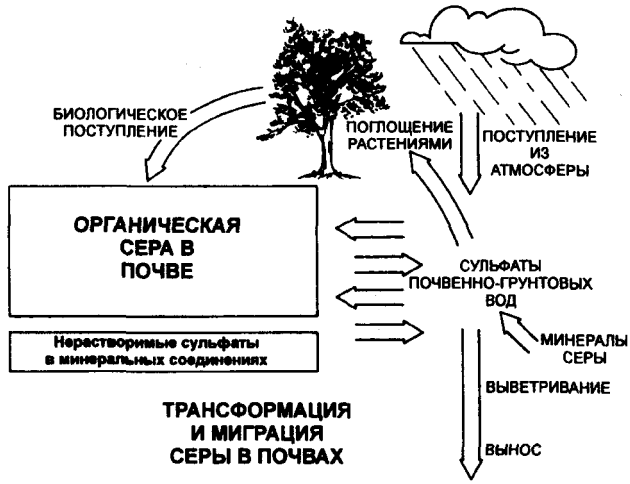
В тропических экосистемах из-за фосфора возникают конкурентные отношения между микроорганизмами в гумусовом горизонте и подстилке, что проявляется в увеличении густоты корневых систем с микоризой; по-видимому, они необходимы растениям для выживания.

В полевых опытах используют радиоактивные изотопы фосфора для выявления путей его миграции в наземных экосистемах. Безопасность экспериментов обеспечивается их небольшой продолжительностью, поскольку период полураспада составляет всего несколько месяцев. Для выяснения путей поступления Р в почвенный раствор вносят радиоактивную метку и отслеживают ее дальнейшие перемещения. Вынос Р не влияет на соотношение его радиоактивных и нерадиоактивных изотопов. Тем не менее, поступления фосфора уменьшают долю нерадиоактивного изотопа. Поступления могут осуществляться из запаса лабильного неорганического фосфора или органического (после минерализации) и из микробной массы. Соотношение органического и неорганического Р определяют путем стерилизации почвы, т.е. сохраняя единственный источник Р - минеральные соединения.

Актуальную задачу будущих исследований мы видим в получении сведений о биологически активном фосфоре в целях более эффективного использования Р удобрений в управляемых экосистемах. Прямым способом оценок биологически активного Р может быть контроль популяций микроорганизмов путем изменений условий среды их обитания. Можно попытаться выделить микроорганизмы, способные переводить Р в доступные формы, или изменить их методами инженерной биологии.

Круговорот серы в наземных экосистемах

Миграции и трансформации серы (S) имеют большое значение в биогеохимии почв. Сера выступает в качестве лимитирующего фактора во многих сельскохозяйственных и лесных экосистемах, однако почвы с дефицитом серы обычно встречаются на территориях удаленных от антропогенных источников серы. В развитых промышленных районах Северной Америки и Европы, особенно при использовании в качестве топлива сернистых углей, атмосферный привнос серы значителен за счет эмиссии диоксида SO_2. Быстрый переход его в серную кислоту (H_2SO_4) оказывается причиной кислотных выпадений. Однако повышенная кислотность атмосферных выпадений связана не только с эмиссией газообразных оксидов серы, но и с миграцией сульфатов - основной формы



серы в почвенном растворе. Они, в свою очередь, оказывают влияние на круговорот металлов - элементов питания, Ca, Mg, K, а также токсичного для растений алюминия.

Любопытной чертой круговорота серы считают ее способность переходить в неорганические соединения, особенно в тех случаях, когда она находится в избытке. Мы знаем о довольно высокой концентрации SOf в растительных тканях, нередко превышающей половину общего количества S, преимущественно в районах существенного атмосферного привноса. Мы не знаем точно, какова роль неорганической серы в питании растений, однако для нас очевидна роль SO_4^{2-} как необходимого компонента цикла серы.

Источниками поступления серы в почву являются ткани растений и животных, содержащие органические формы серы (S связанная с C и эфирные сульфаты), а также неорганические формы SO_4^{2-} из атмосферных выпадений. В большинстве почв выветривание не играет существенной роли в обогащении почвы серой, за редким исключением почв, в которых присутствуют минералы с высоким содержанием S, например, пирит (FeS_2). Преобладание источников органогенной серы может привести к дефициту S, поскольку ее доступность растениям зависит от. микробиологических процессов преобразования органических форм в неорганические. В противоположном случае - преобладании серы кислотных выпадений, ее динамика определяется соотношением факторов накопления и выноса.

Соотношение микробного поглощения и процессов минерализации в долговременном сохранении почвенной органической серы изучается почвенными биологами как важная научная проблема. Прочность удержания серы почвой имеет ряд последствий, особенно при ожидаемом

природоохранном ограничении выбросов серы промышленными предприятиями. Если сера, накопившаяся в почвах при больших ее поступлениях, освобождается при уменьшении концентраций SO_4^{2-} (что предсказано большинством моделей), то вынос SO_4^{2-} и связанных с ней катионов должен быть сильнее, чем в случае, если S находилась бы в форме органических соединений.

Микробиологические явления

Выше уже отмечалось, что в 1 кг почвы содержатся сотни миллиардов микробных клеток. Учитывая широкое распространение почв на нашей планете, можно представить себе, что эти крошечные подземные существа играют не последнюю роль в биомассе Земли. При этом каждый килограмм почвы содержит не только огромное количество микроорганизмов, но и отличается их чрезвычайным разнообразием. Среди них есть бактерии и грибы, разрушающие органическое вещество, простейшие, живущие за счет еще более мелких живых организмов и водоросли, выполняющие важные функции фотосинтеза. По существу, мир почвенных микроорганизмов содержит больше всего индивидуумов, имеет наиболее высокое биоразнообразие и биомассу по сравнению с другими средами обитания на Земле. И именно эти мельчайшие существа обеспечивают существование жизни на Земле и благосостояние людей. Они корректируют круговороты элементов питания растений, они производят и потребляют газы, влияющие на глобальные изменения климата: углекислый (CO_2), метан (CH_4), окись и закись азота (NO и N_2O), угарный газ (CO), водород (H_2). Они разлагают органические вещества - отходы жизнедеятельности человека, в том числе токсичные, они служат источником открытий новых видов живых организмов и генетическим материалом для биотехнологии. Почва содержит также патогенные для растений, животных и человека микроорганизмы. Все перечисленные причины объясняют важность почвенно-микробиологических исследований, причем не только для познания почв, но и для понимания будущего человеческого общества. Недавние открытия в сфере молекулярной биологии показали необходимость новой информации по почвенной микробиологии хотя бы потому что почва является основной областью применения полученных биотехнологических продуктов, предназначенных для практического использования (см. гл. 5). Таким образом, специалист в области фундаментальной почвенной микробиологии должен исследовать не только собственно биологию живого организма, но и контроль над нею почвенной среды. Под "собственно биологией" мы понимаем исследования организмов, особенно важных для почвы, таких как нитрификаторы, азотфиксаторы, денитрификаторы, гумусообразователи и патогенные микроорганизмы, определенные стадии развития которых протекают в почве. В комплексе с чисто био-

логическими исследованиями, почвенные микробиологи изучают экологические факторы, контролирующие популяционные процессы: конкуренцию, стратегию выживания, рассеяние, способность кооперироваться). Информация об этих факторах представляет собой сведения о почвенной микросреде и их экстраполяцию на уровень поля, ландшафта, и - в конце концов, всей планеты.

Успехи почвенной микробиологии последних двух десятилетий создали определенные представления о микробиологических процессах в почвах, но дали пока слабое понимание процессов, контролирующих распределение популяций. Теперь стало ясно, что для понимания, следовательно, возможного прогноза и управления необходимы еще фундаментальные исследования о комплексах популяций. Подобные исследования обеспечиваются как современными оптическими, химическими, математическими методами, так и методами молекулярной биологии.

Бйоразнообразие микроорганизмов: его значение в круговороте элементов питания

Под микроскопом почвенные микроорганизмы кажутся удивительно похожими друг на друга по общему виду и формам; однако, при изучении их функций, разнообразие микроорганизмов представляется бесконечным. Чем больше мы узнаем о мириадах биохимических реакций деградации и синтеза, участвующих в циклах элементов питания, тем сильнее мы поражаемся многообразию физиологических и ферментативных процессов, осуществляемых микроорганизмами. Именно это разнообразие создает условия для протекания сложнейших реакций в весьма разнообразных микролокусах и именно оно затрудняет сохранение, мониторинг и моделирование ключевых звеньев в круговороте элементов питания. Понимание этого разнообразия, другими словами, изучение основных компонентов микробиологических группировок, мы считаем абсолютно необходимым условием рассмотрения любого из круговоротов главных элементов питания.

Нитрификация. Мы уже говорили о том, что цикл азота во многом определяет качество окружающей среды и влияет на глобальные климатические изменения. Фундаментальные исследования микробиологии трансформации азота в прошлом были недостаточно широкими (и слабо финансируемыми) для разработки научных основ управления азотным режимом; сейчас в этом направлении видится известный прогресс. Ключевым моментом в понимании круговорота азота является нитрификация. До недавних пор микробные популяции, связанные с нитрификацией, рассматривались как ограниченные и содержащие всего две группы специализированных бактерий - условно называемых *хемоавтотрофными нитрификаторами*. Микробиологические исследования

Вероятно, и то и другое очень вкусно !

нитрификаторов вызывают большие затруднения, поскольку высокая специализированность – основа нитрификационного процесса, превращает изучение даже одного вида в лаборатории в долгое, трудоемкое и ненадежное занятие. Усовершенствованная методика выделения нитрификаторов дала возможность получения чистых культур участвующих в процессе нитрификации в различных локусах. Выделенные штаммы вводились кроликам для выработки ими специфических антител (протеинов в крови, снимающих токсический эффект нитрификаторов), которые анализировались методом иммунофлуоресценции. Метод позволяет увидеть и идентифицировать выделенную культуру микроорганизмов в ходе связывания ими антител, и таким образом выявляет сферу их активности в нитрификационном микролокусе. Для анализа возможных эволюционных связей между нитрифицирующими бактериями, способными трансформировать CH_4 в CO_2, но предпочитающими потреблять NH_4^+, и бактериями, трансформирующими NH_4^+ или NO_2^-, в NO_3^- при этом предпочитающими CH_4, с недавних пор применяются методы молекулярной биологии. В результате, концепция простой функционально однородной микробной популяции, склонной трансформировать NH_4^+ или NO_2, в NO_3, была расширена. Теперь известны, по меньшей мере, три класса консументов NH_4^+ в почвах, помимо классического рода *Nitrosomonas.* Они различаются обилием, скоростью роста, кинетикой реакций, чувствительностью к ингибиторам. Один из классов, род *Nitrosovibrio*, недавно был обнаружен в разрушающихся каменных памятниках в Европе. Было также установлено, что консументы NO_2^- обладают чрезвычайной метаболической гибкостью и не связаны жестко с NO_2^- как источником энергии. И уже совсем недавно был обнаружен консумент NH_4^+ окисляющий трихлорэтилен (ТХЭ), – широко распространенный опасный загрязнитель грунтовых вод. Бактерии-нитрификаторы, в поведении которых долгое время никто не сомневался, могут преподнести еще немало сюрпризов по мере того, как благодаря новым открытиям на наших глазах будет расти их биологическое разнообразие.

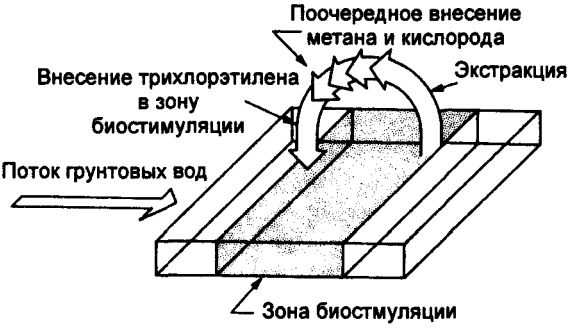
БИОВОССТАНОВЛЕНИЕ *IN SITU*

Почвенные микробиологи давно уже знали о способностях почв разлагать органические соединения. Изучение биодеградации различных пестицидов и других ксенобиотиков (чуждых биосфере веществ) проводится уже несколько десятилетий. В области прикладного "инженерного" почвоведения недавними исследованиями (например, проводимыми с целью измерения биотрансформации опасного для почв соединения - нафталена в почвенном биореакторе) установлено, что свойства почвы существенны для скоростей деградации веществ при очистке в проточных системах.

Несколько лет назад было обнаружено, что широко распространенный загрязнитель водоемов - трихлорэтилен (ТХЭ) может разлагаться аэробными микробными сообществами, выделенными из почвы и выращенными на природном газе, в составе которого преобладает метан (CH_4). В центре внимания оказались метанотрофы - группа аэробных микроорганизмов, использующих CH_4 одновременно как источник углерода и энергии. Метанотрофы изучались специально не только в связи со спецификой их среды обитания и, соответственно, их экологической ниши, но и потому что они способны участвовать в разложении некоторых ксенобиотиков. Можно предполагать, что в почвах и других пористых природных средах метанотрофы будут себя чувствовать наилучшим образом на границе между анаэробными средами (источниками метана) и аэробными (источниками кислорода для дыхания и окисления метана). Следовательно, метанотрофов можно найти в подповерхностных слоях субстрата с частым чередованием аэробных и анаэробных микросред. Натурные наблюдения подтвердили положительную роль биостимуляции естественных сообществ метанотрофов в их активности разлагать ТХЭ, который может быть частично разрушен в течение нескольких часов или дней в условиях, близких обстановкам подповерхностного слоя. Следовательно, биостимуляция может быть использована для биотрансформации галогенизированных алкенов типа ТХЭ как метод очистки грунтовых вод с подобным загрязнением.

Сейчас уже можно сконструировать биореактор in situ, включающий стимулятор роста природной популяции метанотрофных бактерий в подповерхностной зоне, куда подается вода с растворенными в ней метаном и кислородом. Активизированная популяция бактерий способна разлагать ТХЭ и связанные с ним хлорированные алкены. Несмотря на неполную достоверность пер-

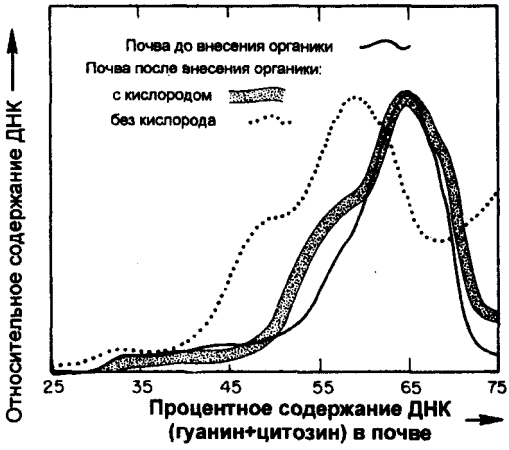
вых результатов и большую сложность их процессного объяснения, их все же следует считать разумной альтернативой системе "качай и чисти", применяемой для очистки верховодок и грунтовых вод. Эти же результаты порождают много новых заманчивых проблем, касающихся микробиологических процессов, взаимодействий с почвой и их влияния на кинетику биодеградации. Будущие эксперименты в духе этих строк, вероятно, потребуют участия комплексной команды исследователей, состоящей из почвенных микробиологов, инженеров по окружающей среде, химиков и экологов.



Биологическая очистка грунтовых вод в природе

Деградация. В фундаментальных исследованиях экологии микроорганизмов-деструкторов открываются новые перспективы в связи с изучением нуклеиновых кислот - ДНК и РНК в живых организмах. Например, ДНК, в клетке которой закодирована вся генетическая информация, можно использовать для разграничительной диагностики живых организмов. Все особенности клетки закодированы в ДНК, поэтому ДНК каждого типа организма индивидуальна, и по образцам ДНК можно надежно идентифицировать тип организма. Другим преимуществом микробиологических исследований для мониторинга, основанного на анализе ДНК, является их независимость от их генетических черт и поведения микроорганизмов в культурах. Именно по этой причине метод эффективен для сообществ с различной реакцией отдельных популяций на выращивание в культуре и, соответственно, с возможными трансформациями физиологии клеток. Следовательно, методы, предполагающие выращивание в культурах, дают несколько искаженные образы микробных ассоциаций в моменты взятия проб. Методы, основанные на выделении непосредственно из образца почвы ДНК или РНК, или обеих кислот одновременно дают как бы "моментальный снимок" микробного

Внесение органических соединений влияет на "спектр" ДНК почвенных микроорганизмов



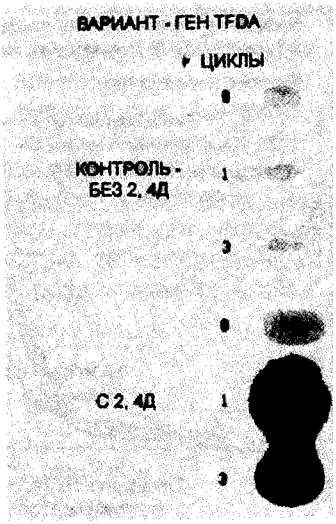
сообщества. Использование ДНК для мониторинга плотности микробной популяции дает достоверную информацию о численности микроорганизмов в образце (так как число цепочек ДНК в организме индивидуально и потому прямо пропорционально численности организмов).

Анализ отдельных ДНК в микроорганизмах различных популяций, выполняющих сходные или одни и те же биологические функции,основан на сходстве цепочек ДНК в генах одинакового происхождения. Поэтому можно диагностировать микроорганизмы, выполняющие определенные функции с помощью специального тестирования или создания определенных условий эксперимента. Например, имеется задача проследить размножение генов, вызывающих детоксикацию гербицида 2,4Д, путем взятия образца гена tfdA в процессе разложения гербицида. Внесение в почву 2,4Д вызывает резкое и немедленное увеличение количества генов tdfA. Результаты таких исследований раскрывают широкие возможности методов выделения генов для выявления индивидуальных генных структур в ДНК, выделенных в микробных сообществах.

Близкие и чуждые друг другу микроорганизмы успешно идентифицируются с помощью RFLP-анализа, основанного на том, что даже родственные организмы имеют определенные различия в цепочках ДНК, которые проявятся в момент переваривания ДНК ферментами при фрагментировании цепочек на блоки разных размеров, индивидуальных для каждого организма. Если в этот момент перевариваемая ДНК разделена на разноразмерные блоки, то их сочетания являются как бы "отпечатками пальцев" каждого организма. Сочетая этот подход со специальными анализами интересующих нас генов (например, кодирующих протеины, участвующих в фиксации азота, денитрификации, биодеградации токсичных соединений) в ДНК, выделенной из микробоценоза, мы можем получить схему функционирования микробоценоза с позиций интересующей нас микробиологической функции.

Метод цепочечных реакций полимеразы (ЦРП) также очень эффективен в диагностике микроорганизмов, особенно по сравнению с традиционными.

Использование микробиологами методов, связанных с нуклеиновыми кислотами, предоставляет колоссальные возможности изучения процессов микробиологический дегрдации и других процессов, осуществляемых микроорганизмами в почвах. Круговороты C, N и утилизация органического вещества традиционно изучались как результаты деятельности всего почвенного микробного населения, в то время как сейчас становится реальностью оценка вклада отдельных участников этих процессов. Какие именно популяции активны в данных конкретных почвенных средах? Какие виды бактерий участвуют в метаболизме отдельных соединений в почвах? Эти и другие кардинальные проблемы могут сейчас решаться новыми и оригинальными способами.



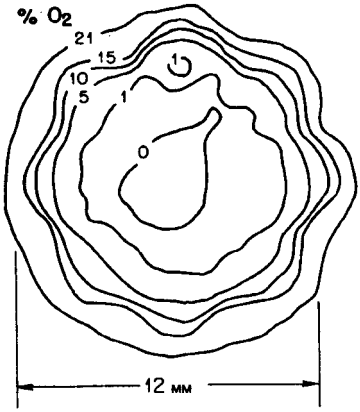
Опыт с геном tfda по биодеградации гербицида 2,4Д в почве

Среда обитания микроорганизмов: микрониши в почве

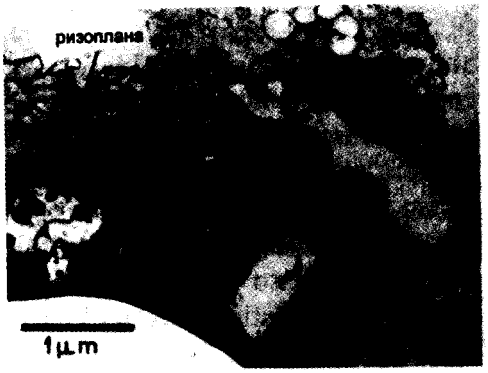
Функции микробных сообществ являются результатом взаимодействия организмов с их окружением в микролокусах. Оценки локальной среды обитания микроорганизмов на фундаментальном уровне весьма сложны из-за ее чрезвычайно малого размеры и разнообразия организмов. Физические и химические особенности этой среды определяют характер "сигналов", контролирующих гены или активность ферментов, а также отбор организмов, приспособленных к данной среде. Неожиданные явления в микробиологии почв нередко объяснялись тем, что микрониши в почвах (еще не изученные) способны провоцировать подобные явления. Если это так, хорошо было бы раскрыть тайны этих микрониш.

Сейчас появились и разрабатываются новые методы и приборы, способные приподнять покров тайны над микронишами. Таковы специальные микроэлектроды, новые приемы микроскопии и обработки анализа изображения, использование мутантов, полученных молекулярными биологами, и новые методы микрогеостатистики. Кончики микроэлектродов имеют размеры около микрона и способны фиксировать электрохимические процессы, протекающие непосредственно в микробной клетке. С помощью микроэлектродов можно, к примеру, составить "карту" распределения содержания кислорода в почвенном микроагрегате. Из рассмотрения такой карты следует, что процессы денитрификации идут не повсеместно, а концентрируются в анаэробных микро-

Изоконцентрации кислорода в почвенном агрегате, измеренные микрозлектродом



локусах. Существуют селективные микроэлектроды для pH, N_2O, NO_2^- сульфидов (S_2). Микроанализаторы, использующие волоконную оптику, позволяют количественно определять ряд соединений и наблюдать непосредственно микробные пейзажи в микролокусах. Новые лазерные конфокальный микроскопы дают возможность изучать колонии микроорганизмов внутри биопленок на корнях, в органическом веществе и на частичках почвы. С их помощью удается выявить активные клетки в колониях микроорганизмов. Эти и другие новые методы молекулярной биологии могут использоваться для изменения свойств клеток путем мутаций, вызванных направленными изменениями среды, что позволит решать вопросы освоения микролокусов в связи с теми или иными свойствами клеток. Осознание особенностей микролокусов позволит сделать следующий шаг в экстраполяции этой новой информации в бульших масштабах пространства и времени. Для расширения масштабов, или экстраполяции, полезны новейшие достижения в геостатистике, обработке данных анализа изображения (image analysis), дистанционных методах.



РИЗОСФЕРА:
бактерия (b) частицы почвы (s) слизь (m) клетка корешка (c)

Ризосфера представляет собой узкую зону почвенной массы, прилегающую к корню растения и находящуюся под влиянием самого корня и корневых выделений. Микробиологическая активность и численность микроорганизмов в ризосфере выше, чем в основной почвенной массе в результате повышенной концентрации в ней органических соединений, продуцируемых корнем. До 18% углерода, ассимилированного в ходе фотосинтеза, поступает в ризосферу (см. Гл. 4 о химизме этого процесса). Поскольку ризосфера буквально омывается корневыми выделениями, численность микробного населения может быть там в 10–100 раз выше,

чем в почве в целом. Обычная дальность прямого влияния ризосферы - 2 мм, однако, некоторые грибы могут испытывать ее воздействие, находясь в 5 мм от нее. По мере старения внешние клетки корневой оболочки саморазрушаются (генетически контролируемый признак), и фаница между поверхностью корня *(rhizoplane)* и ризосферой становится размытой. Поверхностная оболочка корня заселяется микроорганизмами, в результате чего часть корня как бы превращается в продолжение ризосферы *(endorhizosphere)*.

"Чистые" биология и химия предоставляют почвенным биологам методы исследования ризосферы. Например, методы молекулярной биологии, в сочетании с микрохимией, позволяют провести ранее невозможный детальный анализ ризосферы. Исключительный интерес представляют исследования на молекулярном уровне взаимодействия корня с *Agrobacterium tumefaciens,* весьма распространенного в ризосфере возбудителя болезни растений, называемой "корневой гнилью ран". Эта патогенная бактерия поселяется на повреждениях корня, где начинают развиваться опухоли, вызванные передачей генетической информации от бактерии к растению. В результате образуются новые низкомолекулярные соединения, названные опинами, не синтезируемые в обычных условиях в растительных тканях. Недавними исследованиями с применением микрохимических методов было обнаружено, что поврежденное растение выделяет особые "сигнальные соединения", которые, в свою очередь, передают информацию бактерии о генах, обеспечивающих изменения в клетках растения. Таким путем растение как бы контролируют бактерии. Непатогенный штамм *Agrobacterium radiobacter* также способен существовать в ризосфере и использовать опины. Он выделяет весьма специфический антибиотик агроцин, подавляющий *Agrobacterium tu-mefaciens* и позволяющий ему конкурировать с последним в поврежденном месте. Подобный бактериальный антагонизм был использован при создании препарата *A. radiobacter K84,* широко используемом в мире против корневой гнили. Можно надеяться на не менее успешные результаты при использовании микрохимических технологий (напр., высокочувствительную жидкостную хроматографию, газовую хроматофафию и масс-спектро-метрию, ядерно-магнитно-резонансную спектроскопию) для лучшего понимания взаимодействий между корнями и микроорганизмами.

Базовые исследования ризосферы помогут также найти решения проблем химического загрязнения окружающей среды. Мы все прекрасно понимаем, что обильные урожаи, собираемые американскими фермерами в течение последних 40 лет объясняются внесением больших доз синтетических пестицидов и удобрений, представляющих немалую угрозу окружающей среде и здоровью населения. Современное сельское хозяйство, безусловно, не может полностью отказаться от химизации, но оно вынуждено уменьшать свою зависимость от нее. Нередко пестициды применяются как средство защиты от вредителей и болезней кор-

ней. Альтернативой применению пестицидов может быть *биологическая защита* - использование местных или интродуцированных микроорганизмов для борьбы с насекомыми и болезнями. В этом плане ризосферу можно назвать первой линией обороны в этом сражении. Развитие фундаментальных микробиологических исследований поможет выявить способы стимулирования естественных защитных сил в самой ризосфере, а также найти новые (микро)организмы которые можно будет использовать вместо пестицидов или вместе с ними.