

УДК 631.46

**ДИНАМИКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОЧВ ЧУЙСКОЙ ДОЛИНЫ
ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ТИПА ЗЕМЛЕПОЛЬЗОВАНИЯ НА ПАСТБИЩАХ**

© 2022 г. Н.Э. Тотубаева*, К.Т. Шалпыков**

*Кыргызско-Турецкий университет «Манас»

Кыргызская Республика, 7200042, г. Бишкек, Кыргызстан, просп. Ч. Айтматова, д. 56

E-mail: nurzat.totubaeva@manas.edu.kg

**Институт химии и фитотехнологий Национальной академии наук Кыргызской Республики

Кыргызская Республика, 720000, г. Бишкек, просп. Чуй, д. 265. E-mail: alhor6464@mail.ru

Поступила в редакцию 28.06.2021. После доработки 09.01.2022. Принята к публикации 13.01.2022.

Почвенная микрофлора одной из первых чувствует на себе отрицательное воздействие и может служить биологическим индикатором изменения почвенной структуры и степени воздействия на почвенную экосистему. В 2020 г. были проведены исследования на двух участках, которые расположены в ущелье Шамшы в Чуйской области Кыргызской Республики. Один из участков был изъят из пастбищепользования на один год в 2020 г. и два года в 2019 г. по сравнению с контрольным активно используемым вариантом. Было изучено микробиологическое разнообразие общепринятыми методами микробиологии. Микромицеты исследуемых почв были представлены в доминировании устойчивых к неблагоприятным факторам среды видов *Trichoderma*, *Cladosporium* и *Alternaria*, т.е. видовое разнообразие было незначительным, с преобладанием представителей доминантных видов. Снижение антропогенной нагрузки на исследуемых участках приводит к активации микробиологических процессов и существенному увеличению микробиоразнообразия в почве, что свидетельствует об улучшении ферментативных свойств и ускорении процесса самовосстановления почвы. Также исследования показали, что почвы, находящиеся в режиме нерегулируемого перевыпаса скота, значительно подвержены высушиванию и вытаптыванию, что приводит к уменьшению микробиологического разнообразия в почвенной экосистеме и доминированию форм микроорганизмов, устойчивых к неблагоприятным факторам среды. Полученные данные позволяют предполагать, что перевыпас скота влияет на структуру почвенного микробиоценоза, заменяя ее более засухоустойчивыми видами. Таким образом, микробиологическое разнообразие почв подверженных различной степени антропогенного прессинга может служить биологическим индикатором состояния почвенной экосистемы. Помимо этого необходимо решение вопроса об урегулировании ротационного выпаса скота, что также сможет обеспечить сохранение продуктивности пастбищ и способствовать сохранению биологического разнообразия флоры и фауны пастбищ.

Ключевые слова: микробиологическое разнообразие, антропогенная нагрузка, мониторинг почв, экосистема, тип пастбищепользования, деградация пастбищ.

DOI: 10.24412/1993-3916-2022-2-78-84

Чуйская область Кыргызской Республики, согласно данным Международного фонда сельскохозяйственного развития, относится к категории уязвимых к изменениям климата регионам (рис. 1).

По данным национального плана действий по борьбе с опустыниванием в Кыргызской республике, основная проблема окружающей среды в сельскохозяйственном секторе – деградация, вызванная бесконтрольным выпасом и большим поголовьем животных. Выбивание стало причиной сильного ухудшения пастбищ, в результате чего потеряна продуктивность, имеет место сильная эрозия почв, ветровая эрозия, обезлесение, участились сели (Национальный план действий ..., 2000). Несмотря на то что на Чуйскую область приходится всего 9% пастбищ республики, их загруженность составляет более 200%, а потенциал роста поголовья скота исчерпан (Национальный статистический

комитет Кыргызской Республики, 2018). Хорошо изучены степень деградации пастбищ и их состояние, но особый интерес вызывает микробиологическое разнообразие пастбищных почв при различной степени нагруженности. Видовое разнообразие в сообществах почвенных микроорганизмов позволяет сохранять важные функции экосистемы, несмотря на изменения в сообществах, происходящих под влиянием антропогенного загрязнения (Bagyaraj, Ashwin, 2017; Mathew et al., 2012; Morgien et al., 2017). Микроорганизмы чутко реагируют на любые, даже незначительные изменения, что делает их незаменимым объектом экологического мониторинга почв. Изучение микрофлоры почвы важно и с точки зрения ее способности к самовосстановлению вследствие негативного воздействия (Bastida et al., 2017). Таким образом, состав сообщества микроорганизмов в почвах представляет собой чувствительный показатель состояния почвы по сравнению с общими её характеристиками (Blagodatskaya, Kuzyakov, 2013; Cardoso et al., 2013; Dengler et al., 2014) и позволяет оценить состояние исследуемой экосистемы, а также выявить степень антропогенной нагрузки (Leff et al., 2015).

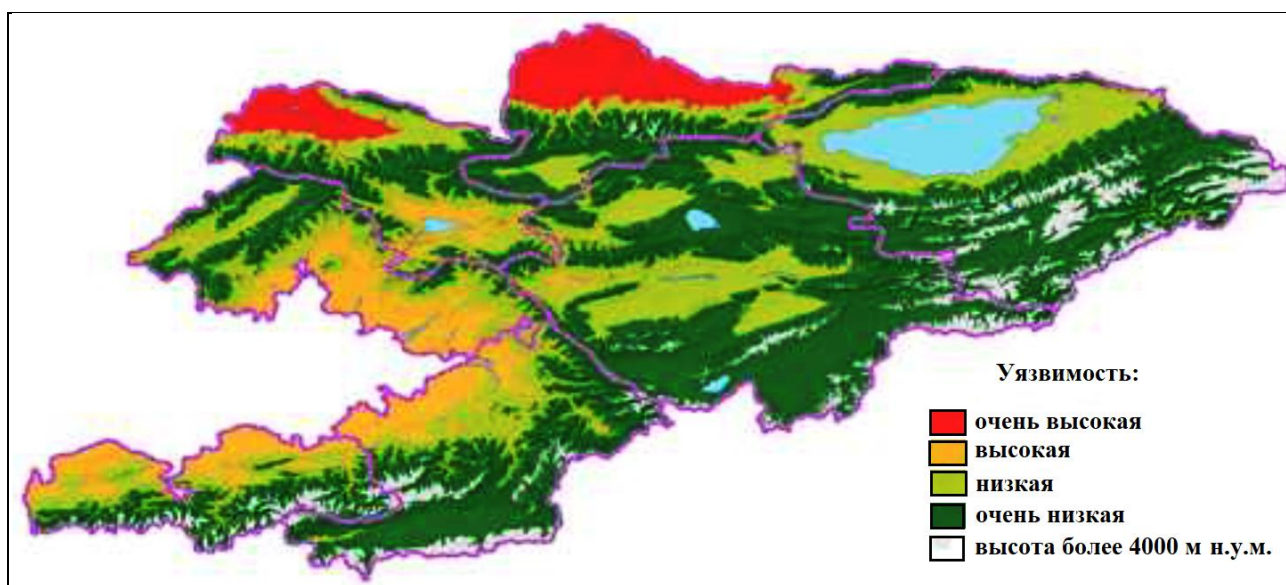


Рис. 1. Картограмма уровней уязвимости к изменению климата в Кыргызской Республике (МФСР, 2017).

Даже незначительное антропогенное загрязнение почв вызывает изменения количественных характеристик почвенной микробиоты (Кирцидели, 2019; Кутовая и др., 2018). При значительном загрязнении почв среди доминантных видов появляются такие, как *Aspergillus fumigatus* Fresen. 1863, *Humicola grisea* Traaen 1914, *Monodictys levis* (Wiltshire) S. Hughes 1958, которые не отмечаются даже с минимальной частотой встречаемости в контрольных почвах (Huhe et al., 2017; Ferris, Tuomisto, 2015). В разных типах почв присутствуют типичные группировки микроорганизмов (Lavelle et al., 2016). Особенно возросла актуальность их изучения в связи с усилением динамичности экосистем под влиянием различных экологических и антропогенных факторов (Phillips, 2017; Maron et al., 2018). Целью работы было изучение динамики микробиологического разнообразия пастбищных почв при обычной перегруженности пастбищ и при изъятии их из общего пользования на 1 и на 2 года в условиях Чуйской долины Кыргызской Республики.

Материалы и методы

Объектом наших исследований были пастбища Чуйской области Кыргызской Республики. Чуйская область расположена в северной части страны. Граничит на севере и западе с Республикой Казахстан, на юго-западе – с Таласской и Джалал-Абадской областями, на юге – с Нарынской областью, на юго-востоке – с Иссык-Кульской областью.

С целью изучения микробиологического состояния пастбищных почв нами были отобраны почвенные образцы, с опытных участков, огороженные металлической сеткой, общей площадью

1.0 га (100 x 100 м). Подробное описание опытных участкой приведены в таблице. Эти участки представляют собой пастбища с горными каштановыми почвами, с луговой растительностью.

Таблица. Хаактеристики участков отбора почвенных образцов.

Идентификатор, №	Дата отбора	Географические координаты отбора	Высота, м н.у.м.	Температура воздуха в день отбора проб, °С	Описание участка
1	13.09.2020	42° 35' 29.1" с.ш., 75° 24' 08.53" в.д.,	1654	14°С	Участок общей площадью 1.0 га, который был огорожен в 2020 г.
2	13.09.2020	42° 35' 29.1" с.ш., 75° 24' 08.53" в.д.,	1654	14°С	Участок общей площадью 0.1 га, огороженный в 2019 г.
3	13.09.2020	42° 35' 17.64" с.ш., 75° 27' 06.49" в.д.,	1948	14°С	Участок общей площадью 1.0 га, огороженный в 2020 г.
4	13.09.2020	42° 35' 17.64" с.ш., 75° 27' 06.49" в.д.,	1948	14°С	Неогороженный участок, в непосредственной близости к участку № 3

Отбор проб почвы и их подготовка для микробиологического анализа произведена согласно ГОСТ 14.4.4.02-84 (1985). Отбор проб почвы проводился методом конверта. На каждой исследуемой площадке было отобрано двадцать пять образцов. Далее образцы гомогенизировали смешиванием для получения репрезентативных образцов. Образцы почвы отбирались в стерильные пергаментные пакеты. Для взятия пробы почвы стерильным ножом (ГОСТ 23707-79, 1979) снимали верхний слой почвы (1.5-2.0 см), для удаления посторонней микрофлоры на участке. Далее лопатой отбирали 100-200 г почвы и помещали в стерильный пергаментный пакет. Разрез закладывали непосредственно перед отбором образцов. Образцы почвы для микробиологических исследований высушивали при температуре не выше 30°С. Хранение сухих образцов осуществляли в стерильных пергаментных пакетах, помещенных в полотняные мешочки. Перед сушкой образцы равномерно распределяли на листах бумаги в низких кюветах слоем 1-1.5 см, удаляли камни, стекло, крупные щепки и иные включения, крупные комки раздавливали гладкой деревянной палочкой. В период высушивания образцы несколько раз перемешивали, а также оберегали от запыления. Измельчение почвы осуществляли в фарфоровой ступке, просеивали через сито диаметром 1 мм (Зенова и др., 2001).

Подготовка почвенного образца к анализу. Подготовка почвенного образца к микробиологическому анализу заключается в удалении крупных корней, разрушении почвенных агрегатов, десорбировании микроорганизмов с поверхности почвенных частиц, дезагрегировании микроколоний микроорганизмов. Для десорбции микроорганизмов и дезагрегирования микроколоний используется обработка почвенного образца ультразвуком на установке УЗДН-1 при следующем режиме: время обработки образца 4 мин, сила тока 0.44 А, частота 15 кГц. Для учета мицелиальных организмов в почве используют растирание почвенного образца, увлажненного до пастообразного состояния в течение 3-5 мин в фарфоровой ступке резиновым пестиком или пальцем в резиновом напальчнике.

Изоляция микроорганизмов в лаборатории. Для выделения из почвы бактерий используют мясопептонный агар (мясной бульон – 1 л, агар – 20 г), среду Чапека для бактерий (г/л): KCl – 0.5, MgSO₄ x 7H₂O – 0.5, K₂HPO₄ – 1, FeSO₄ x 7H₂O – 0.01, NaNO₃ – 2.0, CaCO₃ – 3.0, сахароза – 20, агар – 20. Для выделения из почвы актиномицетов используют казеин-глицериновый агар (г/л): гидролизат

казеина с дрожжевым экстрактом – 0.3, глицерин -10 мл, KNO_3 – 2, K_2HPO_4 – 2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.05, $FeSO_4 \cdot H_2O$ – 0.01, $CaCO_3$ – 0.02, $NaCl$ – 2, агар – 20. При выявлении и учете почвенных микромицетов из почвы методом посева из разведений почвенных суспензий на плотные питательные среды наиболее часто используют подкисленные молочной кислотой (4 мл/л) сусло – агар и среду Чапека следующего состава (г/л): сахароза – 20.0, $NaNO_3$ – 2.0, KH_2PO_4 – 1.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.5, KCl – 0.5, $FeSO_4 \cdot H_2O$ – 0.01, агар – 20.0.

Приготовление почвенных суспензий. Перед посевом влажную или сухую почвы хорошо перемешивали, высыпали на часовое стекло, предварительно протертое спиртом, освобождали от посторонних включений. Использовали навеску в 1 г после соответствующей обработки почвы растиранием или другим способом переносили ее в колбу со 100 мл стерильной водопроводной воды. Готовили разведения почвенной суспензии, для чего 1 мл почвенной суспензии из колбы (разведение 1: 100) последовательно переносили в ряд пробирок с 10 мл стерильной водопроводной воды. Посев почвенной суспензии на плотные среды проводили из разведений 1:10, 1:100, 1:1000 и т.д. в зависимости от таксономической принадлежности учитываемых микроорганизмов, типа почвы, ее влажности и других факторов. Из каждого образца почв брали не менее 3-5 повторных навесок и каждую навеску высевали на 3-5 чашек с каждой средами.

Подсчет количества колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов в 1 г почвы. Подсчет количества колоний на чашке проводят со дна чашки в проходящем свете, с использованием счетчика колоний. Подсчитав количество колоний на всех параллельных чашках, вычисляют среднее их число на чашке, затем делают пересчет содержания колониеобразующих единиц в 1 г (КОЕ/г) почвы по формуле:

$$A = B \cdot V \cdot C,$$

где А – КОЕ/г почвы, В – среднее количество колоний на чашке, С – разведение почвенной суспензии, из которого произведен посев, С – количество капель в 1 мл суспензии (количество капель в пипетке на 1 мл, с помощью которой проводили посев).

Оценку видового и родового разнообразия актиномицетов осуществляли с помощью индекса разнообразия Шеннона – Н (Одум, 1975). Статистическую обработку экспериментальных данных проводили в пакете STATISTICA 5.0 для Windows.

Результаты и обсуждение

Численность актиномицетов в исследуемых почвах доминировала над другими видами бактерий и микромицетов (рис. 2). Актиномицеты являются одним из звеньев трофической цепи, выполняющими роль редуцентов. Основная роль их состоит в разложении сложных полимеров, таких как: лигнин, хитин, целлюлоза и др. По данным О.Е. Марфениной и А.Е. Ивановой (2017), увеличение численности почвенных актиномицетов происходит на поздних этапах микробной сукцессии, когда биомасса грибов начинает снижаться. Однако отмечено (Овчинникова и др., 2010; Свистова и др., 2003; Назаренко, 2013), что актиномицеты обладают более высокой устойчивостью по сравнению с другими группами почвенных микроорганизмов к антропогенному воздействию и доминируют в почвах технозема, что может свидетельствовать о нарушении почвенной микробной системы в целом (Соловьева, 2014). Также это может свидетельствовать об усилении аридизации почвенной системы (Дорохова и др., 2014; Курапова и др., 2012), возможно, из-за перевыпаса скота, приводящей к деградации пастбищ, что довольно тревожно в свете вышеуказанных проблем возможной аридизации страны.

Численность актиномицетов во всех исследуемых участках высока, а микромицетов минимальна (рис. 2). При этом актиномицеты преобладали на не огороженном участке, т.е. на территории с максимальной нагруженностью (№ 4), а на участках №№ 3, 2 и 1 КОЕ актиномицетов не были столь высокими. Таким образом, наши исследования также подтверждают, что актиномицеты являются устойчивыми видами в условиях повышенной нагрузки на пастбища и могут служить индикаторами состояния последних.

Однако при этом анализ таксономического состава и частоты встречаемости видов показал, что на участке № 2 видовое разнообразие почвенных стрептомицетов было выше и представлено представителями 4-х секций, что свидетельствует о снижении антропогенного воздействия, а на участке № 4 доминировали представители секции *Ginereus* и *Albus*, которые являются более

устойчивыми к антропогенному воздействию, что также свидетельствует о повышенном антропогенном воздействии на изучаемые объекты и о необходимости использования ротационного выпаса скота на пастбищах (рис. 3).

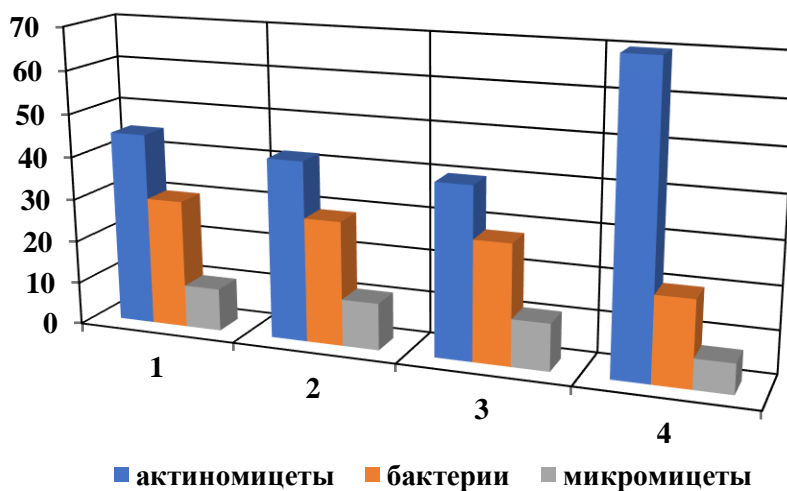


Рис. 2. Численность почвенной микробиоты в вариантах опыта, тыс. КОЕ/г воздушно-сухой почвы.

Бактериальное разнообразие почвенных образцов является еще одним фактором, свидетельствующим о засухливости изучаемых почв (МФСР, 2017).

Так, в них преобладали бактерии актиномицетной линии, которым характерно образование каротиноидных и меланоидных пигментов. Преобладание в пустынных почвах бактерий актиномицетной линии, большинство которых обладает гидролитической активностью, коррелирует с быстрыми темпами деструкции растительного опада в пустынных экосистемах (Курапова и др., 2012). Полученные данные позволяют предполагать, что возможно перевыпас скота влияет на структуру почвенного микробиоценоза, заменяя ее более засухоустойчивыми видами.

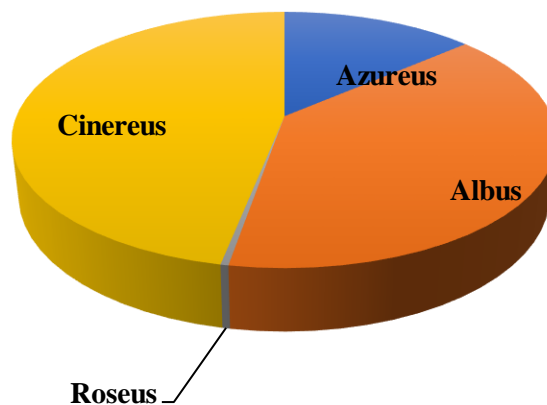


Рис. 3. Таксономический состав и частота встречаемости стрептомицетов, %.

Микромицеты исследуемых почв были представлены в доминировании видов *Trichoderma*, *Cladosporium* и *Alternaria*, т.е. видовое разнообразие было незначительным и преобладали представители доминантных видов, что характеризует почвы как подвергающиеся антропогенному прессингу. Означает ли это, что изучаемые объекты, согласно теории экологических модификаций, представляющей собой “единую взаимообусловленную систему приспособлений биоценоза к изменяющимся условиям среды” (Абакумов, 1991), характеризуются как зона “антропогенного напряжения” или нет, требует дальнейшего исследования.

Выводы

Проведенные исследования показали, что снижение антропогенной нагрузки, которая была изменена в процессе нерегулируемого выпаса скота путем изымания из пользования, приводит к активации микробиологических процессов и увеличению видового разнообразия микроорганизмов в почве, что свидетельствует об ускорении процесса самовосстановления деградированных пастбищ. Почвы, находящиеся в режиме нерегулируемого перевыпаса, сильно предрасположены к уменьшению микробиологического разнообразия в почвенной экосистеме и доминированию устойчивых к неблагоприятным факторам среды форм микроорганизмов. Таким образом, динамика микробиологического разнообразия пастбищных почв, подверженных различной степени антропогенного прессинга, может служить индикатором состояния и аридизации пастбищ.

Финансирование. Все мероприятия в рамках проекта «Защита диких тюльпанов и поддержка пастбищных сообществ в горах Кыргызстана» были выполнены совместно с партнерскими организациями: ФК «Фауна энд Флора Интернэшнл» в Кыргызской Республике, ОФ «Биоресурс» и «Ассоциация лесопользователей и землепользователей Кыргызстана», при финансовой поддержке программы Darwin Initiative Правительства Великобритании.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Абакумов В.А.* 1991. Экологические модификации и развитие биоценозов // Труды Международного симпозиума СССР «Экологические модификации и критерии экологического нормирования», 1-12 июня 1990 г., Нальчик. Л.: Гидрометеиздат. С. 19.
- ГОСТ 14.4.4.02-84. 1985. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического и гельминтологического анализа. М.: Издательство стандартов. 8 с.
- ГОСТ 23707-79. 1979. Инструмент мелкий для обработки почвы. Технические условия. Минск: Межгосударственный Совет по стандартизации, метеорологии и сертификации. 13 с.
- Дорохова М.Ф., Кошелева Н.Е., Терская Е.В.* 2014. Микробиота как интегральный показатель состояния почв города Москвы // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем. Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Кн. 1. Киров: Веси. С. 323-325.
- Зенова Г.М., Степанов А.А., Лихачева А.А.* 2001. Практикум по биологии почв. М.: Изд-во Московского университета. 132 с.
- МФСР. 2017. Программа развития животноводства и рынка II (LMDP II). Отчет о завершении разработки проекта. РГ 6. Влияние изменения климата на пастбища и системы животноводства – сводный отчет. 155 с.
- Национальный статистический комитет Кыргызской Республики. 2018 [Электронный ресурс <http://www.stat.kg/ru/> (дата обращения 07.04.2021)].
- Овчинникова Т.А., Прохорова Н.В., Панкратов Т.А.* 2010. Некоторые микробиологические особенности почвенного покрова города Новокуйбышевска в осенний период // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. Т. 19. № 2. С. 83-91.
- Одум Ю.* 1975. Экология. М.: Мир. 741 с.
- Кирцидели И.Ю.* 2019. Почвообитающие микроскопические грибы в экосистемах Арктики и Антарктики. С-Пб. 459 с.
- Кутовая О.В., Гребенников А.М., Тхакахова А.К., Исаев В.А., Гармашов В.М., Беспалов В.А., Чевердин Ю.И., Белобров В.П.* 2018. Изменение почвенно-биологических процессов и структуры микробного сообщества агрочерноземов при Разных способах обработки почвы // Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева. № 92. С. 35-61.
- Курапова А.И., Зенова Г.М., Судницин И.И., Кизилова А.К., Манучарова Н.А., Норовсүрэн Ж., Звягинцев Д.Г.* 2012. Термотолерантные и термофильные актиномицеты почв зоны пустынных степей Монголии // Микробиология. Т. 81. № 1. С. 105-116.
- Марфенина О.Е., Иванова А.Е.* 2017. Микологические показатели здоровья внешней городской среды // Человек и природа. Методические рекомендации по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве от 5 августа 1982 г. № 2609-82. С. 48-49.
- Назаренко Н.Н.* 2013. Оценка структуры комплекса актиномицетов в техногенно нарушенных почвах урбоэкосистемы // Труды II международной научно-практической конференции молодых ученых «Индикация состояния окружающей среды: теория, практика, образование», 25-28 апреля 2013 г. М.: Буки Веди. 480 с.
- Национальный план действий по борьбе с опустыниванием в Кыргызской Республике. 2000. 43 с. [Электронный ресурс <https://knowledge.unccd.int/sites/default/files/naps/kyrgyzstan-rus2000.pdf> (дата

обращения 07.04.2021)].

- Свистова И.Д., Талалайко Н.Н., Щербаков А.П.* 2003. Микробиологическая индикация урбаноземов города Воронежа // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. № 2. С. 175-180.
- Соловьева Е.С.* 2014. Экологические особенности актиномицетных комплексов городских почв. Дис. ... канд. биол. наук. Киров. 146 с.
- Bagyaraj D.J., Ashwin R.* 2017. Soil biodiversity: role in sustainable horticulture // *Biodiversity in Horticultural Crops*. Vol. 5. P. 1-18.
- Bastida F., Torres I. F., Hernandez T., García C.* 2017. The impacts of organic amendments: do they confer stability against drought on the soil microbial community? // *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 113. P. 173-183.
- Blagodatskaya E., Kuzyakov Y.* 2013. Active microorganisms in soil: critical review of estimation criteria and approaches // *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 67. P. 192-211.
- Cardoso E.J.B.N., Vasconcellos R.L.F., Bini D., Miyauchi M.Y.H., dos Santos C.A., Alves P.R.L.* 2013. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? // *The Journal of Agricultural Science*. Vol. 70. P. 274-289.
- Dengler J., Janisová M., Török P., Wellstein C.* 2014. Biodiversity of Palaearctic grasslands: a synthesis // *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Vol. 182. P. 1-14.
- Lavelle P., Spain A., Blouin M., Brown G., Decaëns T., Grimaldi M., Jiménez J.J., McKey D., Mathieu J., Velasquez E., Zangerlé A.* 2016. Ecosystem Engineers in a Self-organized Soil // *Soil Science*. Vol. 181. Is. 3/4. P. 91-109.
- Leff J.W., Jones S.E., Prober S.M., Barberán A., Borer E.T., Fire J.L.* 2015. Consistent responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe // *PNAS*. Vol. 112. P. 10967-10972.
- Huhe Y.C., Chen X., Hou F., Wu Y., Cheng Y.* 2017. Bacterial and fungal community structures in loess plateau grasslands with different grazing intensities // *Frontiers in Microbiology*. Vol. 8. P. 606.
- Ferris H., Tuomisto H.* 2015. Unearthing the role of biological diversity in soil health // *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 85. P. 101-109.
- Mathew R.P., Feng Y., Githinji L., Ankumah R., Balkcom K.S.* 2012. Impact of No-Tillage and Conventional Tillage Systems on Soil Microbial Communities // *Applied and Environmental Soil Science*. 10 p.
- Maron P.A., Sarr A., Kaisermann A., Lévêque J., Mathieu O., Guigue J., Ranjard L.* 2018. High microbial diversity promotes soil ecosystem functioning // *Applied and Environmental Microbiology*. No. 84 (9). P. e02738-17.
- Morrien E., Hannula S.E., Snoek L.B., Helmsing N.R., Zweers H., de Hollander M.* 2017. Soil networks become more connected and take up more carbon as nature restoration progresses // *Nature Communications*. Vol. 8. P. 14349.
- Phillips J.D.* 2017. Soil Complexity and Pedogenesis // *Soil Science*. Vol. 182. Is. 4. P. 117-127.