

ДЕГРАДАЦИЯ, ВОССТАНОВЛЕНИЕ И ОХРАНА ПОЧВ

УДК 631.4:577.4:502.7

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ АГРОДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ РАЗНОЙ ГУМУСИРОВАННОСТИ ПРИ ВНЕСЕНИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И УГЛЕРОДСОДЕРЖАЩИХ ПРЕПАРАТОВ

© 2021 г. В. А. Терехова^{a, b, *}, Е. В. Прудникова^a, С. А. Кулачкова^a, М. В. Горленко^a,
П. В. Учанов^b, С. В. Сушко^{c, d}, Н. Д. Ананьева^c

^aМГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119992 Россия

^bИнститут проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ленинский пр., 33, Москва, 119071 Россия

^cИнститут физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН,
ул. Институтская, 2, Пушкино, Московская обл., 142290 Россия

^dАгрофизический научно-исследовательский институт, Гражданский просп., 14, Санкт-Петербург, 195220 Россия

*e-mail: vterekhova@gmail.com

Поступила в редакцию 18.06.2020 г.

После доработки 10.07.2020 г.

Принята к публикации 26.07.2020 г.

В условиях модельного вегетационного эксперимента (30 суток) изучен отклик микробного сообщества: углерод микробной биомассы ($C_{\text{мик}}$), базальное дыхание (БД), функциональное разнообразие (ФР), агродерново-подзолистой почвы (Albic Glossic Retisols (Loamic, Agric Cutanic, Ochric)) двух участков (Чашниково, Московская область) с разным содержанием органического углерода ($C_{\text{орг}}$ 3.86 и 1.30%) на загрязнение тяжелыми металлами (ТМ: Cu 660, Zn 1100, Pb 650 мг/кг) и обогащение углеродсодержащими препаратами (биоуголь, 5%; лигногумат, 0.25%). $C_{\text{мик}}$ определяли методом субстрат-индуцированного дыхания, ФР – мультисубстратным тестированием (47 субстратов). Внесение ТМ снижало $C_{\text{мик}}$ в среднем на 49–57%, БД – 23–52% и ФР – 45%, однако микробный метаболический коэффициент ($q\text{CO}_2 = \text{БД}/C_{\text{мик}}$) повышало в среднем на 9–46%. Наибольшие изменения отмечены на бедной $C_{\text{орг}}$ (1.30%) почве. Углеродсодержащие препараты показали низкую эффективность в обеих почвах с ТМ и не способствовали изменению $C_{\text{мик}}$, БД и $q\text{CO}_2$, хотя увеличивали ФР. Сделано заключение об индикаторной значимости изученных микробиологических показателей для оптимизации оценки качества почв, среди которых к наиболее чувствительным отнесены функциональное разнообразие и микробная биомасса $C_{\text{мик}}$, к менее чувствительным – БД и $q\text{CO}_2$.

Ключевые слова: биоиндикация, оценка качества почв, органический углерод, микробное дыхание, микробная биомасса, функциональное разнообразие микроорганизмов, химическое загрязнение, лигногумат, биочар

DOI: 10.31857/S0032180X21030151

ВВЕДЕНИЕ

Для эффективной системы оценки качества почвы важен набор чувствительных показателей, отражающих ее способность оптимально функционировать [23] и выполнять экосистемные сервисы, направленные на поддержание циклов питательных элементов, деградацию поллютантов и регулирование климата [46]. Микроорганизмы почв обеспечивают разложение органического вещества и высвобождение минеральных элементов питания, способствуя разнообразию и продуктивности растений [50], что позволяет использовать их в качестве индикаторов состояния почвенных

ценозов. Так, микробная биомасса почвы и ее дыхательная активность могут в определенной степени служить показателями ее изменения при разных воздействиях [2, 44], а значит – характеризовать ее “здоровье” [23]. Эти показатели включены в программы экологического мониторинга почв и наземных экосистем ряда европейских стран [30, 33]. Перспективным подходом к оценке качества почв представляется анализ их микробных сообществ по спектру потребления органических субстратов, называемый “метаболическим профилированием”. В мировой практике этот анализ осуществляют на основе системы “BIOLOG” [27]. В России подобная технология

реализуется с помощью метода мультисубстратного тестирования (МСТ), получившего название “Эко-Лог” [6].

Оценка качества почв агроэкосистем является предметом большого количества исследований [9, 23], которые основаны на широком спектре индикаторных показателей [23, 49]. Одним из таких регулярно оцениваемых показателей является содержание тяжелых металлов (ТМ) в почве [4, 5]. Показано, что поступление ТМ в почвы агроценозов происходит в результате применения минеральных [38] и органических [29, 55] удобрений, орошения [32, 39] и разных почвоулучшителей [8, 11], что, в свою очередь, может приводить к их накоплению в сельскохозяйственной продукции [31].

В почвах агро- и урбоэкосистем содержание ТМ, в частности свинца (Pb), цинка (Zn) и меди (Cu), подлежит обязательному контролю в нашей стране и за рубежом [3, 23]. Следует отметить, что Pb и Zn относят к I классу опасности (высокоопасные), Cu – ко II (умеренно опасные) (ГОСТ 17.4.1.0283). Одним из способов уменьшения их содержания в почвах является применение углеродсодержащих материалов – биоуглей [28] и гуминовых препаратов [43].

Биоуголь (биочар, от англ. biochar) – продукт пиролиза различных материалов, в том числе растительных, отходов и осадков сточных вод, содержащий большую долю углерода (70–80%) и обладающий высокой сорбционной емкостью. Такие свойства древесного биоугля позволяют активно связывать различные поллютанты в объектах окружающей среды и сохранять влагу в почве [25]. Биоуголь хорошо изучен и с позиций депонирования углерода, восстановления обедненных гумусом почв, а также при нефтяном и других видах загрязнений [19, 22, 35, 40]. Показано также, что внесение биоугля в почву приводит к существенному уменьшению содержания обменных форм ТМ [42]. Наибольший эффект от внесения биоугля отмечали на бедных гумусом и кислых почвах [45]. В зерне риса, выращенном на слабокислой глинистой почве с внесением биоугля, выявили уменьшение содержания Cd и Pb [21]. Следует отметить, что адсорбционная способность биоугля в почве зависит от источника его получения (сырья) и вида ТМ. Показано, что мульчирование почвы биоуглем увеличивало подвижность As и Cu, но значимо снижало подвижность Cd и Zn [18].

Для улучшения почв агроэкосистем широко применяют и продукты так называемой “зеленой химии”, среди которых наиболее распространены гуминовые препараты, производимые из углей, торфов, сапропелей и органических отходов [43]. Биологическая активность гуминовых препаратов в значительной степени зависит от природы исход-

ного сырья [52]. Эффективным гуминовым препаратом считают лигногумат (производят из лигносульфоната – отхода деревоперерабатывающей промышленности), который содержит высоко- и низкомолекулярные гуминовые соединения (70–80%), а также микроэлементы.

Имеются сведения и о положительном ремедиационном эффекте после совместного внесения в загрязненные почвы биоугля и гуминовых препаратов [15, 56]. Показано, что подвижность катионов Zn, Cd и Pb в аллювиальных почвах после внесения смеси лигногумата и биоугля уменьшалась значительно по сравнению с их внесением по отдельности [15].

Изучено изменение показателей функционирования микробных сообществ агродерново-подзолистых почв разной степени гумусированности под влиянием загрязнения ТМ и обработки углеродсодержащими препаратами (биоуголь, лигногумат) в условиях модельного вегетационного эксперимента для оценки их биоиндикационной значимости и в целях обеспечения продуктивности растений. Задача эксперимента заключалась в анализе откликов микробных сообществ на основе их функциональных и структурных показателей (микробной биомассы, базального дыхания, метаболического коэффициента и функционального разнообразия) для оценки нарушенности почв под влиянием загрязнения ТМ и препаратов, обеспечивающих его уменьшение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали пахотные (агро) горизонты агродерново-подзолистых почв тяжелосуглинистого гранулометрического состава (Albic Glossic Retisols (Loamic, Aric Cutanic, Ochric)) (Солнечногорский район, Московская область, территория Учебно-опытного почвенно-экологического центра МГУ имени М.В. Ломоносова “Чашниково”) двух участков, локализованных на расстоянии 1.1 км друг от друга (56°02'01.9° N/37°10'04.9° E и 56°01'41.7° N/37°11'04.3° E). Почва первого участка (1) характеризовалась высоким ($C_{\text{орг}}$ 3.86%, сильногумусированная), второго (2) – низким ($C_{\text{орг}}$ 1.30%, слабогумусированная) содержанием органического углерода. Образцы почв отбирали из верхнего (0–20 см) слоя пробных площадок (40 м²) методом “конверта” в начале мая 2019 г., усредняли смешиванием и доставляли в лабораторию (масса около 25 кг) для использования в вегетационном эксперименте (исходная влажность образца 35–40%).

В образцы почв вносили смесь водных растворов соли (10 мл/кг) меди (CuSO₄), цинка (ZnSO₄) и свинца (PbCl₂) для достижения концентрации Cu, Zn и Pb, равной 660, 1100 и 650 мг/кг почвы соот-

ветственно. Эти концентрации отвечали трем ориентировочно-допустимым концентрациям (ОДК) для каждого из этих элементов [5]. Помимо металлов в отдельные варианты опыта добавляли по отдельности и вместе углеродсодержащие препараты (биоуголь, лигногумат).

Биоуголь (продукт пиролиза древесины березы, фракции 2–8 мм, производитель ООО “Метакон”, Россия) добавляли в количестве 5% от массы почвенного образца. Биоуголь содержал С (88.2%), N, H и S (0.44, 0.82 и 0.19%, соответственно), золу (2.8%), воду (3%); pH_{CaCl_2} 8.9, отношение C/N = 21.4. Содержание катионов Cu, Zn и Pb в биоугле составляло не более 0.02% его массы. Лигногумат калия получен искусственной гумификацией лигносульфоната (производитель НПО “РЭТ”, Россия), его зольность составляла 40%, содержание С, N, H, S и K – 37.3, 0.5, 3.72, 4.84 и 9.0% соответственно; C/N = 134.7, pH_{CaCl_2} 9 (1% раствор), содержание гуминовых кислот – 58% органического вещества. Лигногумат хорошо растворим в воде, его водный раствор вносили в почву (0.25% ее массы).

Образцы почвы каждого участка были разделены на две равные части, в одну из которых вносили смесь водных растворов солей ТМ и тщательно перемешивали. Вторую часть почвы увлажняли водой (10 мл/кг), объем которой был равен таковому с солями ТМ. Влажность этих частей почвы составляла около 60% общей влагоемкости. Полученные таким образом образцы почвы оставляли на 7 сут при комнатной температуре для равномерного распределения воды и раствора солей ТМ. Затем почву 1 и 2, в которую были внесены вода или соли металлов, делили на 4 части (варианты), одна из которых служила контролем для углеродсодержащих добавок (биоуголь, лигногумат – отдельно и вместе) и ТМ. Подготовленные таким образом почвы (для каждой почвы восьми вариантов) инкубировали еще 7 сут при комнатной температуре. Затем почву каждого варианта (массой 2.5 кг) помещали в 3 вегетационных сосуда объемом 3 л (повторности). Варианты эксперимента для почв участков 1 и 2 следующие: контроль, биоуголь (Б), лигногумат (Л), биоуголь + лигногумат (БЛ), ТМ-контроль, ТМ + биоуголь (ТМБ), ТМ + лигногумат (ТМЛ), ТМ + биоуголь + лигногумат (ТМБЛ).

Для определения химических показателей почвы отбирали образцы каждого варианта, а затем сосуды с почвой засеивали семенами горчицы белой *Sinapis alba* L. (10 семян на сосуд) и помещали в открытую теплицу (среднесуточная температура воздуха 16.8°C) на 30 сут. Влажность почвы на протяжении эксперимента регистрировали взвешиванием сосудов для последующего добавления воды. По окончании инкубации рас-

тения горчицы извлекали из сосудов для определения их биомассы, а образцы почвы – для изучения микробиологических показателей.

В образцах почвы определяли содержание органического углерода ($C_{орг}$) (ISO 14235:1998); общего (CNHS анализатор Elementar EL III), аммонийного (ГОСТ 26489-85, фотометр Nach DR 2800) и нитратного (ПНД Ф 16.1.8-98, хроматограф Dionex ICS 2000) азота ($N_{общ}$, NH_4^+ , NO_3^-); подвижных соединений фосфора (P) и калия (K) (метод Кирсанова, спектрометр Agilent 5110 ICP-OES) и валовых форм Cu, Zn и Pb (ФР.1.29.2006.02149, спектрометр Agilent 5110 ICP-OES). Значение pH водной вытяжки (почва : вода = 1 : 4) определяли потенциометрическим методом (pH метр Hanna HI2211-02).

Содержание углерода микробной биомассы ($C_{мик}$) определяли методом субстрат-индуцированного дыхания (СИД), как описано в работе [1]. Метод основан на дыхательном отклике почвенных микроорганизмов на внесение в почву легкодоступного субстрата (глюкозы), который пропорционален содержанию микробной биомассы [16]. Навеску почвы (3 г) помещали в стеклянный флакон (объем 15 мл), добавляли по каплям раствор глюкозы (0.2 мл/г) для получения ее результирующей концентрации 10 мг/г, закрывали герметично и инкубировали не менее 3 ч при 22°C. Затем из воздушной фазы флакона отбирали шприцом пробу воздуха (0.5 мл) и вводили ее в газовый хроматограф “КристалЛюкс 4000М” для измерения концентрации CO_2 . Время инкубации почвы с глюкозой строго фиксировали. Скорость СИД (мкл CO_2 /(г ч)) рассчитывали с учетом концентрации CO_2 , объема газовой фазы флакона, навески почвенного образца и времени его инкубации. Содержание $C_{мик}$ (мкг С/г почвы) определяли по формуле: СИД \times 40.04 + 0.37 [16].

Базальное дыхание почвы (БД) измеряли аналогично определению СИД, только вместо раствора глюкозы в почву вносили дистиллированную воду и инкубировали 24 ч при 22°C, результат выражали в мкг С- CO_2 /(г ч).

Рассчитывали отношение БД/ $C_{мик}$, которое иллюстрирует удельное дыхание микробной биомассы (qCO_2) и характеризует экологический статус микробного сообщества почвы [2].

Растения горчицы белой извлекали с корнями из вегетационных сосудов каждого варианта эксперимента и высушивали до постоянного веса (105°C, 2 ч). Полученную таким образом сухую биомассу растений выражали в г/сосуд.

Функциональное разнообразие микробного сообщества оценивали методом МСТ (ФР.1.37.2010.08619; патент РФ № 23355432335543). Образец почвы (0.7 г) помещали в центрифуж-

Таблица 1. Исходные химические показатели агродерново-подзолистых почв разных участков (слой 0–20 см, Московская область)

№ участка	C _{орг}	N _{общ}	C : N	рН	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	P ₂ O ₅	K ₂ O	Cu	Pb	Zn
	%										
1	3.86	0.33	12	6.74	21.9	60.7	1685.3	701.5	22.0	23.7	89.1
2	1.30	0.14	9.6	6.28	8.6	65.8	220.4	193.6	9.3	10.1	32.0

ный стакан (объем 50 мл), добавляли 35 мл дистиллированной воды и помещали в шейкер Vortex (2 мин) для отделения клеток микроорганизмов от почвенных частиц. Затем суспензию центрифугировали (10 мин, 3000 об./мин) и отделяли супернатант, в который добавляли индикатор – трифенилтетразолий (2 мл на 20 мл супернатанта). Аликвоту супернатанта с индикатором (200 мкл) помещали в 96 лунок (ячеек) планшета “Эко-Лог”, в которые предварительно были внесены 47 тест-субстратов (сахара, аминокислоты, полимеры, нуклеозиды, соли органических кислот, спирты) и минеральная основа – контроль (две повторности для каждого субстрата и контроля). Планшеты инкубировали 72 ч при 28°C до появления в ячейках визуальной регистрируемой красной окраски (восстановление трифенилтетразолия до формазана). Затем оптическую плотность каждой ячейки измеряли в диапазоне 510 нм программно-аппаратным комплексом “Эко-Лог”. Концентрация формазана и обусловленная им оптическая плотность ячейки определялись интенсивностью развития группы микроорганизмов, способной потреблять тот или иной субстрат [6]. На основе оптической плотности рассчитывали следующие показатели функционального разнообразия микробного сообщества [6, 7]: разнообразие (N), отражающее количество потребленных субстратов (от 0 до 47); удельную метаболическую работу (W) – сумму оптической плотности всех потребленных субстратов, деленную на их число (от 0 до 4000 ед., мера интенсивности потребления субстратов); коэффициент рангового распределения спектров потребления субстратов (d) в интервале от 0.01 до ≥ 2.00 . Меньшее значение этого коэффициента характеризует “благополучие и стабильность” микробного сообщества почвы, а значит – оптимальные условия его функционирования, большее – “неблагополучие” и стресс [6, 7].

Статистическую обработку результатов – измерение биомассы растений, микробиологических ($C_{\text{мик}}$, БД) и химических показателей почвы – проводили в трех повторностях. Расчет $C_{\text{мик}}$, БД и химических показателей выполнен на вес сухой почвы (105°C, 2 ч). Субстратное тестирование – для смешанного образца (3 сосуда) каждого вари-

анта исследуемых почв. Сравнение величин $C_{\text{мик}}$, БД, $q\text{CO}_2$ и биомассы горчицы между экспериментальными вариантами (биоуголь, лигногумат, ТМ) выполняли однофакторным дисперсионным анализом с последующим попарным множественным сравнением средних (тест Тьюки). Анализ главных компонент (ГК) выполнен на основе матрицы корреляций показателей $C_{\text{мик}}$, БД, $q\text{CO}_2$ и биомассы горчицы для экспериментальных вариантов почв двух участков. Предварительная подготовка данных для анализа ГК включала их масштабирование согласно формуле (x_i – среднее)/стандартное отклонение. Взаимосвязь между $C_{\text{мик}}$ и биомассой горчицы оценивали корреляционным анализом (коэффициент корреляции Пирсона). Статистический анализ данных и их визуализация выполнены в программной среде R с помощью пакетов “FactoMineR”, “factoextra” (анализ ГК), “car” (однофакторный дисперсионный анализ) и “agricolae” (тест Тьюки).

Кластерный анализ образцов по спектру потребления субстратов проводили с использованием квадрата евклидова дистанционного сходства и процедур связи Варда, расчет показателей функционального разнообразия – с помощью программного обеспечения “Eco-log” [6] в программе Statistica 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Химические показатели почвы. Содержание $C_{\text{орг}}$ в пахотном горизонте сильногумусированной почвы участка 1 почти в 3 раза превышало такое участка 2 (табл. 1). Содержание других биогенных элементов в почве 1 было также больше, чем в почве 2 ($N_{\text{общ}}$, $N\text{-NH}_4^+$, K – в 2–3 раза; P – в 7.6). По содержанию $N\text{-NO}_3^-$, отношению C : N и значению рН исследуемые почвы различались незначительно. Содержание Cu, Pb и Zn в почве 1 было в 2.3–2.8 раза больше, чем в почве 2, однако оно существенно меньше их ОДК, что дает основание считать исследуемые почвы незагрязненными этими ТМ.

Внесение биоугля в исследуемые почвы увеличило содержание $C_{\text{орг}}$ примерно на 4%, лигногумата – почти не оказало влияния на этот показа-

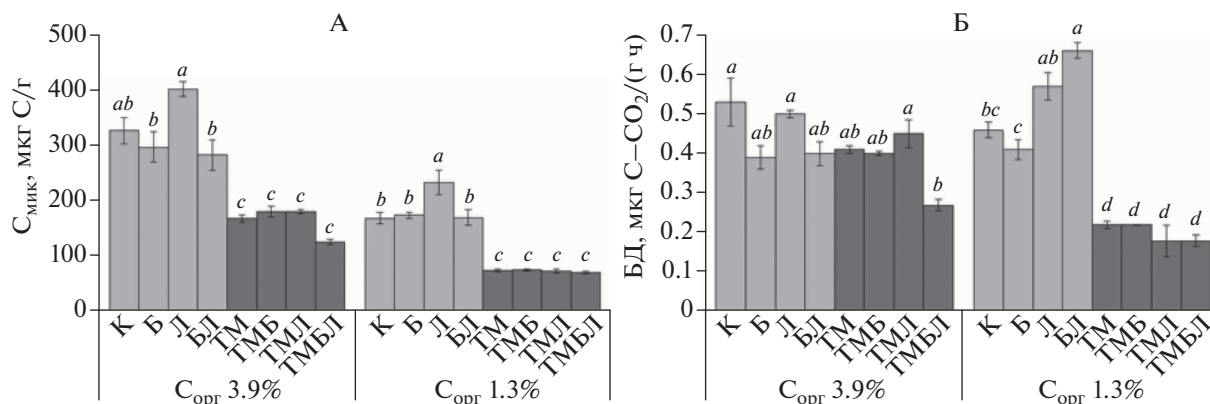


Рис. 1. Углерод микробной биомассы ($C_{\text{мик}}$, А) и скорость базального дыхания (БД, Б) в агродерново-подзолистых почвах (0–20 см) с разным содержанием органического углерода ($C_{\text{орг}}$) и способов обработки. Обозначения здесь и далее на рисунках: контроль (К), биоуголь (Б), лигногумат (Л), Б + Л (БЛ), тяжелые металлы (ТМ), ТМ + Б (ТМБ), ТМ + Л (ТМЛ), ТМ + Б + Л (ТМБЛ). Среднее \pm стандартная ошибка среднего ($n = 3$); величины с разными буквами различаются значимо ($p \leq 0.05$) для каждого показателя и значения $C_{\text{орг}}$ отдельно ($p \leq 0.05$, критерий Тьюки).

тель. Значение рН почв с внесением биоугля и лигногумата практически не менялось по сравнению с контрольными вариантами.

Микробиологические показатели почвы. Содержание $C_{\text{мик}}$ в исходной богатой $C_{\text{орг}}$ почве 1 было в среднем почти в 2 раза больше такового в бедной (326 и 173 мкг С/г) (рис. 1, А). Внесение ТМ в исследуемые почвы значимо уменьшало (почти в 2 раза) содержание $C_{\text{мик}}$. Углеродсодержащие добавки в почвах 1 и 2 (без ТМ) не вызывали изменение величин $C_{\text{мик}}$, за исключением стимулирующего действия лигногумата в почве 2. Внесение углеродсодержащих препаратов в почвы с ТМ не привело к значимому изменению $C_{\text{мик}}$ этих вариантов.

Скорость БД в исходных почвах 1 и 2 составила в среднем 0.53 и 0.46 мкг С- CO_2 /г ч соответственно (рис. 1, Б). ТМ в почве 1 не оказали значимого влияния на скорость БД, а в почве 2 — уменьшали ее в 2.1 раза. Внесение биоугля и лигногумата (отдельно и в смеси) в загрязненные ТМ почвы не вызвало значимых различий скорости БД по сравнению с вариантами только с ТМ. В незагрязненных ТМ почвах биоуголь и лигногумат также не влияли значимо на этот показатель, за исключением варианта их совместного внесения в почву 2 (увеличение БД почти на 40%).

В контрольных вариантах почвы 1 показатель $q\text{CO}_2$ был почти в 1.7 раза меньше такового почвы 2, что свидетельствует о «худшем» функционировании микробного сообщества последней (рис. 2). Внесение ТМ, в том числе и с углеродсодержащими добавками, вызвало в основном значимое увеличение $q\text{CO}_2$ в почве 1 и не значимое — в почве 2. Биоуголь и лигногумат не вызывали значимых изменений этого показателя в исходных почвах,

однако смесь этих добавок в почве 2 способствовала значимому увеличению $q\text{CO}_2$ по сравнению с контрольным вариантом (в среднем на 43%), а в почве 1 — нет.

Взаимосвязь микробных показателей ($C_{\text{мик}}$, БД, $q\text{CO}_2$) и биомассы растений в образцах почв с тяжелыми металлами и углеродсодержащими добавками. Добавка смеси ТМ (ZnPbCu) подавляла развитие растений: в сильногумусированной почве 1 с 1.38 ± 0.05 (контроль) до 0.40 ± 0.13 г сухой биомассы с. в./сосуд, а в слабогумусированной почве 2 с 0.68 ± 0.09 (контроль) — до полной гибели проростков растений. В незагрязненных образцах (без ТМ) внесение биоугля уменьшало биомассу растений в почве 1 до 0.77 ± 0.05 , лигногумата — до 0.70 ± 0.11 , в почве 2 биоуголь уменьшал количество фитомассы до 0.46 ± 0.11 , а лигногумат повышал ее на 22% — до 0.83 ± 0.14 , однако это изменение оказалось незначимым. Добавки углеродсодержащих препаратов не повлияли на токсичность слабогумусированной почвы с ТМ и незначительно изменили показатели сухой биомассы в загрязненной ТМ почве 1: биоуголь несколько увеличил их до 0.47 ± 0.05 , лигногумат — уменьшил до 0.28 ± 0.06 , а при совместно внесенных биомасса была близка к контролю — 0.41 ± 0.13 .

Анализ, проведенный методом главных компонент (ГК), позволил обобщить и выявить закономерности в изменении изученных свойств почвенной микробиоты и ее способности обеспечивать развитие растений при внесении ТМ и углеродсодержащих препаратов. Показано, что первые две ГК являются наиболее значимыми (собственные значения >1) и объясняют суммарно 95% общей изменчивости экспериментальных данных (рис. 3).

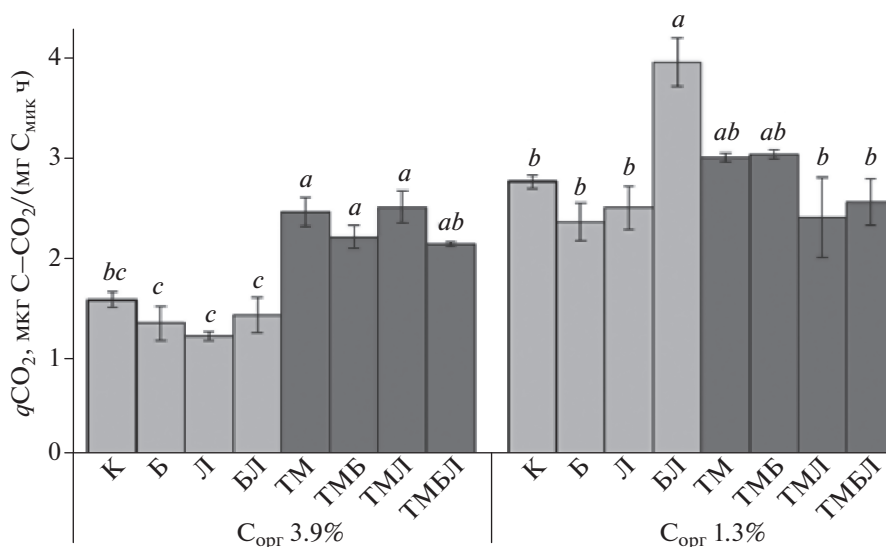


Рис. 2. Удельное дыхание микробной биомассы (qCO_2) агродерново-подзолистой почвы (0–20 см) с разным содержанием органического углерода ($C_{орг}$) и способов обработки.

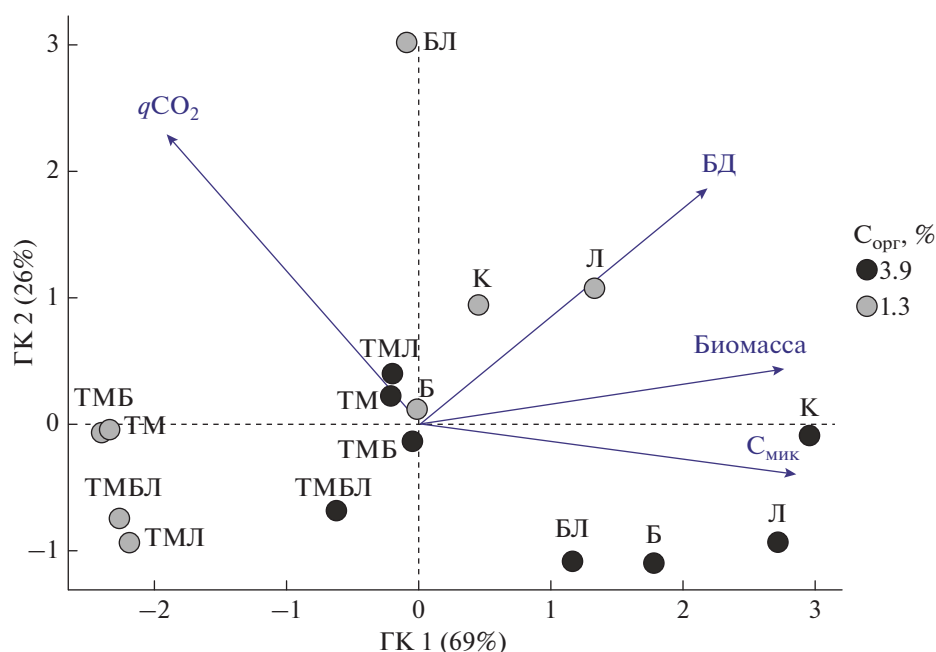


Рис. 3. Проекция показателей ($C_{мик}$, углерод микробной биомассы; БД, базальное дыхание; qCO_2 , удельное дыхание микробной биомассы; биомасса растений горчицы) агродерново-подзолистых почв разной гумусированности на первую и вторую главные компоненты (ГК).

ГК 1 отражает преимущественно градиент изменения $C_{мик}$ и растительной биомассы в почвах с разными вариантами обработки ($R^2 = 0.69$ и 0.67), а ГК 2 – qCO_2 ($R^2 = 0.55$). Вдоль ГК 1 показана четкая дифференциация почв с ТМ (слева) и без их внесения (справа). Распределение почв вдоль ГК 2 связано преимущественно с внесением биоугля и лигногумата. Анализ выявил также, что

биомасса горчицы наиболее тесно коррелировала с содержанием $C_{мик}$ почвы (коэффициент корреляции Пирсона $r = 0.81$, $p < 0.001$).

Функциональное разнообразие микробного сообщества. Количественные показатели функционального разнообразия микробных сообществ почв с разным содержанием $C_{орг}$ представлены на рис. 4. Число потребляемых субстратов микроб-

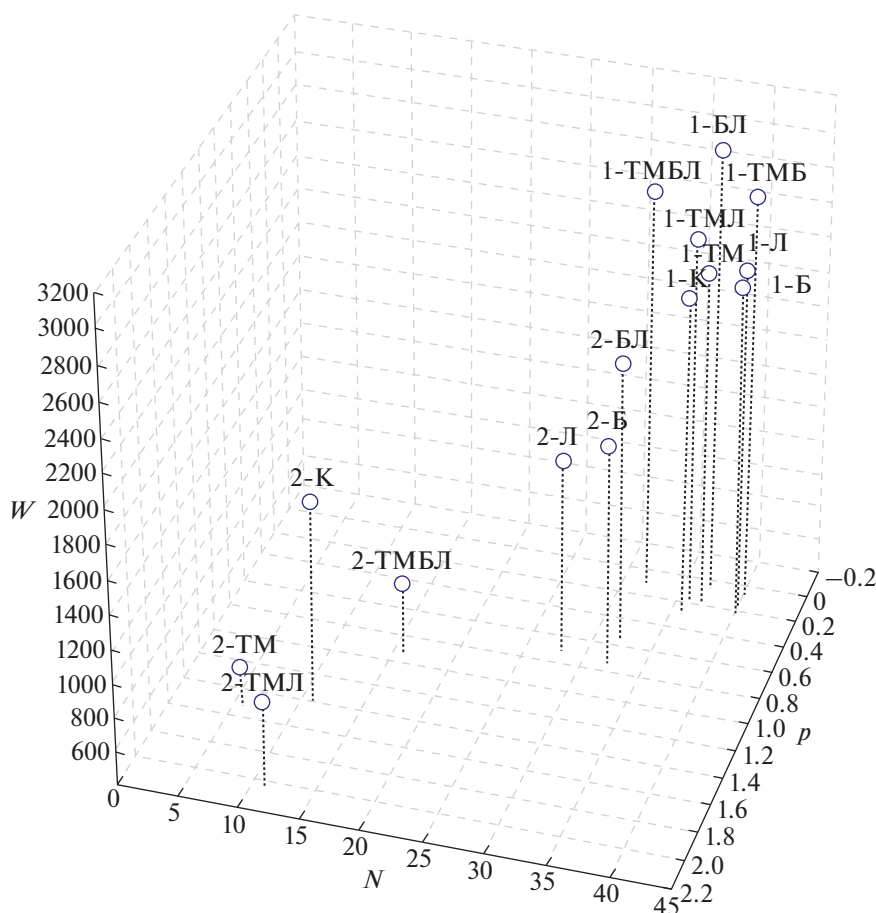


Рис. 4. Показатели функционального разнообразия микробных сообществ агродерново-подзолистых почв (слой 0–20 см) с высоким (1) и низким (2) содержанием $C_{\text{орг}}$ и разными способами обработки. Обозначения здесь и на рис. 5: N – количество потребленных субстратов, ед.; W – удельная метаболическая работа, отн. ед.; d – коэффициент рангового распределения спектра потребления субстратов.

ным сообществом (N) почвы 1 оказалось больше, чем почвы 2, оно составило 37 и 11 соответственно. ТМ вызвали заметное уменьшение функционального разнообразия в почве 2 (всего 6 потребленных субстратов), а в почве 1 оно почти не менялось. Добавка углеродсодержащих препаратов в загрязненную ТМ почву 2 заметно увеличила ее микробное функциональное разнообразие, причем лигногумат его практически восстановил до исходного уровня (с 6 до 11), а в сочетании с биоуглем – повысил еще больше (с 6 до 16). В почве 1 с ТМ биоуголь способствовал лишь незначительному изменению показателя N (с 37 до 40), лигногумат – не оказал видимого эффекта, а совместное применение этих добавок – даже уменьшило показатель N до 32. В почве 2 (без ТМ) внесение органических добавок способствовало увеличению микробного разнообразия ($N=28$ и 32 для биоугля и лигногумата). В почве 1 (без ТМ) эффект от внесения лигногумата и биоугля был сглажен ($N=40$), а при совместном – разнообразие почти не менялось по сравнению с контролем.

Метаболическая работа микробного сообщества (W) в почве 2 составила 1500 единиц, а в почве 1 – более 2200. ТМ вызвали уменьшение показателя W в бедной $C_{\text{орг}}$ почве 2 почти в 2 раза, а в богатой – лишь слабо стимулировали (~ на 100). Внесение ТМ и органических добавок в почву 2 не способствовали увеличению W , однако в почве 1 – слабо повышали этот показатель (на 200–300 ед.). В незагрязненных ТМ вариантах обеих почв внесение биоугля и лигногумата приводило к увеличению показателя W . В почве 1 биоуголь и лигногумат способствовали увеличению W всего на 100 ед., а при их комбинации – уже на 700 (до наибольшего значения, ~3000). В почве 2 биоуголь увеличивал показатель W на 200 ед., а лигногумат – не влиял, однако их совместное внесение способствовало существенному его повышению (~ на 500 ед.).

Функционирование микробного сообщества в сильногумусированной почве 1 можно характеризовать как более стабильное ($d = 0.29$) по сравне-

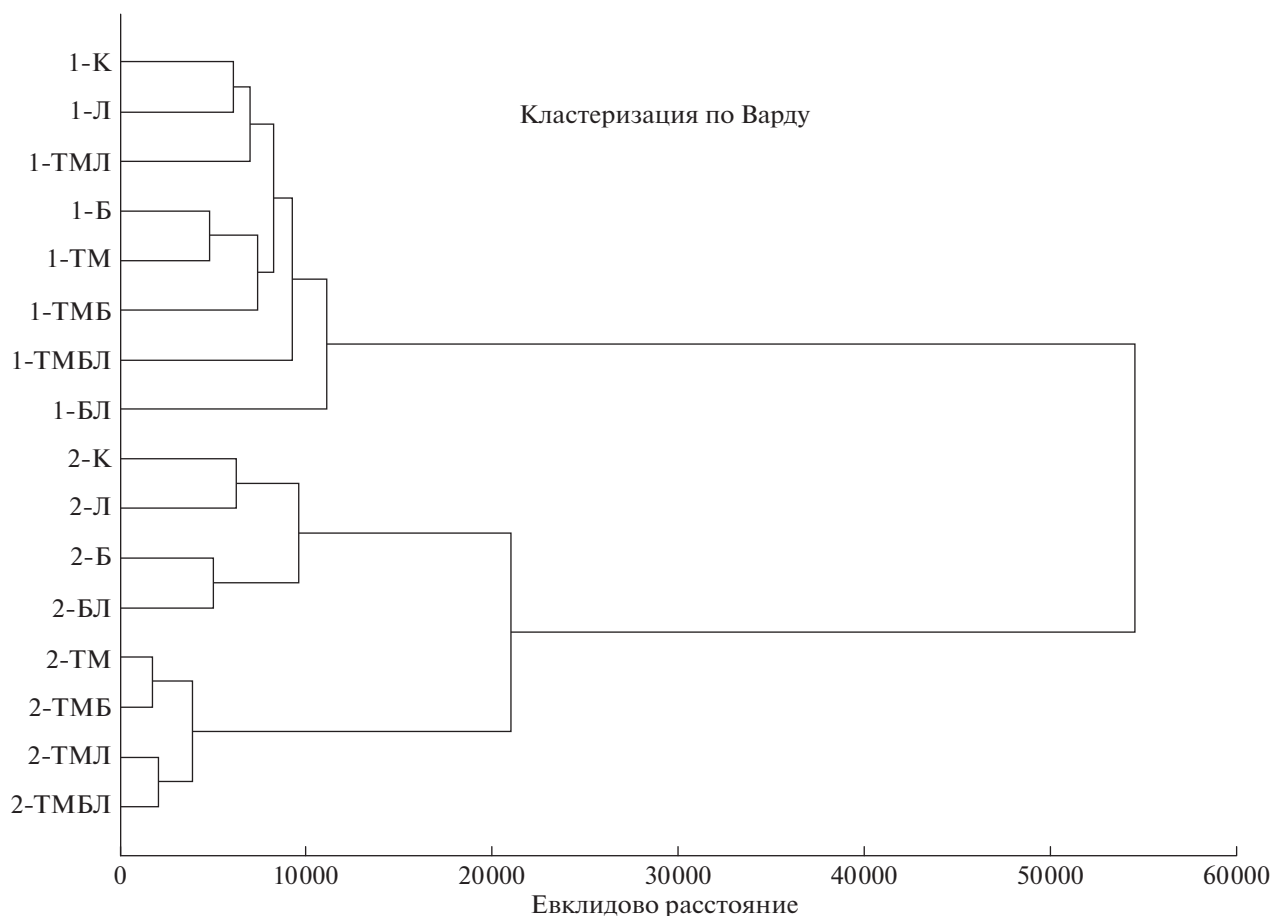


Рис. 5. Кластеризация образцов почв с высоким (1) и низким (2) содержанием $C_{орг}$ по спектрам потребления субстратов (евклидово расстояние, метод Варда).

нию со слабогумусированной почвой 2 ($d = 1.38$). Загрязнение ТМ слабогумусированной почвы 2 вызвало заметное увеличение этого коэффициента – до 2.03, что свидетельствует о возрастании “нестабильности” функционирования ее микробного сообщества, однако в сильногумусированной почве 1 этот коэффициент менялся незначительно ($d = 0.20$). В почве 2, загрязненной ТМ, внесение биоугля способствовало большему снижению коэффициента d (с 2.03 до 0.96), а лигногумата – меньшему (с 2.03 до 1.54). В почве 1 с ТМ и углеродсодержащими препаратами также отмечали уменьшение этого коэффициента (биоуголь – с 0.20 до 0.05, лигногумат – до 0.19, совместно – до 0.13).

В целом внесение биоугля и лигногумата способствовало уменьшению коэффициента во всех вариантах исследуемых почв, что может свидетельствовать об увеличении стабильности (устойчивости) микробных систем исследованных почв к внешним воздействиям.

Кластерный анализ результатов метода МСТ позволил дифференцировать микробное сообще-

ство исследованных почв по спектрам потребляемых субстратов (рис. 5). Выделено 2 крупных кластера, соотносящихся с содержанием $C_{орг}$. Влияние загрязнения ТМ наиболее выражено в слабогумусированной почве 2, варианты которой четко выделяются в отдельный подкластер.

ОБСУЖДЕНИЕ

Комплексное загрязнение тяжелыми металлами (Cu 660, Zn 1100 и Pb 650 мг/кг) агродерново-подзолистой почвы, различающейся по содержанию $C_{орг}$, привело к изменению ее микробиологических показателей, выраженному в уменьшении микробной биомассы и скорости базального дыхания, в увеличении микробного метаболического коэффициента (qCO_2). Полученные результаты экспериментов согласуются с таковыми при внесении в солонцеватую почву в модельном опыте низких и высоких доз Cd и Pb [51].

Показатели почвенного дыхания, в том числе и эмиссия CO_2 почвы, используются в ряде стран в качестве индикаторов ее экологического состо-

нения [30, 33, 37]. Отмечают, что загрязнение почв ТМ и металлоидами вызывает замедление деструкционных процессов, уменьшение интенсивности выделения CO_2 и активности ферментов (полифенолоксидазы, дегидрогеназы и липазы) [54]. Однако низкие концентрации некоторых ТМ могут стимулировать развитие микроорганизмов, выступая, в частности, как коферменты.

Индикаторная ценность функциональных микробиологических показателей зависит, очевидно, от почвенных условий, среди которых большое значение имеет содержание гумуса. Показано, что изменение микробных показателей почв разной гумусированности различается. В слабогумусированной почве полиметаллическое загрязнение вызвало угнетение микробной биомассы более чем в 2 раза, а в сильногумусированной – менее чем на треть. Однако заметное снижение БД отмечено только для слабогумусированной почвы с ТМ, а возрастание $q\text{CO}_2$, напротив, – в сильногумусированной.

Показано, что под действием ТМ в почвах происходит наиболее существенное изменение в содержании микробной биомассы, причем независимо от внесения органических добавок (рис. 3). Имеются сведения, что внесение биоугля (0.5, 1 и 3%) в почву (верхний (0–20 см) слой, модельный эксперимент) не приводит к значимым изменениям БД, биомассы микроорганизмов и $q\text{CO}_2$ [47], что, в свою очередь, вызывает избыточную почвенную эмиссию CO_2 [35, 41]. В нашем эксперименте содержание микробной биомассы исследуемых почв значимо коррелирует с развитием растений (рис. 3), что повышает биодиагностическую ценность этого микробного показателя, в том числе для характеристики их плодородия [50].

Биоуголь и лигногумат влияли на функционирование микробного сообщества исследуемых почв неодинаково. Так, лигногумат оказывал в основном более выраженное стимулирующее действие на микробные показатели по сравнению с биоуглем. Различие эффекта биоугля и лигногумата можно объяснить разными механизмами их действия на почву. Влияние лигногумата обусловлено его способностью стимулировать развитие почвенных микробных сообществ за счет поступления питательных элементов – азота, калия [20] и тем самым способствовать увеличению численности почвенных микроорганизмов, активности ферментов [14], эмиссии CO_2 , процессов азотфиксации и денитрификации [12]. Способность биоугля улучшать плодородие почвы агроценозов связывают с увеличением скорости катионного обмена из-за высокого рН и уменьшением поглощения ТМ сельскохозяйственными культурами. Кроме того, внесение биоугля в почву приводит к существенному уменьшению содержания обмен-

ных форм ТМ [42], и это происходит за довольно короткий период. Так, содержание растворимой формы Cd в почве после внесения биоугля уже на 12-е сутки сократилось почти на 80%, а Zn и Cd в почвенном растворе – почти на 90% [26].

Положительный эффект биоугля на скорость БД отмечен только в сочетании с лигногуматом (рис. 1). Их синергетическое действие показано для дерново-подзолистой почвы, которое проявлялось стимулированием БД, уменьшением коэффициента $q\text{CO}_2$, подвижности катионов Cu и токсичности для растений *Sinapis alba* и тест-культуры *Daphnia magna* [15].

Функциональное разнообразие микробных сообществ, оцененное на основании спектров потребления субстратов, показало высокую индикаторную значимость метода МСТ при оценке почв, в том числе и загрязненных ТМ [7, 53]. В ходе кластерного анализа спектров потребления органических субстратов микробными сообществами исследованных почв выделены 2 большие группы, включающие образцы со сходным содержанием гумуса (рис. 5). При этом эффект полиметаллического загрязнения более четко прослеживается для слабогумусированной почвы, в которой варианты с ТМ и без них выделены, в свою очередь, в отдельные группы. Именно в слабогумусированной почве действие металлов оказалось губительным для тест-растений горчицы (гибель на стадии прорастания семян). Таким образом, слабогумусированная почва с истощенными питательными ресурсами оказалась более чувствительной к действию токсикантов (наблюдалось уменьшение функционального разнообразия и устойчивости микробного сообщества).

В сильногумусированной почве с исходно высокими показателями микробного сообщества и его функционального разнообразия токсический эффект ТМ выражен слабее, чем в слабогумусированной. При этом внесение биоугля, в том числе и в комбинации с лигногуматом, “оптимизировало” показатели микробного сообщества.

Со времени публикации первых схем и инструментов оценки и мониторинга качества почвы в 1990-х годах появилось более 60-ти национальных и региональных подходов, разработанных преимущественно в Северной Америке, Европе и Китае [23]. Основное внимание в этих подходах уделено характеристике плодородия почв, которую рассматривают как их способность обеспечивать питательными элементами и водой растения (www.fao.org). В связи с этим некоторые авторы [36] считают необходимым дополнить характеристику качества почв, оптимального для роста сельскохозяйственных культур, показателями биоразнообразия и функциональной активности почвенной микробиоты.

Почвенные организмы играют ключевую роль в функционировании почвы, поэтому биологические и биохимические показатели важны для современных подходов ее оценки [9, 17]. Более того, некоторые авторы подчеркивают, что оценка биологических показателей качества почвы необходима для понимания взаимосвязи ее абиотических свойств, экологических функций и продуктивности наземной растительности [34]. Тем не менее, биологические показатели все еще недостаточно представлены в системах оценки качества почвы. Они пока ограничиваются такими показателями “черного ящика” как микробная биомасса и почвенное дыхание [23].

Полученные данные в целом согласуются с положениями о том, что микробиологические показатели (например, микробная биомасса) могут служить индикаторами экологического состояния почв [24]. При этом очевидна необходимость дифференцирования степени надежности и информативности разных показателей функционирования микробиоты для мониторинга и оценки почв. Обобщая полученные результаты, можно заключить, что такие микробные характеристики почв, как базальное дыхание и метаболический коэффициент, имеют меньшую индикаторную ценность по сравнению с показателями микробной биомассы и функционального разнообразия микробного сообщества. Этот факт можно объяснить тем, что при нарушении или стрессе почвенное микробное дыхание одних видов микроорганизмов может быть подавлено, а других – даже стимулировано.

Итак, результаты исследования показали, что структурные и функциональные микробные маркеры, выявленные методом МСТ, и содержание углерода микробной биомассы предоставляют более значимую информацию об изменении микробного сообщества почвы, в том числе и в условиях их загрязнения ТМ, по сравнению с дыхательной микробной активностью и показателем его экофизиологического состояния.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность к. б. н. Е.Н. Кубареву и проф. О.А. Макарову за консультации и организацию отбора образцов почв, к. б. н. М.М. Карпухину за помощь при проведении химических анализов, к. б. н. О.С. Якименко за участие в обсуждении результатов работы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследования выполнены при поддержке РФФИ 18-04-01218а.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ананьева Н.Д., Сусьян Е.А., Рыжова И.М., Бочарникова Е.О., Стольникова Е.В.* Углерод микробной биомассы и микробное продуцирование двуокиси углерода дерново-подзолистыми почвами пост-агрогенных биогеоценозов и коренных ельников южной тайги (Костромская область) // Почвоведение. 2009. № 9. С. 1108–1116.
2. *Благодатская Е.В., Ананьева Н.Д.* Оценка устойчивости микробных сообществ в процессе разложения поллютантов в почве // Почвоведение. 1996. № 11. С. 1341–1346.
3. *Водяницкий Ю.Н.* Формулы оценки суммарного загрязнения почв тяжелыми металлами и металлоидами // Почвоведение. 2010. № 10. С. 1276–1280.
4. ГН 2.1.7.2041-06 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве.
5. ГН 2.1.7.2511-09 Ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве.
6. *Горленко М.В., Кожевин П.А.* Мульти-субстратное тестирование природных микробных сообществ. М.: МАКС Пресс, 2005. 88 с.
7. *Горленко М.В., Якименко О.С., Голиченков М.В., Костина Н.В.* Функциональное биоразнообразие почвенных микробных сообществ при внесении органических субстратов различной природы // Вестник Моск. ун-та. Сер. 17, почвоведение. 2012. № 2. С. 20–27.
8. *Каниськин М.А., Изосимов А.А., Терехова В.А., Якименко О.С., Пукальчик М.А.* Влияние гуминовых препаратов на биоактивность почвогрунта с фосфогипсом // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 1. С. 87–95.
9. *Кирюшин В.И.* Методология комплексной оценки сельскохозяйственных земель // Почвоведение. 2020. № 7. С. 871–879. <https://doi.org/10.31857/S0032180X20070060>
10. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения № 52-ФЗ от 30.03.1999 г.
11. *Плеханова И.О.* Влияние условий увлажнения на фракционный состав соединений тяжелых металлов в агродерново-подзолистых почвах, загрязненных осадком сточных вод // Почвоведение. 2012. № 7. С. 735.
12. *Поздняков Л.А., Степанов А.Л., Гасанов М.Э., Семенов М.В., Якименко О.С., Суада А.К., Рай А.Н., Щеголькова Н.М.* Влияние лигногумата на биологическую активность почвы о. Бали, Индонезия // Почвоведение. 2020. № 5. С. 601–609.
13. Положение о государственном санитарно-эпидемиологическом нормировании от 24.07.2000 г. № 554.
14. *Пукальчик М.А., Панова М.И., Терехова В.А., Якименко О.С., Федосеева Е.В.* Действие гуминовых препаратов на активность почвенных ферментов в

- модельном опыте // *Агрохимия*. 2017. № 8. С. 94–101. <https://doi.org/10.7868/S0002188117080105>
15. *Пукальчик М.А., Терехова В.А., Якименко О.С., Акулова М.И.* Сравнение ремедиационных эффектов биочара и лигногумата на почвы при полиметаллическом загрязнении // *Теоретическая и прикладная экология*. 2016. № 2. С. 79–85.
 16. *Anderson J.P.E., Domsch K.H.* Physiological method for quantitative measurement of microbial biomass in soils // *Soil Biology & Biochemistry*. 1978. V. 10. № 3. P. 215–221. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8)
 17. *Barrios E., Coutinho H.I.C., Medeiros C.A.* InPaC-S: Participatory Knowledge Integration on Indicators of Soil Quality – Methodological Guide. World Agroforestry Centre (ICRAF). Embrapa, CIAT, Nairobi, 2012. 178 p. <http://apps.worldagroforestry.org/downloads/Publications/PDFS/B17459.pdf>
 18. *Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J.L.* Effects of biochar and greenwaste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil // *Environ. Pollut.* 2010. № 158. P. 2282–2287. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.02.003>
 19. *Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J.L., Harris E., Robinson B., Sizmur T.* A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils // *Environmental Pollution*. 2011. V. 159(12). P. 3269–3282. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.07.023>
 20. *Bezuglova O.S., Gorovtsov A.V., Polienko E.A. et al.* Effect of humic preparation on winter wheat productivity and rhizosphere microbial community under herbicide-induced stress // *J. Soils Sediments*. 2019. V. 19. P. 2665–2675. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-02240-z>
 21. *Bian R., Chen D., Liu X., Cui L., Li L., Pan G., Xie D., Zheng J., Zhang X., Zheng J., Chang A.* Biochar soil amendment as a solution to prevent Cd-tainted rice from China: Results from a cross-site field experiment // *Ecological Engineering*. 2013. V. 58. P. 378–383. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.07.031>
 22. *Biochar for environmental management: science and technology* / Eds.: J. Lehmann, S. Joseph. London, UK: Earthscan, 2009. 404 p.
 23. *Bünemann E.K., Bongiorno G., Bai Z., Creamer R., Deyn G., Goede R., Fleskens L., Geissen L., Kuyper T., Mäder P., Pulleman M., Sukkel W., van Groenigen W., Brussaard L.* Soil quality – A critical review // *Soil Biology and Biochemistry*. 2018. V. 120. P. 105–125. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>
 24. *Creamer R.E., Schulte R.P.O., Stone D., Gal A., Krogh P.H., Lo Papa G., Winding A.* Measuring basal soil respiration across Europe: Do incubation temperature and incubation period matter? // *Ecological Indicators*. 2014. V. 36. P. 409–418. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.08.015>
 25. *de Sousa Lima J.R., de Moraes Silva W., de Medeiros E.V., Duda G.P., Corrêa M.M., Martins Filho A.P., Clermont-Dauphin C., Antonino A.C., Hammecker C.* Effect of biochar on physicochemical properties of a sandy soil and maize growth in a greenhouse experiment // *Geoderma*. 2018. V. 319. P. 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.12.033>
 26. *Debela F., Thring R.W., Arocena J.M.* Immobilization of heavy metals by co-pyrolysis of contaminated soil with woody biomass // *Water, Air, Soil Pollut.* 2012. V. 223. P. 1161–1170. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0934-2>
 27. *Garland J.L., Mills A.L.* Classification and Characterization of Heterotrophic Microbial Communities on the Basis of Patterns of Community-Level Sole-Carbon-Source Utilization // *Appl Environ Microbiol.* 1991. V. 57. № 8. P. 2351–2359. <https://doi.org/10.1128/AEM.57.8.2351-2359.1991>
 28. *Glaser B., Haumaier L., Guggenberger G., Zech W.* The “Terra Pretta” phenomenon: F model for sustainable agriculture in the humid tropics // *Naturwissenschaften*. 2011. № 88. P. 37–41. <https://doi.org/10.1007/s001140000193>
 29. *Gong Q., Chen P., Shi R., Gao Y., Zheng S.A., Xu Y., Shao C., Zheng X.* Health Assessment of Trace Metal Concentrations in Organic Fertilizer in Northern China // *International J. environmental research and public health*. 2019. V. 16. № 6. P. 1031. <https://doi.org/10.3390/ijerph16061031>
 30. *Gonzalez-Quñones A., Stockdale E.A., Banning N.C., Hoyle F.C., Sawada Y., Wherrett A.D., Jones D.L., Murphy D.V.* Soil microbial biomass – Interpretation and consideration for soil monitoring // *Soil Research*. 2011. V. 49. P. 287–304. <https://doi.org/10.1071/sr10203>
 31. *Goss M.J., Tubeileh A., Goorahoo D.* A Review of the Use of Organic Amendments and the Risk to Human Health // *Advances in Agronomy*. 2013. V. 120. P. 275–379. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407686-0.00005-1>
 32. *Gu X., Xiao Y., Yin S., Liu H., Men B., Hao Z., Qian P., Yan H., Hao Q., Niu Y., Huang H., Pe Q.* Impact of Long-Term Reclaimed Water Irrigation on the Distribution of Potentially Toxic Elements in Soil: An In-Situ Experiment Study in the North China Plain // *International J. environmental research and public health*. 2019. V. 16. № 4. P. 649. <https://doi.org/10.3390/ijerph16040649>
 33. *Hofman J., Dusek L., Klanova J., Bezchlebova J., Holoubek I.* Monitoring microbial biomass and respiration in different soils from the Czech Republic – a summary of results // *Environment International*. 2004. V. 30. № 1. P. 19–30. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00142-9](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00142-9)
 34. *Lehman R.M., Cambardella C.A., Stott D. E., Acosta-Martinez V., Manter, D.K., Buyer J. S., Maul J.E., Smith J.L., Collins H.P., Halvorson J.J., Kremer R.J., Lundgren J.G., Ducey T.F., Jin V.L., Karlen D.L.* Understanding and Enhancing Soil Biological Health: The Solution for Reversing Soil Degradation // *Sustainability*. 2015. V. 7. P. 988–1027.
 35. *Liu X., Zheng J., Zhang D., Cheng K., Zhou H., Zhang A., Li L., Joseph S., Smith P., Crowley D., Kuzyakov Y., Pan G.* Biochar has no effect on soil respiration across Chinese agricultural soils // *Science of the total environment*.

2016. V. 554–555. P. 259–265.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.179>
36. *Mäder P., Fließbach A., Dubois D., Gunst L., Fried P., Niggli U.* Soil fertility and biodiversity in organic farming // *Science*. 2002. V. 296. P. 1694–1697.
37. *Margesin R., Minerbi S., Schinner F.* Long-term monitoring of soil microbiological activities in two forest sites in South Tyrol in the Italian Alps // *Microbes and Environments*. 2014. V. 29. Iss. 3. P. 277–285.
<https://doi.org/10.1264/jsme2.ME14050>
38. *Martínez-Alcántara B., Martínez-Cuenca M.R., Bermejo A., Legaz F., Quiñones A.* Liquid Organic Fertilizers for Sustainable Agriculture: Nutrient Uptake of Organic versus Mineral Fertilizers in Citrus Trees // *PloS one*. 2011. V. 11. № 10. e0161619.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161619>
39. *Martínez-Villegas N., Hernández A., Meza-Figueroa D., Sen Gupta B.* Distribution of Arsenic and Risk Assessment of Activities on Soccer Pitches Irrigated with Arsenic-Contaminated // *Water. International J. environmental research and public health*. 2018. V. 15(6). P. 1060.
<https://doi.org/10.3390/ijerph15061060>
40. *Önal E., Özbay N., Yargıç A.Ş., Şahin R.Z.Y., Gök Ö.* Performance Evaluation of the Biochar Heavy Metal Removal Produced from Tomato Factory Waste // *Progress in Exergy, Energy, and the Environment*. Springer International Publishing. 2014. P. 733–740.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-04681-5_70
41. *Ouyang W., Geng X., Huang W., Hao F., Zhao J.* Soil respiration characteristics in different land uses and response of soil organic carbon to biochar addition in high-latitude agricultural area // *Environ Sci Pollut Res*. 2016. V. 23. P. 2279–2287.
42. *Park J.H., Choppala G.K., Bolan N.S., Chung J.W., Chuasavath T.* Biochar reduces the bioavailability and phytotoxicity of heavy metals // *Plant Soil*. 2011. V. 348. P. 439–451.
<https://doi.org/10.1007/s11104-011-0948-y>
43. *Perminova I.V., Kulikova N.A., Zhilin D.M., Grechischeva N.Yu., Kovalevskii D.V., Lebedeva G.F., Matorin D.N., Venediktov P.S., Konstantinov A.I., Kholodov V.A., Petrosyan V.S.* Mediating effects of humic substances in the contaminated environments. Concepts, results, and prospects // *Viable Methods of Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation. Ser. IV: Earth and Environmental Sciences*. Springer Netherlands. 2006. V. 69. P. 249–274.
https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4728-2_17
44. *Ritz K., Black H.I.J., Campbell C.D., Harris J.A., Wood C.* Selecting biological indicators for monitoring soils: A framework for balancing scientific and technical opinion to assist policy development // *Ecological Indicators*. 2009. V. 9. P. 1212–1221.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2009.02.009>
45. *Rizhiya E.Y., Buchkina N.P., Mukhina I.M., Belinets A.S., Balashov E.V.* Effect of biochar on the properties of loamy sand spodosol soil samples with different fertility levels: a laboratory experiment // *Eurasian Soil Science*. 2015. V. 48. № 2. P. 192–200.
<https://doi.org/10.1134/S1064229314120084>
46. *Sacca M.L., Barra Caracciolo A., Di Lenola M., Grenni P.* Ecosystem services provided by soil microorganisms Soil biological communities and ecosystem resilience. Sustainability in plant and crop protection. Springer International Publishing, Switzerland. 2017. P. 9–24.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-63336-7_2
47. *Šlapáková B., Jeřábková J., Voříšek K., Tejnecký V., Drábek O.* The biochar effect on soil respiration and nitrification // *Plant Soil Environ*. 2018. V. 64. P. 114–119.
<https://doi.org/10.17221/13/2018-PSE>
48. *Sohi S., Krull E., Lopez-Capel E., Bol R.* A review of biochar and its use and function in soil // *Adv Agro*. 2010. V. 105. P. 47–82.
[https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)05002-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)05002-9)
49. *Terekhova V.A.* Soil bioassay: Problems and approaches // *Eurasian Soil Science*. 2011. V. 44. № 2. P. 173–179.
<https://doi.org/10.1134/S1064229311020141>
50. *van der Heijden M.G.A., Bardgett R.D., van Straalen N.M.* The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems // *Ecology Letters*. 2008. V. 11. P. 296–310.
<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
51. *Xu Y., Seshadry B., Bolan N., Sarkar B., Ok Y.S., Zhang W., Rumpel C., Sparks D., Farrell M., Hall T., Dong Z.* Microbial functional diversity and carbon use feedback in soils as affected by heavy metals // *Environment International*. 2019. V. 125. P. 478–488.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.071>
52. *Yakimenko O.S., Terekhova V.A.* Humic preparations and the assessment of their biological activity for certification purposes // *Eurasian Soil Sci*. 2011. V. 44. P. 1222–1230.
<https://doi.org/10.1134/S1064229319070159>
53. *Yakimenko O.S., Terekhova V.A., Pukalchik M.A., Gorklenko M.V., Popov A.I.* Comparison of two integrated biotic indices in assessing the effects of humic products in a model experiment // *Eurasian Soil Sci*. 2019. V. 52. № 7. P. 736–746.
<https://doi.org/10.1134/S1064229319070159>
54. *Yang Z., Liu S., Zheng D., Feng S.* Effects of cadmium, zinc and lead on soil enzyme activities // *J. Environ. Sci*. 2006. V. 18. № 6. P. 1135–1141.
55. *Yari M., Rahimi G., Ebrahimi E., Sadeghi S., Fallah M., Ghesmatpoor E.* Effect of Three Types of Organic Fertilizers on the Heavy Metals Transfer Factor and Maize Biomass // *Waste and Biomass Valorization*. 2017. V. 8. P. 2681–2691.
<https://doi.org/10.1007/s12649-016-9719-6>
56. *Zhang J., Wei Y., Liu J.* Effects of maize straw and its biochar application on organic and humic carbon in water-stable aggregates of a Mollisol in Northeast China: A five-year field experiment // *Soil & Tillage Research*. 2019. V. 190. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.still.2019.02.014>

Microbiological Indicators of Heavy Metals and Carbon-Containing Preparations Introduction to Agrosoddy-Podzolic Soils Differing in Humus Content

V. A. Terekhova^{1,2,*}, E. V. Prudnikova¹, S. A. Kulachkova¹, M. V. Gorlenko¹, P. V. Uchanov²,
S. V. Sushko^{3,4}, and N. D. Ananyeva³

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119992 Russia

²Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

³Institute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia

⁴Agrophysical Research Institute, St. Petersburg, 195220 Russia

*e-mail: vterekhova@gmail.com

The response of the microbial community (carbon of microbial biomass, C_{mic} ; basal respiration, BR; functional diversity, FD) of agrosoddy-podzolic soil (Albic Glossic Retisols (Loamic, Aric Cutanic, Ochric)) of two sites (Chashnikovo, Moscow oblast) with different organic carbon content (C_{org} 3.86 and 1.30%) to pollution by heavy metals (HM: Cu 660, Zn 1100, Pb 650 mg/kg) and carbon-containing preparations (biochar, 5%; lignohumate, 0.25%) were studied in model experiment (30 days). C_{mic} was determined by the method of substrate-induced respiration, FD by multisubstrate testing (47 substrates). It was found that HM reduced C_{mic} on average by 49–57%, BR – 23–52% and FD – 45%. However, the microbial metabolic coefficient ($qCO_2 = BR/C_{mic}$) increased on average by 9–46%. The greatest changes were noted on humus-poor C_{org} (1.30%) soil. Carbon-containing preparations in both soils with HM did not contribute to the change in C_{mic} , BR and qCO_2 , but increased their FD. The conclusion is made about the indicator significance for the studied microbiological indicators in order to optimize the assessment of soil quality, which has the microbial biomass and diversity as priority. It is concluded that the studied microbiological indicators are important for optimizing the assessment of soil quality, but differ in the sensitivity to HM: the functional diversity and microbial biomass of C_{org} are most sensitive, and BR and qCO_2 are less sensitive.

Keywords: bioindication, soil quality assessment, organic carbon, microbial respiration, microbial biomass, functional diversity of microorganisms, chemical pollution, lignohumate, biochar