
ОБЩАЯ
БИОЛОГИЯ

УДК 631.414

О ВОЗМОЖНОЙ РОЛИ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОБРАЗОВАНИИ ГУМУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ В ПОЧВАХ

© 2014 г. Г. Н. Федотов, Л. В. Лысак

Представлено академиком Г.В. Добровольским 29.03.2013 г.

Поступило 24.06.2013 г.

DOI: 10.7868/S0869565214070263

Установлено, что гумусовые вещества возникают под воздействием микроорганизмов, обитающих непосредственно в почвах или попадающих в почвы с растительными и животными остатками [1]. Однако однозначные представления о механизме этого процесса в настоящее время отсутствуют.

Одна из наиболее распространенных теорий возникновения гумусовых веществ (ГВ) состоит в том, что микроорганизмы в процессе переработки поступающих в почвы растительных и животных остатков (опада) выделяют ферменты, разлагающие биополимеры опада до низкомолекулярных компонентов, пригодных для их питания. При этом предлагается несколько механизмов возникновения полимерных молекул ГВ из продуктов ферментативной деструкции биополимеров. Один из них состоит в окислительном изменении этих достаточно простых органических молекул и их взаимодействии друг с другом с образованием полимерных молекул ГВ. Другой механизм базируется на полимеризации продуктов деструкции биополимеров под влиянием ферментов-синтаз, вырабатываемых микроорганизмами с образованием макромолекул ГВ. Эти подходы, при которых принимается одновременное функционирование микроорганизмов и образование ГВ, можно условно назвать “параллельными”. В них рассматривается возможность существования ГВ только в виде макромолекул [1–3]. Однако ряд данных [4] позволяет рассматривать и иные механизмы этого процесса.

Хорошо известно, что при избытке опада в почвах активно развиваются микроорганизмы, численность которых заметно снижается после исчерпания питательных веществ. В этих условиях ГВ могут возникать не сразу после образования низкомолекулярных веществ (М. м. менее 1 кДа)

в процессе разложения биополимеров, а только после гибели микроорганизмов. При этом они могут представлять собой макромолекулы; также нельзя исключить их существование и в виде супрамолекулярных соединений [4]. Этот подход, при котором принимается сначала размножение микроорганизмов, а затем при их гибели образование ГВ, можно условно назвать “последовательным”.

Исследования почв показали, что ГВ являются основой почвенных гелей, связывающих минеральные частицы почв в единую структуру. При этом гумусовая матрица почвенных гелей имеет многоуровневую организацию, и ее основными элементами являются фрактальные кластеры размером около 100 нм (Ф-кластеры) из первичных частиц ГВ размером несколько нанометров [5].

Как известно, размеры клеток бактерий в почве не превышают нескольких микронов [6]. Диапазон диаметра составляет 0.2–2.5 мкм, длины – 0.5–7.3 мкм, а средние размеры бактериальной клетки составляют 0.8–1.5 мкм. Встречаются в почве и более мелкие бактерии – нанобактерии (наноформы обычных бактерий), размеры которых составляют около 0.2–0.3 мкм [7].

С учетом того, что Ф-кластеры имеют размеры в большинстве случаев около 100 нм (100–200 нм), что много меньше размеров обычных почвенных бактерий и для большинства заметно меньше наноформ бактерий, появилась возможность сравнивать и классифицировать наблюдаемые в почвах объекты. Это позволяло чисто морфологическим путем попытаться решить задачу о времени и месте возникновения ГВ и соответственно ответить на вопрос о реализации “параллельного” или “последовательного” механизма их возникновения.

Целью работы явилось уточнение представлений о роли микроорганизмов в механизме образования ГВ в почвах.

В работе использовали образцы зональных почв из коллекции факультета почвоведения

МГУ им. М.В. Ломоносова: подзол иллювиально-железистый, подзолистая, дерново-подзолистая и серая лесная почвы, черноземы различных типов, светло- и темно-каштановая почвы, бурая полупустынная почва, серозем и краснозем.

Для получения дополнительной информации были поставлены модельные эксперименты с различными видами бактерий (*Bacillus subtilis*, *Arthrobacter globiformis*, *Pseudomonas fluorescens*) из коллекции почвенных микроорганизмов кафедры биологии почв МГУ им. М.В. Ломоносова. Культуры бактерий выращивали в течение 4 месяцев на скошенном агаре (агаризованная среда Чапека с сахарозой), предполагая, что за этот период часть клеток микроорганизмов начнет погибать, и результаты этого процесса можно будет увидеть при помощи растрового электронного микроскопа.

Для приготовления образцов для микроскопирования биомассу бактерий с агара помещали в стерильную водопроводную воду. Каплю суспензии наносили на атомно-гладкую поверхность свежерасщепленной слюды и высушивали образцы при 40°C.

Микроскопические исследования проводили при помощи растрового электронного микроскопа JEOL-6060A ("JEOL", Япония) с вольфрамовым катодом. На образцы перед исследованием напыляли платину, используя установку JFC-1600 ("JEOL").

Изучение растительных остатков в образцах зональных почв показало, что на них в большинстве случаев обнаруживаются либо частицы, соответствующие по размерам Ф-кластерам, либо смесь микроорганизмов и частиц, также соответствующих по размерам Ф-кластерам. Однако нередко удавалось наблюдать на растительных остатках только микроорганизмы. В качестве примера приведены микрофотографии образца, отобранного из горизонта подзолистой почвы (рис. 1). На рис. 1а видны частицы, соответствующие по размерам Ф-кластерам, но отсутствуют микроорганизмы; на рис. 1б хорошо видны микроорганизмы, а количество частиц, соответствующих по размерам Ф-кластерам, незначительно.

Проанализируем "параллельный" и "последовательный" процессы в динамике с помощью электронной микроскопии.

Практически на всех стадиях "параллельного" процесса, при котором происходит образование ГВ из продуктов распада биополимеров под влиянием синтетаза микроорганизмов, должны наблюдаться и микроорганизмы, и Ф-кластеры. На последней стадии после истощения продуктов питания и гибели микроорганизмов должны наблюдаться только Ф-кластеры. Вероятность увидеть на растительных остатках только микроорганизмы при отсутствии Ф-кластеров крайне мала, так как это воз-

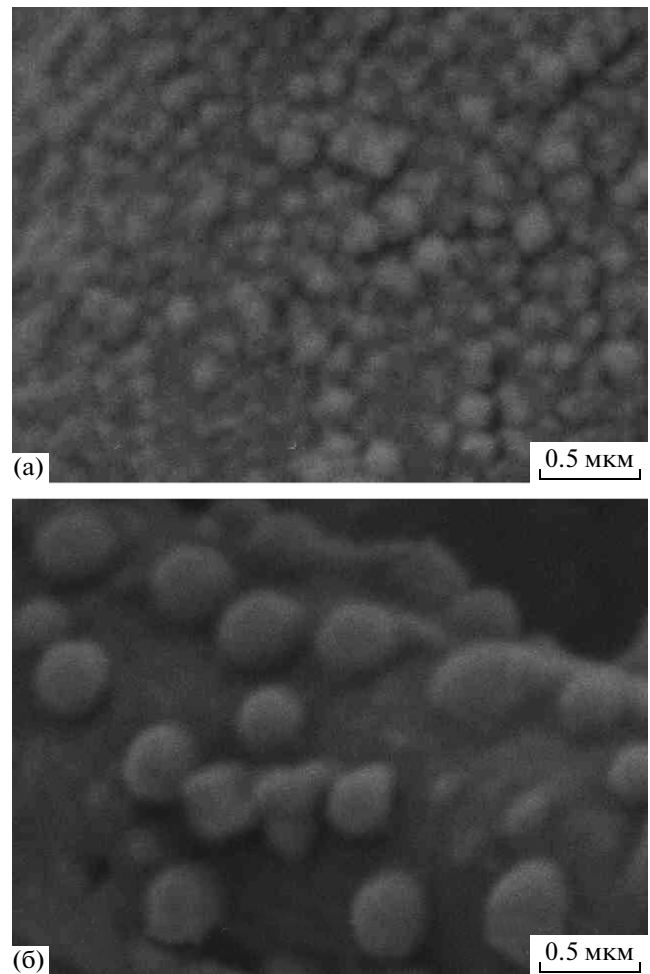


Рис. 1. Электронно-микроскопические фотографии растительных остатков в образце из горизонта подзолистой почвы. а — микроорганизмы на растительном остатке отсутствуют, но хорошо видны частицы, соответствующие по размерам Ф-кластерам. б — на растительном остатке хорошо видны микроорганизмы, но практически не наблюдается частиц, соответствующих по размерам Ф-кластерам.

можно на самой начальной стадии процесса разложения опада.

Из полученных результатов (рис. 1б) следует, что вероятность наблюдения, в основном, микроорганизмов достаточно велика при развитии процесса образования ГВ по "последовательному" механизму и крайне мала при развитии процесса по "параллельному" механизму. При этом сделать из полученных при изучении почв данных однозначный вывод о реализации в почвах "параллельного" или "последовательного" механизма образования ГВ не представляется возможным.

На следующем этапе работы было проведено исследование преобразования микроорганизмов на поздней стадии их развития. При этом удалось получить более однозначную информацию. Выяснилось, что при отмирании на поздних стадиях

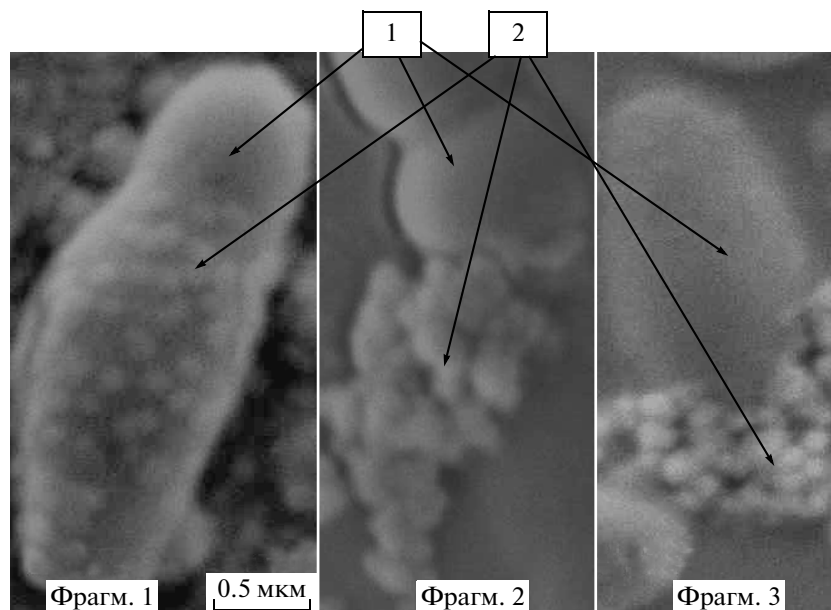


Рис. 2. Электронно-микроскопические фотографии *Arthrobacter globiformis*. 1 — микроорганизмы; 2 — частицы, соответствующие по размерам Φ -кластерам.

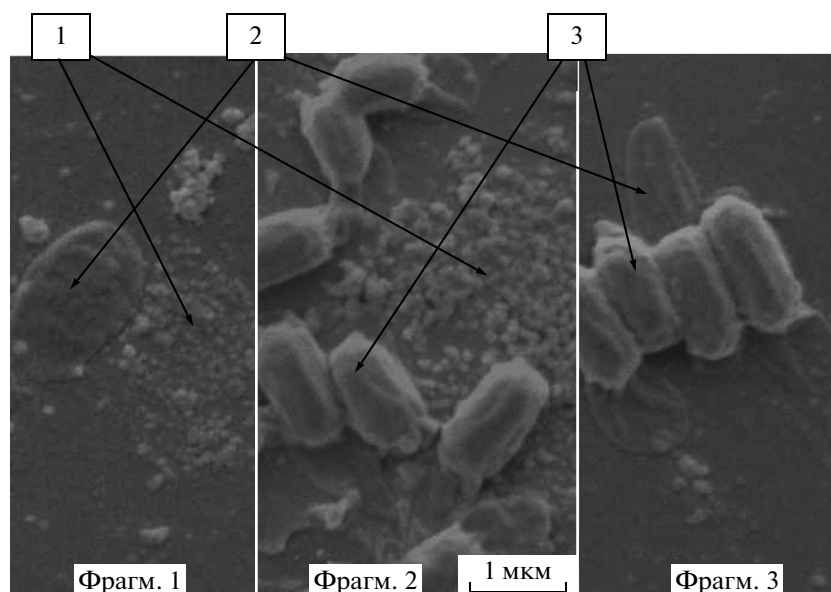


Рис. 3. Электронно-микроскопические фотографии *Bacillus subtilis*. 1 — частицы, соответствующие по размерам Φ -кластерам; 2 — оболочки микроорганизмов; 3 — споры микроорганизмов.

развития популяции некоторые микроорганизмы распадаются на частицы, величина которых соответствует размеру Φ -кластеров. Так ведут себя как грамположительные (*Arthrobacter globiformis*), так и грамотрицательные (*Pseudomonas fluorescens*) бактерии (рис. 2). Грамположительные бактерии (*Bacillus subtilis*) образуют споры. Некоторые клетки этих бактерий в результате аутолиза распадаются до частиц, соответствующих по размерам Φ -кластерам (рис. 3).

Суммируя всю полученную экспериментальную информацию, можно сказать:

нам удалось наблюдать существование на растительных остатках микроорганизмов при практически полном отсутствии Φ -кластеров, что было бы крайне маловероятным, если бы возникновение ГВ шло по “параллельному” механизму;

при гибели микроорганизмов образуются частицы, размеры которых соответствуют Φ -кла-

стерам, что свидетельствует в пользу “последовательного” механизма возникновения ГВ.

Таким образом, проведенные эксперименты косвенно на основании только микроморфологической информации указывают на возможность образования ГВ в почвах по “последовательному” механизму при гибели микроорганизмов и отрицают возможность возникновения ГВ по “параллельному” механизму.

Дополнительное подтверждение правильности подобного вывода можно получить при анализе процесса образования ГВ. Микроорганизмы, обитая в почвах, должны приспосабливать среду для своего существования, а, значит, реутилизируемые продукты распада клеток должны быть предназначены для выполнения важной для микроорганизмов функции и их нельзя рассматривать как случайный побочный продукт, присутствующий в почвах благодаря его высокой устойчивости [3]. Одним из предположений при подобном подходе является использование микроорганизмами ГВ в качестве “депо” питательных веществ для обеспечения почвенного гомеостаза. Однако “параллельный” механизм образования ГВ, включающий выделение ферментов для разложения биополимеров, ферментов для полимеризации продуктов разложения биополимеров, и наконец ферментов, разлагающих ГВ, с точки зрения энергоэффективности не может быть основой почвенного гомеостаза, так как все процессы образования ферментов энергозатратны и выигрыша энергии для микроорганизмов в этом случае ожидать доволь-

но трудно [1]. Следовательно, объяснить с позиций “параллельного” механизма необходимость ГВ для микроорганизмов как “депо” питательных веществ достаточно сложно, и основная проблема связана с затратой микроорганизмами энергии на синтез ферментов для образования и разрушения полимеров (макромолекул) ГВ.

Проведенные эксперименты и анализ происходящих в почвах при образовании ГВ процессов позволяют предполагать, что образование фрактальных кластеров из супермолекул ГВ происходит в почвах по “последовательному” механизму, при гибели микроорганизмов бактериального сообщества внутри погибающих клеток и, по-видимому, с участием неких затравочных молекул.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Тейт Р.* Органическое вещество почвы: Биологические и экологические аспекты. М.: Мир, 1991. 400 с.
2. *Кононова М.М.* Органическое вещество почв. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 314 с.
3. *Орлов Д.С.* Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: Изд-во МГУ, 1990. 325 с.
4. *Piccolo A.* // Soil Sci. 2001. V. 166. № 11. P. 810–832.
5. *Федотов Г.Н., Добровольский Г.В.* // Почвоведение. 2012. № 8. С. 908–920.
6. *Гузев В.С., Звягинцев Д.Г.* // Микробиология. 2003. Т. 72. № 2. С. 221–227.
7. *Лысак Л.В., Лапыгина Е.В., Конова И.А., Звягинцев Д.Г.* // Почвоведение. 2010. № 7. С. 819–824.