

НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии.
2010. – Т. 19, № 2. – С. 83-91.

УДК 631.46

НЕКОТОРЫЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА ГОРОДА НОВОКУЙБЫШЕВСКА В ОСЕННИЙ ПЕРИОД

© 2010 Т.А. Овчинникова, Н.В. Прохорова, Т.А. Панкратов*

Самарский государственный университет, г. Самара (Россия)

Поступила 03 июля 2009 г.

Представлены результаты микробиологических исследований почвенных образцов, отобранных на территории города Новокуйбышевска. Выявлены 3 доминирующих рода микроорганизмов: *Rhodococcus*, *Bacillus* и *Actinomycetes*. Отмечено четкое снижение доли *Actinomycetes* от центра к периферии города по всем исследованным направлениям 6-км зоны города.

Ключевые слова: микробокомплекс, доминирующие роды, урбаноземы.

Ovchinnikova T.A., Prokhorova N.V., Pankratov T.A. SOME MICROBIOLOGICAL PECULIARITIES OF THE NOVOKUIBYSHEVSK TOPSOIL IN AUTUMN PERIOD

The microbiological study results of soil samples collected in the Novokuibyshevsk city are presented. The three dominating genera of bacteria and actinomycetes: *Rhodococcus*, *Bacillus* and *Actinomyces*, are revealed. The clear decrease of *Actinomycetes* value from city centre up to periphery is obtained for all researched directions in 6-km city zone.

Key words: microbial complex, dominating genera, urbanozems.

ВВЕДЕНИЕ

В системе многоуровневого мониторинга почв, включающей долговременные и краткосрочные наблюдения, показатели состояния почвенной микрофлоры относятся к наиболее чувствительным. Именно они определяют, так называемую, раннюю диагностику почв. Для этой цели используются такие показатели как общая численность микроорганизмов, видовой состав, биомасса, интенсивность дыхания почв (Бабьева, Зенова, 1989). Определение этих параметров позволяет обнаружить тенденции и скорость происходящих в почве изменений. Однако микробиологические показатели сильно варьируют, и поэтому для более надежной диагностики почв по состоянию микрофлоры необходим предварительный отбор показателей из разряда ее количественных и качественных харак-

* Овчинникова Татьяна Анатольевна, кандидат биологических наук, доцент; Прохорова Наталья Владимировна, доктор биологических наук, профессор; Панкратов Тимофей Анатольевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник.

теристик, которые обладают большей стабильностью в условиях конкретных экосистем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Наши исследования осуществлялись на территории г. Новокуйбышевска, в зоне, ограниченной радиусом 6 км от центра города. На данной территории были отобраны 10 почвенных образцов в 4 радиальных направлениях: на север, юг, восток и юго-запад. Схематичное расположение точек отбора представлено на рис. 1.

Отбор проб, согласно правилам микробиологического анализа почв, находящихся под прямым аэротехногенным воздействием, проводили путем отбора пластов почвы площадью 10 x 10 см и глубиной 5-10 см с 5-10 участков на исследуемой территории (рис. 1). Сухая почва просеивается через сито с диаметром отверстий 2 мм. В качестве питательной среды для посева почвенной суспензии использовался универсальный питательный агар (Добровольская и др., 1989).

Анализ микробиологических посевов из исследуемых почвенных образцов проводился для оценки общей численности микроорганизмов, выявления качественного состава микрофлоры и выявления связи этих показателей с техногенным загрязнением почв района исследований нефтепродуктами и тяжелыми металлами. Инкубирование посевов проводили при 28°C.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего было выявлено 11 морфотипов колоний микроорганизмов. Для наиболее многочисленных из них была проведена таксономическая идентификация. Анализ каждого визуально выделяемого типа колонии проводили путем тестирования нескольких однотипных колоний. Каждый из исследуемых морфотипов колоний был пересеян на ту же питательную среду на скошенном агаре. Полученные изоляты исследовались в динамике на 3, 5 и 7 дни их инкубации. Для этого проводилось микроскопирование, окрашивание по Граму и наблюдение за изменением формы и размеров вегетативных клеток бактерий и динамики образования спор и других форм возрастной модификации клеток бактерий. На основе совокупной картины микроскопии изолятов колоний и их макроскопической картины осуществили частичную крупноранговую идентификацию микроорганизмов (Определитель бактерий..., 1997).

Отбор проб для микробиологических исследований проводился в середине сентября 2005 г. Отбору почвенных образцов предшествовала 2-х месячная засуха. По нашим данным, общая численность микроорганизмов в разных точках оказалась достаточно низкой и колебалась на бактериальной питательной среде от 4×10^6 до 58×10^6 КОЕ на 1 г почвы, а на среде Чапека – от 1×10^6 КОЕ до 42×10^6 КОЕ на 1 г почвы (рис. 2, 3).

На схеме (рис. 4) представлены данные по общей численности микроорганизмов, обнаруженных при исследовании почвенных образцов из 10 экологически контрастных точек г. Новокуйбышевска, расположенных по 4-м направлениям. Довольно хорошо прослеживается увеличение общей численности от центра города к периферии на север, юг, юго-запад. На основании данных общей численности можно выделить центральную зону, радиусом до 3 км, где характерна низкая численность микроорганизмов – от 4×10^6 до 28×10^6 КОЕ на 1 г поч-

вы, и вторую зону с большими показателями численности – от 27×10^6 до 56×10^6 на 1 г почвы.

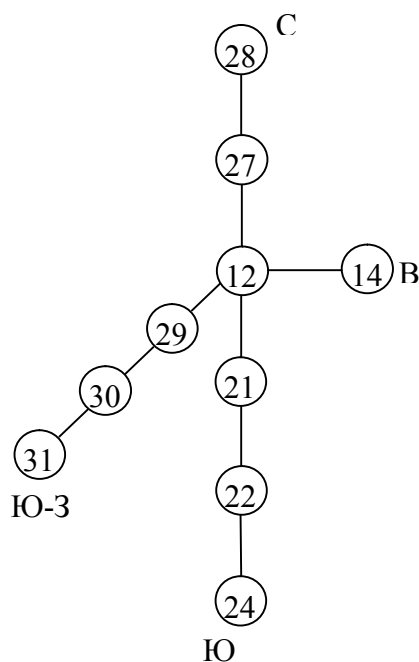


Рис. 1. Схема расположения точек отбора образцов почвы для микробиологического анализа, в кружках – номера точек отбора образцов

Показатели общей численности микроорганизмов чаще всего используются для характеристики биологической активности почв, но ряд авторов отмечает нестабильность этого показателя, определенную противоречивость получаемых данных (Воробейчик и др., 1991). Так, при исследовании почвенной микрофлоры в модельных экспериментах с одноразовым внесением загрязняющих веществ отмечается увеличение общей численности микроорганизмов или численности отдельных физиологических групп (Воробейчик и др., 1991; Медведева, Яковлев, 2004; Усачова и др., 2004; Колесников, 2005). Исследование почв городских территорий, находящихся в условиях постоянного комплексного антропогенного загрязнения, также обнаруживает разноречивые данные (Полянская и др., 2001; Артамонова, Сысо, 2005).

Анализ литературы показал, что более надежными индикаторами изменения состояния почвенной микрофлоры являются показатели, полученные на основе анализа качественного состава микрофлоры (Марфенина, 1994; Медведева, Яковлев, 2004). Почвенный микробокомплекс - достаточно устойчивая адаптивная живая система. Упругая устойчивость микробных сообществ к аэротехническому загрязнению проявляется в смещении фокуса функционирования в сторону адаптивных по отношению к загрязнителям форм (Медведева, Яковлев, 2004). Адаптация микробокомплекса урбаноземов диагностируется в основном на уровне крупноранговых таксонов, реже - на уровне видового состава (грибы, водоросли), а в случае исследования бактериальной флоры идентификация ве-

дется до рода и более крупных таксонов (Добровольская и др., 1989; Колесников, 2005).

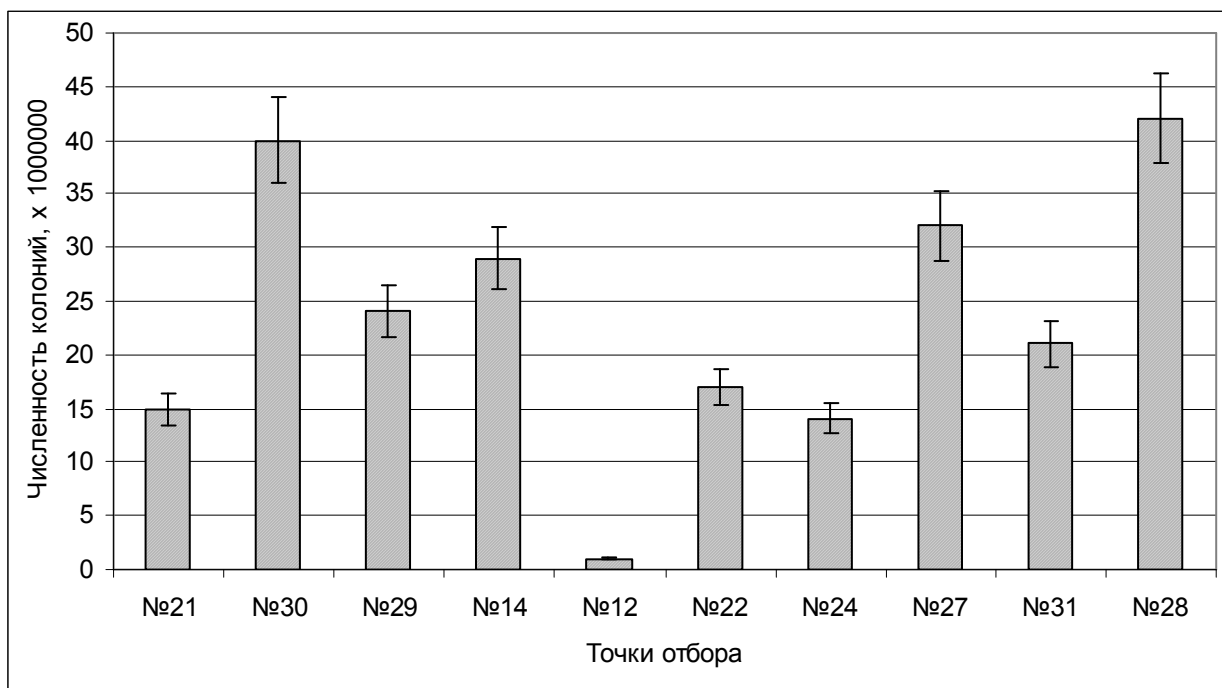


Рис. 2. Общая численность колоний микроорганизмов на среде Чапека

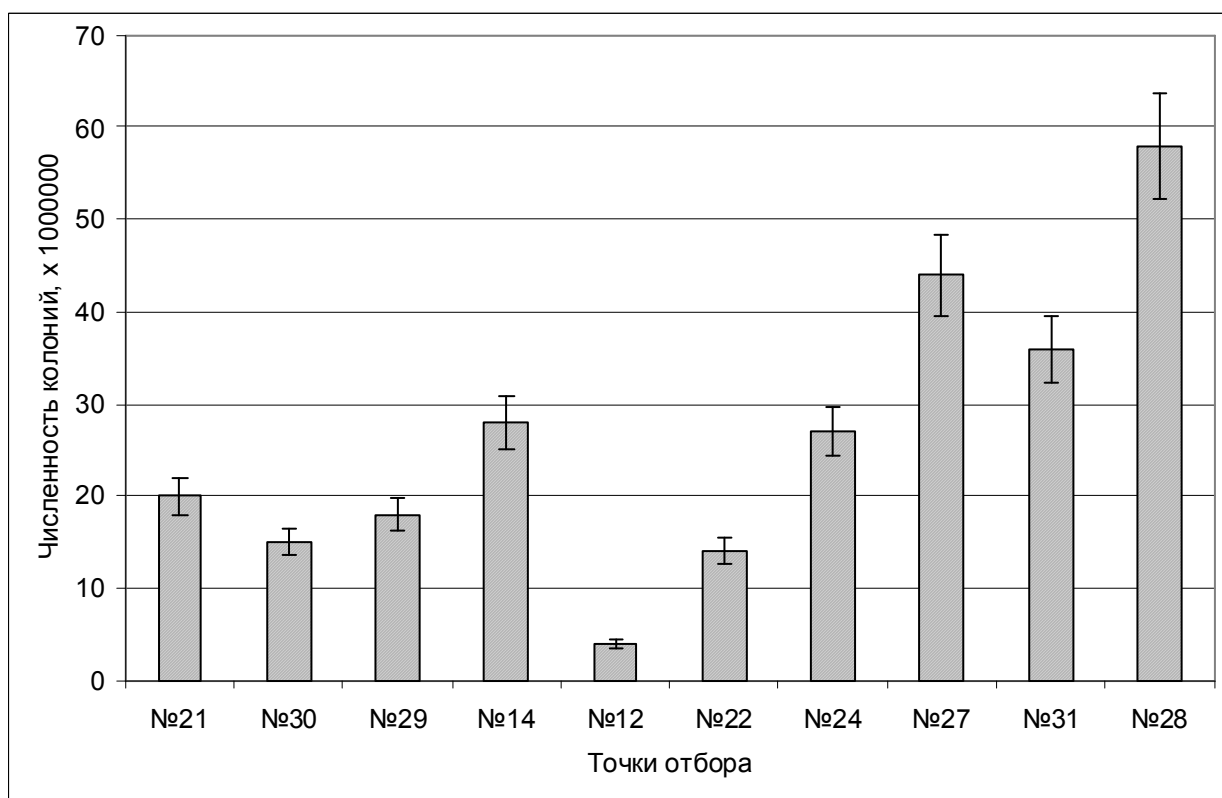


Рис. 3. Общая численность колоний микроорганизмов на бактериальной среде

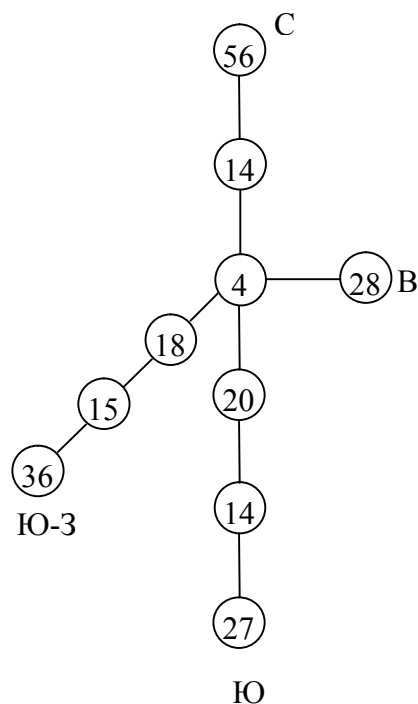


Рис. 4. Показатели общей численности почвенных микроорганизмов на исследуемой территории г. Новокуйбышевска, в кружках - $n \times 106$ КОЕ на 1 г почвы

Наши исследования показали, что большая часть выявленных колоний микроорганизмов относится к группе грамположительных бактерий и варьирует в разных точках отбора от 62 до 100%. Эта группа микроорганизмов более устойчива к засухе, хорошо переносит неблагоприятные условия за счет образования спор, способных долго сохраняться в почве. Обнаруженные нами грамотрицательные бактерии также отличает относительно высокая устойчивость к неблагоприятным условиям. Грамотрицательные миксобактерии являются обычными обитателями почв степей и полупустынь. Столь высокий крен в сторону грамположительных бактерий в исследуемых почвах связан, видимо, с продолжительным периодом засухи, предшествующему сентябрьскому отбору почв.

Анализ соотношения численности бактерий и грибов в исследуемых почвах проводили по соотношению колоний выявленных групп микроорганизмов в посевах на бактериальной питательной среде и на среде Чапека, преимущественно поддерживающий развитие грибов. Грибные колонии на обеих средах достоверно не учитывались, но и там, и там обнаруживались единичные колонии грибов одного рода – *Penicillium*. Из почв точек отбора № 12, 28, 31 грибные колонии не высевались даже на агар Чапека. Снижение грибного представительства в почвенной микрофлоре урбаноземов отмечается рядом авторов (Марфенина, 1994; 2005).

Согласно литературным данным качественные показатели почвенной микрофлоры, в частности, показатели разнообразия бактериальной микрофлоры почв, оцениваемой по числу морфотипов колоний, надежней характеризуют состояние биологической активности почв в условиях загрязнения. Для почв с бо-

лее высоким уровнем загрязнения отмечается большее разнообразие микроорганизмов (Медведева, Яковлев, 2004; Колесников, 2005; Марфенина, 2005).

Полученные нами данные по разнообразию бактериальной флоры обнаруживает отсутствие связи между показателем общим численности микроорганизмов и показателями бактериального разнообразия..

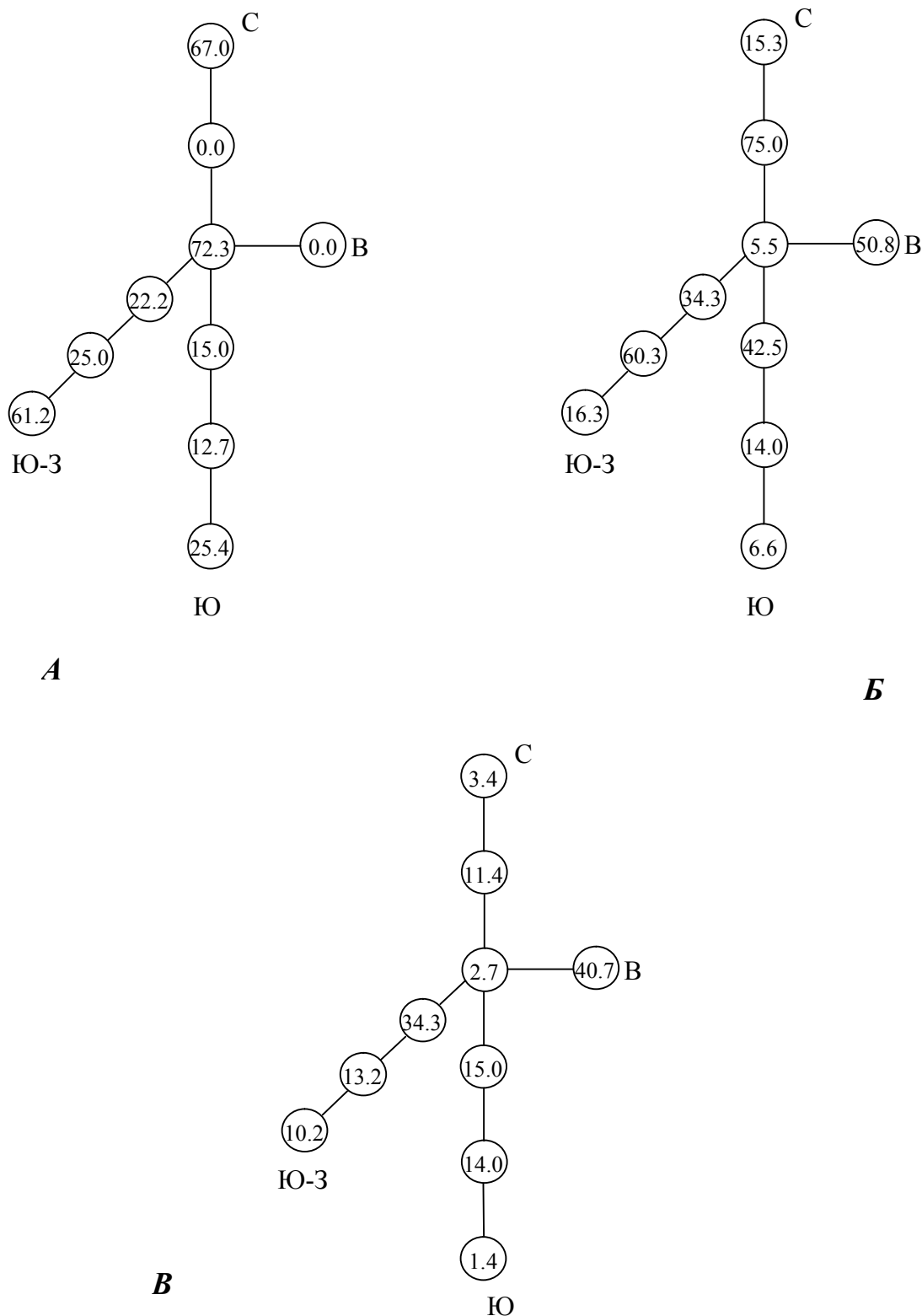


Рис. 5. Представительство микроорганизмов в почвах г. Новокуйбышевска, %: А - рода *Rhodococcus*, Б – *Bacillus*, В – *Streptomyces*.

Более 50% колоний на агаре из каждого исследуемого почвенного образца являются представителями 3-х групп грамположительных микроорганизмов. Это представители родов *Rhodococcus* (от 0 до 75,4%), *Bacillus* (от 5,5 до 75%), *Actinomycetes* (от 2,7 до 40,7%). Схемы их долевого участия в почвах всех рассматриваемых точек отбора представлены на рис. 5 А, Б, В.

Долевое участие колоний (%) рода *Rhodococcus*, *Bacillus* и *Actinomycetes* в исследуемых почвенных образцах характеризуется прямой или обратной корреляционной связью с показателями общей численностью микроорганизмов.

Представители родов *Rhodococcus* и *Bacillus* относятся к разряду наиболее обильных и динамичных, именно они определяют уровень показателя общей численности микроорганизмов (табл. 2). Доля колоний рода *Rhodococcus* падает от периферии к центру исследуемой территории в северном, южном и юго-западном направлении. Максимальное значение долевого участия *Rhodococcus* приходится на самые периферийные участки и составляет соответственно в северном направлении 67,0%, в южном - 75,4%, в юго-западном – 61,2%. В городской черте этот показатель колебался от 0 до 25,0% (рис. 5). Для представителей родов *Bacillus* и *Actinomycetes* характерно обратное по отношению к общей численности микроорганизмов распределение и удаленности от центра города распределение. Минимальная величина доли колоний этих родов отмечается в посевах, произведенных из периферических точек (№ 28, 24, 31) (рис. 5 А, Б).

При сопоставлении показателя общей численности микроорганизмов и представительства *Actinomycetes* в исследуемых точках территории города была обнаружена более строгая почти линейная связь (рис. 5). В центральной части территории города с радиусом до 3 км доленое участие *Actinomycetes* оказывается достаточно высоким и колеблется в пределах от 11,4 до 40,7%, в то время как на расстоянии до 6 км этот показатель падает по всем рассматриваемым направлениям (рис. 5 В).

Ряд авторов, характеризуя загрязнение почв, также отмечают увеличение доли актиномицетов в системе почвенного микробокомплекса под влиянием техногенного загрязнения (Артамонова, Сысо, 2005; Колесников, 2005). Среди *Streptomyces*, выделенных нами на бактериальной среде, основная масса колоний имела хорошо выраженную пигментацию. Часть из этих колоний выделяла пигмент в агар. Внутриклеточная пигментация (окраска колоний) и внеклеточная пигментация (окраска агара) варьировала в широкой цветовой гамме: от коричнево-зеленых до синих.

Одной из функций микробиальных пигментов является антибиотическая функция, позволяющая им защищаться и эффективно бороться за субстрат (Звягинцев, 1978, 2001; Егоров, 1994). Известно, что наиболее эффективными продуцентами антибиотиков в почве являются представители *Actinomycetes* и рода *Bacillus* (Егоров, 1994; Звенигородский и др., 2004). Вероятно, что в условиях города в урбаногемах максимальное преимущество получают микроорганизмы, обладающие высокой биохимической агрессивностью. Исследуемые почвенные образцы характеризуются высокой гумусностью (более 7%) и высоким значением рН (от 7,0 до 8,5), что создает преимущества для развития бактериальной микрофлоры, среди которой в черте г. Новокуйбышевска преобладают *Actinomycetes* и *Bacillus*.

В картину описанных выше закономерностей изменения исследуемых показателей не укладывается одна точка (№ 12) - газон на пл. Ленина с существенно трансформированной и переуплотненной почвой.

Соотношение индикаторных родов бактерий в этой точке сходны с таковыми, полученными для периферийной зоны города. Одновременно можно отметить, что для данного почвенного образца выявлена высокая аммонифицирующая активность почв).

Возможно, что причиной этого являются особые микроклиматические условия среды, защищенность древесной растительностью, снижающие уровень антропогенного воздействия на почвы. Возможно также, что анализ переуплотненных почв по показателям микробиологической активности, проведенный на насыпных разрыхленных образцах, ведет к некоторому сдвигу состояния образца, отражением чего является активация микрофлоры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате микробиологических исследований 10 почвенных образцов, отобранных на территории г. Новокуйбышевска в радиусе 6 км от центра по четырем направлениям (север, юг, юго-запад и восток), нами были обнаружены следующие закономерности.

Общая численность микроорганизмов обнаруживает некоторую тенденцию к увеличению от центра города к его периферии, что не характерно для их био-разнообразия.

Наиболее многочисленными оказались микроорганизмы, принадлежащие группе грамположительных бактерий (*Rhodococcus*, *Bacillus* и *Actinomycetes*). Их количество превышает 50% от общего числа колоний в посевах.

Наиболее информативными и стабильными в отношении диагностики почв были показатели обилия (%). В частности, отмечено четкое снижение доли *Actinomycetes* от центра к периферии города по всем основным исследованным направлениям его 6-км зоны.

С учетом того, что представители всех доминирующих групп бактерий являются устойчивыми к комплексу неблагоприятных условий среды, полученные нами результаты вполне закономерны. Представители рода *Bacillus* и *Actinomycetes* известны как продуценты антибиотиков, что дает им преимущество в борьбе за органический субстрат и позволяет доминировать. Представители родов *Rhodococcus* и *Actinomycetes* обладают способностью использовать в качестве субстрата разнообразные органические соединения, в том числе алифатические углеводороды и ароматические соединения разнообразной структуры, широко представленные в почвах г. Новокуйбышевска.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Артамонова В.С., Сысо А.И.** Городская среда обитания микроорганизмов // Экология и биология почв. Матер. междунар. науч. конф. Ростов-на-Дону, 2005. С. 33-36.
- Бабьева И.П., Зенова Г.М.** Биология почв. М.: Наука, 1989. 289 с.
- Воробейчик Е.Л., Садиков О.Ф., Фарафонов М.Г.** Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем. Екатеринбург: УИФ «Наука», 1991. 277 с.
- Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н., Лысак Л.М.** Методы выделения и идентификации почвенных бактерий. Учебное пособие. М.: МГУ, 1989. 72с.
- Егоров Н.С.** Основы учения об антибиотиках. М.: МГУ, 1994. 512 с.
- Звенигородский В.И.** Микробы-антагонисты (стрептомицеты и бациллы) выделенные из почв разных типов. Почвоведение, 2004. № 7. С. 860-866. - **Звягинцев Д.Г.** Биологическая ак-

тивность почв и шкала для оценки некоторых ее показателей // Почвоведение, 1978. № 6. С. 48-54. - **Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М.** Экология актиномицетов. М.: ГЕОС, 2001. 257 с.

Колесников С.И. Использование показателей биологической активности в целях мониторинга диагностики и нормирования нефтезагрязненных почв // Экология и биология почв. Матер. междунар. науч. конф. Ростов-на-Дону, 2005. С. 218-223.

Марфенина О.Е. Микологический мониторинг почв: возможности и перспективы. Почвоведение, 1994. №1. С. 75-80. - **Марфенина О.Е.** Микроскопические грибы в антропогенно нарушенных почвах: результаты исследования и перспективы // Экология и биология почв. Матер. междунар. науч. конф. Ростов-на-Дону, 2005. С. 304-306. - **Медведева М.В., Яковлев А.С.** Микробиально-биохимическая индикация состояния антропогенно нарушенных почв восточной фенноскандии // Экология и биология почв. Матер. междунар. науч. конф. Ростов-на-Дону, 2004. С. 177-178.

Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта и др. М.: Мир, 1997. Т. 1, 2.

Полянская Л.М., Никонов В.В., Лукина И.В., Паникова А.Н., Звягинцев В.Г. Микроорганизмы Al-Fe-гуминовых подзолов сосняков лишайниковых в условиях аэротехногенного загрязнения // Почвоведение, 2001. № 2. С. 215-226.

Усачова А.Н., Сиганова Н.В., Полещук О.Е. Влияние процессов почвенной деградации на количественный состав бактерий, актиномицетов и грибов // Экология и биология почв. Матер. междунар. науч. конф. Ростов-на-Дону, 2004. С. 308-312.