

УДК 579.64:631.46

**МОНИТОРИНГ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВ, РАСПОЛОЖЕННЫХ
В ОКРЕСТНОСТЯХ СИБАЙСКОЙ ОБОГАТИТЕЛЬНОЙ ФАБРИКИ,
МЕТОДОМ МУЛЬТИСУБСТРАТНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ**

Семенова И.Н., Зулкарнаев А.Б., Ильбулова Г.Р., Суяндукров Я.Т.

ГАНУ «Институт региональных исследований», Сибай, e-mail: sibfan@mail.ru

Методом мультисубстратного тестирования было изучено состояние почвенных микробных сообществ, находящихся в зоне воздействия горнорудного предприятия, загрязняющего окружающую среду тяжелыми металлами. Показано, что в радиусе 0,5 км от источника загрязнения микробные сообщества верхних почвенных горизонтов представляют собой необратимо нарушенные системы. Состояние таких систем улучшается по мере удаления от обогатительной фабрики на расстояние 15 км.

Ключевые слова: микробные сообщества почв, тяжелые металлы

**MONITORING MICROBIAL SOIL SOCIETIES IN A VICINITY OF SIBAI
CONCENTRATION PLANT BY MULTISUBSTRATE TESTING**

Semenova I.N., Zulkarnaev A.B., Ilbulova G.R., Sujundukov Y.T.

*State Autonomous Scientific Enterprise (SASE) Institute of Regional Studies, Sibai,
e-mail: sibfan@mail.ru*

Condition of soil microbial societies in a zone of impact of mining enterprise, polluting environment by heavy metals, has been studied by method of multisubstrate testing. It is shown, that microbial communities of upper soil horizons in a radius of 0,5 km from the source of pollution are irreversibly disturbed systems. Condition of such systems is improved with moving from concentration plant to a distance of 15 km.

Keywords: microbial communities of soils, heavy metals

В настоящее время бурное развитие горнодобывающей и рудоперерабатывающей промышленности привело к загрязнению окружающей среды. В процессе функционирования горнодобывающих предприятий происходит техногенное загрязнение почвы, воздуха и воды, что разрушительно влияет на природные сообщества, в том числе и микробные. Состояние почвенных микробных сообществ может служить индикатором благополучия почвенных экосистем. Существующие классические методы изучения микрофлоры почвы зачастую очень трудоемки и не всегда достоверны. Оценка реального фенотипического биоразнообразия микробных сообществ традиционными культуральными методами представляет проблему, так как в данном местообитании могут присутствовать какие-то некультивируемые или просто не растущие на данной среде формы. Общее биоразнообразие микробных сообществ включает в себя такие составляющие, как генотипическое и функциональное биоразнообразие. Оценка генотипического биоразнообразия можно проводить с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), однако ограниченность набора праймеров, дорогостоящая исследования не позволяет широко внедрить в практику этот метод. Функциональное биоразнообразие проявляется как разнообразие реализованной в данном местообитании функционально значимой генетической информации. Наиболее удоб-

ным и доступным инструментом измерения функционального биоразнообразия является метод мультисубстратного тестирования (МСТ) [1, 2].

В основе МСТ лежит анализ спектров потребления субстратов (СПС) природными микробными сообществами. По существу эта система представляет полную реализацию на современном уровне классической идеи С.Н. Виноградского о методе, позволяющем регистрировать реакцию сложного природного микробного сообщества на предлагаемый к использованию широкий спектр разнообразных углеродсодержащих соединений.

К достоинствам МСТ можно отнести высокую чувствительность при регистрации разнообразных изменений в микробном сообществе, что связано с исключительно богатой комбинаторикой сигналов. Регистрация и обработка данных осуществляются с помощью современных компьютерных технологий, что позволяет эффективно и быстро охарактеризовать структурно-функциональные особенности микробных сообществ.

Цель данной работы заключалась в изучении состояния микробных сообществ почв в окрестностях Сибайской обогатительной фабрики (СОФ), являющейся источником загрязнения (ИЗ) окружающей среды тяжелыми металлами, методом МСТ. Территория г. Сибай Республики Башкортостан расположена в зоне влияния крупного

перерабатывающего предприятия – Сибайского филиала Учалинского горнообогатительного комбината (СФ УГОК), в состав которого входит ряд промышленных объектов, в том числе обогатительная фабрика и карьер по добыче медно-серной руды. Одним из источников загрязнения почвы ионами тяжелых металлов является хвостохранилище. Отсутствие водного слоя в западном отсеке хвостохранилища способствует выносу пылевых частиц, содержащих компоненты хвостов обогащения, на поверхность земли. В результате этого верхние горизонты почв в большей степени загрязнены тяжелыми металлами по сравнению с нижними горизонтами [3].

Нами были исследованы образцы верхнего горизонта почвы (0–20 см), отобранные на пробных площадках, расположенных на удалении 0,5 км (№1), 5 км (№2) и 15 км (№3) от ИЗ в восточном направлении по преобладающей розе ветров.

Для проведения МСТ использовали стандартные планшеты для иммунологических тестов, представляющие собой пластины из прозрачного пластика с 96 ячейками, содержащими 47 субстратов (сахара, спирты, соли органических кислот, аминокислоты, амины, амиды, нуклеозиды) в 2-х повторностях. Две ячейки были контрольными. Данные планшеты с субстратами были приготовлены на кафедре биологии почв факультета почвоведения Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова под руководством М.В. Горленко. В каждую ячейку был добавлен определенный субстрат, набор минеральных солей, тетразолий фиолетовый (как индикатор потребления субстрата) и 0,2 мл почвенной суспензии после ультразвуковой обработки и центрифугирования.

Микрокюветы инкубировали 72 часа при температуре 28 °С. При росте микроорганизмов в ячейках происходило восстановление неокрашенных солей тетразолия до бордово-окрашенного формазана, который накапливался в ячейках в виде гранул. Регистрацию окраски осуществляли с помощью многоканального фотометра (ридера) при 510 нм. Для окончательного выражения окрашенности ячейки использовали показатель

$$D = (C - R) / [(C - R) / N],$$

где C – выраженная в показаниях прибора окраска данной ячейки; R – то же для контрольной ячейки; N – число субстратов содержащих ячеек [1].

Сравнение микробных сообществ почвенных образцов на базе трансформированных вышеуказанным образом данных проводили в системе *STATISTICA*.

Обработка результатов МСТ проводилась в несколько этапов – от простого к сложному. На начальной стадии оценивались количество используемых субстратов и интенсивность их потребления.

Анализ спектров ассимиляции субстратов различными почвенными суспензиями показал, что существуют четкие количественные и качественные различия в их потреблении, позволяющие говорить о наличии характерного спектра ассимиляции для почвенных образцов определенного типа. Так, микробные сообщества наиболее загрязненного почвенного образца №1, взятого на расстоянии 0,5 км от ИЗ, из 47 субстратов ассимилировали только 9 (арабинозу, глюкозу, цитрат, глицин, пролин, галактозу, гистидин, твин 80, фруктозу), в то время как для образца №3, расположенного в 15 км от ИЗ, это показатель был равен 19 (рисунок).

Почвенное микробное сообщество представляет собой сложную иерархическую систему, элементы которой определенным образом взаимоупорядочены в соответствии с ранговым распределением. Авторами метода МСТ была предложена трехпараметрическая модель рангового распределения потребления субстратов почвенным микробным сообществом почв [1]:

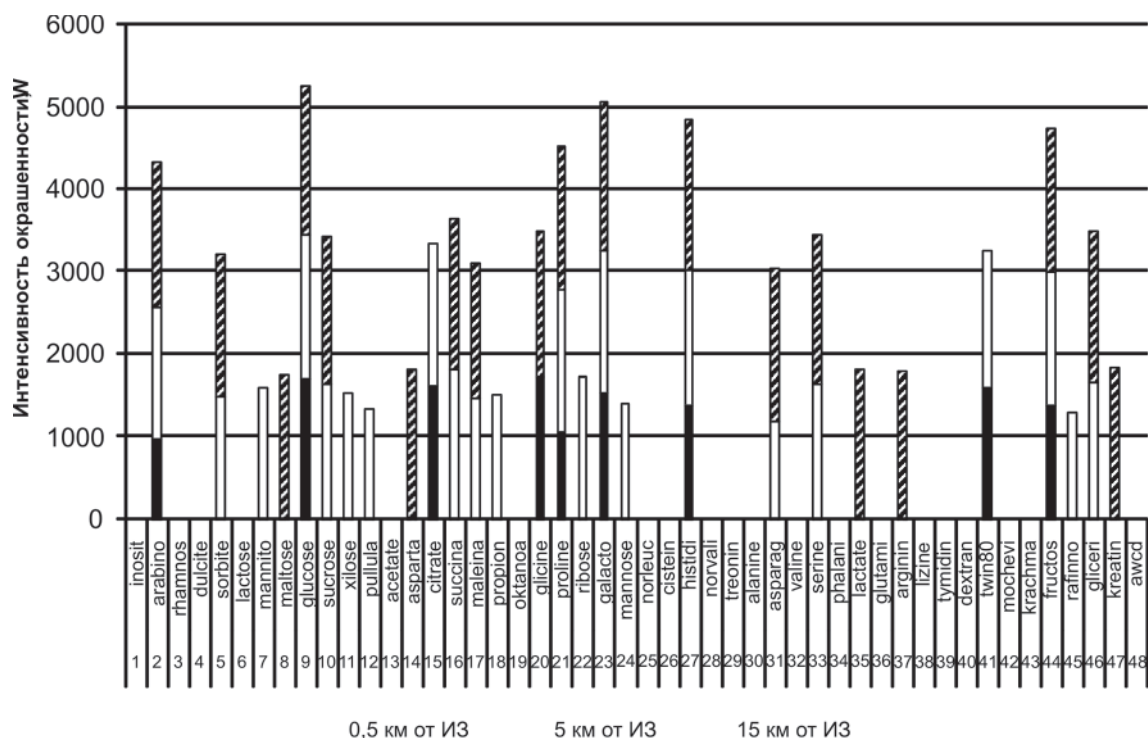
$$F(n) = E_0 - be^n d^n,$$

где $n = \ln(N)$, N – номер ранга; $F(n) = \ln(y_N)$, y_N – интенсивность потребления субстрата ранга N , e – основание натурального логарифма, E_0 , b , d – параметры.

Согласно литературным данным [1], наиболее информативным является коэффициент d , отражающий стабильность сообщества. Стабильность – это способность экосистемы вернуться в прежнюю область устойчивого равновесия после временного воздействия какого-либо фактора. В зависимости от значения коэффициента d экосистема имеет разную степень изменения от благополучной с максимальным запасом прочности до необратимо нарушенной (таблица).

Зависимость характера системы от значения d [1]

Значение d	Описание системы
0,01–0,1	Благополучная избыточная система с максимальным запасом прочности
0,1–0,4	Устойчивая стабильная система
0,4–0,8	Система с истощенными ресурсами или система, находящаяся под обратимым воздействием какого-либо нарушающего фактора
0,8–1,0	Кризисная дестабилизированная система
Более 1,0	Необратимо нарушенная система



Спектр ассимиляции субстратов микробными сообществами почв, находящихся на различном расстоянии от Сибайской обогатительной фабрики

Результаты нашего исследования свидетельствуют, что к необратимо нарушенным системам относятся почвенные микробные сообщества с участка №1 (0,5 км от ИЗ). В данном случае параметр d был равен 1,2. К устойчивым стабильным системам можно отнести микробные сообщества почв с участка №2 (5 км от ИЗ) с d , равном 0,2, а к благополучным избыточным системам с максимальным запасом прочности – сообщества с участка №3 (15 км от ИЗ) с d , равном 0,05.

Таким образом, можно заключить, что с приближением к источнику техногенного загрязнения состояние микробных сообществ почвенных экосистем ухудшается. В радиусе примерно 0,5 км от источника загрязнения микробные сообщества являются наиболее подверженными техногенному загрязнению.

Список литературы

1. Горленко М.В., Кожевин П.А. Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ: учебное пособие. – М.: МАКС Пресс, 2005. – 88 с.

2. Горленко М.В., Кожевин П.А. Дифференциация почвенных микробных сообществ с помощью мультисубстратного тестирования // Микробиология. – 1994. – Т. 63, №2. – С. 289–293.

3. Семенова И.Н., Ильбулова Г.Р., Суюндуков Я.Т. Влияние техногенного загрязнения на стабильность микробных сообществ почвенных горизонтов // Уралэкология. Природные ресурсы: тезисы докл. Всерос. конф. – Уфа, 2005. – С. 163–164.

Рецензенты:

Янтурин С.И., д.б.н., зав. кафедрой экологии Сибайского института (филиал) ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г. Сибай,

Мазгаров И.Р., д.б.н., зав. кафедрой физиологии человека и животных Сибайского института (филиал) ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г. Сибай.

Работа поступила в редакцию 15.02.2011.