

УДК 631.453

О. А. Берсенева

Иркутский государственный университет, Иркутск

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОКАРИОТНОГО СООБЩЕСТВА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ СЕРЫХ ЛЕСНЫХ ПОЧВ, НАХОДЯЩИХСЯ НА ТЕРРИТОРИЯХ СОПРЕДЕЛЬНЫХ С ОАО «ИРКАЗ-РУСАЛ»

Изучены физико-химические характеристики среды обитания микроорганизмов. Проведен сравнительный анализ структуры прокариотного сообщества почвы, длительно существовавшего в условиях загрязнения аэропромвыбросами ИркАЗ-РУСАЛ в сравнении с таковым из условно-чистой почвы. Представлены данные о видовой структуре прокариотных сообществ как результат многолетнего воздействия выбросов алюминиевого производства. Показана возможность применения синэкологических показателей почвенных микросообществ для оценки степени техногенного загрязнения наземных экосистем.

Ключевые слова: Прокариотное сообщество, Иркутский алюминиевый завод, синэкологические показатели.

Одна из глобальных экологических проблем современности – техногенное воздействие на окружающую природную среду. Мощным источником антропогенного загрязнения, включая и почвенные микробсообщества, являются промышленные города с крупными комбинатами, в частности цветной металлургии [1, с. 7]. Однако имеющих в открытой печати сведений о возможности применения синэкологических характеристик почвенных микросообществ для оценки состояния окружающей среды в местах влияния выбросов металлургических производств крайне недостаточно [4, с. 180; 10, с. 19]. Указанные обстоятельства определяют необходимость проведения исследований по оценке техногенного загрязнения наземных экосистем с использованием синэкологических показателей почвенных микросообществ. Моделью для подобного рода исследований явился Иркутский алюминиевый завод ОАО ИркАЗ-РУСАЛ (г. Шелехов).

Целью исследования являлось изучение структуры и функциональной активности прокариотных сообществ, обитающих в условиях загрязнения почвы аэропромвыбросами ОАО «ИркАЗ-РУСАЛ» в сравнении с таковым из условно-чистой почвы.

Материалы и методы

Для изучения почвенной микробиоты использовали образцы серых лесных почв, которые отбирали с опытных площадок, расположенных вдоль градиента аэропромвыбросов ОАО «ИркАЗ-

РУСАЛ». Образцы отбирали на расстоянии 0,5; 5; 15 и 25 км от «ИркАЗ-РУСАЛ» (рис. 1).

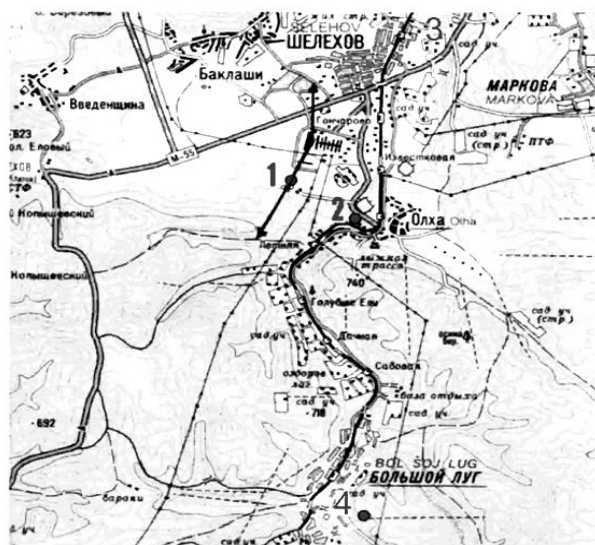


Рис. 1. Место отбора почвенных образцов
1 – 0,5 км от ОАО «ИркАЗ-РУСАЛ» (г. Шелехов),
2 – в районе поселка Олха (5 км), 3 – граница Иркутского и Шелеховского района (15 км), 4 – в районе поселка Большой Луг (25 км). Стрелками показана роза ветров

Участок, находящийся на расстоянии 25 км, служил контролем, поскольку был расположен вне зоны загрязнения, о чем свидетельствуют результаты исследований И. А. Белозерцевой (2002), согласно которым изменения физико-химического состава почв, связанные с выбросами предприятия

не прослеживаются, начиная с 25 км от источника воздействия по факелу выбросов [2, с. 13].

Отбор образцов для изучения физико-химических свойств почв проводили в соответствии с методическими рекомендациями [11, с. 37]. Исследование физико-химических свойств почв осуществляли по следующим методикам: изучение гранулометрического состава по методу Качинского, определение суммы обменных оснований по Каппену – Гильковицу, определение подвижных форм фосфора и калия по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО по ГОСТ 26207-91 [5, с. 3]. Содержание органического углерода (гумуса) определяли методом Тюрина, общего азота по методу Кьельдаля, целлюлозу и лигнин по методу Кюршнера и Комарова, рН водной и солевой вытяжки потенциометрическим методом [13, с. 248]. Валовое содержание тяжелых металлов определяли в Центре агрохимической службы «ЦАС Иркутский» на атомно-абсорбционном спектрофотометре Perkin-Elmer (США).

Выделение микроорганизмов из почв осуществляли методом посева почвенной суспензии на селективные среды. Общее количество бактерий и число спорообразующих форм учитывалось на мясо-пептонном агаре (МПА); число актиномицетов на крахмало-аммиачном агаре (КАА). Полученные чистые культуры микроорганизмов идентифицировали классическими методами почвенной микробиологии путем проведения культурально-морфологических и физиолого-биохимических тестов [12, с. 14]. Определение культур бактерий и актиномицетов производили, руководствуясь определителем Берджи [3, с. 112].

Результаты и обсуждение

Известно, что на состав почвенных микробных сообществ существенное влияние оказывает ее физико-химический состав [6, с. 442]. В этой связи представлялось важным изучить физико-химические свойства почв, находящихся на различном расстоянии от аэропромвыбросов ОАО «ИрАЗ-РУСАЛ».

Выбранные для исследования почвы существенно различались по своим физико-химическим и биохимическим характеристикам (табл. 1).

Согласно проведенным исследованиям, почвы имеют слабощелочную реакцию почвенного раствора. Реакция контрольной почвы близка к нейтральной, в то время как для естественных серых лесных почв рН составляет 5,5 [8, с. 18].

Наряду с рН, влажность почвы оказывает очень сильное влияние на жизнедеятельность микроорганизмов. Оптимальная влажность для боль-

шинства почвенных микроорганизмов составляет 60 % от полной влагоемкости [9, с. 65]. В исследуемых почвах влажность составляет (48 %; 52 %; 50 %; 62 % соответственно) при фоновых значениях 50–60 %.

Таблица 1

Характеристика исследуемых почв по физико-химическим и биохимическим показателям (глубина 0–10 см)

Показатель	Пробы почв, расстояние от «ИрАЗ-РУСАЛ»				Типичный показатель для серых лесных почв Восточной Сибири [8, с. 28]
	0,5 км	5 км	15 км	25 км	
Содержание частиц, <0,01	30,8 ± 1,43	31,7 ± 2,0	31,4 ± 2,5	30,9 ± 1,44	28–30
рН Н ₂ O	7,5 ± 0,04	7,8 ± 0,72	7,4 ± 0,68	7,1 ± 1,37	5,54–6,50
рН КСl	6,1 ± 0,63	6,2 ± 0,65	5,8 ± 0,86	5,7 ± 0,6	4,38–5,35
Влажность, %	48 ± 3,5	52 ± 1,88	50 ± 2,6	62 ± 2,0	50–60
Гумус, %	1,85 ± 0,1	2,11 ± 0,12	2,12 ± 0,11	3,41 ± 0,26	3,6–7,0
N общ, %	0,12 ± 0,04	0,14 ± 0,03	0,16 ± 0,03	0,19 ± 0,04	0,20–0,40
C / N	15,3 ± 3,63	14,8 ± 3,6	13,3 ± 2,9	18,2 ± 3,1	4–20
(Ca ²⁺ , Mn ²⁺ , Na ⁺)	30,7 ± 4,3	31,6 ± 2,5	30,3 ± 3,4	20,3 ± 2,0	17,6–40
K ₂ O, мг/кг	118 ± 8,9	132 ± 13,4	146 ± 13,8	197,5 ± 12,6	190–220
P ₂ O ₅ , мг/кг	231 ± 17,1	245 ± 12,8	267 ± 13,3	433,8 ± 17,8	300–500
Целлюлоза	6,6 ± 0,67	7 ± 0,7	7,2 ± 1,2	7,6 ± 1,44	6–8
Лигнин	6,9 ± 0,69	5,3 ± 1,0	5,8 ± 1,26	7,3 ± 1,15	7–14

Примечание: 0,5 км – вдоль факела выброса (эпицентр загрязнения); 5 км – перед факелом выброса (ст. Олха); 15 км – вдоль факела выброса (граница Иркутского и Шелеховского района); 25 км – вдоль факела выброса (ст. Большой луг)

Сумма обменных оснований соответствует нормам, характерным для этого типа почв, однако поглощающий комплекс почв, находящихся в 0,5; 5 и 15 км от предприятия, более насыщен основаниями по сравнению с контрольной почвой.

Содержание гумуса во всех пробах ниже нормы, но увеличивается по мере удаления от предприятия, что может свидетельствовать о замедлении

процесса гумификации или усилении минерализации почвенной органики.

Одним из необходимых для нормальной жизнедеятельности микроорганизмов элементом является азот. Содержание общего азота в контрольной почве близко к норме, а вблизи источника воздействия его количество ниже нормы почти в 1,5 раза, что свидетельствует о дисбалансе процессов накопления и выщелачивания элемента. В числе других важным фактором, влияющим на функционирование почвенных микроорганизмов, является соотношение С:N, которое характеризует, как обогащение гумуса азотом, так и гумификацию растительных остатков. Отношение С : N в почвах, находящихся в 0,5; 5, 15 и 25 км от предприятия, составляет 15,3; 14,8; 13,3; 18,2 соответственно, что свидетельствует об их низкой и очень низкой обогащенности азотом.

Такая же тенденция прослеживается и по количеству подвижных форм K_2O и P_2O_5 , в контрольной почве в пределах норм и по мере приближения к заводу содержание K_2O и P_2O_5 снижается, что может свидетельствовать о повышении скорости минерализации.

Изменение относительного содержания лигнина и целлюлозы в исследованных почвах указывает на более высокую редуцирующую активность микроценозов вблизи источника воздействия по отношению к целлюлозе и лигнину.

Важнейший фактор, влияющий на состояние микробных сообществ в почвах, – загрязнение тяжелыми металлами [4, с. 183]. Уровень содержания тяжелых металлов варьировал в зависимости от расстояния от ОАО «ИрАЗ-РУСАЛ» и вида экотоксиканта (табл. 2).

Таблица 2

Валовое содержание тяжелых металлов в опытных и контрольной почвах

Пробы почв, расстояние от «ИрАЗ-РУСАЛ»	Тяжелые металлы мг/кг (валовые формы)				
	Zn	Cd	Ni	Pb	Cu
0,5 км	33,4 ± 2,6	0,37 ± 0,08	35,5 ± 2,1	11,93 ± 0,28	16,64 ± 0,94
5 км	60,0 ± 2,83	0,44 ± 0,12	22,7 ± 1,75	11,60 ± 1,23	13,42 ± 0,42
15 км	30,3 ± 2,4	0,22 ± 0,09	20,5 ± 2,0	11,28 ± 0,47	13,36 ± 0,59
25 км	15,8 ± 1,78	0,18 ± 0,05	10,5 ± 1,88	8,66 ± 0,48	12,5 ± 1,78
Региональный фон	60	0,20	32	20	22,9

Из данных, представленных в таблице 2, видно, что среднее содержание Zn в исследуемых почвах находится в пределах его регионального фонового значения. Значение Cd в серых лесных почвах, находящихся в 0,5; 5 и 15 км от предприятия, выше рекомендованного фона. При величине регионального фонового значения Cu в почвах, равном 22,9 мг/кг, следует считать, что его содержание находится в безопасных пределах. Среднее содержание Ni в исследуемых почвах составляет (35,5; 22,7; 20,5; 10,5 соответственно) при его региональном фоновом значении 32 мг/кг. Анализ определения свинца в почвах показал, что его содержание не превышает его региональное фоновое значение.

Таким образом, проведенные исследования показали, что под действием аэропромвыбросов Иркутского алюминиевого завода в основном происходит подщелачивание, связанное с накоплением тяжелых металлов Cd и Ni, которые выявлены в количестве, превышающем их фоновое значение. В исследованных почвах складываются неодинаковые условия для развития микробиоты.

Видовой состав прокариотного сообщества в исследуемых серых лесных почвах представлен в основном бактериями. Актиномицеты обнаружены только в контрольной почве. Отсутствие актиномицетов в опытных почвах обусловлено их высокой чувствительностью к тяжелым металлам, концентрация которых выше регионального фона в этих почвах. Кроме того, известно, что актиномицеты лучше развиваются в почвах, имеющих нейтральную реакцию, богатых органическими веществами, с хорошими физико-химическими свойствами [7, с. 26], данным характеристикам соответствует контрольная почва.

На МПА исследуемые штаммы образовывали колонии округлой формы с характерным ползучим ростом. Окраска колоний включала различные оттенки белого: беловато-серая, беловато-кремовая, реже встречались желтовато-белые колонии (рис. 2).

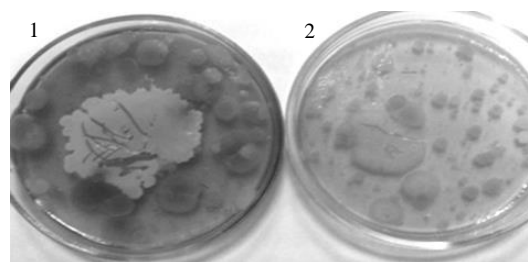


Рис. 2. Колонии бактериальных сообществ:
1) опытной почвы – 0,5 км от ОАО «ИрАЗ-РУСАЛ»
2) контрольной почвы – 25 км от ИрАЗ-РУСАЛ

Преобладающие бактериальные штаммы в районе ИркАЗ-РУСАЛ имеют сходные морфологические характеристики. Большинство исследуемых штаммов представлены грам-положительными подвижными спорообразующими палочками различных форм (длинные палочки, утолщенные короткие и тонкие короткие палочки, образующие цепочки из двух и более клеток) (рис. 3).

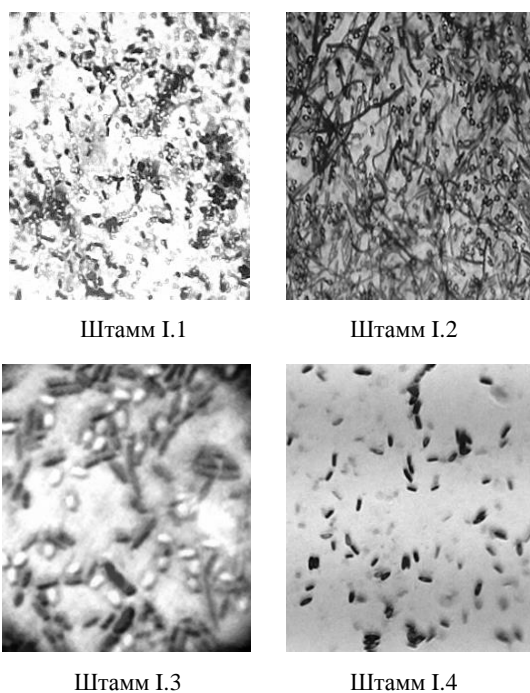


Рис. 3. Световые микрофотографии представителей почвенного микробного сообщества, подвергнутого длительному воздействию аэропромвыбросов ОАО «ИркАЗ-РУСАЛ».

Примечание. Фото получены с применением светового микроскопа Jenamet (Германия) (увеличение 1350 раз)

Морфологические характеристики бактериальных штаммов, выделенных из контрольной почвы, приведены на световых микрофотографиях (рис. 4).

Значительную долю выделенных штаммов бактерий (более 80 %) составляют подвижные спорообразующие палочковидные формы, преимущественно грам-положительные. В исследованных почвенных прокариотных сообществах бактерии представлены аэробными мезофильными формами со сходными физиологическими свойствами. Исследование физиолого-биохимических свойств бактериальных штаммов, обитающих на разном удалении от предприятия, показало, что культуры из контрольной почвы более толерантны к воздействию неблагоприятных факторов и способны утилизировать более широкий спектр субстратов по сравнению с культурами из опытных почв:

из 18 испытанных сред микроорганизмы из контрольной точки в среднем росли на 14, а бактерии из опытной точки показали явный рост только на 6 средах. Это может свидетельствовать о неблагоприятном воздействии аэропромвыбросов, которые угнетают жизнедеятельность микроорганизмов. По совокупности культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков большинство исследуемых штаммов были отнесены к роду *Bacillus*.

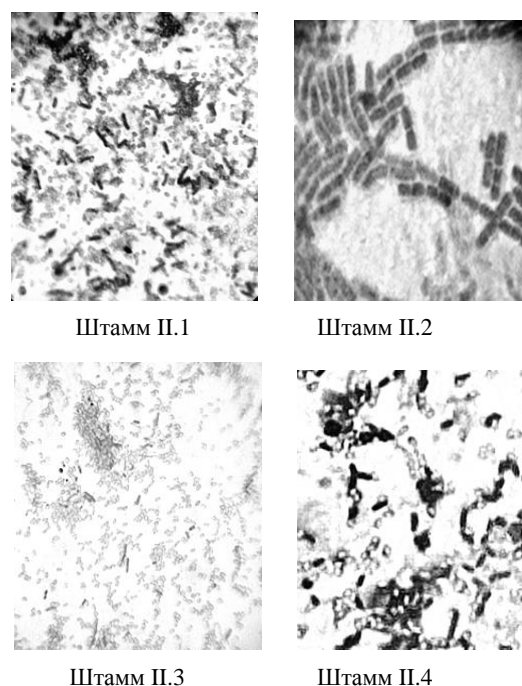
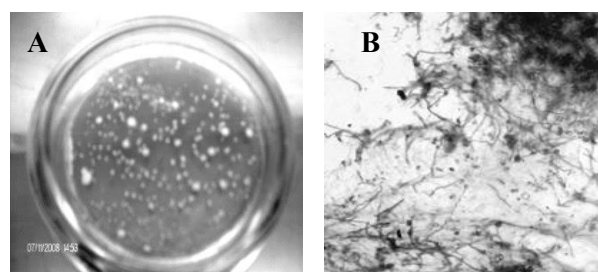


Рис. 4. Световые микрофотографии представителей почвенного микробного сообщества, не подвергнутого воздействию аэропромвыбросов ОАО «ИркАЗ-РУСАЛ». Примечание. Фото получены с применением светового микроскопа Jenamet (Германия) (увеличение 1350 раз)

Актиномицеты в серой лесной почве, находящейся в 25 км от предприятия, представлены родом *Streptomyces*, секция *Albus* (рис. 5).



А – колонии актиномицетов на среде КАА В – споросцы: короткие, извитые x1350

Рис. 5. Актиномицеты *p. Streptomyces*, выделенные из почвы контрольного участка: А – колонии актиномицетов на среде КАА, В – споросцы: короткие, извитые x1350

На агаризованной среде КАА актиномицеты образовывали круглые, плотные непигментированные кожистые колонии белого цвета, врастающие в субстрат, поверхность колоний мучнистая. Размеры колоний варьировали от 1 до 7 мм. У большинства штаммов цвет воздушного мицелия белый. У всех штаммов выявлено спорообразование. Споры всех исследованных штаммов неподвижны.

Заключение

Проведенные исследования показали, что под действием выбросов предприятия происходит изменение химических свойств почв. Это в свою очередь привело к снижению численности и видового разнообразия микроорганизмов. Актиномицеты обнаружены только на расстоянии 25 км от факела аэропромвыбросов. Изменение структуры бактериальных сообществ (до уровня рода) не выявлено. Во всех сообществах доминируют бактерии *p. Bacillus*, которые составляют 85 % от общего числа бактериальных штаммов. Показанные изменения видовой структуры прокариотных сообществ можно использовать в качестве критериев экологического состояния почв, подверженных техногенному воздействию.



1. Берсенева О. А., Саловарова В. П. О некоторых особенностях современного состояния почв и почвенной микробиоты в районе аэровыбросов Иркутского алюминиевого завода (ОАО «ИрАЗ-РУСАЛ») // Вестник РУДН. 2009. № 3. С. 5–9.
2. Белозерцева И. А. Воздействие техногенных выбросов на почвенный покров верхнего Приангарья // Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов: материалы Российск. науч.-практ. конф. Иркутск, 2002.
3. Берджи. Определитель бактерий. М.: Мир, 1997.
4. Гузев В. С., Левин С. В. Техногенные изменения сообщества почвенных микроорганизмов // Перспективы развития почвенной биологии. 2001. № 5. С. 178–219.
5. ГОСТ 26207-91. Почвы. Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО.
6. Звягинцев Д. Г., Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв. М.: Изд-во МГУ, 2005. 445 с.
7. Зенова Г. М., Звягинцев Д. Г. Экология актиномицетов. М.: Геос, 2001.

8. Клевенская И. Л. Микрофлора черноземов Сибири. «Микрофлора почв северной и средней части СССР». М.: Наука, 1966.
9. Новоселов С. И., Новоселова Е. С., Завалин А. А., Гордеева Т. Х. Влияние агроэкологических условий на микробиологическую активность почвы // Вестник Марийского государственного университета. С. 64–68.
10. Осауленко В. Е. Влияние природно-климатических и антропогенных факторов на микробиоту почв прибрежной зоны Кольского залива: автореф. дис. ... канд. биол. наук. СГПУ. 2009.
11. Спирина В. З., В. П. Середина. Полевая учебная практика по почвоведению. Томск: ТГУ, 2000.
12. Теппер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2004.
13. Шейн Е. В., Гончаров В. М. Агрофизика. Ростов-на-Дону: Феникс, 2006. 400 с.

1. Berseneva O. A., Salovarova V. P. O nekotoryh osobennostyah sovremennogo sostojaniya pochv i pochvennoj mikrobioty v rajone ajerovybrosov Irkutskogo aljuminievogo zavoda (OAO «IrkAZ-RUSAL»). *Vestnik RUDN*. 2009. No. 3. Pp. 5–9.
2. Belozerceva I. A. Vozdejstvie tehnogennyh vybrosov na pochvennyj pokrov verhnego Priangar'ja. *Ohrana okruzhajushhej sredy i racional'noe ispol'zovanie prirodnyh resursov: materialy Rossijsk. nauch.-prakt. konf.* Irkutsk, 2002.
3. Berdzhii. *Opredelitel' bakterij*. M.: Mir, 1997.
4. Guzev V. S., Levin S. V. Tehnogennye izmenenija soobshhestva pochvennyh mikroorganizmov. *Perspektivy razvitiya pochvennoj biologii*. 2001. No. 5. Pp. 178–219.
5. GOST 26207-91. Pochvy. Opreделение podvizhnyh soedinenij fosfora i kalija po metodu Kirsanova v modifikacii CINAO.
6. Zvjagincev D. G., Bab'eva I. P., Zenova G. M. *Biologija pochv*. M.: Izd-vo MGU, 2005. 445 p.
7. Zenova G. M., Zvjagincev D. G. *Jekologija aktinomice-tov*. M.: Geos, 2001.
8. Klevenskaja I. L. *Mikroflora chernozemov Sibiri. «Mikroflora pochv severnoj i srednej chasti SSSR»*. M.: Nauka, 1966.
9. Novoselov S. I., Novoselova E. S., Zavalin A. A., Gordeeva T. H. Vlijanie agrojekologicheskikh uslovij na mikrobiologicheskiju aktivnost' pochvy. *Vestnik Marijskogo gosudarstvennogo universiteta*. Pp. 64–68.
10. Osaulenko V. E. Vlijanie prirodno-klimaticheskikh i antropogennyh faktorov na mikrobiotu pochv pribrezhnoj zony Kol'skogo zaliva: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. SGPU. 2009.
11. Spirina V. Z., V. P. Seredina. *Polevaja uchebnaja praktika po pochvovedeniju*. Tomsk: TGU, 2000.
12. Tepper E. Z., Shil'nikova V. K., Pereverzeva G. I. *Praktikum po mikrobiologii*. M.: Drofa, 2004.
13. Shein E. V., Goncharov V. M. *Agrofizika*. Rostov-na-Donu: Feniks, 2006. 400 p.

O. A. Berseneva

Irkutsk State University, Irkutsk

**EVALUATION OF SPECIES COMPOSITION
AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE PROKARYOTIC
COMMUNITIES IN GREY FOREST SOILS LOCATED
IN THE TERRITORIES ADJACENT TO JSC “IRKAZ-RUSAL”**

The paper studied the physicochemical characteristics of the habitat of microorganisms. The study provides a comparative analysis of prokaryotic community structure of soil, long existed in terms of pollution of air industrial emissions of IrkAZ-RUSAL in comparison with those of the conditionally clean soil. The paper presents data on the specific structure of prokaryotic communities as a result of years of exposure to aluminum production emissions. The study shows the possibility of using synecological indicators of soil micro-communities to assess the level of technogenic pollution of terrestrial ecosystems.

Keywords: Prokaryotic community, Irkutsk aluminium factory, synecological indicators.