

4. Базова Г.А. Почвенные водоросли высокогорий Памира. Душанбе: Изд-во Дониш, 1978. 171 с.
5. Забоева И.В. Почвы и земельные ресурсы Коми АССР. Сыктывкар: Коми книжное издательство, 1975. 344 с.
6. Гецен М.В. Водоросли в экосистемах Крайнего Севера (на примере Большеземельской тундры). Л.: Наука, 1985. 165 с.
7. Новаковская И.В., Патова Е.Н., Шабалина Ю.Н. Почвенные водоросли горно-тундровых сообществ Приполярного Урала (Национальный парк «Югыд Ва») // Бот. журн. 2012. № 3. (в печати)
8. Биоразнообразие водных и наземных экосистем бассейна реки Кожым (северная часть национального парка «Югыд Ва») / Отв. ред. Е.Н. Патова. Сыктывкар: Изд-во Коми НЦ УрО РАН, 2010. 192 с.
9. Саут Р., Уиттик А. Основы альгологии: Пер. с англ. М.: Изд-во Мир, 1990. 597 с.
10. Жангуров Е.В., Дымов А.А. Морфологическое строение и физико-химическая характеристика почв горной тундры Приполярного Урала (Хребты Малды-Нырды, Росомаха) // Актуальные проблемы биологии и экологии: Матер. докл. XVIII молодёж. науч. конф. Сыктывкар. 2011. С. 161–164.

УДК 579.8: 631.8

### Реакция актиномицетов на ключевые факторы урбаногенного загрязнения почвы в модельном опыте

© 2012. Т. Я. Ашихмина, д.т.н., зав. лабораторией, Е. С. Соловьёва, аспирант, И. Г. Широких, д.б.н., в.н.с.,  
Лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН  
и Вятского государственного гуманитарного университета,  
e-mail: irgenal@mail.ru

В лабораторных микрокосмах изучено варьирование численности почвенных актиномицетов под воздействием факторов подщелачивания и загрязнения почвы свинцом. Описана реакция на воздействие указанных урбано-генных факторов со стороны отдельных компонентов актиномицетного комплекса: стрептомицетов, микромоноспор и олигоспоровых форм.

In laboratory microcosms actinomycetes' number varying was studied under the influence of such factors as soil alkalizing and soil contamination with lead. The reaction of certain actinomycetes' complex elements, such as streptomycetes, micromonosporas and oligosporous forms, on the impact of urbanogeneous factors is described.

Ключевые слова: урбоэкосистема, почвенные актиномицеты, численность популяции, сукцессия, реакция среды, свинец

Keywords: urban ecosystems, soil actinomycetes, population number, succession, medium reaction, lead

Для современного города характерны процессы деградации окружающей среды и накопления ксенобиотиков [1, 2]. Наиболее сильное влияние загрязняющих веществ в урбо-экосистемах испытывает почва, так как она, в отличие от воздушной и водной сред, быстро поглощает поллютанты и очень медленно их трансформирует [3]. Как следствие низкой гумусированности и буферности городских почв по отношению к химическим элементам-загрязнителям процессы естественного самоочищения, в которых участвуют органоми-неральные комплексы и гумусовые вещества, в урбано-зёмах ослаблены. Ключевым компо-

нентом, определяющим интенсивность протекающих в почве биологических процессов, связанных с трансформацией ксенобиотиков, являются микроорганизмы. Исключительная роль микроорганизмов в создании современной биосферы и поддержании её характеристик на уровнях, приемлемых для живых систем, включая человека, в настоящее время очевидна. Поэтому вопросы экологии микроорганизмов в почвах урбанизированных территорий имеют особое значение.

В загрязнённых и нарушенных почвах города часто складывается обстановка, которая вызывает вспышки роста токсигенных, ал-

лергенных и патогенных форм микроорганизмов [4, 5]. Замедление темпов самоочищения почв от опасных для человека микроорганизмов происходит вследствие снижения пула микробных антибиотиков – низкомолекулярных продуктов метаболизма, обладающих высокой физиологической активностью и подавляющих в малых концентрациях рост бактерий микромицетов, микроорганизмов, вирусов, простейших. Одна из причин этого явления кроется в снижении естественной супрессивности почв, в формировании которой, наряду с другими микробами-антагонистами, принимают участие мицелиальные бактерии – актиномицеты.

Рядом авторов в городских экосистемах отмечена более высокая, в сравнении с другими группами почвенных микроорганизмов, устойчивость актиномицетов к техногенному загрязнению. Об этом свидетельствует увеличение долевой представленности актиномицетов в почвенном микробном комплексе ряда промышленно развитых городов [6 – 8]. Однако в литературе практически отсутствуют сведения о реакции на различные загрязнители городской среды представителей отдельных групп и таксонов актиномицетов. Между тем в урбоэкосистеме, как и в природе в целом, следует учитывать возможность различных реакций отдельных компонентов микробного сообщества на один и тот же вид воздействия. Кроме того, изменения в составе и численности микробного населения почвы зависят от природы загрязняющих веществ, концентрации, продолжительности контакта.

Для городов характерно комбинированное воздействие на почвенный покров комплекса загрязняющих факторов. К числу ключевых воздействий на почвенную микробную систему в условиях города относят смещение, по сравнению с зональными почвами, реакции почвенного раствора в щелочную сторону [9]. На фоне общего подщелачивания городской среды развивается загрязняющее действие тяжёлых металлов, среди которых лидирующее место занимает свинец [10]. Токсическое действие свинца на мицелиальные прокариоты может маскироваться за счёт повышенных в городских почвах значений водородного показателя, поскольку в щелочной и нейтральной среде подвижность ионов металлов заметно ниже, чем в кислой. Изменение среды обитания актиномицетов через подщелачивание почвенного раствора в комбинации с токсическим действием тяжёлых металлов изучено в экологическом аспекте недостаточно.

Целью нашей работы являлось определение факторного влияния подщелачивания, загрязнения почвы свинцом и стадии сукцессии на общую численность почвенных актиномицетов, а также изучение ответной реакции на воздействие указанных урбаногенных факторов со стороны отдельных компонентов актиномицетного комплекса: стрептомицетов, микромоноспор и олигоспоровых форм.

### Методика

Информация о влиянии ключевых урбаногенных факторов на почвенные актиномицеты была получена в серии модельных опытов по наблюдению за динамикой численности актиномицетов в ходе сукцессии, инициированной увлажнением воздушно-сухой почвы. Почва была отобрана в черте города в летний период и характеризовалась реакцией, близкой к нейтральной ( $pH_{КС1}$  6,2).

Для создания лабораторных микрокосмов, имитирующих условия реальной урбоэкосистемы, навески почвы массой 50 г помещали в чашки Петри и добавляли карбонат кальция в количестве, соответствующем схеме опыта (табл. 1). Почву увлажняли, в зависимости от варианта, водой или раствором ацетата свинца до 60% от ПВ. Микрокосмы инкубировали на свету при комнатной температуре, периодически отбирая образцы почвы для микробиологического посева. Определение  $pH_{КС1}$  почвы при снятии опыта показало, что водородный показатель в вариантах с добавлением 1%  $CaCO_3$  сместился от исходного значения на 0,5, а в вариантах с добавлением 5%  $CaCO_3$  – на 1,0 ед. pH в щелочную сторону.

Таблица 1  
Схема внесения добавок в почву по вариантам опыта

		CaCO <sub>3</sub> , % от веса сухой почвы		
		0	1	5
Концентрация ионов Pb <sup>2+</sup> , мкг/г	0	1	2	3
	20	4	5	6
	40	7	8	9

Численность актиномицетов учитывали методом посева из разведений почвенных суспензий на агаризованную среду с пропионатом натрия [14]. Чашки с посевами инкубировали при 27 °С в течение 2-3 недель.

Проводили дифференцированный учёт колоний актиномицетов в световом микроскопе Биолам Р-11 при увеличении  $\times 120$  и  $\times 600$ . Морфологические свойства использовали для отнесения актиномицетов к определённым таксонам. Принадлежность культур актиномицетов к роду *Streptomyces* определяли на основании следующих признаков: нефрагментированный мицелий, длинные цепочки спор – на воздушном и отсутствие спор – на субстратном мицелии. Актиномицеты, имеющие одиночные споры на субстратном мицелии, лишённые или со слабым развитием стерильного воздушного мицелия, с нефрагментированным мицелием идентифицировали как представителей рода *Micromonospora*. Актиномицеты, образующие одиночные споры на воздушном мицелии либо короткие цепочки более крупных, чем стрептомицетные, спор на ветках воздушного и/или субстратного мицелия, объединяли в группу олигоспоровых актиномицетов.

Схема опыта предусматривала обработку результатов методом многофакторного дисперсионного анализа. Рассматривали влияние следующих факторов: А – подщелачивание (градации фактора: 0, 1 и 5%  $\text{CaCO}_3$  от веса почвы), В – загрязнение свинцом (градации фактора: 0, 20 и 40 мкг  $\text{Pb}^{2+}$ /г почвы), С – стадия сукцессии (градации фактора: 4-е, 11-е и 18-е сутки с момента увлажнения почвы). Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы STATGRAFICS Plus версия 7.0.

### Результаты и их обсуждение

Наблюдение за динамикой общей численности актиномицетов в ходе сукцессии, вызванной увлажнением воздушно-сухой почвы, показало, что основные изменения показателя происходили за счёт представителей рода *Streptomyces*, численность которых варьировала от  $4,4 \times 10^5$  до  $1,2 \times 10^6$  КОЕ/г в зависимости от варианта опыта и стадии сукцессии. Вклад микромоноспоровых (от  $1,0 \times 10^4$  до  $1,1 \times 10^5$  КОЕ/г) и олигоспоровых (от  $1,7 \times 10^4$  до  $1,3 \times 10^5$  КОЕ/г) видов в общую численность мицелиальных прокариот (от  $5,2 \times 10^5$  до  $1,4 \times 10^6$  КОЕ/г) уступал полиспоровым видам на порядок и более. Динамичный характер по-

казателя численности различных родов актиномицетов свидетельствовал об активно протекающих в почве процессах размножения, гибели и перестройки популяционной структуры актиномицетов – организмов со сложными циклами развития, включающими мицелиальную и споровую стадии.

Сукцессионная динамика численности отдельных родов актиномицетов в вариантах с исходной почвой и с почвами, подвергнутыми воздействию подщелачивания и загрязнения свинцом высокой интенсивности, носила различный характер (рис. 1). В наибольшей степени под воздействием урбаногенных факторов изменялась динамика численности микромоноспоровых и олигоспоровых актиномицетов, тогда как динамика численности стрептомицетов и общей численности мицелиальных прокариот сохраняла большую стабильность.

Результаты трёхфакторного дисперсионного анализа показали, что варьирование общей численности актиномицетов и рода *Streptomyces* в почве существенно ( $p < 0,001$ ) обусловлено стадией сукцессии и изменением реакции среды, а численность микромоноспор зависит только от стадии сукцессии ( $p < 0,0001$ ). На численность олигоспоровых видов в трёхфакторном дисперсионном комплексе ни один из рассмотренных факторов не оказал достоверного влияния. Дальнейший анализ факторных воздействий на мицелиальные прокариоты проводили, рассматривая отдельно двухфакторные дисперсионные комплексы на каждом этапе сукцессии.

В начале сукцессии (4-е сутки) под воздействием 20 мкг/г  $\text{Pb}^{2+}$  наблюдали снижение численности стрептомицетов и общей численности актиномицетов (с  $1,2 \pm 0,19$  до  $0,76 \pm 0,057 \times 10^6$  КОЕ/г). Под воздействием более высокой интенсивности (40 мкг/г  $\text{Pb}^{2+}$ ) значительных изменений в численности мицелиальных прокариот по сравнению с исходной почвой не выявлено (рис. 2, А). Т. е. реакция на загрязнение почвы ионами  $\text{Pb}^{2+}$  имела различный характер в зависимости от интенсивности воздействия. Рост стрептомицетов при воздействии низкой интенсивности был подавлен (стратегия «выжидания»), а при воздействии более высокой интенсивности, напротив, активизирован (стратегия «убегания»). В связи с неоднозначностью реакции стрептомицетов на загрязнение почвы свинцом влияние фактора В при дисперсионном анализе оценивалось как недостоверное, а существенное влияние на варьирование численности рода *Streptomyces* и об-

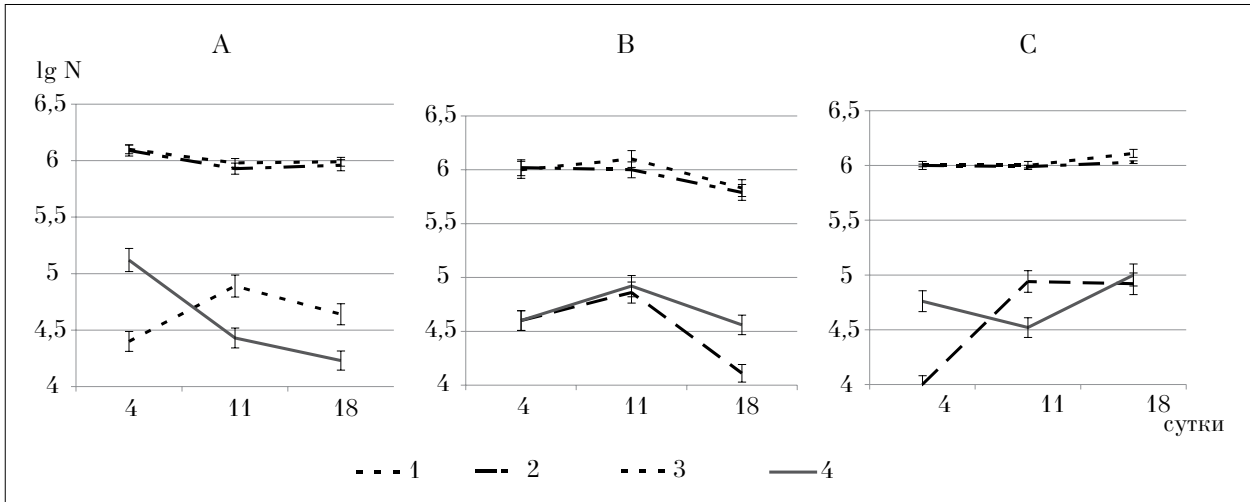


Рис. 1. Динамика общей численности актиномицетов (1), представителей рода *Streptomyces* (2), *Micromonospora* (3) и олигоспоровых форм (4) в ходе сукцессии, вызванной увлажнением почвы без добавок (А), при добавлении к почве 40 мкг/г  $Pb^{2+}$  (В), 5%  $CaCO_3$  (С)

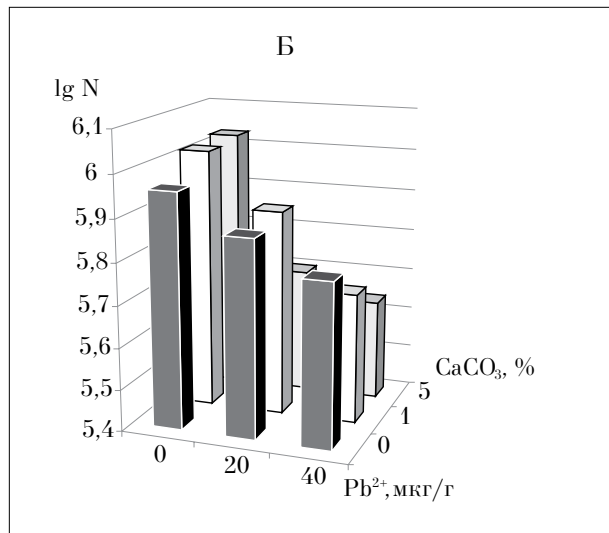
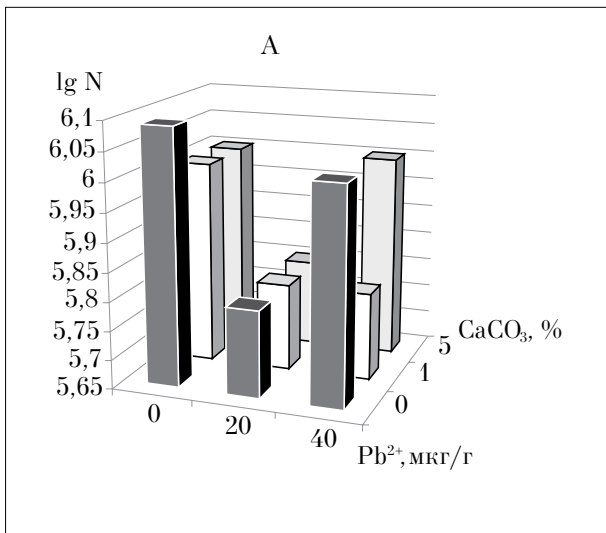


Рис. 2. Изменение численности стрептомицетов в почве, подвергнутой разным видам урбаногенного загрязнения, на раннем (А) и позднем (Б) этапах сукцессии

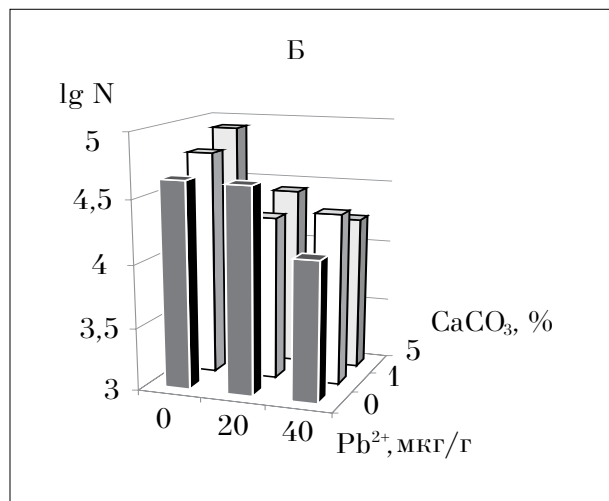
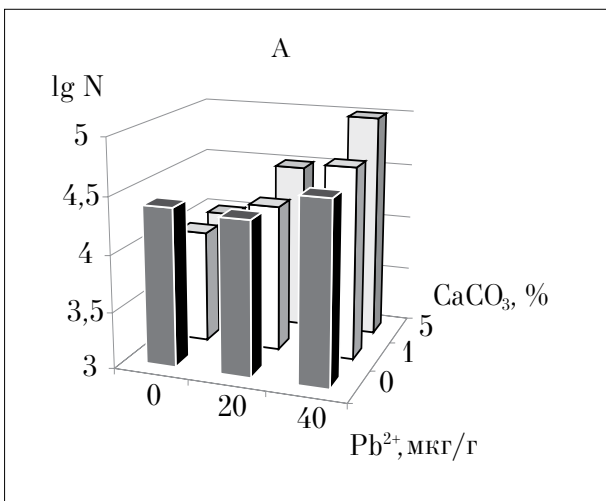


Рис. 3. Изменение численности микромоноспор в почве, подвергнутой разным видам урбаногенного загрязнения, на раннем (А) и позднем (Б) этапах сукцессии

щей численности актиномицетов оказал фактор подщелачивания почвы (табл. 2 и 3). При смещении реакции среды в щелочную сторону на 0,5–1,0 ед. рН показатели численности стрептомицетов на раннем этапе сукцессии снизились по сравнению с исходной почвой во всех вариантах загрязнения (рис. 2 А). На более позднем этапе сукцессии (18-е сутки) численность стрептомицетов при подщелачивании среды достоверно возросла, тогда как при внесении свинца, отдельно и в сочетании с подщелачиванием, имела более низкие значения, чем в контроле (рис. 2 Б). Особенно низкой численность стрептомицетов ( $4,4 \times 10^3$  КОЕ/г) была при одновременном воздействии двух факторов высокой интенсивности.

Численность рода *Micromonospora* на раннем этапе сукцессии существенно снижалась по сравнению контролем при подщелачивании почвы и возросла при загрязнении свинцом (рис. 3 А). Оба фактора, а также их взаимодействие, оказали на микромоноспоровые актиномицеты достоверное влияние (табл. 2), однако вклад фактора «подщелачивание» в общее варьирование численности микромоноспор в шесть раз превышал вклад фактора «загрязнение свинцом». Наиболее существенно в нача-

ле сукцессии увеличилась численность микромоноспор ( $1,1 \times 10^5$  КОЕ/г) в почве, подвергнутой одновременно подщелачиванию и загрязнению свинцом (рис. 3 А). На последующих этапах сукцессии влияние фактора «загрязнение свинцом» оценивалось уже как незначительное (табл. 3), и только «подщелачивание» почвы оказало значимое влияние на варьирование численности рода *Micromonospora* (рис. 3 Б).

Численность олигоспоровых актиномицетов на первом этапе сукцессии в результате моделирования урбаногенного воздействия снизилась по сравнению с исходной почвой (рис. 4 А). По данным дисперсионного анализа, достоверное влияние на варьирование численности олигоспоровых форм на этом этапе оказали фактор А и взаимодействие факторов А×В (табл. 2). В дальнейшем, на фоне сукцессионного снижения в почве без добавок численности олигоспоровых форм (рис. 1 А), наблюдали возрастание уровня их численности в результате добавления в почву свинца ( $F=8,58$ ,  $p<0,0024$ ) и подщелачивания среды ( $F=13,62$ ,  $p<0,0003$ ) (рис. 4 Б и В). Значимое влияние на варьирование численности олигоспоровых форм на промежуточном этапе сукцессии (11-е сутки) оказало также взаимодействие факторов А×В (табл. 4).

Таблица 2

Оценка степени влияния факторов на численность актиномицетов на ранней стадии сукцессии

Источник варьирования	df	SS	F	p
Стрептомицеты				
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	6536,9	5,11	0,0175*
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	1689,8	1,32	0,2916
Взаимодействие факторов А×В	4	492,1	0,19	0,9393
Общее варьирование	18	11514,7	–	–
Микромоноспоры				
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	153,5	33,98	0,0000*
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	24,8	5,51	0,0136*
Взаимодействие факторов А×В	4	54,89	6,07	0,0028*
Общее варьирование	18	40,7	–	–
Олигоспоровые формы				
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	128,1	7,39	0,0045*
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	50,3	2,90	0,0809
Взаимодействие факторов А×В	4	105,0	3,03	0,0449*
Общее варьирование	18	156	–	–
Общая численность актиномицетов				
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	8267,8	6,16	0,0091*
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	2453,6	1,83	0,1891
Взаимодействие факторов А×В	4	1153,5	0,43	0,7851
Общее варьирование	18	12072,0	–	–

Примечание: здесь и далее df – число степеней свободы, SS – сумма квадратов, F – критерий Фишера, p – уровень значимости. \*Влияние достоверно при  $P \geq 0,05$ .

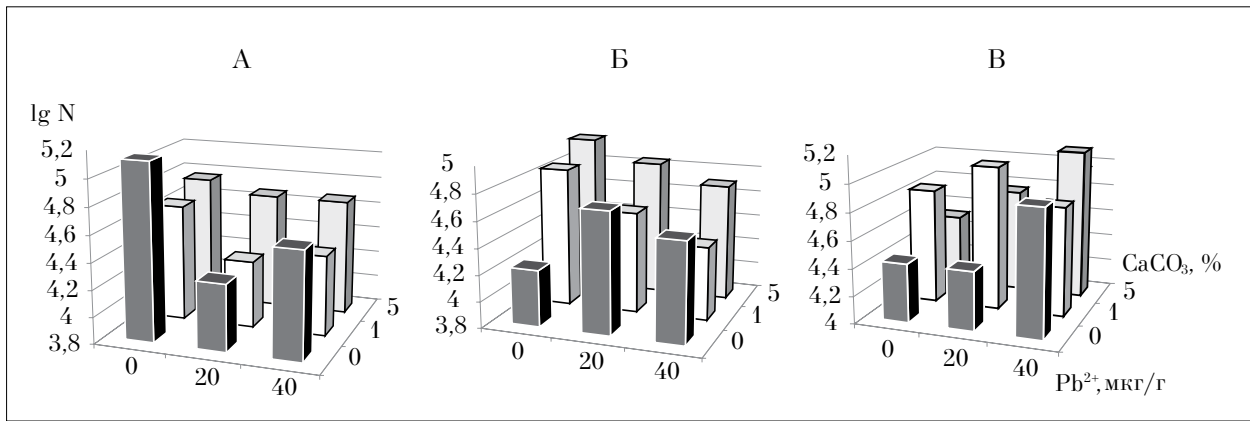


Рис. 4. Изменение численности олигоспоровых форм в почве, подвергнутой разным видам урбаногенного загрязнения, на раннем (А), промежуточном (Б) и позднем (В) этапах сукцессии

Таблица 3

Оценка степени влияния факторов на численность актиномицетов на поздней стадии сукцессии

Источник варьирования	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Стрептомицеты				
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	11384,7	21,35	0,0000*
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	500,2	0,94	0,4097
Взаимодействие факторов А×В	4	1795,1	1,68	0,1976
Общее варьирование	18		–	–
Микромоносоры				
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	100,1	3,81	0,0418*
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	3,63	0,14	0,8720
Взаимодействие факторов А×В	4	27,3	0,52	0,7234
Общее варьирование	18	236,7	–	–
Олигоспоровые формы				
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	32,7	1,41	0,2690
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	70,2	3,04	0,0730
Взаимодействие факторов А×В	4	65,8	1,42	0,2667
Общее варьирование	18	208	–	–
Общая численность актиномицетов				
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	15086,9	23,54	0,0000*
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	222,0	0,35	0,7118
Взаимодействие факторов А×В	4	2885,8	2,25	0,1039
Общее варьирование	18	5768,0	–	–

Таблица 4

Оценка степени влияния факторов на численность олигоспоровых актиномицетов на промежуточной стадии сукцессии

Источник варьирования	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>F</i>	<i>p</i>
Подщелачивание почвы (фактор А)	2	112,96	13,62	0,0003*
Загрязнение Pb <sup>2+</sup> (фактор В)	2	71,18	8,58	0,0024*
Взаимодействие факторов А×В	4	130,37	7,86	0,0008*
Общее варьирование	18	74,67	–	–

В отношении стрептомицетов и микромоноспор ни один из рассматриваемых факторов на промежуточных стадиях сукцессии не был существенным, а общая численность актиномицетов в почве достоверно определялась только взаимодействием факторов А×В ( $F=2,97$ ,  $p<0,048$ ).

### Заключение

Таким образом, полученные в модельном опыте результаты показали, что реакция почвенных актиномицетов на такие факторы городской среды, как подщелачивание и загрязнение почвы ионами свинца, в значительной степени зависит от стадии почвенной сукцессии и наиболее выражена в ранние сроки её развития. Это обстоятельство следует учитывать при выборе сроков почвенного микробиологического обследования.

При одновременном воздействии рассмотренных факторов на мицелиальные прокариоты влияние подщелачивания является определяющим. Смещение рН почвенного раствора в щелочную сторону вызывает в начале сукцессии снижение общей численности актиномицетов, в первую очередь – стрептомицетов, в меньшей степени – олигоспоровых видов. Подщелачивание среды на более поздних этапах сукцессии, напротив, становится фактором, способствующим увеличению численности стрептомицетов и олигоспоровых форм актиномицетов.

Воздействие ионов свинца на варьирование численности актиномицетов в почве, как правило, уступает по силе фактору подщелачивания. В присутствии свинца на первом этапе сукцессии общая численность актиномицетов увеличивается, главным образом, за счёт численности микромоноспор и стрептомицетов. Это может объясняться структурными особенностями клеточной стенки грамположительных бактерий. Отдельные виды мицелиальных прокариот благодаря хелатирующему действию таких компонентов клеточных стенок, как пептидогликан, тейхоевые и тейхуроновые кислоты, экзоцеллюлярные полисахариды, способны не только выживать в условиях загрязнения среды тяжёлыми металлами, но и участвовать в детоксикации поллютантов [12 – 14]. Однако к концу сукцессии под воздействием ионов свинца численность микромоноспоровых, олигоспоровых и полиспоровых (стрептомицетов) представителей актиномицетного комплекса снижается.

Наибольшей диагностической значимостью в отношении факторов городской среды

обладают представители рода *Micromonospora*, изменение численности которых в почве достоверно обусловлено влиянием обоих рассмотренных факторов, а также их взаимодействием как на ранних, так и на поздних этапах сукцессии.

### Литература

1. Буймова С.А., Костров В.В. Изменение качества родниковых вод в городах Иваново и Кохма Ивановской области // Теоретическая и прикладная экология. 2008. № 2. С. 38–42.
2. Трояновская Е.С., Абросимова О.В., Тихомирова Е.И. Оценка состояния почв городских территорий методом комплексного биотестирования // Теоретическая и прикладная экология. 2011. № 2. С. 32–36.
3. Экогеохимия городских ландшафтов/Под ред. Н.С. Касимова. М.: Изд-во МГУ, 1995. 336 с.
4. Артамонова В.С., Бортникова С.Б., Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Смирнова Н.В., Шапорина Н.А. Микробные комплексы почв урбанизированных территорий//Сибирский экологический журнал. 2007. № 5. С. 797–808.
5. Марфенина О.Е., Кулько А.Б., Иванова А.Е. Микроскопические грибы во внешней среде города//Микология и фитопатология. 2002. Т. 36. № 4. С. 22–31.
6. Овчинникова Т.А., Прохорова Н.В., Панкратов Т.А. Некоторые микробиологические особенности почвенного покрова города Новокуйбышевска в осенний период// Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2010. Т. 19. № 2. С. 83–91.
7. Свистова И.Д., Талалайко Н.Н., Щербаков А.П. Микробиологическая индикация урбаноземов г. Воронежа // Вестник ВГУ. Сер. химия, биология, фармацевтика. 2003. № 2. С.175–180.
8. Артамонова В.С., Бортникова С.Б., Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Смирнова Н.В., Шапорина Н.А. Микробные комплексы почв урбанизированных территорий//Сибирский экологический журнал. 2007. № 5. С. 797–808.
9. Строганова М.Н., Мягкова А.Д., Прокофьева Т.В. Роль почв в городе//Почвоведение. 1997. № 1. С.16–24.
10. Убугунов В. Л., Кашин В.К. Тяжёлые металлы в садово-огородных почвах и растениях г. Улан-Удэ: Улан-Удэ: Изд-во Бурят. науч. центра, 2004. 125 с.
11. Зенова Г.М. Почвенные актиномицеты редких родов. М.: Изд-во МГУ. 2000. 81с.
12. Beveridge T.J. Role cellular design in bacterial metal accumulation and mineralization// Ann. Rev. Microbiol. 1989. V. 43. P. 147–171.
13. Gadd G.M. Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms //Experientia. 1990. V. 46. P. 834–840.
14. Hemida S.K., Omar S.A., Abdel-Mallek A.Y. Microbial populations and enzyme activity in soil treated with heavy metals // Water, Air, and Soil Pollution. 1997. V. 95. № 1–4. P. 13–22.