

УДК 631.46:58.051

**Динамика актиномицетных комплексов в почвах
лесных фитоценозов вблизи объекта по уничтожению
химического оружия «Марадыковский»**

© 2013. Е. В. Товстик¹, аспирант, С. Ю. Огородникова², к.б.н., с.н.с.,
Е. А. Домнина², к.б.н., н.с., И. Г. Широких^{1,2}, зав. лабораторией, в.н.с., д.б.н.,

¹Зональный научно-исследовательский институт сельского хозяйства
Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого Россельхозакадемии,

²Лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН
и Вятского государственного гуманитарного университета,
e-mail: irgenal@mail.ru

Рассмотрена динамика численности, разнообразия и структуры актиномицетных комплексов в почвах лесных фитоценозов, расположенных вблизи объекта хранения и уничтожения химического оружия «Марадыковский». Показаны количественные и качественные изменения в структуре актиномицетных комплексов за период деятельности объекта в режиме уничтожения химического оружия с 2007-го по 2013 г.

The dynamics of abundance, diversity and structure of actinomycete complexes in soils in forest phytocenoses soils near the chemical weapons decommission plant «Maradykovsky» is considered. Quantitative and qualitative changes in the structure of actinomycete complexes are shown over the lifetime of the chemical weapons decommission plant from 2007 to 2013.

Ключевые слова: химическое оружие, хранение и уничтожение,
биодиагностика, почвенные актиномицеты, структура комплекса

Keywords: chemical weapons, storage and decommission,
biodiagnostics, soil actinomycetes, complex structure

Введение

Расположенный на территории Кировской области объект хранения и уничтожения химического оружия (ОХУХО) «Марадыковский» относится к категории высшей степени опасности для природных комплексов и экосистем вследствие использования в технологических процессах высокотоксичных отравляющих веществ: зарина, зомана, Vx, смеси иприта с люизитом [1, 2]. Штатный режим работы ОХУХО исключает прямое загрязнение почвы, однако за счёт рассеивания и осадения малых и сверхмалых количеств уничтожаемых веществ и продуктов их деструкции (мышьяк, ртуть, свинец) [3] из воздушных выбросов объекта возможно косвенное загрязнение почвы.

Основным ориентиром при оценке степени загрязнённости почв в настоящее время выступает система предельно допустимых концентраций (ПДК). Однако нахождение в почве веществ порознь в концентрациях, значительно меньше ПДК, в комплексе может оказывать более выраженное токсическое действие, сказывающееся в первую очередь на развитии

почвенных микроорганизмов и структуре их сообществ. Продукты, выбрасываемые в атмосферу химическими предприятиями, специализирующимися на уничтожении химического оружия (ХО), относятся как раз к числу таких загрязнителей [4–6]. Оценить степень воздействия ксенобиотиков на почвенный покров при низком уровне загрязнения возможно используя наряду с физико-химическими методами анализа методы биодиагностики, заключающиеся в выявлении реакций биологических систем на воздействие комплекса загрязняющих веществ [7].

Благодаря наличию у микроорганизмов большой площади соприкосновения со средой обитания, а также высокой скорости их размножения, по состоянию микробного сообщества почвы возможно в короткий срок выявлять изменения, возникающие под влиянием различных экологических факторов [8]. При этом более отчётливо изменения микробных сообществ прослеживаются в естественных почвах, чем в почвах, уже подвергшихся окультуриванию или какой-либо другой антропогенной трансформации [9]. По данным геэкологического мо-

ниторинга также было установлено, что к наиболее уязвимым к техногенному загрязнению вблизи объекта «Марадыковский» относятся лесные почвы лёгкого гранулометрического состава [10].

В связи с этим целью настоящей работы являлось исследование динамики численности и структуры комплексов актиномицетов в почвах лесных фитоценозов, находящихся вблизи ОХУХО «Марадыковский», для оценки степени трансформированности почвенных микробных сообществ за период работы объекта в режиме уничтожения ХО.

Объекты и методы

Объектами исследования служили образцы почв, отобранные на площадках системы государственного экологического мониторинга (ГЭМ) в санитарно-защитной зоне ОХУХО «Марадыковский». Отбор образцов произведён из верхних почвенных горизонтов, исключая толщу подстилки, в 2007, 2012 и 2013 гг. Площадки отбора почвенных образцов располагались в радиусе 3 км в восточном и северо-восточном направлениях от ОХУХО (табл. 1).

Правомерность использования данных образцов для сопоставительной оценки определялась тем, что они все относятся к подзолисту типу почвы, имеют лёгкий механический состав и сформированы в фитоценозах, в которых берёза выступает в качестве вида-эдикатора.

Родовую структуру актиномицетных комплексов характеризовали на среде с пропионатом натрия [11], видовую структуру рода *Streptomyces* – на казеин-глицериновом агаре [12]. Для селективного ограничения роста немиецелиальных бактерий и грибов в среды дополнительно вводили налидиксовую кислоту (1 мкг/мл) и нистатин (50 мкг/мл). Чашки с посевами инкубировали в термостате при 27°С в течение 10–12 сут. и далее – при комнатной температуре до 3-х недель. Проводили диф-

ференцированный подсчёт колоний, выделяя по морфологическим признакам четыре морфотипа, соответствующих родам *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium* и группе олигоспоровых актиномицетов.

К роду *Streptomyces* предварительно относили представителей, имеющих цепочки спор на воздушном мицелии и нефрагментирующийся мицелий. Культуры, имеющие одиночные споры на субстратном мицелии, отсутствие или слабое развитие стерильного воздушного мицелия, нефрагментирующийся мицелий предварительно относили к роду *Micromonospora*. Культуры, принадлежащие к роду *Streptosporangium*, определяли по наличию ветвящегося, нефрагментированного субстратного мицелия, не несущего споры, и воздушных гиф с цепочками спор и спорангиями. В группу олигоспоровых актиномицетов объединяли представителей, образующих одиночные споры на воздушном мицелии, либо короткие цепочки более крупных по размеру спор на ветках воздушного мицелия [13]. Видовую идентификацию представителей рода *Streptomyces* проводили в соответствии с определителем [12].

Для характеристики структуры актиномицетного комплекса определяли частоту встречаемости и доленое участие видов и родов в комплексе [14]. За частоту встречаемости принимали отношение числа образцов, в которых таксон встречается, к общему числу проанализированных образцов. В зависимости от частоты встречаемости комплекс дифференцировали на группы видов: доминирующие ($\geq 85\%$), типичные частые ($\geq 60\%$), типичные редкие ($\geq 40\%$) и случайные ($< 40\%$). Для характеристики родового и видового разнообразия актиномицетов использовали индекс Шеннона (H) [15].

Статистическая обработка результатов проведена стандартными методами дисперсионного анализа и методом сравнения долей [16] с использованием программ EXCEL и STATGRAFICS.

Таблица 1

Характеристика участков отбора образцов почвы для анализа [7]

№ участка в системе ГЭМ	От объекта		Тип фитоценоза	Тип почвы
	Расстояние, км	Направление		
7	1,63	В	Сероольхово – березняк кисличный	Слабо-подзолистая песчаная
36	2,75	С-В	Елово – березняк мертвopoкpoвный	Сильно-подзолистая супесчаная
34	3,12	С-В	Сосново – березняк вейниковый	Средне-подзолистая песчаная

Таблица 2

Численность и структура комплексов актиномицетов в почвах лесных фитоценозов в зависимости от срока отбора образцов

№ участка	Слой, см	Год	Общая численность, тыс. КОЕ/г	Долевое участие /частота встречаемости родов, %				H, бит/г
				1	2	3	4	
7	0-20	2007	49,9±4,1	20,0/100	79,0/100	1,0/60	0/0	0,73±0,22
	0-5	2013	948,1±105,1	68,5/100	30,2/100	0,2/40	1,1/100	0,98±0,60
36	0-10	2007	18,0±2,3	7,7/100	65,2/100	9,9/100	17,2/100	1,40±0,16
	0-10	2012	290,5±65,4	66,8/100	20,0/100	13,1/100	0,1/40	1,23±0,13
	0-5	2013	587,8±251,9	65,7/100	33,9/100	0,4/40	0/0	0,91±0,11
34	0-8	2007	104,7±49,3	9,1/80	46,1/100	44,2/100	0,6/20	1,33±0,22
	0-10	2012	435,0±144,1	53,7/100	28,0/100	16,9/100	1,4/80	1,50±0,08
	0-5	2013	177,8±19,9	59,7/100	16,1/100	23,9/100	0,3/80	1,34±0,04

Примечание: 1 – *Streptomyces*, 2 – *Micromonospora*, 3 – *Streptosporangium*, 4 – олигоспоровые актиномицеты.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что общая численность актиномицетов при учёте на среде с пропионатом натрия варьировала в прилегающих к объекту почвах в 2007 году от десятков до сотни тысяч колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г почвы, а в 2013 г колебалась в пределах одного порядка ($177,8 \pm 19,9 - 948,1 \pm 105,1 \times 10^3$ КОЕ/г (табл. 2).

Общей тенденцией для почв, расположенных в радиусе 3 км от объекта, явилось увеличение в 19–33 раза численности актиномицетов за период наблюдений. При этом доля актиномицетов в прокариотном комплексе почв возросла в 7–8 раз, особенно в почве, непосредственно примыкающей к объекту (табл. 3). Полученные результаты согласуются с общей тенденцией к доминированию в микробных сообществах техногенно-загрязнённых почв микроорганизмов с K-стратегией [17], к которым принято относить и мицелиальные прокариоты со сложным циклом развития – актиномицеты.

Актиномицетные комплексы исследуемых почв были представлены видами родов *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium* и олигоспоровыми видами. Структура актиномицетных комплексов почв, отобранных в 2013 году, по частоте встречаемости отдельных представителей имела незначительные отличия от структуры актиномицетных комплексов в почвах 2007 года отбора. Так, представители родов *Streptomyces* и *Micromonospora* в почвах, удалённых от объекта на различное расстояние, сохранили свои доминирующие позиции, тогда как частота встречаемости представителей

рода *Streptosporangium* снизилась с 60–100% в 2007 г. до 40% в 2013 г., за исключением почвы с наиболее удалённой от объекта площадки (№ 34). Представители этого рода актиномицетов перешли из разряда доминирующих и типичных частых в разряд типичных редких в почвенном комплексе. Частота встречаемости олигоспоровых видов за период наблюдений, в отличие от стрептоспорангиумов, изменялась различным образом и не зависела от удалённости площадки пробоотбора от объекта. Эти обстоятельства не позволяют связывать изменения в частоте встречаемости олигоспоровых видов с возможным влиянием на почвенную микробную систему выбросов ОХУХО.

За период работы объекта в режиме уничтожения ХО выявлены более выраженные, чем по частоте встречаемости, изменения в структуре актиномицетных комплексов с использованием показателя долевого участия представителей различных родов. Так, в 2007 году по долевному участию в комплексах исследованных почв доминировали микромоноспоры (46,2–79,0%), а в 2013 году – стрептомицеты (59,7–68,5%). Смена доминантов в комплексе почвенных актиномицетов связана, возможно, с изменением реакции почвенного раствора в зоне действия объекта, обусловленным кислотной природой некоторых выпадающих в окружающую среду продуктов деструкции (например, метилфосфоновой кислоты). Известно, что при снижении pH чувствительные к кислотности микромоноспоры уступают место более ацидотолерантным представителям рода *Streptomyces*. Ранее уже было показано, что в кислых условиях среды

относительное обилие стрептомицетов выше, чем микромоноспор [18].

Доля участия стрептоспорангиумов в актиномицетном комплексе почв в 2013 году уменьшилась на 0,8–20,3% по сравнению с 2007 годом. Из литературы известно, что представители рода *Streptosporangium* обычно приурочены к органическим субстратам, трудно разлагаемым другими бактериями [14]. Обогащение в процессе производственной деятельности объекта соединениями фосфора природного комплекса [19] в целом и растительных субстратов (лишайники) [20] в частности, очевидно, способствовало увеличению общего микробного пула почвы и снижению относительного обилия стрептоспорангиумов вследствие их низкой конкурентоспособности в новых условиях среды. По мере удаления от объекта долевое участие стрептоспорангиумов в комплексе почвенных актиномицетов возрастало от 1 до 44,2% и от 0,2 до 23,9% соответственно в 2007 и в 2013 годах.

Таким образом, главное отличие структуры комплексов почвенных актиномицетов, зафиксированной в 2013 году, от структуры, описанной в 2007 году, заключалось в различном долевом участии представителей отдельных родов. При этом родовое разнообразие актиномицетных комплексов, оцениваемое с помощью индекса Шеннона, за исследуемый период времени либо достоверно не изменилось (участки № 7 и № 34), либо незначительно сократилось (участок № 36) (табл. 2).

В отличие от родового видовое разнообразие комплекса стрептомицетов, оцениваемое на КГА, изменялось в исследуемых почвах более существенно: значения индекса Шеннона возросли от 0,38–1,39 бит/г в 2007 г до 1,21–1,68 бит/г в 2013 г. (табл. 3).

В 2013 году для ряда секций и серий, представители которых были обнаружены в почвах в 2007 году, отмечено увеличение частоты встречаемости видов. Если в 2007 году с высокой частотой в исследуемых почвах встречались представители секции *Cinereus* серий *Achromogenes* и *Chromogenes*, то в 2013 году к ним добавились представители ещё трёх секций и серий – *Albus Albus*, *Helvolo-Flavus Helvolus* и *Imperfectus*. Одновременно отмечено увеличение относительного обилия видов, принадлежащих к сериям *Cinereus Achromogenes* (на 15,6–29,1%) и *Cinereus Aureus* (на 0,3–5,0%).

Представители серий *Cinereus Chromogenes*, *Cinereus Aureus*, *Albus Albus* из разряда редких и случайных перешли в разряд типичных частых и доминирующих видов. В то же время виды из секций и серий *Cinereus Violaceus* и *Roseus Ruber*, отнесённые по частоте встречаемости в 2007 году к случайным, в 2013 году вовсе не отмечены в почвенном стрептомицетном комплексе.

Сопоставление полученных результатов с имеющимися литературными данными [14] показывает, что выявленные за период работы объекта в режиме уничтожения ХО перестройки комплекса почвенных актиномицетов на уровне родовой и видовой (род *Streptomyces*) структуры носят умеренный характер и не ведут к коренной трансформации почвенной микробной системы.

Заключение

Определение численности и таксономической структуры комплексов актиномицетов в прилегающих к ОХУХО «Марадыковский» почвах лесных фитоценозов позволило

Таблица 3

Характеристика структуры комплексов стрептомицетов, выделяемых на КГА

№ участка	Год	Доля актиномицетов среди прокариот, %	Долевое участие/ частота встречаемости видов, %								H, бит/г
			1	2	3	4	5	6	7	8	
7	2007	10,8	94,2/100	1,4/80	1,4/20	0,8/20	0/0	0/0	0/0	2,2/40	0,38±0,42
	2013	83,6	72,8/100	17,0/100	6,4/100	0/0	2,9/100	0/0	0,9/60	0/0	1,21±0,113
34	2007	10,3	47,6/40	11,0/60	3,3/20	3,3/20	22,4/40	6,2/20	6,2/60	0/0	1,39±0,54
	2013	70,2	45,1/100	40,1/100	3,6/80	0,8/20	6,7/100	1,5/60	2,2/100	0/0	1,68±0,15

Примечание: 1 – *Cinereus Chromogenes*; 2 – *Cinereus Achromogenes*; 3 – *Cinereus Aureus*; 4 – *Cinereus Violaceus*; 5 – *Albus Albus*; 6 – *Helvolo-Flavus Helvolus*; 7 – *Imperfectus*; 8 – *Roseus Ruber*.

выявить характерные изменения, которые произошли за период деятельности объекта (с 2007-го по 2013 г.) в режиме уничтожения ХО. Для почв, непосредственно примыкающих к объекту (в радиусе до 3 км), к числу общих тенденций относятся увеличение за период абсолютной численности и относительной доли актиномицетов в почвенном прокариотном комплексе. Перестройки в структуре актиномицетных комплексов подзолистых почв лёгкого гранулометрического состава реализуются в изменении частоты встречаемости, долевого участия и соотношения представителей доминантных родов *Streptomyces* и *Micromonospora*, снижении относительного обилия рода *Streptosporangium*, увеличении видового спектра стрептомицетов, главным образом за счёт непигментированных видов серии *Cinereus Achromogenes*.

Эти изменения свидетельствуют о трансформации микробной системы почвы в результате суммарного воздействия на почву малых и сверхмалых количеств уничтожаемых веществ и продуктов их деструкции, однако не могут представлять угрозы для поддержания микробной системой почвенного гомеостаза, поскольку выявленные отклонения не выходят за рамки варьирования, обусловленного естественными причинами.

Литература

1. Ашихмина Т.Я. Комплексный экологический мониторинг объектов хранения и уничтожения химического оружия. Киров: Вятка, 2002. 544 с.
2. Шкодич П.Е., Желтобрюхов В.Ф., Клаучек В.В. Эколого-гигиенические аспекты проблемы уничтожения химического оружия. Волгоград: Изд-во ВолГУ. 2004. 236 с.
3. Новойдарский Ю.В. Информационное обеспечение системы производственного контроля и мониторинга на объекте «Марадыковский» Кировской области // Теоретическая прикладная экология. № 4. 2012. С. 56 - 63.
4. Антонов Н.С. Химическое оружие на рубеже двух столетий. М.: Прогресс, 1994. 174 с.
5. Белоус В. Военно-политические аспекты химического разоружения // Химическое оружие и проблемы его уничтожения. 1997. № 3. С. 9–11.
6. Houschold V. Chemical warfare agents and associated health guidelines // Medical and biological aspects of chemical weapons stockpile demilitarization. Internat. Symp. Proc. Volgograd, August 26–28, 2003. Volgograd, 2003. p. 63.
7. Ашихмина Т.Я., Кантор Г., Дабах Е. Организация экологического мониторинга окружающей природной

среды в районе объекта уничтожения химического оружия в Кировской области // Вестник ИБ. 2008. №6. С.6-12.

8. Андреюк И.К., Иутинская Г.А., Козырицкая В.Е. и др. Иерархическая система биоиндикации почв, загрязнённых тяжёлыми металлами // Почвоведение. 1997. № 12. С. 1491–1496.

9. Аристовская Т.В. Микробиология процессов почвообразования. Л.: Наука, 1980. 187 с.

10. Олькова А.С. Разработка технологии оптимизации геоэкологического мониторинга почв района расположения объекта уничтожения химического оружия: на примере объекта «Марадыковский» в Кировской области: Автореф. дис. ... канд. тех. наук. М.: Моск. гос. ун-т геодезии и картографии. 2009. 24 с.

11. Rowbotham T.Y., Cross T. Ecology of Rhodococcus coprophilus and associated actinomycetes cetes in fresh water and agricultural habitats // Y. Gen. Microbiol. 1977. Vol. 100. P. 231-240.

12. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. М.: Наука, 1983. 248 с.

13. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т./ Ред. Дж. Хоулт, Н. Криг, П. Снит, Дж. Стейли, С.С.Уилльямс. М.: Мир, 1997. Т.2. 800 с.

14. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Экология актиномицетов. М: ГЕОС, 2001. 257 с.

15. Мэгаран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992, 173 с.

16. Дмитриев Е.А. Математическая статистика в почвоведении. М.:Изд-во МГУ, 1972. 292 с.

17. Благодатская Е.В., Пампура Т.В., Богомолова И.Н., Копчик Г.Н., Лукина Н.В. Влияние выбросов медно-никелевого комбината на микробные сообщества почв лесных биогеоценозов Кольского полуострова // Известия РАН. Сер. биологическая. 2008. № 2. С. 232-242.

18. Широких И.Г., Широких А.А. Микробные сообщества кислых почв Кировской области. Киров: НИИСХ С-В, 2004. 332 с.

19. Новикова Е.А. Геоэкологическая оценка динамики природно-техногенной системы района строительства и функционирования объекта уничтожения химического оружия: Автореф. дис. ... канд. геогр. наук. Ростов-на-Дону, 2011. 24 с.

20. Мергасова С.В., Огородникова С.Ю., Домнина Е.А. Изучение накопления общего фосфора в лишайнике гипогимния вздутая и хвое сосны обыкновенной в районе размещения объекта уничтожения химического оружия в пос. Мирный Кировской области // Бизнес. Наука. Экология родного края: проблемы и пути их решения: Материалы Всероссийской научно-практической конференции-выставки экологических проектов с международным участием. С. 339-342.