

УДК 579.26

UDC 579.26

**ПОКАЗАТЕЛИ СТРУКТУРЫ  
МИКРОБОЦЕНОЗА ПОЧВ Г. РОСТОВА-НА-  
ДОНУ КАК ИНСТРУМЕНТ МОНИТОРИНГА  
СОСТОЯНИЯ АНТРОПОГЕННО-  
ПРЕОБРАЗОВАННЫХ ПОЧВ**

**THE STRUCTURE OF MICROBIAL  
COMMUNITY OF ROSTOV-ON-DON SOILS AS  
AN INSTRUMENT OF MONITORING THE  
CONDITION OF ANTROPOGENICALLY  
TRANSFORMED SOILS**

Горовцов Андрей Владимирович  
ассистент кафедры биохимии и микробиологии

Gorovtsov Andrey Vladimirovich  
assistant of the Department of Biochemistry and  
Microbiology

E-mail: [gorovtsov@gmail.com](mailto:gorovtsov@gmail.com)

E-mail: [gorovtsov@gmail.com](mailto:gorovtsov@gmail.com)

Полякова Анна Владимировна  
к.б.н., доцент кафедры биохимии и  
микробиологии

Polyakova Anna Vladimirovna  
Cand.Diол.Sci., associate professor of the Department  
of Biochemistry and Microbiology

Внуков Валерий Валентинович  
д.б.н., профессор, Зав. кафедрой биохимии и  
микробиологии  
*Южный федеральный университет, г. Ростов-  
на-Дону, Россия*

Vnukov Valeriy Valentinovich  
Dr.Sci.Biol., professor, Head of the Department of  
Biochemistry and Microbiology  
*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

В статье рассмотрены показатели структуры  
микробоценоза урбопочв г. Ростова-на-Дону.  
Проанализированы различия в численности  
основных эколого-трофических групп  
микроорганизмов в центральной и окраинной  
частях города, проведено сравнение с  
контрольной почвой, подверженной  
минимальному антропогенному влиянию.  
Рассчитаны коэффициенты минерализации,  
олигорифности, олигонитрофильности и  
педотрофности

The article describes the structure of microbial  
communities in urban soils of Rostov-on-Don. The  
difference in numbers of bacteria of main trophic  
groups between the central part and the suburbs of  
Rostov-on-Don has been analyzed. The comparison  
with control soil with minimal anthropogenic impact  
has been performed. The indices of mineralization,  
oligotrophy, oligonitrophylic and pedotrophic quotients  
have been calculated

Ключевые слова: МИКРОБОЦЕНОЗ,  
ГОРОДСКИЕ ПОЧВЫ, ЭКОЛОГО-  
ТРОФИЧЕСКИЕ ГРУППЫ, АНТРОПОГЕННОЕ  
ВОЗДЕЙСТВИЕ

Keywords: MICROBIAL COMMUNITY, URBAN  
SOIL, TROPHIC GROUPS, ANTHROPOGENIC  
IMPACT

В последние годы все более актуальным становится изучение процессов, происходящих в урбоэкосистемах. Такие экосистемы, практически полностью формирующиеся под воздействием антропогенных факторов, остаются еще крайне не достаточно исследованными. Кроме того, в городах проживает большая часть населения, в силу чего такие исследования представляют также и большой практический интерес. Почва, будучи ключевой составляющей урбоэкосистемы, является удобным объектом для мониторинга, поскольку воспринимает и продолжительное время сохраняет следы всех негативных влияний [1].

При этом изменяются многие почвенные показатели, в том числе физико-механические, химические и биологические. Среди биологических показателей особое место в мониторинге почв занимают микробиологические, поскольку микрофлора чутко реагирует на любые воздействия изменением количественного и качественного состава, соотношения эколого-трофических групп микроорганизмов в составе микробного сообщества почвы. В связи этим, целью данной работы было оценить изменения численности и соотношения основных физиологических и эколого-трофических групп микроорганизмов в урбопочвах г. Ростова-на-Дону.

### **МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Отбор почвы производился в 6 точках: три в центре (пр. Буденновский, пр. Ворошиловский, район Центрального рынка) и три в окраинных районах (поселки: Александровка, Орджоникидзе, Чкаловский). В качестве контроля использовали типичный для данной местности чернозем обыкновенный карбонатный, отобранный за пределами города на старой залежи, вдали от автомагистралей и предприятий, то есть почву с минимальным уровнем антропогенного воздействия. Исследования были проведены в октябре-ноябре 2012 года.

Все почвенные пробы были отобраны по методу конверта: для этого по углам квадрата 1 x 1 м и в его центре отбирали 5 равных образцов почвы, которые затем смешивали и получали интегральную почвенную пробу. Таким образом, избегали вклада микромозаичности почвы и получали образец, хорошо характеризующий состояние почвенного покрова в данной точке. В этот же день пробы доставлялись в лабораторию, где подвергалась микробиологическому исследованию.

В почвах анализировали несколько физиологических и эколого-

трофических групп микроорганизмов. Численность аммонифицирующих бактерий учитывали на среде МПА (НПО БИОКОНТ, г. Махачкала), количество бактерий, использующих минеральные формы азота (аминоавтотрофы) - на крахмало-аммиачном агаре (КАА). Грамотрицательных аммонификаторов и аминоавтотрофов учитывали на тех же средах с использованием в качестве ингибитора грамположительной флоры малахитового зеленого в конечной концентрации 1:200000 [2]. Численность актиномицетов определялась на КАА и почвенном агаре Локхида (ПА). Численность олигонитрофильных бактерий учитывали на безазотистой среде Эшби, педотрофных бактерий на ПА, олиготрофных бактерий - на голодном агаре (ГА) [3].

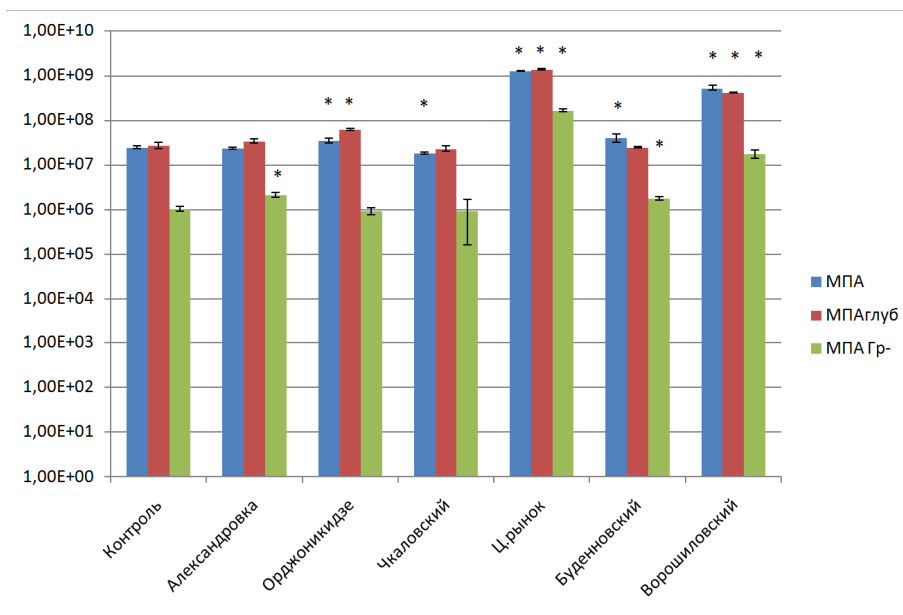
Также было определено наиболее вероятное число микроорганизмов, культивируемых на жидких средах, с использованием таблиц Мак-Креди по методу предельных разведений. Денитрифицирующих бактерий учитывали на среде Гильтая, анаэробных азотфиксаторов *Clostridium pasteurianum* – на безазотистой среде Виноградского [4].

На плотных питательных средах бактерий учитывали в пятикратной повторности, что позволило провести определение статистической достоверности различий по сравнению с контролем. Принимая во внимание малый объем выборки и неоднородность выборочных дисперсий, был выбран непараметрический критерий Манна-Уитни. Статистическая обработка данных была реализована с помощью лицензионного пакета STATISTICA 10 по общепринятым методикам [5].

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

В ходе исследований были получены данные по численности основных физиологических и эколого-трофических групп микроорганизмов. Как видно из приведенной диаграммы (рис.1, здесь и

далее на диаграммах приведены логарифмы численности), численность аммонифицирующих бактерий в исследованных почвах варьировала в пределах  $10^7$ - $10^9$  КОЕ/г абсолютно сухой почвы. При этом, численность бактерий данной группы в почвах окраин города оказалась на 1-2 порядка ниже, чем в почвах центра города, и сопоставима с уровнем контроля. Некоторое исключение составила проба, отобранная на пр. Буденновском, где численность аммонификаторов, хотя и превышала контрольную, оказалась существенно ниже, чем в других точках центральной части города. Сравнение численности аммонифицирующих бактерий, полученной методом поверхностного и глубинного посева не выявило достоверной разницы результатов, что свидетельствует об относительно небольшом числе как микроаэрофильных форм, не растущих на поверхности агара, так и строгих аэробов, не растущих в глубине среды.



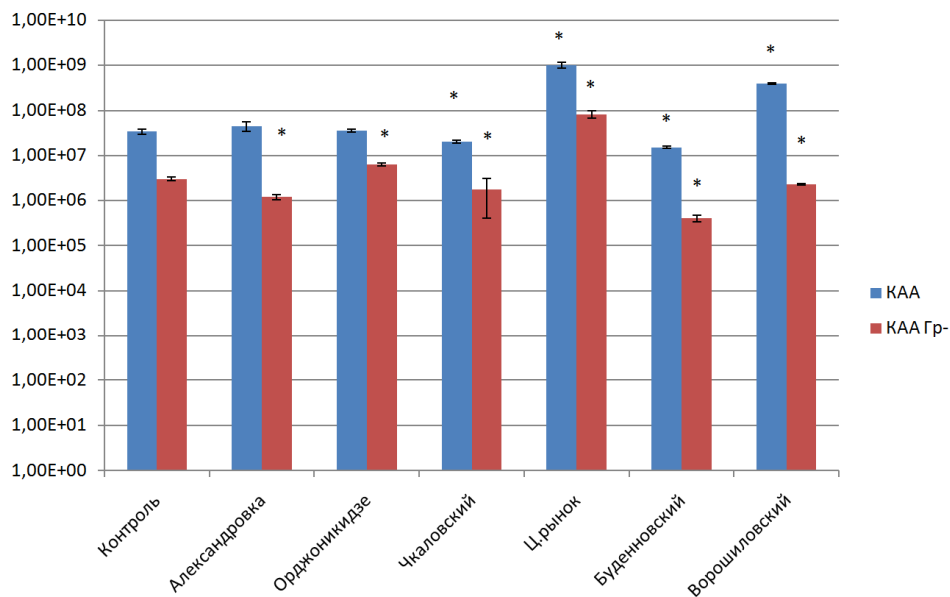
**Рисунок 1. Численность аммонификаторов в урбопочвах г. Ростова-на-Дону и контрольной почве.**

\* - достоверные различия по отношению к контролю при  $p < 0,05$

Что касается грамотрицательных представителей данной физиологической группы бактерий, их численность варьировала в пределах от 3 до 13% от общего числа. Максимальной численность

грамотрицательных аммонификаторов оказалась в почве, отобранной в районе Центрального рынка, минимальной – в почвах второго поселка Орджоникидзе.

Сходная картина наблюдается и для аминоавтотрофной группировки (рис.2). В почвах центральной части города численность данных микроорганизмов на 1-1,5 порядка превышает контрольные значения, в окраинных же - сопоставима с ними. Исключение, как и в случае с аммонификаторами, составляет образец почвы с пр. Буденновского, где численность аминоавтотрофов оказалась минимальной среди всех 7 образцов. По-видимому, такое снижение численности связано с локальными условиями, вызвавшими падение численности сразу нескольких физиологических групп бактерий. Процент грамотрицательных форм среди аминоавтотрофных организмов варьировал в пределах от 1% до 18%. Максимальная доля грамотрицательных форм была выявлена в образце, отобранном на втором поселке Орджоникидзе, а минимальная – на пр. Ворошиловском. Как видно из приведенных данных, процентное содержание грамотрицательных аминоавтотрофов и аминогетеротрофов не совпадало в одних и тех образцах почвы. Это косвенно указывает на различающийся состав этих двух групп бактерий и позволяет рассматривать численность грамотрицательных представителей аммонификаторов и аминоавтотрофов как дополнительные показатели структуры микробоценозов городских почв.



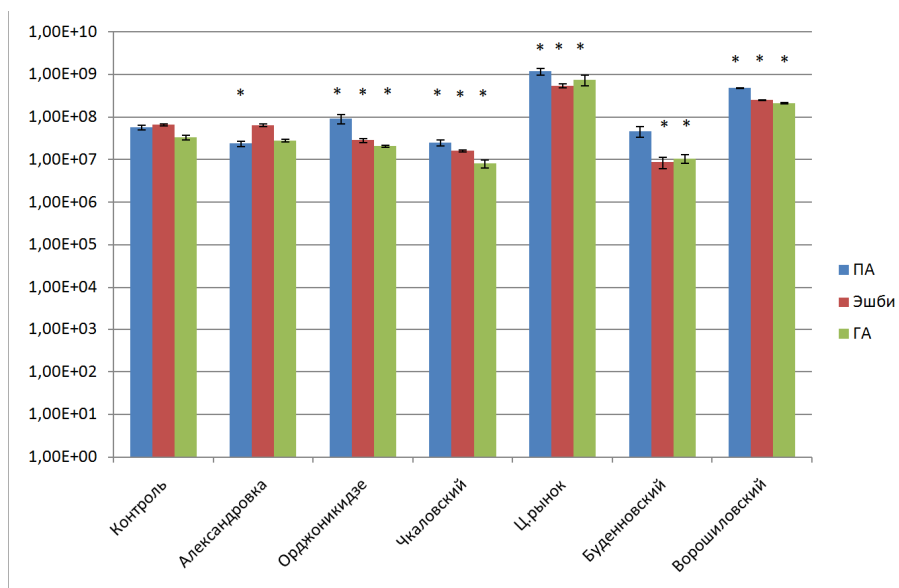
**Рисунок 2.**

**Численность аминоавтотрофов в урбопочвах г. Ростова-на-Дону и контрольной почве.**

\* - достоверные различия по отношению к контролю при  $p < 0,05$

Среди бактерий, растущих на бедных средах (рис.3) и представляющих автохтонную микрофлору и микрофлору рассеяния, сохраняется та же общая картина, что и для описанных ранее групп. Различия в численности бактерий, растущих на ПА, ГА и безазотистой среде Эшби оказались более выраженными в урбопочвах, чем в контрольном черноземе. Несмотря на то, что значительная часть микрофлоры, входящей в группы педотрофов и олиготрофов, может быть представлена одними и теми же видами, практически во всех исследованных образцах на ПА высевалось больше бактерий, чем на голодном агаре. В образцах, отобранных на втором поселке Орджоникидзе и пр. Буденновском численность педотрофных бактерий более чем в 4 раза выше, чем олиготрофных. Столь значительное преобладание педотрофных бактерий может косвенно указывать на активные процессы деструкции гумуса, идущие в городских почвах, поскольку в группу педотрофных

бактерий входят виды, не способные довольствоваться крайне низкими концентрациями питательных веществ на ГА, но способные к росту за счет гуматов и неспецифической почвенной органики на ПА.



**Рисунок 3.**

**Численность бактерий, растущих на бедных средах в урбопочвах г. Ростова-на-Дону и контрольной почве.**

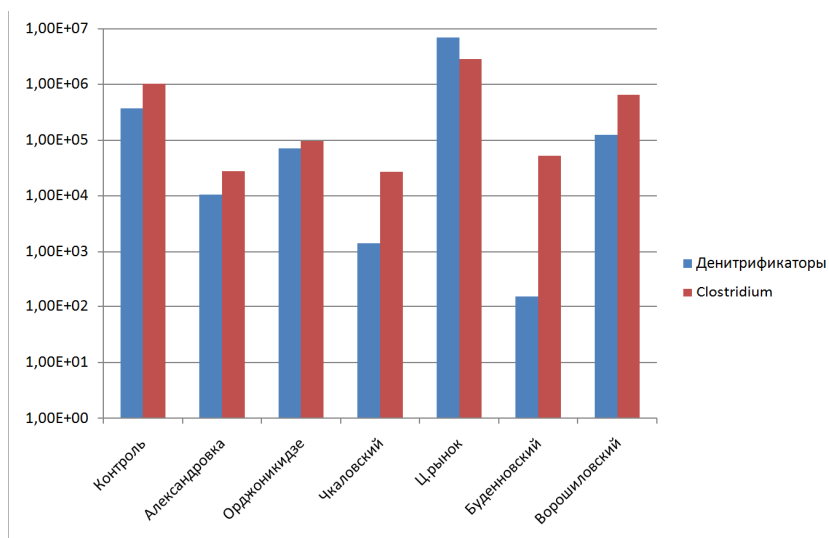
\* - достоверные различия по отношению к контролю при  $p < 0,05$

Следует отметить, что названные эколого-трофические группы бактерий изучены еще крайне недостаточно, и изменения их численности под влиянием антропогенного пресса, характерного для городских экосистем требуют дальнейшего изучения.

Анализируя изменения численности денитрифицирующих бактерий в городских почвах, нельзя не отметить исключительно высокий разброс полученных значений: численность денитрификаторов варьировала в пределах  $10^2$ - $10^7$  клеток на 1 г абсолютно сухой почвы. Численность данной группировки оказалась ниже контрольной во всех образцах, кроме отобранного в районе Центрального рынка. Данная группа микроорганизмов сборная и объединяет представителей других эколого-трофических групп по критерию способности восстанавливать нитраты до

газообразных окислов и молекулярного азота. Процесс денитрификации требует как наличия в почве нитратов, так и достаточного количества органики, служащей донором электронов. Исключительно низкая численность денитрификаторов в почве на пр. Буденновском может быть следствием суммации этих двух лимитирующих факторов: на недостаток минеральных форм азота в данной почве указывает низкая численность аминоавтотрофной группировки.

Анаэробных азотфиксаторов *Clostridium pasteurianum* в почвах города Ростова-на-Дону оказалось на 1- 1,5 порядка меньше, чем в контрольной почве, практически не подверженной антропогенному влиянию (рис.4).



**Рисунок 4.**

**Численность денитрифицирующих бактерий и анаэробных азотфиксаторов р. *Clostridium* в урбопочвах г. Ростова-на-Дону и контрольной почве.**

Исключение составила почва, отобранная в районе Центрального рынка, где численность всех исследованных групп бактерий значительно превышает контрольные значения. Численность клостридий, являющихся представителями зимогенной микрофлоры и активными



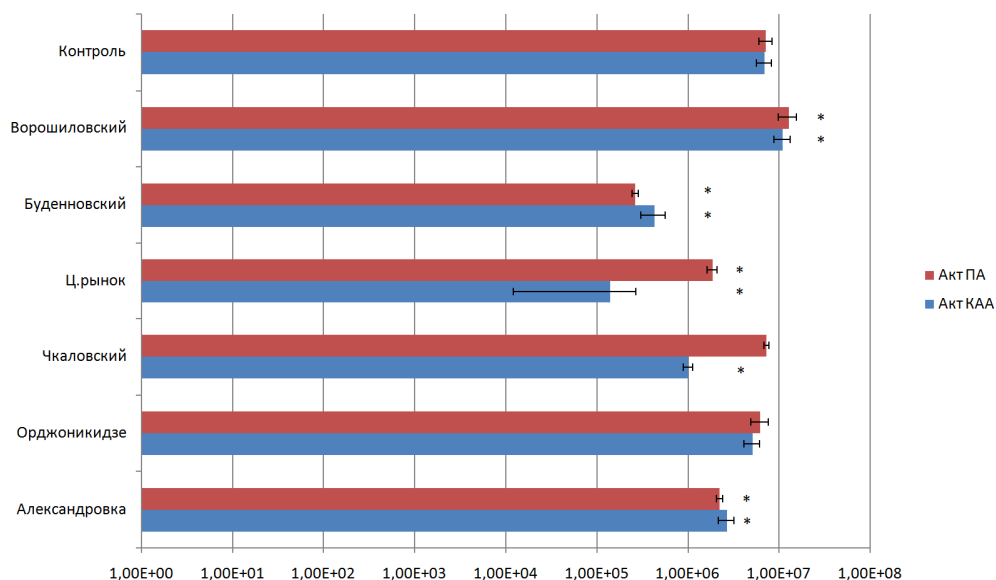
гидролитиками может зависеть от поступления свежего органического вещества. Особенно важным это становится в контексте весьма энергоемкого процесса азотфиксации, проводимого данными микроорганизмами.

Подводя итог, можно отметить, что в целом, все исследованные группы бактерий демонстрируют сходное распределение численности по образцам почвы, что также подтверждается методами статистического анализа с использованием метода главных компонент. Вероятно, это распределение связано с тесными трофическими связями в микробном сообществе каждой исследованной почвы, явлениями метабиоза и протокооперации при разложении поступающих органических веществ. Характерным примером в рамках данного исследования является почва, отобранная в районе Центрального рынка, где интенсивное загрязнение органическими отходами влечет за собой резкое увеличение численности всех эколого-трофических групп, начиная с гидролитиков-аммонификаторов и вплоть до олиготрофов.

Принципиально иную картину демонстрируют актиномицеты. Эта группа почвенных микроорганизмов характеризуется значительно более медленным ростом, и весьма устойчива ко многим негативным воздействиям со стороны среды.

Численность актиномицетов существенно варьировала в зависимости от среды, на которой их учитывали (рис. 5). Использование в качестве среды для выделения актиномицетов почвенного агара способствовало более полному их учету, вероятно за счет наличия специфических факторов роста. В литературе имеются указания, что на почвенном агаре актиномицеты лучше проявляют антагонистические свойства [6], что и позволяет им избежать подавления при росте на поверхности среды. Численность актиномицетов в урбопочвах существенно отличалась от контроля. Среди почв центральной части города выделяется образец,

отобранный на пр. Ворошиловском. Здесь численность актиномицетов на ПА в 1,7 раз выше, чем в контроле. В остальных двух точках численность актиномицетов снижена в 27,3 раза (пр. Буденновский) и в 3,9 раз (Центральный рынок).



**Рисунок 5.**

**Численность актиномицетов в урбопочвах г. Ростова-на-Дону и контрольной почве.**

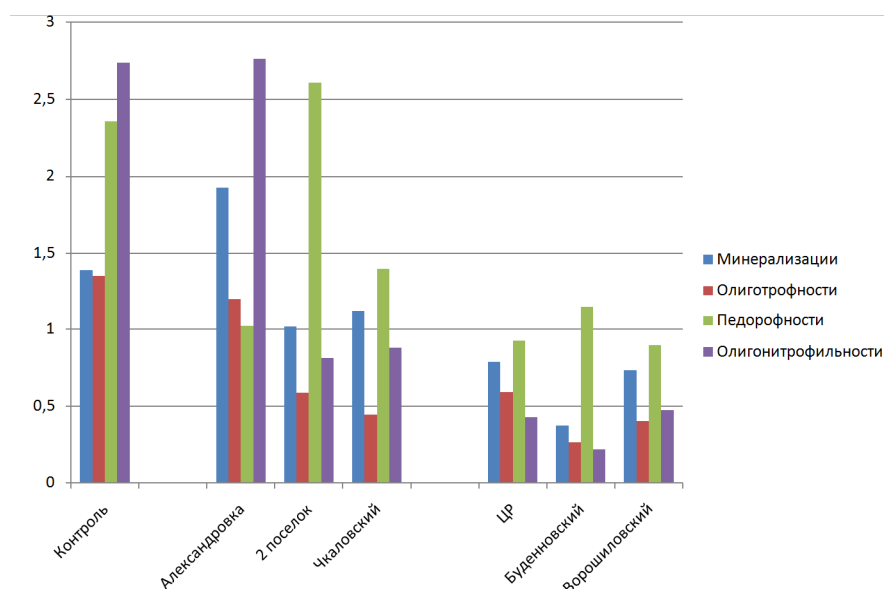
\* - достоверные различия по отношению к контролю при  $p < 0,05$

В почвах окраинной части города достоверное снижение отмечено для почв пос. Александровка (3,2 раза), тогда как для почв пос. Орджоникидзе и пос. Чкаловского достоверных различий с контролем не обнаружено.

Таким образом, актиномицетный комплекс городских почв реагирует на антропогенный пресс иначе, чем немителиальные формы бактерий. Характерна тенденция к снижению численности актиномицетов, по мере возрастания уровня антропогенной нагрузки, и увеличение численности бактерий. Учитывая, что актиномицеты играют важную роль в процессе почвообразования и участвуют в разложении недоступных для бактерий

трудно гидролизуемых соединений [7], это может приводить к усилению процессов деградации урбоэкосистем.

Высокая гетерогенность городской среды вместе с микромозаичным строением почвы создают определенные трудности в выявлении общих закономерностей функционирования микробных ценозов. Весьма показательным представляется использование принятых в почвенной микробиологии коэффициентов, характеризующих соотношение разных эколого-трофических групп в составе микробоценоза. Среди таких коэффициентов мы использовали четыре: коэффициент минерализации, выражающийся как отношение бактерий, выросших на КАА к бактериям, растущим на МПА [8]; коэффициент олиготрофности (ГА/МПА) и коэффициент педотрофности (ПА/МПА) [9]; и коэффициент олигонитрофильности (Эшби/ МПА) [10,11]. Значения коэффициентов представлены на диаграмме (рис. 6).



**Рисунок 6.**

**Значение основных коэффициентов, характеризующих структуру микробного сообщества в урбопочвах г. Ростова-на-Дону и контрольной почве.**

Хорошо видно, что в почвах окраинных частей города значения данных коэффициентов выше, чем в почвах центра города. Несмотря на отмеченные выше локальные различия между опытными площадками, мы можем проследить такую тенденцию достаточно хорошо. По нашему мнению, структура микробоценоза, соотношение между различными эколого-трофическими группами является более устойчивым и показательным критерием, по сравнению с отдельными количественными характеристиками. Микробное сообщество почвы способно очень быстро изменять свои количественные характеристики в связи с сезонностью, температурными и погодными условиями и др. Однако, внутренние связи, существующие в такой системе, приводят к согласованному изменению численности эколого-трофических групп. Поскольку в естественных условиях почва является олиготрофной средой, численность групп, растущих на бедных средах, в незагрязненных почвах оказывается выше, чем численность аммонификаторов, и значения коэффициентов превышают 1. Существенное снижение всех четырех коэффициентов в почвах центральной части города, по нашему мнению, служит ясным указанием на нарушение нормальных эколого-трофических связей, а сами коэффициенты могут служить удобным инструментом для мониторинга состояния антропогенно-преобразованных почв.

#### Список литературы

1. Шергина О.В. Морфологические и физико-химические особенности почв города Иркутска // География и природные ресурсы, 2006.- № 1.- С. 82-90.
2. Методы общей бактериологии: Пер. с англ./Под ред. Ф. Герхардта и др. — М.: Мир, 1983. — 536 с.
3. Методы почвенной микробиологии и биохимии. / Под.ред Д.Г. Звягинцева - М.: Изд-во МГУ, 1991. - 304 с.
4. Практикум по микробиологии / под ред. проф. Н.С. Егорова. М.: Изд-во МГУ, 1976. – 307 с.
5. Мешалкина Ю.Л., Самсонова В.П. Математическая статистика в почвоведении: Практикум.- М.: МАКСПресс, 2008. – 84 с.
6. Галатенко О.А., Терехова Л.П., Булина Т.И. Метод быстрого поиска актиномицетов-продуцентов антибиотиков, эффективных в отношении

метициллинрезистентного штамма *Staphylococcus aureus* // Биотехнология, 2004.- №4.- С. 17-23.

7. Гордеева Т. Х., Малюта О.В. Влияние нетрадиционных мелиорантов на микробиологическую активность почвы и рост растений// Научный журнал КубГАУ, 2012,- №81(07).- С. 181-190.

8. Мишустин Е.Н., Рунов Е.В. Успехи разработки принципов микробиологического диагностирования состояния почв //Успехи современной биологии.– М.: АН СССР, 1957.– Т. 44.– С. 256—267.

9. Семенова И.Н., Ильбулова Г.Р., Суюндуков Я.Т. Изучение эколого-трофических групп почвенных микроорганизмов в зоне влияния горнорудного производства // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 11 (часть 2). – С. 410-414.

10.Голодяев Г.П., Костенков Н.М.,Ознобихин В.И. Биоремедиация нефтезагрязненных почв методом компостирования // Почвоведение, 2009.- №8.-С. 996-1006.

11.Пуртова Л.Н., Щапова Л.Н., Емельянов А.Н., Иншакова С.Н. Изменение показателей гумусного состояния, микрофлоры и ферментативной активности в агрообразцах приморья в условиях фитомелиоративного опыта // Аграрный вестник Урала, 2012.- №10 (102).- С. 10-12.

#### References

1. Shergina O.V. Morfologicheskie i fiziko-himicheskie osobennosti pochv goroda Irkutskaja // Geografija i prirodnye resursy, 2006.- № 1.- S. 82-90.

2. Metody obshhej bakteriologii: Per. s angl./Pod red. F. Gerhardta i dr. — М.: Mir, 1983. — 536 s.

3. Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii. / Pod.red D.G. Zvjaginceva - М.: Izd-vo MGU, 1991. - 304 s.

4. Praktikum po mikrobiologii / pod red. prof. N.S. Egorova. М.: Izd-vo MGU, 1976. – 307 s.

5. Meshalkina Ju.L., Samsonova V.P. Matematicheskaja statistika v pochvovedenii: Praktikum.- М.: МАКСПресс, 2008. – 84 s.

6. Galatenko O.A, Terehova L.P., Bulina T.I. Metod bystrogo poiska aktinomicetov-producentov antibiotikov, jeffektivnyh v otnoshenii meticillinrezistentnogo shtamma *Staphylococcus aureus* // Biotehnologija, 2004.- №4.- S. 17-23.

7. Gordeeva T. H., Maljuta O.V. Vlijanie netradicionnyh meliorantov na mikrobiologicheskiju aktivnost' pochvy i rost rastenij// Nauchnyj zhurnal KubGAU, 2012,- №81(07).- S. 181-190.

8. Mishustin E.N., Runov E.V. Uspehi razrabotki principov mikrobiologicheskogo diagnostirovaniya sostojanija pochv //Uspehi sovremennoj biologii.– М.: АН СССР, 1957.– Т. 44.– S. 256—267.

9. Semenova I.N., Il'bulova G.R., Sujundukov Ja.T. Izuchenie jekologo-troficheskikh grupp pochvennyh mikroorganizmov v zone vlijanija gornorudnogo proizvodstva // Fundamental'nye issledovanija. – 2011. – № 11 (chast' 2). – S. 410-414.

10. Golodjaev G.P., Kostenkov N.M.,Oznobihin V.I. Bioremediacija neftezagrjaznennyh pochv metodom kompostirovanija // Pochvovedenie, 2009.- №8.-S. 996-1006.

11. Purtova L.N., Shhapova L.N., Emel'janov A.N., Inshakova S.N. Izmenenie pokazatelej gumusnogo sostojanija, mikroflory i fermentativnoj aktivnosti v agroabrazemah primor'ja v uslovijah fitomeliorativnogo opyta // Agrarnyj vestnik Urala, 2012.- №10 (102).- S. 10-12.