

УДК 614.771

*М. В. Куркина, В. П. Дедков,
Н. Б. Климова, А. И. Лукина,
М. А. Крушнова, Ж. Т. Кусаинова*

**НОВЫЕ ДАННЫЕ
О НЕКОТОРЫХ ГРУППАХ МИКРООРГАНИЗМОВ
В ПОЧВАХ ГОРОДА КАЛИНИНГРАДА**

Представлены предварительные результаты по количественному содержанию аммонифицирующих, азотфиксирующих, целлюлозоразрушающих микроорганизмов, а также микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, и микроскопических грибов в почвах города Калининграда, находящихся в различных экологических условиях.

The article presents the preliminary results concerning the quantitative content of nitrogen-fixing, cellulose-eliminating microorganisms and microorganisms using the mineral forms of nitrogen and microscopic fungi in Kaliningrad soils under different environmental conditions.

Ключевые слова: г. Калининград, антропогенные загрязнения, микрофлора почвогрунтов.

Keywords: Kaliningrad, anthropogenic pollution, soil microflora.

Калининградская область – самый западный регион России, расположенный на юго-восточном побережье Балтийского моря. По плотности населения, степени урбанизации, интенсивности хозяйственного использования территории, по протяженности и густоте дорожной сети и относительному количеству автотранспорта область сильно превосходит соседние территории [10, с. 6]. Почти половина населения области проживает в городе Калининграде. Концентрация на сравнительно небольшой территории населения, транспорта и промышленных предприятий, с образованием антропогенных ландшафтов, очень далеких от состояния экологического равновесия, создает проблемы в части охраны окружающей среды.

~~В настоящее время в городе Калининграде сложилась достаточно сложная экологическая ситуация. Она связана с повышенным загрязнением воздушного бассейна, неудовлетворительным качеством питьевой воды, загрязнением поверхностных вод и почв, накоплением большого количества промышленных и бытовых отходов [3, с. 209].~~

По данным Калининградского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, основной вклад в загрязнение атмосферы города вносят автотранспорт, предприятия коммунального хозяйства (котельные и ТЭЦ) и промышленные предприятия. В воздухе наблюдаются повышенные концентрации взвешенных веществ (пыли), диоксида азота, формальдегида, бенз(а)пирена. Уровень загрязнения воздуха в городе характеризуется как повышенный или высокий, то есть неблагоприятный для здоровья [9]. На сегодняшний день самым значи-



тельным источником загрязнения воздушного бассейна города Калининграда является автотранспорт. В основном это подержанные автомобили, обладающие низкими эксплуатационно-техническими качествами, что вносит значительный вклад в загрязнение воздушной среды.

Влиянием транспорта на экологическое состояние города обусловлено не только загрязнение атмосферного воздуха выхлопными газами, но и загрязнение водного бассейна (стоки с автомобильных моек, стоянок, гаражей, АЗС и др.) и почв (отходы, загрязненные нефтепродуктами, сажевые частицы шин от истирания на дорогах и др.) [1]. По-прежнему остро стоит вопрос с обеспечением населения качественной питьевой водой. Состояние водных источников и систем централизованного водоснабжения не может гарантировать требуемого качества питьевых вод [3, с. 211].

Почва и атмосферный воздух неразрывно связаны между собой и рассматриваются как значимые факторы экологического неблагополучия населения [2, с. 87]. Почва в городе является одним из самых загрязненных компонентов среды. Причинами загрязнения почвы являются автотранспорт, несанкционированные свалки бытового мусора, некачественная уборка улиц, неупорядоченность мест для выгула домашних животных.

Существенную роль в формировании качества городской среды играют шумовое загрязнение, электромагнитные поля, вибрация, особенности ландшафта, состояние растительности и животного населения. Следовательно, качество городской среды есть результат действия биологических, физических, химических, климатических и других факторов. Они в совокупности создают особые условия для проживания людей. Учитывая комплекс факторов, действующих на состояние окружающей городской среды, уровень загрязнения территории города Калининграда можно свести к двум категориям: допустимое загрязнение и загрязнение, превышающее действующие нормы. В каждой из групп выделяются по три различные зоны, отличающиеся уровнем загрязнения. К первой категории относятся чистая, слабо загрязненная и умеренно загрязненная зоны, ко второй – загрязненная, грязная и очень грязная [4].

Освобождение объектов окружающей среды от загрязняющих веществ и восстановление экологического равновесия очень сложный и длительный процесс. Самоочищение почвы, по сравнению с самоочищением атмосферы и гидросферы, происходит очень медленно. В результате вредные вещества постепенно накапливаются в ней и со временем становятся угрозой для человека, животных и растений.

Наибольшей чувствительностью к антропогенному загрязнению обладают почвенные микроорганизмы: бактерии, актиномицеты, почвенные водоросли, микроскопические грибы. Количественные и качественные изменения в сообществах микроорганизмов позволяют быстро и достаточно точно выяснить экологическую ситуацию на исследуемой территории. Поэтому оценка биоразнообразия обитающих в почве микроорганизмов, их морфологических и физиологических свойств имеет большое значение при решении вопросов, связанных с охраной окружающей среды. В связи с этим целью данной работы яви-



лось изучение микрофлоры почв города Калининграда в зависимости от степени их загрязнения.

Объектами исследования служили озелененные территории (газоны, придомовые территории, скверы, парки) города Калининграда, находящиеся в различных экологических условиях. Согласно карте комплексной оценки окружающей среды [4], территория города делится на шесть зон, характеризующихся различным уровнем загрязнения. В каждой из зон нами были выбраны по пять тестовых участков. Контролем служил участок, расположенный в экологически чистой зоне на территории Взморьеvского лесничества в 2,6 км к западу от границы города Калининграда. Привязки тестовых участков осуществлялись с помощью спутникового навигатора.

Отбор почвенных образцов проводился в июле 2008 г. по общепринятым в микробиологии, экологии и почвоведении методикам [11, с. 149]. С каждого тестового участка в его пяти точках по принципу «конверта» с глубины от 10 до 15 см, с соблюдением условий асептики, брали пробы почвы и помещали их в стерильный бумажный пакет, который плотно закрывался. На пакет наклеивалась этикетка с указанием места и времени отбора проб почвы. В этот же день пробы доставляли в лицензированную лабораторию микробиологии и биотехнологии РГУ им. И. Канта, созданную в рамках национального проекта «Образование», для проведения микробиологического анализа. В момент отбора проб в каждой из пяти точек тестового участка определялась температура на поверхности почвы, температура почвы на глубине взятия пробы (10–15 см), pH и Eh почвенной среды и отбиралась почва в металлические бюксы для последующего определения влажности в лабораторных условиях.

Температура на поверхности почвы измерялась ртутным метеорологическим термометром ГОСТ 6079-69, на глубине взятия пробы – почвенным термометром ГОСТ112-51. Определение pH и Eh почвенной среды осуществлялась с помощью портативного pH-метра HANNA марки HI8314. Влажность почвы определялась весовым методом в пятикратной повторности. Для этого доставленные в лабораторию бюксы с почвой взвешивались на технических весах ВЛТЭ-500 и высушивались в универсальном тепловом шкафу Memmert марки UNB-200 при температуре 105 °С до постоянной массы в течение 4–6 часов. Затем по полученным результатам рассчитывалась влажность почвы в процентах от сухого веса. Микробиологические исследования проводились в свежих образцах почв в первые сутки после отбора проб. Для этого доставленные в лабораторию почвенные пробы высыпались из бумажных пакетов на стерильные листы пергамента, освобождались от камней и корней растений, тщательно перемешивались и бралась средняя проба почвы массой 1 г, а затем она вносилась в колбу со 100 мл стерильной воды для приготовления почвенной суспензии разведения 10^{-2} . Полученную суспензию хорошо взбалтывали на аппарате для встряхивания АБУ-6С в течение 5 минут и после осаждения почвенных частиц использовали для приготовления суспензий со степенью разведений от 10^{-3} до 10^{-7} . Для определения численности колониеобразующих еди-



ниц (КОЕ) различных групп микроорганизмов из суспензий разных разведений осуществлялся поверхностный посев микроорганизмов на плотные питательные среды определенного состава.

Для выявления аммонифицирующих микроорганизмов посев проводился из суспензий 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} разведений на мясо-пептонный агар (МПА). Микроорганизмы, использующие минеральные формы азота, выделяли из 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} разведений на крахмал-аммиачном агаре (КАА). Посев микроорганизмов из разведений 10^{-2} , 10^{-3} осуществлялся для выделения микроскопических грибов на сусло-агар, целлюлозоразрушающих микроорганизмов – на среду Гетчинсона, азотфиксаторов – на среду Эшби. Чашки Петри с посевами, кроме целлюлозоразрушающих микроорганизмов, помещались в термостат при температуре 28°C для выращивания микроорганизмов. Целлюлозоразрушающие микроорганизмы выращивались во влажной камере при комнатной температуре.

Для определения количества микроорганизмов в почве первоначально подсчитывалось количество колоний, выросших на твердых питательных средах при посеве из различных разведений почвенной суспензии. Подсчет клеток проводился на третьи сутки после посева на сусло-агаре, на пятые сутки – на среде Эшби и на МПА, на десятые сутки – на КАА и среде Гетчинсона. При подсчете учитывалось общее количество колоний: спорообразующих, флуоресцирующих, желтопигментных, колоний актиномицетов и микроскопических грибов. Далее рассчитывалось количество микроорганизмов в 1 г абсолютно сухой почвы.

Первые предварительные данные о количественном содержании аммонифицирующих, азотфиксирующих, целлюлозоразрушающих микроорганизмов, разрушающих минеральные формы азота, и микроскопических грибов, полученные на основании исследований, проведенных летом 2008 г., представлены на рисунках 1–5.

Как известно, в природе микроорганизмы принимают активное участие в трансформации азотсодержащих соединений. Важная роль в этом процессе принадлежит аммонификаторам. Они осуществляют разложение белковых веществ под действием протеолитических ферментов, выделяемых микроорганизмами в окружающую среду [7, с. 39]. Результаты исследований показали, что содержание аммонифицирующих микроорганизмов в почвах, находящихся за пределами города Калининграда (контроль), составляет около 6 млн на 1 г почвы. Количественные показатели данной группы микроорганизмов в почвах города во много (20–100) раз превышают их в контроле и колеблются по зонам в среднем от 85 до 521 млн/г. Максимальные значения микроорганизмов данной группы отмечены в почвах двух тестовых участков, расположенных в слабозагрязненной зоне, и составляют 871 и 965 млн/г, минимальные – в загрязненной (12 млн/г) и грязной (5 млн/г) зонах. Следует отметить, что эти данные сильно отличаются как между зонами, так и между тестовыми участками в пределах каждой исследованной зоны (см. рис. 1).



Рис. 1. Количественное содержание аммонифицирующих микроорганизмов в почвах зеленых зон города Калининграда

Аналогичная картина наблюдается и с микроорганизмами, использующими минеральные формы азота (см. рис. 2). Все исследованные городские зоны характеризовались более высоким их содержанием по сравнению с контролем. В почвах тестовых участков, расположенных в слабозагрязненной и очень грязной зонах, отмечены максимумы КОЕ данной группы микроорганизмов (36392 и 27576 млн/г соответственно). Следует отметить, что в количественном отношении эта группа микроорганизмов преобладает в микронаселении почв города.

Большую роль в круговороте азота в природе играет азотфиксация. Представители процесса — бактерии рода *Azotobacter* — осуществляют фиксацию молекулярного азота, синтезируют некоторые биологически активные вещества, в том числе и некоторые фитогормоны, например ауксины, тем самым стимулируют рост и развитие растений. Экзополисахариды представителей рода участвуют в мобилизации тяжелых металлов в почве, способствуя самоочищению почв, загрязненных тяжелыми металлами, например кадмием, ртутью и свинцом. Данные о количественном содержании азотфиксирующих микроорганизмов в почвах города Калининграда представлены на рисунке 3. Показано, что среднее содержание азотфиксаторов в относительно чистой, слабозагрязненной, грязной и очень грязной зонах примерно в два раза выше, чем в контроле, и не зависит от уровня загрязнения. Загрязненная зона отличается наибольшим содержанием азотфиксаторов, здесь отмечено четырехкратное увеличение от значений контрольного варианта.



Рис. 2. Количественное содержание микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, в почвах зеленых зон города Калининграда

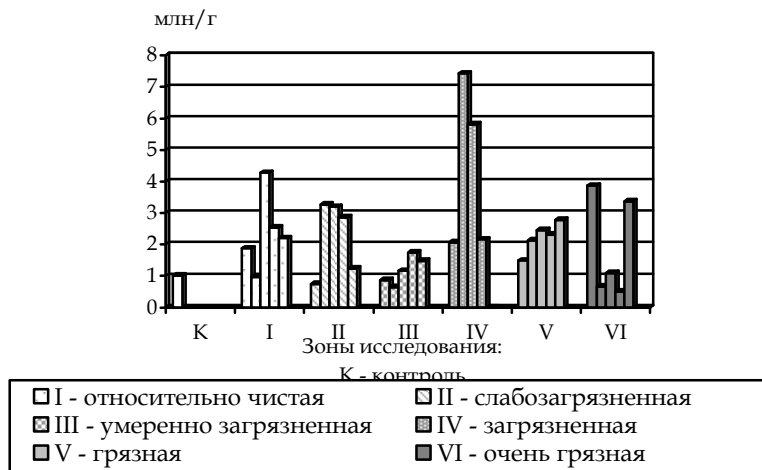


Рис. 3. Количественное содержание азотфиксирующих микроорганизмов в почвах зеленых зон города Калининграда

Активную роль в деструкции органической массы играют целлюлозоразрушающие микроорганизмы. От их качественного и количественного состава зависит активность процессов разложения целлюлозы. Проведенные нами исследования показали, что почвы, находящиеся в условиях более сильного антропогенного загрязнения (загрязненная, грязная и очень грязная зоны), характеризуются более высокими количествами целлюлозоразрушающих микроорганизмов (см. рис. 4). Количественное содержание целлюлозоразрушающих микроорганизмов в почвах тестовых участков, расположенных на территории с допустимым уровнем загрязнения, в среднем по зонам не отличается от их содержания в контроле.



Важным показателем функционирования почвы является обилие, видовое разнообразие и фитотоксичность микроскопических грибов. В литературе имеются сведения об увеличении обилия оппортунистических и фитотоксичных микромицетов после загрязнения почв нефтью и их уменьшение через три месяца рекультивации биопрепаратами [5, с. 63]. Отмечено увеличение доли грибов рода *Fusarium* – наиболее активных продуцентов фитотоксичных веществ в условиях свинцового загрязнения [6, с. 22]. Выявлено накопление токсичных микромицетов в местах, загрязненных выбросами автотранспорта. [8]. Наши исследования показали, что уровень микроскопических грибов в среднем по зонам зависит от качества окружающей среды и увеличивается с повышением интенсивности загрязнения от относительно чистой зоны до умеренно загрязненной. Затем, по мере увеличения уровня загрязнения, наблюдается снижение количества микроскопических грибов.

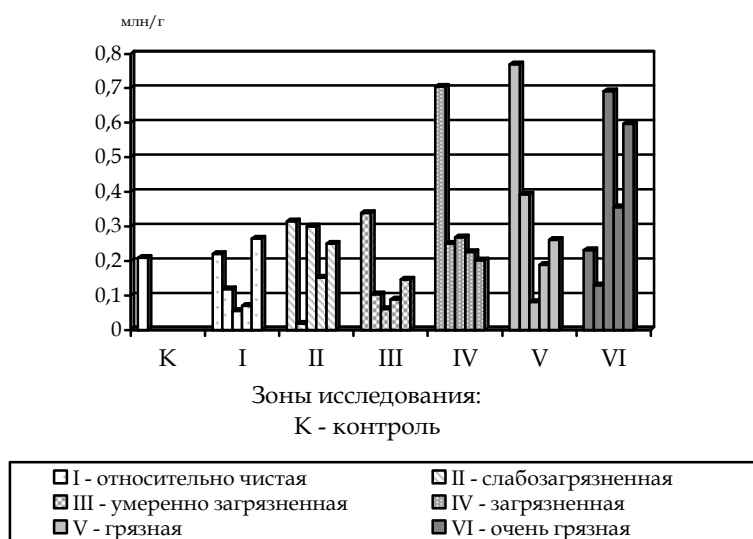


Рис. 4. Количественное содержание целлюлозоразрушающих микроорганизмов в почвах зеленых зон города Калининграда

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о значительном разнообразии различных групп микроорганизмов в почвогрунтах города Калининграда, а именно: аммонифицирующих, азотфиксирующих, целлюлозоразрушающих микроорганизмов, микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, а также микроскопических грибов. Количественное содержание почвенных микроорганизмов неодинаково и изменяется в значительных пределах как между зонами, так и внутри них, что указывает на необходимость проведения дальнейших углубленных исследований.



Рис. 5. Количественное содержание микроскопических грибов в почвах зеленых зон города Калининграда

Список литературы

1. Влияние автотранспорта на окружающую среду в городах России. URL: www.transpenv.org.ru
2. Доклад о состоянии и об охране окружающей среды Калининградской области в 2002 г. / Упр. природ. ресурсов и охраны окружающей среды МПР России по Калинингр. обл. Калининград, 2003.
3. Доклад о состоянии и об охране окружающей среды Калининградской области в 2003 г. / Упр. природ. ресурсов и охраны окружающей среды МПР России по Калинингр. обл. Калининград, 2004.
4. Карта комплексной оценки состояния окружающей среды города Калининграда // Экологический атлас г. Калининграда, 1999.
5. Киреева Н. А., Бакаева М. Д., Галимзянова Н. Ф. Влияние различных способов биоремедиации нефтезагрязненных почв на характеристику комплекса микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. 2008. Т. 44. №1. С. 63–68.
6. Мосина Л. В. Антропогенное изменение лесных экосистем в условиях мегаполиса Москва: автореф. дис. д-ра биол. наук. М., 2003.
7. Рабинович Г. Ю., Сульман Э. М. Санитарно-микробиологический контроль объектов окружающей среды и пищевых продуктов с основами общей микробиологии: учеб. пособ. Тверь, 2005.
8. Свистова И. Д., Корецкая И. И., Щербаков А. П. Микробиомониторинг автотранспортного загрязнения чернозема в разных типах придорожных экосистем. URL: www.vestnik.vsu.ru
9. Состояние окружающей среды г. Калининграда. URL: www.klgd.ru
10. Схема охраны природы Калининградской области: краткая версия. Калининград, 2005.
11. Теплер Е. З. и др. Практикум по микробиологии: учеб. пособ. / под ред. В. К. Шильниковой. М., 2004.

Об авторах

М. В. Куркина — канд. биол. наук, доц., РГУ им. И. Канта, mv.kurkina@mail.ru



В.П. Дедков — д-р биол. наук, проф., РГУ им. И. Канта, dedkov@albertina.ru

Н.Б. Климова — студ., РГУ им. И. Канта.

А.И. Лукина — студ., РГУ им. И. Канта.

М.А. Крупнова — студ., РГУ им. И. Канта.

Ж.Т. Кусаинова — студ., РГУ им. И. Канта.

Authors

Professor V.P. Dedkov — IKSUR, dedkov@albertina.ru

Dr. M.V. Kurkina — Associate Professor, IKSUR, mv.kurkina@mail.ru

N.B. Klimova — student, IKSUR.

A.I. Lukina — student, IKSUR.

M.A. Krupnova — student, IKSUR.

G.T. Kusainova — student, IKSUR.