

УДК 579.6:614.771:631.427.2

М. В. Куркина, А. А. Родимова, В. П. Дедков

**СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА АКТИНОМИЦЕТОВ
ПОЧВ ЗЕЛЕННЫХ ЗОН КАЛИНИНГРАДА**

8

Исследован количественный и систематический состав актиномицетов рода Streptomyces в почвах Калининграда, различных по степени загрязненности. Доказана сезонная активность актиномицетов в почвах города. Выявлены изменения зависимости количества актиномицетов от температуры и рН почвенной среды по сезонам года. Проведен предварительный систематический анализ актиномицетов городских почв.

The systematic and quantitative composition of Actinomyces (genus Streptomyces) in the soils of Kaliningrad was analysed according to the level of soil contamination. The authors proved the seasonal activity of Actinomyces in the soils of the city and identified the changes in the dependence between the number of Actinomyces and the temperature and pH of soil environment throughout seasons. The article offers a preliminary systematic analysis of Actinomyces in the city soils.

Ключевые слова: урбоэкосистемы, мониторинг почв, актиномицеты.

Key words: urban ecosystems, soil monitoring, Actinomyces.

Городская экосистема формируется в результате антропогенного и природного взаимодействия. Однако уже на стадии сложившихся урбоэкосистем антропогенный пресс значительно преобладает над любыми другими средообразующими факторами.

Почвенный покров как один из ключевых компонентов экосистем является ядром городской геотехсистемы и наиболее подвержен изменениям в урбанизированной среде [1]. В связи с этим городские почвы — ключевой объект городского урбоэкологического мониторинга, предполагающего их комплексную, всестороннюю оценку. В таком плане микробиологический мониторинг почв представляется наиболее показательным. Микробиота почв, а именно ее качественная, количественная и структурно-популяционная динамика, становится достоверным индикатором состояния почвенной среды. Способность микроорганизмов к быстрой адаптации в изменяющихся условиях среды, их функциональная стабильность в экосистемах определили возможность биотестирования природной среды по микробиологическим показателям [2–4].

Актиномицеты — неотъемлемая часть микробного сообщества почвы. Они вырастают на традиционно используемых питательных средах при посевах из разведений почвенных суспензий. В почве актиномицеты представлены достаточно широко. Почти все из известных в на-



стоящее время родов актиномицетов выделены из почв или обнаружены в ней [5, с. 3]. Есть прямые доказательства того, что популяции актиномицетов представлены в значительной мере спорами. Активно растущий вегетативный мицелий обнаруживается в микроразонах с повышенным содержанием органического вещества. С помощью концентрирования почвенных актиномицетов на ядерных фильтрах и последующего иммунофлуоресцентного окрашивания определено, что структурной доминантой в популяции почвенных актиномицетов являются споры, которые и образуют большинство колоний (более 90%), при учете популяций методом посева из разведений почвенных суспензий на плотные питательные среды. Мицелий обычно составляет 1–4% биомассы популяций актиномицетов [5, с. 12–23]. Значение почвенных актиномицетов заключается в синтезе и разложении гумусовых веществ, продукции антибиотических веществ и поддержании азотного баланса почвы [5].

В литературе встречаются сведения об изменении численности и качественного состава актиномицетов под влиянием отдельных загрязнителей (пестициды, тяжелые металлы, нефтяные загрязнения) [2, с. 13, 136–137; 6]. Кроме того, уже проделана определенная работа по изучению микрофлоры почв Калининграда [7; 8]. Однако полная картина закономерностей изменения структуры популяций почвенных актиномицетов отсутствует. В связи с этим проводимое нами многолетнее исследование экологии актиномицетов в почвах Калининграда – актуальное и перспективное направление комплексного анализа почв города. Цель данной работы – изучение сезонной динамики актиномицетов в почвах зеленых зон Калининграда, различных по уровню загрязнения. В круг наших исследований входили следующие задачи:

- определить количественное содержание актиномицетов в почвах Калининграда в разные сезоны года;
- изучить влияние температуры почвы и рН среды на количество актиномицетов;
- изучить морфологические признаки выделенных актиномицетов.

Объектами данного исследования служили почвы озелененных участков Калининграда, характеризующиеся разной степенью загрязненности. Зоны загрязненности определялись по карте комплексной оценки состояния окружающей среды Калининграда [9]. Согласно этой карте территория города разделена на шесть зон, соответствующих уровню загрязненности: относительно чистая зона (З), слабо загрязненная (Ж), умеренно загрязненная (О), загрязненная (К), грязная (Ф) и очень грязная (С). Внутри каждой зоны выделяли пять участков, с которых брали пробы почвы (по одной пробе на участке). Контролем служил участок на территории Взморского лесничества на расстоянии 2,6 км к западу от границы Калининграда. Названный контрольный участок выбирался в соответствии с розой ветров Калининграда: преобладающее направление ветра – западное [10]. Таким образом, естественная воздушная циркуляция способствует переносу загрязненных городских воздушных масс в противоположном от выбранного контрольного участка направлении.



Сбор и микробиологический анализ почвенных проб осуществляли по стандартной методике [8]. Для выделения и дифференцированного учета актиномицетов использовали метод глубинного посева из разведений почвенных суспензий на плотную питательную среду «крахмало-аммиачный агар» [11, с. 153]. Посев делали с пятого (10^{-5}), шестого (10^{-6}) и седьмого разведений (10^{-7}) — последние варьировались в разные периоды исследования. Актиномицеты выращивали в термостате при температуре 28°C. На десятые сутки инкубации подсчитывали число колоний, выросших на питательных средах в чашках Петри. Затем количество актиномицетов рассчитывали в колониеобразующих единицах на 1 г абсолютно сухой почвы. Полученные данные были обработаны статистически с применением пакета программ Microsoft Excel.

Систематический анализ актиномицетов заключался в описании культуральных свойств (цвет воздушного и субстратного мицелия, цвет растворимых пигментов, окрашивающих среду), а также в изучении морфологических свойств (тип цепочек и характер поверхности спор) с использованием световой и электронной микроскопии¹.

Цвет воздушного и субстратного мицелия определяли на седьмые, четырнадцатые и двадцать первые сутки роста культур, цвет воздушного мицелия — при дневном освещении в ясный день (не на прямом солнечном свете). Чаще всего цвета состоят из нескольких оттенков, среди которых основные — голубой, серый, розовый, желтый, коричневый или белый. Как правило, в процессе роста колонии актиномицетов меняют цвет, например от белого к розовому, а затем к серому. В этом случае последняя окраска считается основной.

Цвет субстратного мицелия определяли по обратной стороне колонии. Он обусловлен образованием различных пигментов: желтых, оранжевых, зеленых, красных, фиолетовых, бурых, черных и др. Цвет субстратного мицелия также может изменяться по мере роста культуры, последняя окраска — основная. Слабо выраженная окраска диагностического значения не имеет, поэтому такой мицелий характеризуется как бесцветный. После описания культуральных свойств выделенных колоний определили секции актиномицетов в соответствии с цветом воздушного мицелия и серии — с цветом субстратного мицелия [12, с. 17–18].

Морфологические признаки актиномицетов описывали после двадцать первых суток роста культур по следующим признакам: тип цепочек и характер поверхности спор. Для выяснения типа цепочек спор кусочек агара с мицелием актиномицетов помещали на предметное стекло или делали препарат-отпечаток, затем просматривали в световом микроскопе марки «Альтами» при увеличении в 800 раз. Характер поверхности спор определяли, используя сканирующий электронный микроскоп JSM-6390LV фирмы JEOL. Для этого делали препарат-отпе-

¹ Авторы выражают благодарность сотрудникам физико-технического факультета Н. М. Никулину, Е. В. Ясинской, Д. С. Антропову за помощь при проведении электронной микроскопии.



чаток на металлическую подложку, затем просматривали при увеличении в 6–20 тыс. раз.

Исследования проводили в период с октября 2008 по октябрь 2010 г. в лаборатории микробиологии и биотехнологии Балтийского федерального университета им. И. Канта.

Результатом систематического посезонного микробиологического анализа на предмет изучения экологии актиномицетов в зеленых зонах Калининграда стал массив данных, представленный на нижеследующих рисунках.

Изменение количества микроорганизмов в разные сезоны года внутри каждой из почвенных зон, различной по степени загрязненности, показано на рисунке 1. Отмечено колебание количества актиномицетов в контрольной пробе по сезонам: от нулевых значений весной, когда актиномицеты не были выделены, до 2,5 млн КОЕ/г почвы осенью 2009 г. Колебания количества микроорганизмов по зонам городских почв различной загрязненности демонстрируют устойчивую тенденцию превышения контроля в несколько раз.

11

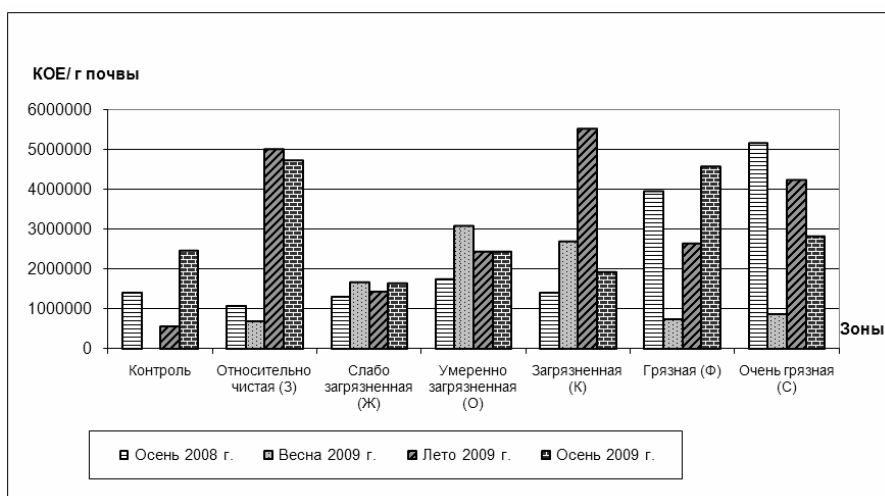


Рис. 1. Среднее количественное содержание актиномицетов в 1 г абсолютно сухой почвы зеленых зон Калининграда в период с осени 2008 по осень 2009 г.

Интересно, что количество актиномицетов в весенний период не превышает 3,1 млн КОЕ/г почвы (максимум в умеренно загрязненной зоне), тогда как в летний период содержание микроорганизмов в почве возрастает до 5,5 млн КОЕ/г почвы (максимум в загрязненной зоне). Эмпирически установленную закономерность (зависимость количества актиномицетов в почве от времени года) подтверждают результаты двухфакторного дисперсионного анализа, его показатель – F-критерий, или коэффициент Фишера. Дисперсионный анализ данных о числе актиномицетов в почвах Калининграда в период с осени 2008 по



лето 2010 г. показал, что время года (лето, осень и весна) оказывают влияние на изменение количественного состава микроорганизма, поскольку $F_{\text{расчет}} 6,57 > F_{\text{крит.}} 2,85$.

При изучении численности микроорганизмов нельзя не учитывать факторы внешней среды, непосредственно влияющие на динамику популяции. С целью выявления зависимости между изменением количества почвенных актиномицетов в разные сезоны года и некоторыми факторами среды (влажность почвы, температура почвы, pH) был проведен корреляционный анализ данных. Установлено, что в различные сезоны года перечисленные выше факторы оказывали неодинаковое влияние на изменение числа микроорганизмов. Например, в весенние периоды исследований 2009 и 2010 гг. не удалось найти достоверных зависимостей между наблюдаемыми факторами, тогда как по данным осени 2008 и 2010 гг. выявлена достоверная положительная корреляционная связь между количеством актиномицетов в почве и ее температурой (рис. 2):

- 1) осень 2008 г.: $r = 0,26$; $P \leq 0,05$; $n = 31$;
- 2) осень 2010 г.: $r = 0,35$; $P \leq 0,05$; $n = 31$.

Отрицательная зависимость между количеством актиномицетов и pH почвы наблюдалась осенью 2008 г.: $r = -0,34$; $P < 0,05$; $n = 31$, где r — коэффициент корреляции (коэффициент Пирсона); P — вероятность ошибки; n — объем выборки.

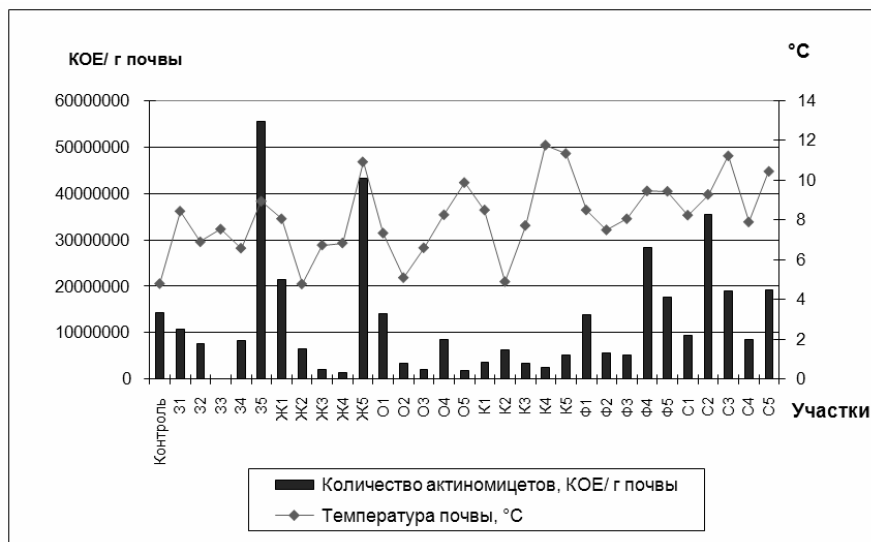


Рис. 2. Зависимость количества актиномицетов в 1 г почвы от ее температуры в осенний период 2010 г.

На рисунке 2 представлены данные по количеству актиномицетов в почве каждого из пробных участков. В целом весной, когда активность актиномицетов низка, сложно выявить прямое действие абиотических



факторов по отдельности; осенью на фоне высокой активности температурный фактор оказывает существенное действие на количественный состав актиномицетов.

Для определения систематической принадлежности актиномицетов было отобрано случайным образом 17 колоний из различных проб почв осеннего цикла исследования 2009 г. Установлено, что все они относятся к роду *Streptomyces*. Серии и секции (выделялись по цвету воздушного и субстратного мицелия) распределились, как показано в таблице 1, следующим образом.

Таблица 1

Секции и серии выделенных колоний актиномицетов рода *Streptomyces* с указанием их количества

Секция	Серия	Количество	Доля, %
Cinereus	Achromogenes	12	70,6
Albus	Albus	3	17,6
	Albocoloratus	1	5,9
Roseus	Lavandule-roseus	1	5,9

Морфологические свойства изученных колоний (тип цепочек и характер поверхности спор) представлены в таблицах 2 (секция *Cinereus*) и 3 (секции *Albus* и *Roseus*).

Таблица 2

Морфологические свойства актиномицетов рода *Streptomyces* секции *Cinereus Achromogenes*

Колония	Cinereus Achromogenes		Колония	Cinereus Achromogenes	
	Тип цепочек спор	Поверхность спор		Тип цепочек спор	Поверхность спор
1	Спиральные (4–7 об.*)	Гладкая	7	Спиральные (3–6 об.)	Гладкая
2	Прямые	Гладкая	8	Плотные спирали (4–6 об.)	Гладкая
3	Прямые	Гладкая	9	Спиральные (3–7 об.)	Гладкая
4	Длинные, извитые	Гладкая	10	Длинные прямые и извитые	Гладкая
5	Короткие, извитые	Волоски средней длины	11	Спиральные (4–10 об.)	Гладкая
6	Спиральные (2–5 об.)	Гладкая	12	Плотные спирали (4–6 об.)	Гладкая

* *Примечание:* об. — количество оборотов в спирали.



Таблица 3

**Морфологические свойства актиномицетов рода *Streptomyces*
секций *Albus* и *Roseus***

Колония	Тип цепочек спор	Поверхность спор
<i>Albus Albus</i>		
1	Примитивные спирали (петли)	Гладкая
2	Прямые	Гладкие
3	Примитивные спирали (петли)	Гладкая
<i>Albus albocoloratus</i>		
1	Короткие извитые	Гладкие
<i>Roseus Lavandule-roseus</i>		
1	Длинные извитые	Гладкие

14

Д. С. Антроповым сделано несколько фотографий стрептомицетов, по которым изучались морфологические свойства колоний (рис. 3–5).

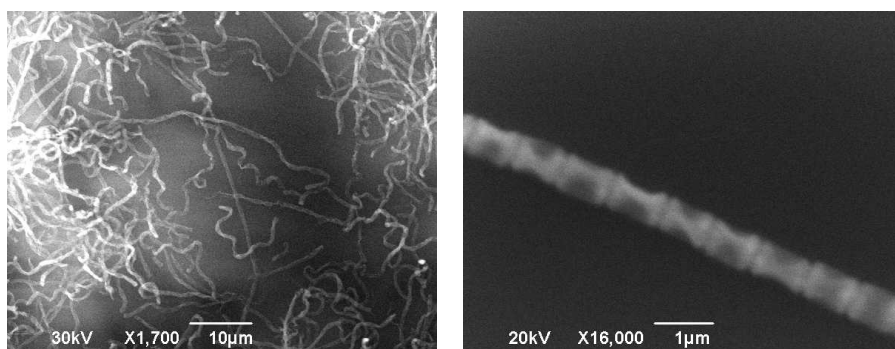


Рис. 3. Длинные извитые цепочки (слева) и гладкая поверхность спор (справа) стрептомицета секции *Cinereus Achromogenes*

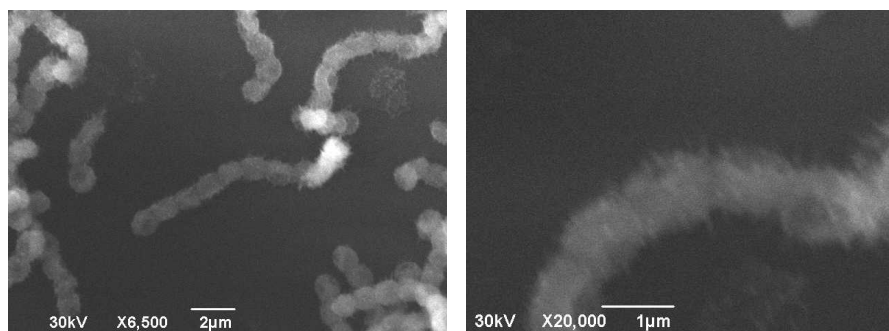


Рис. 4. Короткие извитые цепочки (слева) и поверхность спор с волосками средней длины (справа) стрептомицета секции *Cinereus Achromogenes*

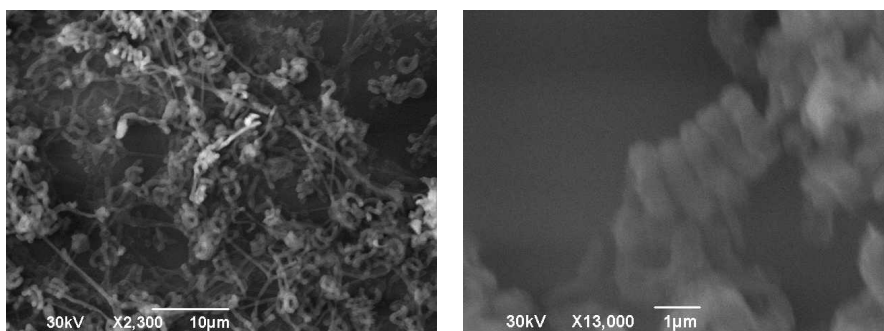


Рис. 5. Плотные спирали (4–6 оборотов) (слева) и гладкая поверхность спор (справа) стрептомицета *Cinereus Achromogenes*

Таким образом, проведенное нами исследование показало, что количественный состав актиномицетов в почвах зеленых зон Калининграда варьировал в широких пределах и зависел от сезона года: летом выявлено наибольшее количество микроорганизмов по сравнению с весной и осенью.

Установлена положительная корреляционная зависимость между количеством актиномицетов, с одной стороны, и температурой почвы — с другой, и отрицательная — между их количеством и рН почвы.

В почвах зеленых зон Калининграда обнаружены актиномицеты рода *Streptomyces* с преобладанием секций *Cinereus*, *Albus* и *Roseus*.

Список литературы

1. Медведева М.В., Федорец Н.Г. Комплексная оценка состояния почв, находящихся в условиях урбанизации // Экологические системы и приборы. 2004. №7. С. 5–8.
2. Микроорганизмы и охрана почв / под ред. Д.Г. Звягинцева. М., 1989.
3. Гузев В.С., Левин С.В. Техногенные изменения сообщества почвенных микроорганизмов // Перспективы развития почвенной микробиологии / ред. Д.Г. Звягинцев. М., 2001. С. 178–219.
4. Сорокин Н.Д. Микробиологический мониторинг нарушенных наземных экосистем Сибири // Известия РАН. Серия биологическая. 2009. №6. С. 728–733.
5. Зенова Г.М. Почвенные актиномицеты. М., 1992.
6. Емцев В.Т. Почвенные микробы и деградация ксенобиотиков // Перспективы развития почвенной биологии / ред. Д.Г. Звягинцев. М., 2001. С. 77–78.
7. Дедков В.П., Куркина М.В. Актуальные проблемы изучения микрофлоры почв города Калининграда // Вестник Российского государственного университета им. Канта. 2009. Вып. 7. С. 77–83.
8. Куркина В.М., Дедков В.П., Климова Н.Б. и др. Новые данные о некоторых группах микроорганизмов в почвах города Калининграда // Вестник Российского государственного университета им. Канта. 2009. Вып. 7. С. 90–98.
9. Карта комплексной оценки состояния окружающей среды города Калининграда // Экологический атлас г. Калининграда. Калининград, 1999.
10. Ландшафтная карта окрестностей города Калининграда. О городском климате // Экологический атлас г. Калининграда. Калининград, 1999.



11. *Теппер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И.* Практикум по микробиологии. М., 2004.

12. *Определитель актиномицетов.* Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chaetia* / Г. Ф. Гаузе [и др.]. М., 1983.

Об авторах

Марина Викторовна Куркина – канд. биол. наук, доц., Балтийский федеральный университет им. И. Канта, e-mail: MKurkina@kantiana.ru

Анна Александровна Родимова – студ., Балтийский федеральный университет им. И. Канта, e-mail: rodimova_anna@mail.ru

Виктор Павлович Дедков – д-р биол. наук, проф., Балтийский федеральный университет им. И. Канта, e-mail: VDedkov@kantiana.ru

About authors

Dr. Marina V. Kurkina – Associate Professor, IKBFU, e-mail: MKurkina@kantiana.ru

Anna A. Rodimova – student, IKBFU, e-mail: rodimova_anna@mail.ru

Prof. Victor P. Dedkov – IKBFU, e-mail: VDedkov@kantiana.ru