

## ВЛИЯНИЕ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА КОЛИЧЕСТВО РЕЗИСТЕНТНЫХ ФОРМ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

О.В. СЫЩИКОВА, Н.В. ЖАДИНСКИЙ

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького (2015oksana@rambler.ru)

## INFLUENCE OF HEAVY METALS ON QUANTITY OF RESISTANT FORMS OF SOIL MICROORGANISMS

O.V. SYSHCHUKOVA, N.V. ZHADINSKY

M. Gorky Donetsk National Medical Institute (2015oksana@rambler.ru)

**Резюме.** В работе приведены данные о влиянии комплекса тяжёлых металлов на микрофлору чернозёма обыкновенного, а также численность резистентных форм актиномицетов. Показано, что влияние высокой концентрации тяжёлых металлов при продолжительном воздействии приводит к снижению общей численности микроорганизмов и доли актиномицетов в микробных сообществах этих почв, тогда как незначительное содержание токсикантов вызывает незначительное повышение их количества.

**Ключевые слова:** микроорганизмы, тяжёлые металлы, актиномицеты, резистентность.

**Abstract.** In this work are provided the data on influence of a heavy metals complex on microflora of the chernozem usual, and also the number of actinomycetes resistant forms. It is shown that influence of high concentration of heavy metals at a long time of influence leads to decrease in total number of microorganisms and shares of actinomycetes in microbic communities of these soils whereas the insignificant maintenance of toxicants causes slight increase of their quantity.

**Key words:** microorganisms, heavy metals, actinomycetes, resistance.

Загрязнение почв тяжёлыми металлами представляет наибольшую опасность, поскольку они поступают в почвы в виде окислов или солей, обладающих наибольшей миграционной активностью. Имея ярко выраженную катионную поглонительную способность, почва очень хорошо удерживает положительно заряженные ионы металлов. Поэтому постоянное поступление этих соединений, даже в малых количествах, в течение продолжительного времени способно привести к существенному накоплению металлов преимущественно в гумусированном биологически активном слое [Алексеев, 1987].

Высокое содержание тяжёлых металлов отрицательно влияет на почвенную микрофлору, жизнедеятельность которой тесно связана с плодородием. Однако, известно, что микробные сообщества имеют потенциальную способность к саморегуляции. В настоящее время широко дискутируется вопрос об адаптационном характере развития микроорганизмов в почвах с высоким содержанием тяжёлых металлов. Культуры, выделенные из природных субстратов, обогащённых металлами, проявляли к ним резистентность [Таширев, 1999; Андреюк, 2001].

Целью наших исследований было изучение изменения общего количества микроорганизмов и актиномицетов при воздействии смеси тяжёлых металлов ( $Cd^{2+} + Fe^{2+} + Ni^{2+} +$

Pb<sup>2+</sup> + Cu<sup>2+</sup> + Zn<sup>2+</sup>) на микрофлору чернозёма обыкновенного, а также численности резистентных форм актиномицетов. Объектом исследования была зональная почва (чернозём обыкновенный). В модельном опыте загрязнение почвы осуществляли путём внесения водного раствора смеси солей тяжёлых металлов (нитратов, сульфатов и ацетатов), доза каждого из которых составляла 1, 5 и 15 ПДК (минимальная, средняя и максимальная концентрации соответственно) [Путинська, 1999]. Отбор проб проводили непосредственно после внесения смеси солей тяжёлых металлов в почву (0 сутки) и на 30 сутки эксперимента. Общую численность микроорганизмов и количество актиномицетов определяли методом посева на твёрдую питательную среду – крахмало-аммиачный агар (КАА). Учёт резистентных к тяжёлым металлам микроорганизмов проводили на КАА, содержащем смесь тяжёлых металлов в концентрациях 0,75; 1; 5 и 10 ПДК.

Проведённые исследования позволили установить, что на 30 сутки эксперимента общее количество микроорганизмов в почве со средним уровнем загрязнения увеличивается на 8%, тогда как при минимальной концентрации тяжёлых металлов отмечено статистически достоверное увеличение численности на 208% по сравнению с 0 сутками эксперимента (таблица). Отрицательное действие тяжёлых металлов на численность микроорганизмов отмечено в почве с максимальной концентрацией, где общее количество микроорганизмов на 30 сутки в 1,4 раза меньше, чем на начальном этапе стрессового воздействия. Наряду с этим на 0 сутки эксперимента происходит увеличение процентного отношения микроорганизмов в почве со средним и максимальным уровнем загрязнения на 22–28% по сравнению с контролем, тогда как на 30 сутки установлено статистически достоверное его увеличение на 15% только в почве с минимальной концентрацией тяжёлых металлов, а в почве с максимальной концентрацией – уменьшение на 34%.

Таблица

**Количество микроорганизмов в почве, загрязнённой тяжёлыми металлами, млн/г абсолютно сухой почвы**

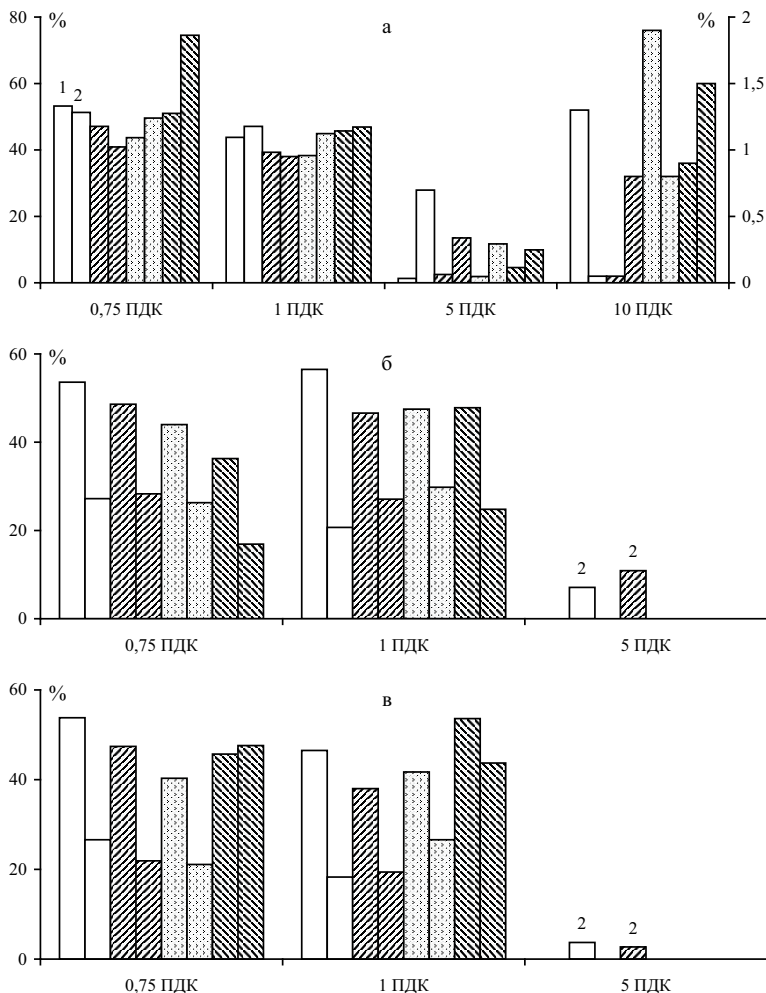
Вариант опыта	Время экспозиции							
	0 сутки				30 сутки			
	Общее количество микроорганизмов		Количество актиномицетов		Общее количество микроорганизмов		Количество актиномицетов	
M ± m	% к контролю	M ± m	% к контролю	M ± m	% к контролю	M ± m	% к контролю	
Контрольная почва	5,39±0,49		2,86±0,17		7,20±1,15		3,83±0,74	
Почва + 1 ПДК тяжёлых металлов	3,99±0,15	74,0	1,92±0,14	67,1	8,28±0,69*	115,0	4,38±0,49*	114,4
Почва + 5 ПДК тяжёлых металлов	6,89±0,74	127,8	3,0±0,37	104,9	7,44±0,23	103,3	3,72±0,34	97,1
Почва + 15 ПДК тяжёлых металлов	6,57±0,39	121,9	2,67±0,18	93,4	4,75±0,23*	66,0	1,26±0,05*	32,9

Примечание: \* – различия достоверны при p < 0,05

Изучение численности актиномицетов показало, что на 30 сутки в контрольной почве и в почве с минимальным и средним уровнем загрязнения происходит увеличение количества этих микроорганизмов в 1,3; 2,3 и 1,2 раза соответственно по сравнению с 0 сутками. Наряду с этим в почве с максимальной концентрацией тяжёлых металлов отмечено значительное снижение количества актиномицетов (в 2,1 раза).

Расчёт участия актиномицетов в структуре комплекса микроорганизмов, растущих на КАА показал, что в начале воздействия тяжёлых металлов в концентрации 1 и 5 ПДК процент актиномицетов к их количеству в контрольной почве составил 67 и 105%. Воздействие токсикантов в течение месяца приводит к увеличению процентного количества актиномицетов в почве, загрязнённой минимальной концентрацией тяжёлых металлов на 14%, тогда как в почве при среднем и максимальном уровне загрязнения отмечено уменьшение доли актиномицетов до 97 и 33% соответственно (табл.). Следовательно, при

высокой дозе загрязнения почвы (15 ПДК каждого металла в смеси) и более длительном времени воздействия наблюдается снижение количества микроорганизмов и доли актиномицетов в микробных сообществах этих почв, тогда как незначительное содержание тяжёлых металлов приводит к некоторому повышению их количества.



**Рис. Количество резистентных микроорганизмов на КАА:** а – процент резистентных микроорганизмов от общего количества на КАА, б – процент актиномицетов от количества резистентных микроорганизмов, в – процент резистентных актиномицетов от общего к количества актиномицетов, 1 – 0, 2 – 30 сутки эксперимента, □ – почва без внесения тяжёлых металлов, ▨ – почва с 1 ПДК тяжёлых металлов в смеси, ▩ – почва с 5 ПДК тяжёлых металлов в смеси, ▪ – почва с 15 ПДК тяжёлых металлов в смеси, на рисунке а данные для концентрации 10 ПДК приведены по вспомогательной шкале.

При определении процента резистентных форм микроорганизмов от общего их количества на КАА зафиксировано увеличение их доли в почве со средним и максимальным уровнем загрязнения на среде с концентрацией тяжёлых металлов 5 и 10 ПДК на начальном этапе эксперимента (рис. а). Тогда как на 30 сутки увеличение доли резистентных микроорганизмов установлено при всех уровнях загрязнения почвы. Так, в почве с минимальной концентрацией тяжёлых металлов количество резистентных микроорганизмов составило 14% на среде, содержащей тяжёлые металлы в концентрации 5 ПДК, что на 11% больше, чем на 0 сутки. На среде с концентрацией тяжёлых металлов 10 ПДК отмечено развитие только бактерий и грибов (рис. а).

При максимальном уровне загрязнения почвы зафиксировано статистически достоверное увеличение на 30% доли резистентных микроорганизмов от общего их количества на среде с концентрацией тяжёлых металлов 0,75 ПДК по сравнению с почвой, куда тяжёлые металлы были внесены в средней концентрации. Аналогичная тенденция наблюдается и на среде с концентрацией тяжёлых металлов 1 и 10 ПДК, где резистентных микроорганизмов больше в среднем на 2%. Таким образом, нами установлено, что при более высоких концентрациях тяжёлых металлов в почве происходит формирование устойчивого микробиоценоза к воздействию токсикантов.

Формирование сообщества резистентных актиномицетов в почве модельного эксперимента имеет свои особенности. Так, доля этих форм от общего количества резистентных микроорганизмов на 30 сутки эксперимента уменьшается в среднем на 18–35% (на средах с концентрацией тяжёлых металлов 0,75 и 1 ПДК) для всех вариантов почвы по сравнению с начальным этапом эксперимента (рис. б). Однако в ходе исследований установлено появление резистентных актиномицетов на среде с концентрацией тяжёлых металлов 5 ПДК в почве с минимальным уровнем загрязнения. Их доля составила 2–4% от общего количества актиномицетов (рис. в). В то время как в почве со средним и максимальными уровнями загрязнения на среде с концентрацией тяжёлых металлов 5 и 10 ПДК актиномицеты не выявлены. Полученные данные, скорее всего, свидетельствуют о том, что актиномицеты более чувствительны к повышенным концентрациям тяжёлых металлов, чем бактерии и грибы.

### ЛИТЕРАТУРА

- Алексеев Ю.В.** 1987. Тяжёлые металлы в почвах и растениях. Ленинград: Агропромиздат: 142 с.
- Андреюк К.І., Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф.** 2001. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження. Київ: Обереги: 240 с.
- Іутинська Г.О., Петруша З.В.** 1999. Резистентність ґрунтових мікроорганізмів до забруднення ґрунтів важкими металами. *Мікробіологічний журнал*. 61(5): 72–77.
- Таширев А.Б.** 1999. Концепція інтегральних механізмів аккумуляції тяжёлых металлов синтрофними мікробними асоціаціями. *Мікробіологічний журнал*. 61(5): 78–84.

**БЛАГОДАРНОСТИ.** Авторы выражают благодарность директору Криворожского ботанического сада НАН Украины к.б.н. А.Е. Мазур за помощь при проведении исследований.