

УДК 631.445.4(470.57)

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ЧЕРНОЗЁМОВ БАШКИРСКОГО ЗАУРАЛЬЯ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

И. Н. Семенова, Г. Р. Ильбулова, Я. Т. Суюндуков

*Институт региональных исследований Республики Башкортостан
Россия, 453638, Республика Башкортостан, Сибай, К. Цеткин, 2
E-mail: ilbulova@mail.ru*

Поступила в редакцию 16.04.10 г.

Функциональная активность микробных сообществ чернозёмов Башкирского Зауралья в условиях техногенного загрязнения. – Семенова И. Н., Ильбулова Г. Р., Суюндуков Я. Т. – Методом мультисубстратного тестирования проведена оценка функциональной активности чернозёмов, подверженных аэротехногенному загрязнению предприятиями горнорудной промышленности. Выявлено отличие функционального разнообразия почв территорий, находящихся на разном расстоянии от источника техногенных выбросов. При загрязнении почвы тяжелыми металлами меняется спектр и интенсивность потребления различных субстратов микробными сообществами. Наиболее загрязнённые почвы характеризовались наименьшим индексом разнообразия Шеннона

Ключевые слова: мультисубстратное тестирование, функциональная активность, техногенные выбросы.

Functional activity of microbial communities of chernozems of the Bashkirian Trans-Ural region under technogenic pollution. – Semenova I. N., Ilbulova G. R, and Sujundukov J. T. –The functional activity of chernozems exposed to environmental contamination by the mining industry enterprises was evaluated by multisubstrate testing. A distinction of the functional soil diversity of territories at different distances from the emission source was revealed. When soil is polluted with heavy metals, the range and intensity of consumption of various substrates by microbial communities vary. The most contaminated soils were characterized by the lowest Shannon diversity index.

Key words: multisubstrate test, functional activity, emission source.

ВВЕДЕНИЕ

Башкирское Зауралье представляет собой зону геохимических аномалий, все компоненты которых характеризуются повышенным содержанием ряда тяжелых металлов (ТМ). Развитие горнорудной промышленности привело к тому, что природные ландшафты этой территории испытывают сильное антропогенное воздействие.

Почва – специфический компонент биосферы, который накапливает различные, в том числе токсические, вещества и выступает в роли природного буфера, контролирующего перенос химических элементов в атмосферу, гидросферу и живое вещество. ТМ, поступающие от различных источников, в конечном итоге оказываются на поверхности почвы, и их дальнейшая судьба зависит от ее химических, физических и биологических показателей.

Биологическая активность почв во многом определяется жизнедеятельностью населяющих их микроорганизмов. Микробное сообщество с анализом его функциональных возможностей представляет собой перспективный объект при биомониторинге окружающей среды. Именно функциональный потенциал микробного сообщества обеспечивает организацию циклов биогенных элементов, определяет «здоровье почвы», т.е. её способность поддерживать агрономическую продуктивность, сохраняя приемлемое качество воды и воздуха. Мониторинг микробных сообществ почвенных экосистем, подверженных техногенному воздействию, позволяет определить степень устойчивости микробного комплекса к загрязнению (Кожевин, 1989).

Удобным и доступным инструментом измерения функциональных характеристик почвенных экосистем является метод мультисубстратного тестирования (МСТ). В основе метода МСТ лежит анализ спектров потребления субстратов (СПС) природными микробными сообществами. За рубежом для этого используется система BIOLOG (США), созданная для штаммовой идентификации чистых культур и как коммерческий продукт, ориентированный на использование в медицинской микробиологии. Разработанная и предложенная М. В. Горленко и П. А. Кожевиным (1994) система МСТ «ЭКОЛОГ» предназначена для решения экологических задач.

Целью данной работы являлась оценка функциональной активности почв Башкирского Зауралья, находящихся в зоне техногенного воздействия, с помощью мультисубстратного тестирования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись почвы г. Сибай, Учалинского и Хайбуллинского районов Республики Башкортостан (РБ), где находятся наиболее крупные в Башкирском Зауралье горно-обогатительные комбинаты. Расположение участков отбора проб почв для исследования показано на рис. 1.

Учалинский горно-обогатительный комбинат (УГОК) ведет добычу медно-колчеданных руд на месторождениях Учалинском, Узельгинском, Молодежном, Талганском.

Расстояние стационарных участков от обогатительной фабрики УГОК, функционирующей с 1968 г., было следующим: в северо-западном направлении – 0.5 км (У1), 5 км (У2); в северном направлении – 5 км (У3), 10 км (У4), в юго-западном – 15 км (У5).

Почвенный покров данных стационарных участков представлен чернозёмом выщелоченным. Почвообразующие породы – карбонатные элювиоделювиальные, делювиальные глины и суглинки. Характеризуются наличием гумусового горизонта средней мощности (содержание гумуса составляет 7.8%), четко выраженной структурой, наличием уплотненного иллювиального горизонта. Почвы слабокислые (рН солевой вытяжки 5.9 – 6.4). Среднее содержание валового фосфора составляет 0.15%, обеспеченность подвижным фосфором более 40%, валовое содержание калия колеблется в пределах 1.8 – 2.5%, обменного калия – менее 10%, общего азота – 0.40 – 0.60% (Хазиев, 2007). Преобладающие ветры – западного и юго-западного направлений.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

Сибайский филиал (СФ) УГОК – предприятие по добыче и обогащению медных руд, являющийся градообразующим предприятием г. Сибай. В состав комбината входят подземный рудник, известняковый карьер и обогатительная фабрика, которая эксплуатируется с 1958 г. СФ УГОК производит медный, цинковый концентраты, серный колчедан, известняковый щебень.

Расстояние стационарных участков от обогатительной фабрики СФ УГОК было следующим: в восточном направлении – 0.5 км (С1), 5 км (С2), 10 км (С3), в юго-восточном – 5 км (С4), 10 км (С5), 15 км (С6) и северо-восточном – 5 км (С7), 10 км (С8), 15 км (С9).

Почвенный покров данных стационарных участков представлен чернозёмом обыкновенным среднесильным среднегумусным (7 – 8%) легко- и тяжелосуглинистым. Почвообразующими породами являются делювиальные отложения. Характеризуется нейтральными и щелочными значениями кислотности (рН 6.0 и более). Содержание подвижного фосфора не превышает 4 – 6 мг на 100 г почвы, содержание общего калия колеблется от 1.2 до 2.4%, подвижного калия – от 10 до 50 мг на 100 г почвы. По содержанию общего азота данные почвы близки к чернозёму выщелоченному (Хазиев, 2007). Преобладающие ветры – северо-западного и юго-западного направлений.

Бурибаевский ГОК производит добычу и обогащение медно-колчеданных и медно-цинковых руд на Октябрьском руднике.

Расстояние стационарных площадок от обогатительной фабрики Бурибаевского ГОКа было следующим: в западном направлении – 0.5 км (Б1), 5 км (Б2), 10 км (Б3), в юго-восточном – 5 км (Б4), в северо-восточном – 5 км (Б5), 10 км (Б6).

Почвенный покров представлен чернозёмом южным среднесильным малогумусным (4 – 6%) тяжелосуглинистым. Почвообразующими породами для этих почв служат делювиальные желто-бурые карбонатные глины и тяжелые суглинки, разноцветные глины, а также элювиально-делювиальные образования. Характеризуются нейтральными и щелочными значениями кислотности (рН 6.0 и более). Среднее содержание валового фосфора колеблется в пределах 0.10 – 0.20%, показатели содержания подвижного фосфора характеризуются как «низкие» и «очень низкие», содержание общего калия высокое (в пределах 2%) и мало изменяется по

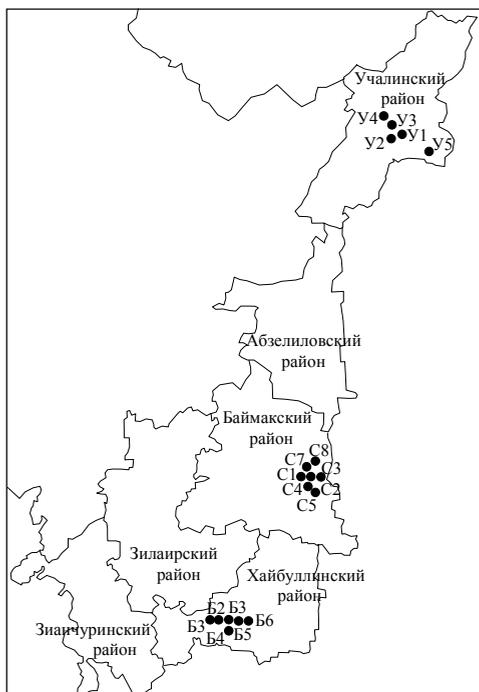


Рис. 1. Карта-схема расположения пробных площадок

профилю почвы, обеспеченность обменным калием менее 10%, содержание общего азота невысокое – около 0.3% (Хазиев, 2007). Преобладающие ветры – северо-западного, западного, юго-западного направлений.

Исследования проводились в 2005 – 2008 гг. на однородных участках естественных степных пастбищ с минимальным механическим антропогенным воздействием. Отбор почвенных образцов осуществлялся в соответствии с ГОСТом 17.4.4.02-84 (Постановление..., 2000) из слоя почвы 0 – 30 см в 3-кратной повторности. Анализировали свежие почвенные образцы, предварительно приготовив смешанный образец и просеяв его через сито с отверстиями 2 мм.

Валовое содержание меди, цинка и железа определяли методом атомной абсорбционной спектрометрии в лаборатории Центра агрохимической службы «Башкирский» РБ. В качестве экстрагента использовали 5 М HNO₃.

Загрязнение почвы оценивали по суммарному показателю Z_c, (табл. 1), предложенному Ю. Э. Саэтом (Геохимия..., 1990) и рассчитываемому по формуле

$$Z_c = \sum_{i=1}^n K_c - (n-1),$$

где K_c – коэффициент концентрации элемента, определяемый отношением его содержания в загрязненной почве к фоновому; n – число определяемых ингредиентов.

Структурно-функциональные характеристики микробных сообществ определяли при помощи МСТ (Горленко, Кожевин, 2005). Полученные в результате анализа данные представляли собой 47-мерный массив, обработка которого велась

Таблица 1

Оценка степени загрязнения почв по показателю Z_c

Значение Z _c	Категория загрязнения почв	
Менее 16	I	Допустимая
16 – 32	II	Умеренно опасная
32 – 128	III	Высоко-опасная
Более 128	IV	Чрезвычайно опасная

методами многомерной статистики (факторный анализ, кластерный анализ и др.).

Из всей совокупности характеристик микробных сообществ, получаемых с помощью МСТ, нами в соответствии с рекомендациями автора про-

граммы М. В. Горленко были выбраны факторный анализ методом главных компонент, кластерный анализ полученных данных методом Варда и определение функционального биоразнообразия микробных сообществ с помощью индекса Шеннона:

$$H = -\sum(n_i/N)\lg(n_i/N),$$

где n_i – интенсивность потребления i-го субстрата, N – суммарное число потребленных субстратов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка уровня загрязнения почв Башкирского Зауралья, находящихся в зоне техногенного воздействия, выявила, что почвенный покров территорий, прилегающих к изучаемым горно-обогатительным комбинатам, загрязнен ТМ, такими как цинк, медь, железо. Наиболее загрязненными являются территории, находящиеся на расстоянии 0.5 км от источника техногенных выбросов: У1, С1 и Б1.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

Наибольшее загрязнение характерно для почв территорий, сопредельных с СФ УГОК, наименьшее – на территории пос. Бурибай. Почвы территорий, расположенных на расстоянии 15 км от комбинатов, относятся к допустимой категории загрязнения (табл. 2).

Таблица 2

Оценка уровня загрязнения по показателю Z_c , в зоне влияния горнорудных комплексов

Наименование комбинатов	Подтип почв	Обозначения	Z_c	Категория загрязнения почв
Учалинский горно-обогатительный комбинат (УГОК)	Чернозём выщелоченный	У1	18.3	Умеренно опасная
		У2	0.5	Допустимая
		У3	0.5	То же
		У4	1.8	«
		У5	1	«
Сибайский филиал Учалинского горно-обогатительного комбината (СФ УГОК)	Чернозём обыкновенный	С1	32	Высокоопасная
		С2	21	Умеренно опасная
		С3	3	Допустимая
		С4	14	То же
		С5	4	«
		С6	4	«
		С7	7	«
		С8	5	«
		С9	3	«
Бурибаевский горно-обогатительный комбинат (Бурибаевский ГОК)	Чернозём южный	Б1	2.4	«
		Б2	3.6	«
		Б3	1	«
		Б4	3	«
		Б5	8	«
		Б6	4	«

Оценка функциональной активности почв Башкирского Зауралья, находящихся в зоне техногенного воздействия, с помощью МСТ проводилась в несколько этапов – от простого к сложному. На начальной стадии оценивалось количество используемых субстратов и интенсивность их потребления. В спектрах ассимиляции субстратов для изученных почвенных образцов четко видны количественные и качественные различия в потреблении субстратов, позволяющие говорить о наличии характерного спектра ассимиляции для почвенных образцов определенного типа. Микробные сообщества наиболее загрязненного «сибайского» почвенного образца С1 не ассимилировали арабинозу, пуллулан, глицин, пролин, норлейцин, норвалин, аспарагин, аланин, лизин, фенилаланин, тимидин, крахмал, креатин. Микробные сообщества наиболее загрязненного «учалинского» почвенного образца г. Учалы У1 не использовали дульцит, лактозу, ксилозу, пуллулан, пропионат, галактозу, норлейцин, норвалин, лизин, крахмал, креатин, а микробные сообщества образца пос. Бурибай Б1 – пуллулан, октаноат, рибозу, фенилаланин, аргинин, тимидин, креатин. На рис. 2 представлен спектр ассимиляции субстратов для микробных комплексов почвенных образцов, испытывающих наибольшее влияние со

стороны горнорудных предприятий. Субстратом, который не использовался ни в одном из этих случаев, был пуллулан. В то же время это соединение ассимилировалось микроорганизмами более чистых почв. Только микробными комплексами почв пос. Бурибай использовались норлейцин, норвалин, лизин, крахмал. Учитывая тот факт, что почвы пос. Бурибай значительно менее загрязнены металлами по сравнению с почвами г. Сибай и г. Учалы, можно рекомендовать использовать указанные субстраты для биомониторинга степени загрязнения почв металлами.

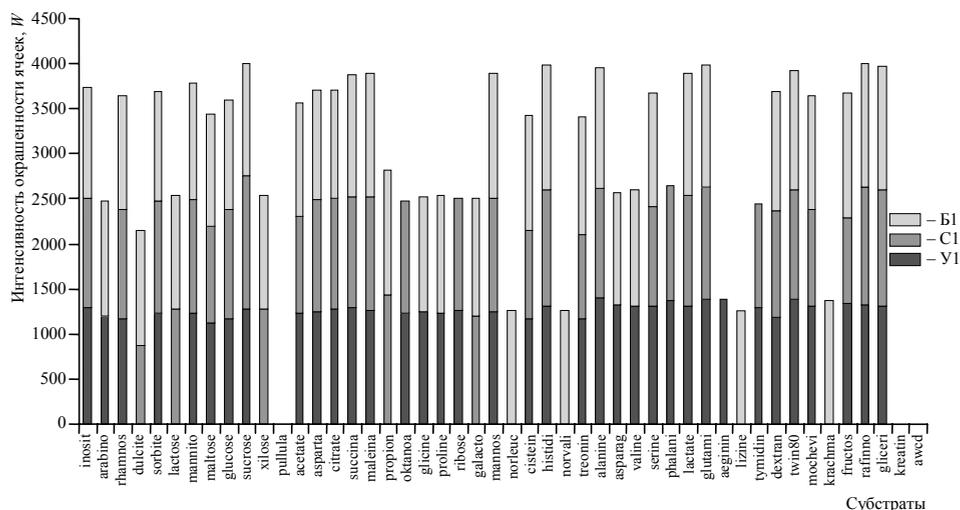


Рис. 2. Спектр ассимиляции субстратов микробными сообществами почв, наиболее загрязненных тяжелыми металлами: B1 – 0.5 км от Бурибаевского горно-обогатительного комбината, C1 – 0.5 км от Сибайского филиала Учалинского горно-обогатительного комбината, Y1 – 0.5 км от Учалинского горно-обогатительного комбината

Таким образом, можно констатировать, что при загрязнении почвы металлами меняется спектр и интенсивность потребления субстратов.

Различия между микробными сообществами почвенных образцов с различным уровнем загрязнения ТМ были выявлены при использовании метода главных компонент. Обработка массива данных статистическими методами выявила две главные компоненты, которые описывали 75% варьирования всех переменных.

Разделение с помощью метода главных компонент всех изученных почвенных образцов позволило сгруппировать большинство из них в четыре группы (рис. 3). I группа включала наиболее загрязненные образцы почвы Y1, C1, а также Y5. Последняя площадка была расположена рядом с с. Ахуново Учалинского района, и, несмотря на удаленность от УГОК, для ее почвы характерно повышенное содержание элементов 2-го класса токсичности, таких как хром, кобальт, никель, медь, молибден (Хабиров и др., 2009). Ко II группе относились, главным образом, образцы «сибайской» почвы, расположенной в 5 – 10 км к востоку и юго-востоку от

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

ИЗ. III группа – У2, У4, С8 и С9 – это образцы наименее загрязненной «сибайской» и «учалинской» почвы. IV группа содержала образцы только «бурибаевской» почвы Б1, Б2, Б5 и Б6. Такое разделение почвенных образцов дает основание полагать, что данный метод выявляет различия между микробными сообществами почв, отличающихся не только по степени загрязненности ТМ, но и по зональным подтипам.

На основании результатов кластерного анализа все изученные образцы были распределены в три группы: в первую вошли наиболее загрязненные ТМ У1, С1, а также С2, С3, С4, С5, соответствующие восточному и юго-восточному направлению в зоне воздействия СФ УГОК (рис. 4). Во вторую группу вошли образцы У2, У3, У5, С6, а также Б1, Б2, Б4, Б5, Б6. В третью группу вошли образцы, соответствующие наиболее «чистым» участкам: У3, У4, Б3, С7, С8, С9.

Таким образом, микробные сообщества почв, расположенных вблизи источника загрязнения, выделялись в отдельную группу. Как правило, относительное кластерное расстояние отражало степень удаления изучаемой пробы от источника загрязнения в определенном направлении. Особенно выражено это в случае образцов почв, взятых на территории СФ УГОК. Очевидно, выделение микробных сообществ образцов почв, отобранных у ИЗ, в отдельный кластер связано с изменением их функциональной активности под действием техногенного загрязнения. По мере удаления от источника загрязнения состояние микробных сообществ улучшается. Наиболее «здоровыми» являются микробные сообщества почв, находящиеся на расстоянии не менее 15 км от горно-обогатительных комплексов.

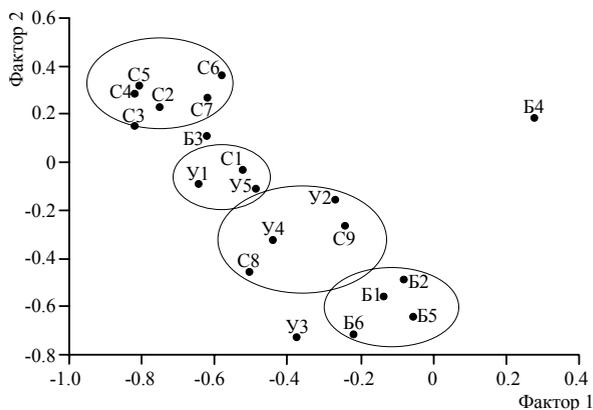


Рис. 3. Разделение с помощью факторного анализа образцов почв в зоне воздействия горнорудных комплексов Башкирского Зауралья

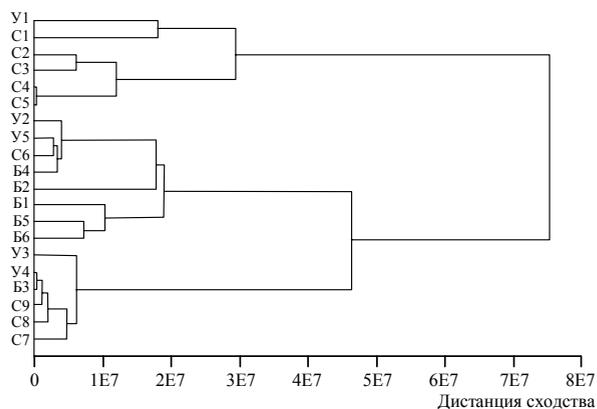


Рис. 4. Кластерный анализ данных спектра потребления субстратов почв, находящихся в зоне воздействия горно-обогатительных комбинатов

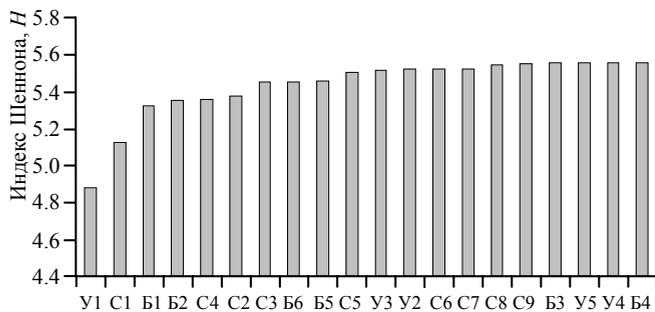


Рис. 5. Распределение образцов по критерию биоразнообразия

индекс Шеннона был выше и находился примерно на одном уровне (рис. 5).

На основании полученного массива данных в программе «ЭКОЛОГ» были рассчитаны индексы разнообразия Шеннона (H). Наименьшим показателем индекса H характеризовались образцы U1, C1, затем по степени увеличения расположены B1, B2, C4, C2. Для других образцов

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования показывают, что параметры функционального биоразнообразия, полученные методом мультисубстратного тестирования, можно использовать для оценки экологического состояния почвы. Преимущества МСТ несомненны: оно достаточно легко выполняется, результаты его можно получить уже через 1 – 3 дня. Это позволяет использовать данный метод в качестве экспресс-теста для оценки экологического состояния почв. Однако для более полной и объективной оценки экологического состояния почв следует применять и другие интегральные показатели.

Метод МСТ позволяет выявить различия в состоянии микробных сообществ почв, не только подверженных техногенному загрязнению, но и относящихся к различным зональным типам. Это обосновывает возможность его практического использования в целях биомониторинга состояния почв.

Результаты мультисубстратного тестирования подтверждают, что техногенное загрязнение почв тяжелыми металлами отрицательно влияет на функциональную активность микробных сообществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Геохимия окружающей среды. М. : Недра, 1990. 335 с.
- Горленко М. В., Кожевин П. А. Дифференциация почвенных микробных сообществ с помощью мультисубстратного тестирования // Микробиология. 1994. Т. 63, № 2. С. 289 – 293.
- Горленко М. В., Кожевин П. А. Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ. М. : МАКС Пресс, 2005. 88 с.
- Кожевин П. А. Микробные популяции в природе. М. : Изд-во МГУ, 1989. 175 с.
- Постановление Госстандарта СССР от 19.12.1984 № 4731. ГОСТ от 19.12.1984 № 17.4.4.02-84 Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. Охрана природы. Почвы : сб. ГОСТов. М. : ИПК Издательство стандартов, 2000.
- Хабиров И. К., Асылбаев И. Г., Якупов И. Ж., Якупова Р. А., Рафиков Б. В., Шакиров Ю. С. Оценка степени химического загрязнения почвенного покрова экосистем Южного Урала // Вестн. Оренб. гос. ун-та. 2009. № 6. С. 402 – 408.
- Хазиев Ф. Х. Почвы Республики Башкортостан и регулирование их плодородия. Уфа : Гилем, 2007. 288 с.