

УДК 502.175 (574.14)

ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ СПЕКТРОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВ Г. АЛМАТЫ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

М.С. Панин¹, Б.Н. Мынбаева²

¹Семипалатинский государственный педагогический институт, г. Семей, Казахстан, e-mail: pur@sgpi.kz

²Казахский национальный педагогический университет им. Абая, г. Алматы, Казахстан, e-mail: pur@sgpi.kz

Для оценки состояния почв г. Алматы был использован метод мультисубстратного тестирования (МСТ). Данные, полученные при анализе интенсивности утилизации 47 органических субстратов бактериальными сообществами почв г. Алматы, свидетельствовали о депрессивном состоянии городских почв по сравнению с фоновой почвой: величина коэффициента экосистемной нагрузки или нарушенности для фоновой почвы составила $d=1$, для городских почв $d=0,6$. Усвоение биосубстратов оказалось более высоким в фоновых почвенных образцах по сравнению с городскими почвами.

Ключевые слова: тяжелые металлы, городские почвы, микробные сообщества, мультисубстратное тестирование.

Changes of the bacterial communities's metabolic spectrum of Almaty city's soils polluted by heavy metals

Panin M.S., Mynbayeva B.N.

Semipalatinsk State Pedagogical Institute, Semey, Kazakhstan, e-mail: pur@sgpi.kz

Kazakh National Pedagogical University name of Abay, Almaty, Kazakhstan, e-mail: pur@sgpi.kz

Almaty city's soils to a large extent is contaminated by heavy metals (Pb, Cu, Cd, Zn): the excess of their content above the MPC noted in all 5 points of soil samples along the av.Raiymbek from east to west with a marked of the background point (25 km outside the city). Particularly contaminated by heavy metals were urban soils in the areas of ТЕР-1 and intensive highways (av.Raiymbek/av.Seifullin and av.Raiymbek/st.Rozybakiev).

Ecological state of Almaty's soils was assessed by the intensity of utilization of various organic substrates by soil bacterial community using the multisubstrate testing (MST). This method was developed in the last decade of the XX century for the investigations of the soil microbial communities, mostly bacterial communities.

Heavy metals have a significant impact on the microbial objects in Almaty's soil samples. Depressed state of urban soils was determined to reduce the number of consumed substrates N, a decrease in metabolic activity of urban soils: the total biomass W, the coefficient of ecosystem stress or disturbance d. For example, the coefficient of ecosystem stress d for the background soil was 1, for urban soils – 0,6. The coefficients N and W have confirmed low levels of functional diversity of microflora in the urban soils.

Assimilation biosubstrates was significantly lower in urban soils than in background soil samples, which also indicated the biodegradation of soil in Almaty city.

Identified patterns were established for both the spring and for fall, but the stress loading (high d) was observed in spring in background soils under the influence of rapid snowmelt and the vegetation, and for urban soils – in the autumn, that we are tied to the depletion of soil resources at the end of the vegetation, as well as the overall low production of urban pedoecosystem. Thus, the established seasonal changes in bacterial biodiversity, which prevailed over the spatial parameters.

Suburban (background) soil had a good characteristics of the state of microbial communities in all the obtained values of coefficients.

Key words: heavy metals, urban soil microbial communities, multisubstratnoe testing.

Введение

Микробные сообщества почв (бактерии, микроскопические грибы, дрожжи, актиномицеты и др.) используются многими исследователями в качестве индикаторов процессов деградации экосистем [1]. В то же время их применение часто затруднено ввиду сложных структурно-динамических характеристик почвенного сообщества, включающего сотни разнообразных видов, подверженных в том числе межпопуляционным взаимодействиям. Отсюда следует, что получение достоверных результатов о состоянии почвенного сообщества и выполнении его функций только на основе изучения структурных характеристик маловероятно. Поэтому возникает необходимость привлекать для определения функциональных (динамических) характеристик другие методологические приемы. Одним из наиболее известных является метод мультисубстратного тестирования (МСТ) – прототип широко известного метода С.Н. Виноградского [1], используемого при анализе функциональных свойств естественного сообщества после внесения в почву таких веществ, как глюкоза, маннит, аспарагин, цитрат, сукцинат и др. В почвенной микробиологии активно используют и метод инициированного микробного сообщества (ИМС), когда необходимо изучить реакцию определенной активно функционирующей группы микроорганизмов на действие какого-либо субстрата [5, 9 и др.].

Поскольку инициация городских почвенных ценозов при загрязнении их тяжелыми металлами (ТМ) практически не исследовалась, была поставлена задача – применить метод МСТ для интегрального исследования бактериальных сообществ почв г. Алматы, загрязненных ТМ, с использованием 47 утилизируемых этими сообществами субстратов [2].

Объекты и методы исследований

Для определения биоразнообразия и метаболических профилей бактериальных сообществ урбаноземов города Алматы заборы почвенных проб осуществлялись в 5-и точках вблизи проспекта Райымбека – одного из самых загруженных транспортом. При этом учитывали как широтное направление и соответствующее расположение геологических структур, так и зональность почвенного покрова [4; 8; 10]. Точки отбора были обозначены следующим образом: Т.1 – пр. Райымбека/ул. Пушкина, контроль; Т.2 – пр. Райымбека/пр. Сейфуллина, урбанозем; Т.3 – пр. Райымбека/ул. Розыбакиева,

урбанозем; Т.4 – район ТЭЦ-1, урбанозем; Т.5 – 25 км от города (фоновая зональная почва).

Пробы почв отбирали в течение 2005-2009 гг. весной и осенью (50 образцов) на глубине 0-25 см методом «конверта» в 5-и повторностях [7]. Содержание тяжелых металлов в исследуемых образцах определяли в ДГП «Центр гидрометеорологического мониторинга» г. Алматы [6].

Мультисубстратное тестирование (МСТ) микробных сообществ почв г. Алматы проводили совместно с сотрудниками факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова по стандартной методике: 2 г взвешенно-сухой почвы в фосфатном буфере обрабатывали ультразвуком, центрифугировали, 20 мл супернатанта раскапывали по 200 мкл в ячейки иммунологических планшеток для инкубации при $t=+28^{\circ}\text{C}$ от 12 до 72 ч. до появления визуально регистрируемой окраски ячеек: тетразолий фиолетовый переходил в бордовое окрашивание восстановленного трифенилтетразолия.

Оптическую плотность ячеек измеряли с использованием спектрофотометра «Униплан». Регистрация осуществлялась с помощью автоматизированной системы «Эколог». При анализе спектра потребляемых субстратов (СПС) программное обеспечение «Эколог» автоматически вычисляет параметры биоразнообразия [3]. Оптимальными и стабильными считаются сообщества со значительным значением d ; высокие значения G характерны для устойчивых систем с высоким уровнем биоразнообразия и наоборот [11].

Для качественной идентификации типа системы проводился кластерный анализ (Эвклид-Вард).

Результаты исследования и обсуждение

Согласно данным литературы, метаболические спектры различных сообществ микроорганизмов городских почв изучены довольно слабо, в связи с чем была поставлена цель – изучить методом МСТ особенности метаболических спектров бактериальных сообществ на определенных участках урбатерриторий, постоянно и длительно загрязненных тяжелыми металлами, сравнить их между собой и фоновой почвой, незагрязненной ТМ. Было сделано предположение, что метаболические профили бактериальных сообществ урбаноземов могут изменяться в определенной степени под действием ТМ.

Данные по содержанию ТМ, необходимые для обсуждения полученных результатов, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание валовых форм тяжелых металлов в анализируемых почвенных образцах по сезонам

Весенние пробы				
Точка отбора почвенных проб	Концентрация валовых форм тяжелых металлов, мг/кг			
	Pb	Cd	Cu	Zn
T.1	44,8±3,0	0,51±0,02	36,4±2,2	59,6±5,8
T.2	42,1±2,5	0,39±0,05	43,7±2,5	59,2±5,2
T.3	50,5±3,6	0,67±0,07	52,7±3,3	59,7±5,4
T.4	63,8±4,1	0,41±0,04	42,8±2,9	60,7±6,1
T.5	19,8±1,6	0,16±0,02	21,5±1,9	41,3±4,2
Осенние пробы				
Точка отбора почвенных проб	Концентрация валовых форм тяжелых металлов, мг/кг			
	Pb	Cd	Cu	Zn
T.1	18,7±1,1	0,11±0,03	22,6±1,1	36,7±1,00
T.2	20,4±1,3	0,16±0,02	22,4±1,03	35,7±1,3
T.3	61,4±1,2	0,24±0,03	36,2±1,2	57,2±1,3
T.4	41,6±1,2	0,17±0,02	33,5±1,3	49,6±1,3
T.5	15,8±2,1	0,05±0,02	16,3±2,8	28,4±5,2

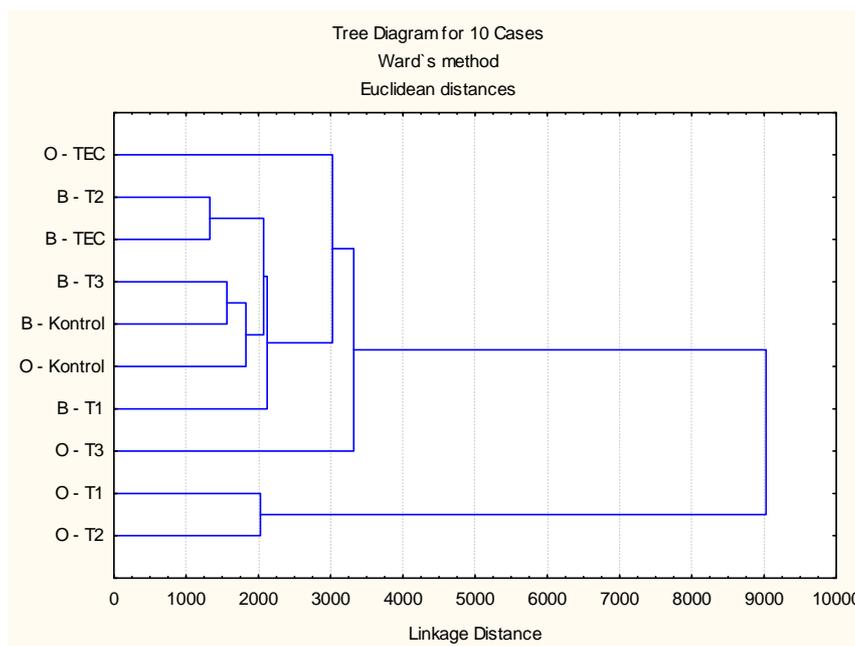
Все анализируемые тяжелые металлы (ТМ) присутствовали в почвах г. Алматы, но их содержание варьировалось в зависимости от места отбора почвенных образцов. Содержание Cd во всех опытных образцах превышало фон (максимальное превышение составило примерно 4,2 раза в Т.3). В этой же точке почвы имелось повышенное содержание Cu (по сравнению с контролем в 2,5 раза). Превышение по Pb и Zn в этих же почвенных образцах по сравнению с фоном составило 2,6 и 1,5 соответственно.

Таким образом, почвенные образцы из Т.3 (пересечение проспекта Райымбека и улицы Розыбакиева) оказались наиболее токсичными. Высокое содержание ТМ обнаружено также в Т.4 (ТЭЦ-1), где концентрация Pb превысило таковую в фоновой почве в 3,2 раза, Cd – в 2,6, Cu – в 2,0, Zn – в 1,5.

При использовании метода МСТ был получен многомерный массив данных по спектру потребления субстратов, который является, на наш взгляд, уникальным функциональным «портретом» исследуемых микробных объектов в почвенных образцах г. Алматы.

Для выяснения закономерностей изменения функциональных профилей микробных сообществ урбаноземов города данные МСТ были подвергнуты кластерному анализу. Из рис. 1 видно, что микробные сообщества урбаноземов (Т.2–4) весенних и осенних образцов резко отличались по усвоению отдельных субстратов от контрольного и

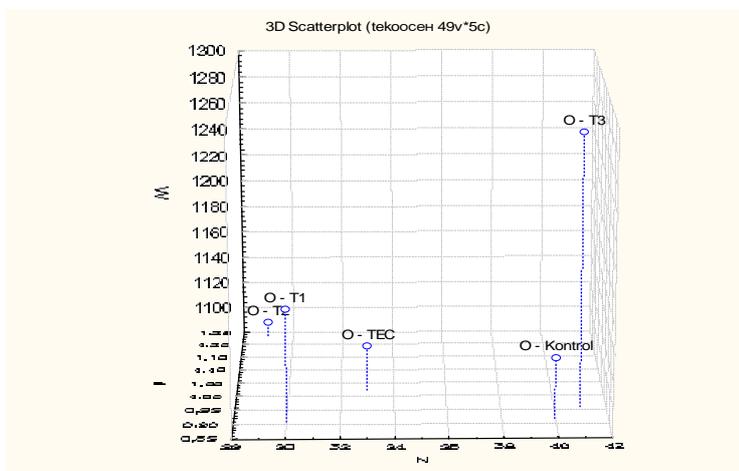
фонового, образуя отдельные кластеры. Полученный результат свидетельствует о сохранение длительного эффекта воздействия ТМ на микробиоту почв.



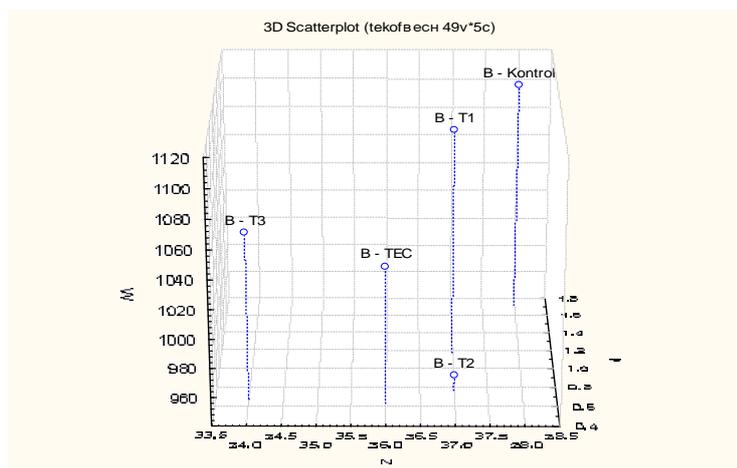
Примечания: *O* – осенние почвенные образцы; *B* – весенние почвенные образцы; *T1, T2, T3* соответствовали *T.1, 2 и 3*; *TEC* – *T. 4 (ТЭЦ-1)*;
control – фоновой *T.5, взятой за городом*

Рис. 1. Дендрограмма сходства (по Варду) микробных сообществ в урбаноземах и фоновой почве г. Алматы (метод МСТ)

Сезонный тренд преобладал над пространственным, что особенно характерно для *T.1* (контроль) и *T.2*. Наименее подверженным сезонному тренду оказался фоновый почвенный образец загородной почвы, что свидетельствует о достаточном уровне биоразнообразия педобионтов микробной природы (рис. 2).



Весна



Осень

Рис. 2. Разделение образцов в пространстве параметров функционального биоразнообразия

Характеризуя почвенные образцы по их расположению в пространстве экстенсивных признаков функционального разнообразия (число потребленных субстратов N , метаболическая работа (функция общей биомассы W , коэффициент экосистемной нагрузки или нарушенности d), можно отметить сильную сезонную динамику всех параметров.

Анализ устойчивости системы в отношении потребляемых субстратов по величине коэффициента d указывает на существенные различия между фоновой почвой ($d=1$) и городскими ($d=0,6$). Такие высокие показатели и их значительное отличие от величин в контрольной и фоновой почвах позволяют констатировать наличие существенных изменений исходной функциональной целостности системы и слабой восстановленности в урбаноземах.

Почвенные образцы варианта T.2 занимали промежуточное положение, коэффициент устойчивости лежал в интервале $d=0,7-0,8$.

Наибольшим биоразнообразием обладал фоновый почвенный образец, промежуточным – T.4 (ТЭЦ-1); остальные точки отбора проб варьировались по сезонному тренду.

Следует отметить, что микробное сообщество зональных фоновых почв весной подверглось стрессовой нагрузке (высокое d) под влиянием снеготаяния и бурного начала вегетации, тогда как городские почвы испытывали стресс осенью, что очевидно связано с истощением почвенных ресурсов к концу вегетации ввиду общей малой продуктивности городских экосистем.

Сообщества почвенных бактерий были более активными в утилизации разнообразных органических субстратов в фоновой почве, их метаболическое разнообразие и активность

падали в урбанизированных почвенных образцах, причем максимальное уменьшение отмечено в Т.3 и 4, где были обнаружены максимальные концентрации ТМ.

Таким образом, полученные с помощью метода МСТ результаты показали, что бактериальные сообщества из ненарушенных почв способны окислять субстраты гораздо эффективнее, чем бактерии из урбаноземов. Столь значимые различия между почвами различной степени загрязненности ТМ дают основание для более активного использования метода МСТ в мониторинге загрязнения техногенными поллютантами почв города Алматы.

Список литературы

- 1 Виноградский С.Н. Микробиология почвы. – М.: АН СССР, 1952. – 792 с.
- 2 Горленко М.В. Мультисубстратное тестирование почвенных микробных сообществ: автореф. канд. дисс. – М., 1995. – 28 с.
- 3 Горленко М.В., Кожевин П.А. Дифференциация почвенных микробных сообществ с помощью мультисубстратного тестирования // Микробиология. – 1994. – Т. 63. – № 2. – С. 289–293.
- 4 Гришина Л.А., Копчик Т.Н., Моргун Л.В. Организация и проведение почвенных исследований для экологического мониторинга. – М.: МГУ, 1991. – 82 с.
- 5 Гузев В.С., Левин С.В., Звягинцев Д.Г. Реакция микробной системы почв на градиент концентраций тяжелых металлов // Микробиология. – 1985. – Т. 54. – Вып. 3. – С. 414–420.
- 6 Мынбаева Б.Н., Курманбаев А.А., Гайдобрусова М.Н., Чибисова Е. Бiotестирование почв г. Алматы // Материалы межд. конф. «Актуальные проблемы микробиологии и вирусологии». – Алматы, 2009. – С. 176–180.
- 7 Общие требования к отбору проб. ГОСТ 17.4.3.01-83 (СГ СЭВ 3347-82). – М., 1983. – 57 с.
- 8 Панин М.С., Гельдымамедова Э.А. Содержание подвижных форм соединений химических элементов в почвах г. Павлодара // Тезисы докл. III межд. конф. «Тяжелые металлы, радионуклиды и элементы-биофилы в окружающей среде». – Семипалатинск, 2004. – Т. 2. – С. 555–560.
- 9 Сальникова Н.А. Почвенные микробиоценозы как индикаторы процессов деградации экосистем // Материалы Всерос. научн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. – 2006. – С. 210–212.
- 10 Федорец Н.Г., Медведева М.В. Методика исследования почв урбанизированных территорий. – Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2009. – 84 с.
- 11 Mills A.L., Bouma J.M. Strain and stability in gnotobiotic at the level of the soil subsample, rather than at the reactors // In H. Insam and A. Rangger (ed.) Microbial communities: Functional versus structural approaches. Springer. – 1997. – P.184–194.

Рецензенты:

Сейлова Л.Б., д.б.н., профессор кафедры естественных специальностей Казахского национального педагогического университета, г. Алматы.

Айтхожина Н.А., д.б.н., профессор Института микробиологии и вирусологии КН МОН РК, г. Алматы.

Работа получена 26.07.2011