

# ЗМІНИ СТРУКТУРНО - ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ТА СТАБІЛЬНОСТІ МІКРОБНИХ ПОПУЛЯЦІЙ ҐРУНТУ В РЕЗУЛЬТАТІ АНТРОПОГЕННОГО ВПЛИВУ

**В. П. Стефурак**

Івано-Франківський державний медичний університет

*Тривале забруднення лісового ґрунту цементним пилом веде до порушення стабільності природних мікробних угруповань, змінює їх кількісний і якісний склад, приводить до заміни одних мікробних популяцій іншими. Висока забрудненість ґрунту викидами цементного комбінату пригнічує інтенсивність процесів азотофіксації і розкладу лісової підстилки, розвиток мікроміцетів, приводить до зменшення довжини грибного міцелію та його біомаси.*

**Ключові слова:** лісовий ґрунт, цементний пил, забруднення, мікробні угруповання.

**Stefurak V. P. Changes of structural – functional organization and stability of microbial populations as a result of antropogenic influence. A prolonged pollution of the forest soil with cement dust resulted in an impairment of the natural microbe groups stability, changes their guantative and qualitative composition, results in a substitution of one microbe associations with others. A high soil pollution with discharges of a cement factory depressed an intensity of nitrogefifixation processes and forest layers destruction, micromicets development leads to as decrease of the length of the mushroom mycelium and its biomass.**

**Key words:** forest soils, cement dust, pollution, microbe groups.

## Вступ

Мікробні ценози, як істотний компонент екосистем, виконують важливу біоіндикаційну функцію та стабілізаційну роль. Будучи рецудентами, мікроорганізми зумовлюють ряд біохімічних процесів і стають важливим учасником перетворення різноманітних органічних і мінеральних речовин у ґрунті.

Визначення функціонального стану ґрунтових мікроорганізмів забрудненої екосистеми є найбільш перспективним із біологічних критеріїв оцінки токсичності промислових викидів у ґрунті. Враховуючи важливу роль мікробного компоненту у функціонуванні екосистем, чисельність та якісний склад деяких груп ґрунтових мікроорганізмів вибрані нами як показники зміни ґрунтового середовища. Мета даного дослідження - встановити особливості структурно-функціональної організації мікробних угруповань лісового ґрунту за умов забруднення цементним пилом.

## Матеріали і методи

Об'єктами досліджень були зразки світло-сірого лісового ґрунту, відібрані на глибині 0-25 см із 4-х дослідних ділянок, закладених у вологих та свіжих грабових бучинах 35-річного віку на різній відстані (0,5, 3, 5, 7 км) від Миколаївського цементно-гірничого комбінату (МЦГК) у напрямку домінуючих вітрів. Контролем слугувала ділянка, розміщена на відстані 15 км від джерела забруднення, поза зоною промислових викидів. В основу методики досліджень покладена "Программа и методика биогеоценологических исследований" [8]. Кількісний облік мікроорганізмів проводили методом прямого рахунку за Виноградським, а також шляхом висіву певних розведень ґрунтових суспензій на відповідні поживні середовища [1]. Чисельності сапрофітів визначали на м'ясо-пептоному агарі (МПА), стрептоміцетів - на крохмалевб-аміачному агарі (КАА), мікроскопічних грибів - на сусло-агарі (СА), олігоазотрофів - на середовищі Ешбі, целлозоруйнівних мікроорганізмів - на середовищі Гетченсона, спороутворюючих бактерій - на суміші рівних об'ємів МПА+СА, анаеробних азотофіксаторів роду *Clostridium* - на середовищі Виноградського. Облік біомаси мікроскопічних грибів проводився за методом Хансена в модифікації Т.Г.Мірчинк [5]. Коефіцієнт мінералізації розраховували за Е.М.Мішустіним [6], індекс педотрофності - за Д.І.Нікітіним [7]. Активність азотофіксації визначали ацетиленовим методом в модифікації М.М.Умарова [10]. Видову належність мікроорганізмів встановлювали за допомогою визначників Д.Бергі [2] і В.И.Білай [3]. Для виявлення типових і домінуючих видів мікроорганізмів аналізували зразки ґрунту, що складала середне із 20, взятих із різних місць дослідної ділянки. При визначенні типових і домінуючих видів використовували показники частоти трапляння видів [11]. Типовими умовно вважали види, які були виділені більш ніж з третини усіх зразків (трапляння більше 33%), а домінуючими - види, що складала не менше 10% від решти усіх видів. Величину мікробного пулу визначали за Д.Г.Звягінцевим [4].

## Результати і обговорення

Проведені дослідження показали, що в умовах інтенсивного забруднення ґрунту цементним пилом різко знижується чисельність мікроорганізмів, які здатні засвоювати органічні форми азоту, стрептоміцетів і особливо мікроскопічних грибів (табл.1). У той же час, кількість бактерій, що засвоюють мінеральні форми

азоту, збільшується у 2-2,5 рази. Спостерігається також суттєве збільшення чисельності спороутворюючих бактерій у порівнянні із ґрунтом контрольної ділянки. Результати обліку олігоазототрофів на середовищі Ешбі показали, що в контрольному ґрунті чисельність їх коливається від 1,2 до 8,0 млн., тоді як в забрудненому ґрунті межі коливань становлять від 12,0 до 34,9 млн.клітин в 1 г сухого ґрунту. У міру наближення до джерела забруднення чисельність олігоазототрофів збільшується :у 5-10 разів, що ймовірно можна пояснити низькою доступністю поживних речовин для евтотрофних мікроорганізмів та фізіологічними особливостями метаболізму оліготрофів. В цементному пилу переважають окиси металів (75-85%) та окиси кремнію (15-20%). При подальшому проникненні його в глибокі шари з опадами, спостерігається втрата ґрунтом структурованості, що зумовлена зменшенням вмісту гумусу, зміна кислотності верхнього ґрунтового горизонту, від слабокислої (рН 5,77 - на контрольній ділянці) до лужної (рН 8,42 - на забруднених ділянках). На дослідних ділянках, розміщених у безпосередній близькості від джерела забруднення, місцями спостерігається повне зникнення органогенного шару ґрунту, відбувається накопичення інгредієнтів промислових викидів, збільшується об'ємна вага ґрунту, знижується його шпаруватість. Забруднення ґрунту токсичними

окисами супроводжується гальмуванням трансформації органічної речовини, зменшенням надходження у ґрунт свіжого енергетичного матеріалу - рослинних решток, що зумовлене зниженням біопродуктивності букового деревостану. Процес підстилкоутворення посилюється, а процеси гуміфікації і мінералізації органічної речовини послаблюються, спостерігається дефіцит елементів живлення як наслідок побічного впливу забруднення [9]. Ці процеси ведуть до порушення стабільності природних угруповань мікроорганізмів, заміни одних мікробних асоціацій іншими, що може бути індикаційним показником на присутність у ґрунті забруднень.

Вивчення якісного складу мікробних угруповань показало, що серед бактерій в ґрунті контрольної ділянки переважали *Pseudomonas fluorescens* і *P.aurantia*. тоді як у забрудненому ґрунті їх кількість складала всього 33 і 3% від чисельності в контрольному ґрунті. Встановлені також відмінності і за видовим складом спороутворюючих бактерій. Якщо у ґрунті контрольної ділянки домінуючими були види: *Bacillus subtilis*, *B.megaterium*, то в забрудненому - *B.mycoides*.

Для порівняння структури мікробних угруповань контрольного і забрудненого ґрунту були розраховані коефіцієнти та індекси, що характеризують співвідношення чисельності мікроорганізмів, здатних здійснювати мінералізаційні процеси [6,7]. Аналіз отриманих даних (табл.2) показав, що коефіцієнти мінералізації, індекси оліготрофності і педотрофності мікробних угруповань були вищими в ґрунтах забруднених ділянок і зростали у міру наближення до джерела забруднення. Збільшення коефіцієнтів мінералізації (6-21), індексів оліготрофності (800-600) і педотрофності (8-21) мікробних угруповань у ґрунті забруднених ділянок, у порівнянні з ґрунтом контрольної ділянки (відповідно 1,27,3), свідчить про погіршення ґрунтових умов.

Забруднення лісового ґрунту промисловими викидами цементного виробництва негативно впливає на вміст та видовий склад стрептоміцетів, щільність популяцій яких у ґрунті забруднених ділянок значно знижується. У ґрунті контрольної ділянки стрептоміцети представлені більш різноманітно, домінуючими були види *Streptomyces flavus* і *S.anulatus*, часто виявлялись *S.flaveolus*, *S.violaceus*, тоді як у забрудненому ґрунті переважали *S.albus* і *S.griseus*. Отже, забруднення лісового ґрунту приводить до зміни домінуючих видів у складі стрептоміцетів.

Найчутливішими до забруднення лісового ґрунту цементним пилом виявилися мікроскопічні гриби. Якщо у ґрунті контрольної ділянки домінують гриби родів *Trichoderma*, *Mortierella* і *Aspergillus*, то у забрудненому ґрунті переважають представники родів *Cladosporium* і *Penicillium*. Важливим показником біологічної активності ґрунту, поряд із чисельністю мікроорганізмів, є їх біомаса і пул. Якщо біомаса тим чи іншим чином зв'язана з чисельністю останніх і залежить від періоду року, то величина пулу визначається типом ґрунту і тими факторами середовища, які ведуть до зміни ґрунтових умов.

Вона характеризує реакцію мікробних угруповань на конкретний вид антропогенного навантаження. Зміни пулу зумовлені екологічними факторами, що впливають на збільшення чи зменшення потоку поживних речовин. Висока насиченість ґрунту цементним пилом знижує пул ґрунтових мікроорганізмів. Якщо пул бактерій у ґрунті контрольної ділянки коливався у межах 0.8-1,2 млрд.клітин, пул мікроскопічних грибів - 50-105 м, а біомаса - 1,5, 2 мг в 1 г сухого ґрунту, то в забрудненому ґрунті ці величини склали відповідно: 90-120 млн.клітин, 12-15 м та 0,3-0,5 мг/г.

Цементний пил ущільнює ґрунт, погіршує його аерацію, що різко знижує чисельність азотобактера, кластрідій і целюлозоруйнівних мікроорганізмів. Якщо в ґрунті контрольної ділянки процес обростання грудок ґрунту азотобактером в шарі 0-25 см складає 88,3-100,7%, то у забрудненому ґрунті його не виявлено. Азотофіксувальна активність ґрунту, визначена ацетиленовим методом, найвищою виявилась на контролі (3,5-5,1 кг/га азоту) і найнижчою на ділянці на відстані 500 м від джерела забруднення (0,6-1,2 кг/га азоту). При віддаленні від джерела забруднення здатність ґрунту до азотофіксації підвищувалась.

Забруднення лісових фітоценозів цементним пилом веде до порушення ходу ґрунтових процесів. Підлужування підстилки і ґрунту негативно відбивається на життєдіяльності ґрунтової мікрофлори, яка бере участь у розкладі лісової підстилки. Встановлено, що максимальна маса підстилки спостерігалась у зоні найбільшого забруднення і складала близько 16 ц/га, що майже у 3 рази більше, ніж на контролі (5,5 ц/га).

Таблиця 1. Чисельність мікроорганізмів у лісовому ґрунті, забрудненому цементним пилом

Відстань від цементного комбінату, км	Глибина шару ґрунту, см	Кількість мікроорганізмів, що виростили на середовищах, млн/г ґрунту			Спорутоворюючі бактерії (СА+МПА), тис/г ґрунту	Стрептоміцети (КАА), млн/г ґрунту	Мікроскопічні гриби (СА), тис/г ґрунту
		МПА	КАА	середовище Ешбі			
0,5	0-4 4-12 15-25	5,9±2,60	103,4±11,01	34,9±2,11	573,0±1,31	0,9±0,0	2,0±0,13
		15,3±4,52	181,3±16,32	39,0±2,20	481,0±2,82	1,3±0,0	11,0±0,70
		2,5±1,43	147,7±16,70	19,5±0,83	48,0±0,43	1,2±0,0	5,0±0,41
3	0-4 4-12 15-25	8,4±3,20	130,3±13,10	33,0±2,13	552,0±1,54	6,2±0,0	5,0±0,42
		21,3±5,34	217,2±17,31	36,1±2,31	468,0±9,02	3,4±0,0	8,0±0,43
		3,4±1,91	99,5±10,53	22,3±1,70	64,0±1,71	2,2±0,0	10,0±0,10
5	0-4 4-12 15-25	12,5±4,02	193,3±16,10	29,0±2,01	212,0±0,90	7,11±0,1	28,0±1,91
		23,0±0,60	254,2±18,32	30,1±2,32	331,0±3,02	4,8±0,1	41,0±2,42
		4,2±0,23	+16,01	17,2±2,30	68,0±1,76	2,7±0,9	51,0±4,01
7	0-4 4-12 15-25	28,3±0,61	156,7±14,04	19,0±1,41	313,0±3,03	12,5±0,0	49,0±2,63
		103,5±11,72	285,5±19,12	15,1±0,10	403,0±13,02	8,9±0,9	57,0±4,07
		18,9±4,90	96,0±11,03	±1,30	148,0±0,80	6,7±0,0	77,0±3,22
15 (контроль)	0-4 4-12 15-25	144,4±7,71	37,3±7,20	8,0±0,71	194,0±9,01	21,3±0,0	206,0±15,23
		174,2±15,01	81,4±10,34	7,7±1,10	300,0±3,04	11,2±0,0	198,0±2,60
		19,3±0,34	27,2±6,80	1,2±1,31	88,0±1,90	8,5±0,0	83,0±3,01

Таблиця 2. Коефіцієнти, що характеризують співвідношення чисельності мікроорганізмів деяких еколого-трофічних груп в мікробних угрупованнях лісового ґрунту, забрудненого викидами цементного комбінату.

Відстань від джерела забруднення, км	Шар ґрунту, см	Коефіцієнт мінералізації	Індекс оліготрофності	Індекс педотрофності
0,5	0-4	21	600	21 12
	4-12	12	800	
3	0-4	16	490	8 6
	4-12	10	500	
5	0-4	16	120	7
	4-12	11	104	
7	0-4	6	80	8
	4-12	3	38	
15 (контроль)	0-4	1	27 7	3
	4-12	0,4		

#### Висновки

Аналіз результатів досліджень дозволяє зробити висновок що те, що структура мікробних угруповань і їх функціональна активність чітко відображають специфіку змін, що відбуваються у забрудненому цементним пилом ґрунті, а тому ряд мікробіологічних показників (зміна структури мікробних угруповань, видового складу бактерій, стрептоміцетів, мікроскопічних грибів та ін.) разом з ґрунтовими і лісівничими критеріями придатні для оцінки стану лісових екосистем у зоні забруднення викидами цементного виробництва.

#### Література

1. *Андрюк Е.И., Иутинская Г.А., Дульгеров В.Н.* Почвенные микроорганизмы и интенсивность земледелия. - Киев:Наук.думка, 1988.-192с.
2. *Берги Д.* Краткий определитель бактерий Берги.-М.Мир, 1980.-485с.
3. *Билай В.И.* Фузари. -Киев:Наук.думка, 1977.-442с.
4. *Звягинцев Д.Г.* Почва и микроорганизмы. М.: Изд-во Моск.ун-та, 1987, - 236с.
5. *Мирчинк Т.Г.* О методах учета количества и биомассы грибов в почвах // Вопросы численности, биомассы и продуктивности почвенных микроорганизмов. - Л.:Наука, 1972.-С.62-69.
6. *Мишустин Е.Н.* Ассоциации почвенных микроорганизмов. - М.:Наука, 1975. - 106с.
7. *Никитин Д.И., Никитина З.С.* Процессы самоочищения окружающей среды и паразиты бактерий (род *Vdellovibrio*). -М.:Наука, 1978.-203 с.
8. Программа и методика биогеоценологических исследований / *Под ред. В.Н.Сукачева, Дылиса Н.В.* - М.:Наука, 1996. - 334с.
9. *Стефурак В.П.* Біологічна індикація стану наземних екосистем Українських Карпат і Прикарпаття в умовах антропогенного впливу: Автореф. дис... докт.біол.наук. - Дніпропетровськ, 1997. - 32с.
10. *Умаров М.М.* Ацетиленовий метод изучения азотфиксации в почвенно-микро-биологических исследованиях // Почвоведение. - 1976. - №11.-С. 92-95.
11. *Tresner H.D., Backus M.P., Curtis J.T.* Soil microfeugi in relation to the hardwood forest continuum Souhem Wisconsin // *Mycologia*.- 1954. - V.46. - №3. - P.314-333.

Стаття поступила до редакції 26.08.2008 р.; прийнята до друку 05.09.2008 р.

**Стефурак В.П.** – доктор біологічних наук, професор кафедри біології Івано-Франківського державного медичного університету.

**Рецензент:** доктор біологічних наук, професор кафедри біології та екології Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника Прапан В. І.