DOI: 10.17117/na.2015.04.253

Поступило в редакцию: 08.04.2015

<http://ucom.ru/doc/na.2015.04.253.pdf>

Ильбулова Г.Р., Семенова И.Н., Ягафарова Г.А. Экологический мониторинг почвенных микробных сообществ территорий, прилегающих к Сибайской обогатительной фабрике

Ilbulova G.R., Semenova I.N., Yagafarova G.A.
Environmental monitoring of soil microbial communities
of the territories adjacent to Sibay factory

Исследована стабильность почвенных микробных сообществ в почвах, прилегающих к территории Сибайской обогатительной фабрики. Установлено, что стабильность микробных сообществ почвенных экосистем уменьшается с приближением к источнику техногенного загрязнения. В радиусе примерно 0,5 км от источника загрязнения микробные сообщества являются необратимо измененными

Ключевые слова: микробные сообщества, техногенное загрязнение, мультисубстратное тестирование

Investigated the stability of soil microbial communities in the soils adjacent to the territory of Sibay factory. It is established that the stability of microbial communities in soil ecosystems decreases with approaching the source of man-made pollution. Within a radius of about 0.5 km from the pollution source of the microbial community are irreversibly altered

Key words: microbial communities, industrial pollution, multisubstrate testing

Ильбулова Гульназ Ражаповна

Кандидат биологических наук, старший преподаватель
Сибайский Институт (филиал) БГУ
г. Сибай, ул. Белова, 21

Ilbulova Gulnaz Rajapovna

Candidate of Biological Sciences, Senior Teacher
Sibai institute (branch) BSU
Sibay, Belova st., 21

Семенова Ирина Николаевна

Доктор биологических наук, профессор
Сибайский Институт (филиал) БГУ
г. Сибай, ул. Белова, 21

Semenova Irina Nicolaevna

Doctor of Biological Sciences, Professor
Sibai institute (branch) BSU
Sibay, Belova st., 21

Ягафарова Гульсина Азатовна

Кандидат биологических наук, доцент
Сибайский Институт (филиал) БГУ
г. Сибай, ул. Белова, 21

Yagafarova Gulsina Azatovna

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor
Sibai institute (branch) BSU
Sibay, Belova st., 21

В настоящее время бурное развитие горнодобывающей и рудоперерабатывающей промышленности привело к загрязнению окружающей среды. В процессе функционирования горнодобывающих предприятий происходит техногенное загрязнение почвы, воздуха и воды, что разрушительно влияет на природные сообщества, в том числе и микробные. Состояние почвенных мик-

робных сообществ может служить индикатором благополучия почвенных экосистем. Существующие классические методы изучения микрофлоры почвы зачастую очень трудоемки и не всегда достоверны. Оценка реального фенотипического биоразнообразия микробных сообществ традиционными культуральными методами представляет проблему, так как в данном местообитании могут присутствовать какие-то некультивируемые или просто не растущие на данной среде формы. Общее биоразнообразие микробных сообществ включает в себя такие составляющие, как генотипическое и функциональное биоразнообразие. Оценка генотипического биоразнообразия можно проводить с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), однако ограниченность набора праймеров, дороговизна исследований не позволяет широко внедрить в практику этот метод. Функциональное биоразнообразие проявляется как разнообразие реализованной в данном местообитании функционально значимой генетической информации. Наиболее удобным и доступным инструментом измерения функционального биоразнообразия является метод мультисубстратного тестирования (МСТ) [1, 2].

В основе метода мультисубстратного тестирования (МСТ) лежит анализ спектров потребления субстратов (СПС) природными микробными сообществами. По существу эта система представляет полную реализацию на современном уровне классической идеи С.Н. Виноградского о методе, позволяющем регистрировать реакцию сложного природного микробного сообщества на предлагаемый к использованию широкий спектр разнообразных углеродсодержащих соединений.

К достоинствам МСТ можно отнести высокую чувствительность при регистрации разнообразных изменений в микробном сообществе, что связано с исключительно богатой комбинаторикой сигналов. Регистрация и обработка данных осуществляются с помощью современных компьютерных технологий, что позволяет эффективно и быстро охарактеризовать структурно-функциональные особенности микробных сообществ.

Целью исследования была оценка возможности применения метода мультисубстратного тестирования для характеристики функциональных изменений в микробных сообществах почв, находящихся под воздействием техногенного загрязнения.

Задачи исследования:

- апробация метода МСТ применительно к почвам Зауралья;
- исследование методом МСТ микробных сообществ почвенных экосистем в зоне влияния СФ УГОК;

Объект исследования

Исследования проводились в г. Сибай в зоне влияния крупного перерабатывающего предприятия – СФ УГОК. СФ УГОК является градообразующим учреждением г. Сибай Республики Башкортостан. В состав комбината входит ряд промышленных объектов, в том числе обогатительная фабрика и карьер по добыче медно-серной руды. Одним из источников загрязнения почвы ионами тяжелых металлов является хвостохранилище. Отсутствие водного слоя в

западном отсеке хвостохранилища способствует выносу пылевых частиц, содержащих компоненты хвостов обогащения на поверхность земли.

Методы.

В экспериментах использовали готовые тест-планшеты с определенным набором минеральных солей и различными источниками углерода, изготовленные на кафедре биологии почв факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова.

Для анализа почвенную суспензию (1:50) встряхивали на шейкере типа Вортекс в течение 1 мин и центрифугировали в режиме ускоренного отстаивания (1500 об/мин, 5 мин) до получения прозрачной надосадочной жидкости. В каждую ячейку с субстратом добавляли 0,2 мл суспензии. Микрокуветы инкубировали 72 ч при температуре 28°, после чего проводили измерение окрашенности ячеек.

Для окончательного выражения окрашенности ячейки использовали показатель $D = (R - C) / \{ [E(1 - C)] / p \}$, где C – выраженная в показаниях прибора окраска данной ячейки, R – то же для контрольной ячейки, p – число субстрат-содержащих ячеек.

Сравнение микробных сообществ почвенных образцов на базе трансформированных вышеуказанным образом данных проводили в системе STATISTICA.

Результаты исследования

Почвенное микробное сообщество представляет собой сложную иерархическую систему, элементы которой определенным образом взаимоупорядочены в соответствии с ранговым распределением. Ранее была предложена трехпараметрическая модель рангового распределения потребления субстратов почвенным микробным сообществом почв[1]:

$$F(n) = E0 - b \cdot \ln n,$$

где $n = \ln(N)$, N- номер ранга; $F(n) = \ln(yN)$, yN – интенсивность потребления субстрата ранга N, e – основание натурального логарифма, Eo, b, d – параметры.

Согласно литературным данным (1,2) наиболее информативным является коэффициент d, отражающий стабильность сообщества. Стабильность – это способность экосистемы вернуться в прежнюю область устойчивого равновесия после временного воздействия какого-либо фактора (табл. 1).

Таблица. 1. Зависимость характера системы от значения d

d	Описание системы
0,01 -0,1	Благополучная избыточная система с максимальным запасом прочности
0,1 – 0,4	Устойчивая стабильная система
0,4 – 0,8	Система с истощенными ресурсами или система, находящаяся под обратимым воздействием какого-либо нарушающего фактора
0,8 – 1,0	Кризисная дестабилизированная система
Более 1,0	Необратимо нарушенная система

При изучении влияния загрязнения СФ УГОК отбирались почвенные образцы на пробных площадках, расположенной вблизи карьера по добыче руды,

на территории отвалов (№1), а также размещенных по трансектам в направлении северо-восток на удалении 0,5 км (№2), 5 км (№3), 10 км (№4), 15 км (№5) от источника загрязнения (ИЗ) – Сибайской обогатительной фабрики. На площадках №№ 2-5 были взяты образцы 3-х почвенных горизонтов (0-10см – «а», 10-20см – «в», 20-30см – «с»).

Результаты представлены на рис. 1.

По-видимому, влияние загрязнения на верхние слои почвы уменьшается с увеличением расстояния от ИЗ, и на расстоянии 15 км (точка №5) этого влияния практически нет. Возможно, что это влияние уменьшается уже на расстоянии 5 км, а «неблагополучие» точки 4а (10 км) объясняется тем, что в непосредственной близости находится автомобильная дорога, которая оказывает отрицательное влияние на сообщество.

Таким образом, стабильными и устойчивыми микробными сообществами при влиянии техногенных нагрузок остаются сообщества нижних горизонтов, в то время как верхние горизонты подвержены значительным изменениям.

Рис. 1. Исследование микробных сообществ почвенных горизонтов. Распределение образцов по критериям стабильности b и d . (1-отвал, 2 – 0,5 км от ИЗ, 3 – 5 км от ИЗ, 4 – 10 км ИЗ, 5 – 15 км ИЗ, а – почвенный горизонт 0-10 см, в – почвенный горизонт 10 – 20 см, с – почвенный горизонт 20 – 30 см)

Исходя из этого, в дальнейшей работе были исследованы образцы верхнего горизонта почвы (0-20 см). Образцы отбирались на следующих пробных

площадках: на отвалах вблизи карьера по добыче руды (№1) на удалении 0,5 км (№2), 5 км (№3) и 15 км (№4) от Сибайской обогатительной фабрики (СОФ УГОК), а также на территории хвостохранилища (№5 и №6 – внутри и снаружи «старой» дамбы соответственно, №7 – внутри «новой» дамбы). Также были взяты образцы почвы на территории пиритного склада (№8) и хвостохранилища на участке, обильно загрязненном разлитым мазутом (№9) (рис.2).

Рис. 2. Схема-карта СОФ УГОК (№2 – 0,5 км от ИЗ, №5 – внутри «старой» дамбы №6 – снаружи «старой» дамбы, №7 – внутри «новой» дамбы, №8 – склад пирита, №9 – участок, загрязненный мазутом) (На карте не обозначены наиболее удаленные точки)

Результаты нашего исследования показывают, что к необратимо нарушенным системам можно отнести образец №2, взятый на расстоянии 0,5 км от обогатительной фабрики (рис.3). Его параметры b и d самые высокие и значительно отличаются от соответствующих показателей остальных исследованных образцов. Истощенные ресурсы имеют образцы №5 (почва внутри «старой» дамбы хвостохранилища) и №7 (почва внутри «новой» дамбы хвостохранилища). К устойчивым стабильным системам относятся образцы №1 (отвалы горных пород вблизи карьера), №3 (участок, находящийся на расстоянии 5 км от обогатительной фабрики), №6 (почва снаружи «старой» дамбы), №8 (склад пирита), №9 (участок, загрязненный мазутом). К благополучным избыточным системам с максимальным запасом прочности можно отнести образец №4, взятый в качестве контроля в экологически чистой зоне близ села Покровка на расстоянии 15 км от СОФ УГОК.

Рис. 3. Исследование влияния СФ УГОК на микробные сообщества почвенных экосистем. Распределение образцов по критериям стабильности b и d (№1 – отвал, №2 – 0,5 км от ИЗ, №3 – 5 км от ИЗ, №4 – 15 км от ИЗ, №5 – внутри «старой» дамбы, №6 – снаружи «старой» дамбы, №7 – внутри «новой» дамбы, №8 – склад пирита, №9 – участок, загрязненный мазутом)

Таким образом, можно заключить, что стабильность микробных сообществ почвенных экосистем уменьшается с приближением к источнику техногенного загрязнения. В радиусе примерно 0,5 км от источника загрязнения микробные сообщества являются необратимо измененными.

Список литературы:

1. Горленко М.В., Кожевин П.А. Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ. М.: МАКС Пресс, 2005. 88 с.
2. Горленко М.В., Кожевин П.А. Дифференциация почвенных микробных сообществ с помощью мультисубстратного тестирования. Микробиология. 1994. Т. 63. №2. С. 289-293.

© 2015, Ильбулова Г.Р., Семенова И.Н.,
Ягафарова Г.А.
Экологический мониторинг почвенных
микробных сообществ территорий,
прилегающих к Сибайской обогатительной
фабрике

© 2015, Ilbulova G.R., Semenova I.N.,
Yagafarova G.A.
Environmental monitoring of soil microbial
communities of the territories adjacent to
Sibay factory