

О.В. СИЩИКОВА

Криворізький ботанічний сад НАН України,
вул. Маршака, 50, м. Кривий Ріг, 50089

**ЗМІНИ КІЛЬКІСНОГО ТА ВИДОВОГО СКЛАДУ СТРЕПТОМИЦЕТІВ
У МОДЕЛЬНОМУ ДОСЛІДІ В УМОВАХ ЗАБРУДНЕННЯ
ЧОРНОЗЕМУ ЗВИЧАЙНОГО ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ**

ключові слова: важкі метали, стрес, стрептоміцети, ценоз

key words: heavy metals, stress, streptomycetes, coenosis

O.V. SYSHCHIKOVA

**CHANGES OF STREPTOMYCETES QUANTITATIVE AND SPECIES
COMPOSITION IN MODEL EXPERIMENT IN CONDITIONS OF
POLLUTION OF ORDINARY CHERNOZEM BY HEAVY METAL**

Kryvyi Rih Botanical Garden NAS of Ukraine
50 Marshaka Str., Kryvyi Rih, 50089, Ukraine

Microorganisms growth stimulation under the action of heavy metals low concentrations was established. At the increase of stressing influence duration there is alteration of streptomycetes cenosis conditioned by increase of their resistant forms. The impoverishment of microorganisms specific composition and predominance of streptomycetes from section *Albus*, series *Albocoloratus* was shown.

Антропогенне забруднення навколишнього природного середовища токсикантами відображається на всіх живих компонентах біогеоценозів, у тому числі і на ґрунтових мікроорганізмах. Ґрунт, забруднений важкими металами, внаслідок зниження родючості, загальної деградації та через інші причини не здатен виконувати свої екологічні функції повноцінно [2]. Слід зазначити, що важкі метали є одним із найнебезпечніших факторів забруднення довкілля. Відомо, що вони впливають на показники загальної чисельності, видового складу та фізіологічної активності ґрунтової мікробіоти. Найчутливішими до забруднення є бактерії й актиноміцети, в тому числі і стрептоміцети [3; 6]. Тому метою наших досліджень було вивчення змін кількісного та видового складу стрептоміцетів у забрудненому важкими металами (Cd, Ni, Fe, Cu, Pb і Zn) чорноземі звичайному та особливостей формування популяцій стрептоміцетів, резистентних до високих концентрацій важких металів.

Об'єкти та методи досліджень

Об'єктом дослідження був ценоз стрептоміцетів чорнозему звичайного, забрудненого важкими металами. У дослідях забруднення ґрунту моделювали шляхом внесення водного розчину суміші солей важких металів (сульфату кадмію, сульфату заліза, нітрату нікелю, ацетату свинцю, сульфату міді та цинку), доза кожного з яких становила 1, 5 і 15 ГДК (мінімальна, середня і максимальна концентрації, відповідно). Контролем був чорнозем звичайний без внесення важких металів. Відбір проб проводили безпосередньо після

внесення токсикантів у ґрунт (1 доба) та на 60 і 120 доби експерименту. Чисельність мікроорганізмів визначали методом посіву ґрунтової суспензії на тверде живильне середовище – крохмально-аміачний агар (КАА) [4]. Виявлення і підрахунок резистентних форм мікроорганізмів проводили на КАА з додаванням до поживного середовища суміші важких металів у концентраціях 0,75, 1 і 3 ГДК. Ідентифікацію виділених з ґрунтів стрептоміцетів здійснювали за визначниками актиноміцетів Г.Ф.Гаузе [5], О.В.Валагурової зі співав. [1] та спеціальною комп'ютерною програмою, яка розроблена співробітниками Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України.

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз одержаних експериментальних даних дозволив виявити особливості впливу важких металів на формування ценозу стрептоміцетів чорнозему звичайного. Так, на початковому етапі стресової дії, після внесення до ґрунту токсикантів у концентрації 1 ГДК, кількість стрептоміцетів була більшою на 1,6 млн/г а.с. ґрунту, у той час як за 5 ГДК – їх кількість не відрізнялася від чисельності цих мікроорганізмів у контрольному ґрунті, відповідно. У варіантах дослідів із внесенням 15 ГДК важких металів кількість стрептоміцетів зменшувалася у 1,8 разів, порівняно з контролем (табл.). Імовірно, цей факт пояснюється тим, що важкі метали у мінімальних концентраціях стимулюють ріст мікроорганізмів, оскільки метали входять до складу активних центрів ферментів, вітамінів та біологічно активних речовин. Проте подальше підвищення концентрації важких металів призводить до прояву їх токсичного ефекту, що, зокрема, виражається й у зменшенні кількості стрептоміцетів.

Під час експерименту встановлено, що на 60 добу відбувається зменшення кількості стрептоміцетів, порівняно з початковим етапом стресової дії. Цей процес залежить від концентрації токсикантів. Так, за дії важких металів мінімальної концентрації, чисельність стрептоміцетів була меншою у 1,4 рази, за середньої – у 1,6 рази, та за максимальної – у 4,7 рази, ніж на 1 добу досліджень. В умовах збільшення тривалості впливу токсикантів до 120 діб відмічено значне пригнічення функціонування ценозу стрептоміцетів, порівняно з початковим етапом стресової дії (табл.). У даному випадку, внесення в ґрунт важких металів у мінімальній та середній концентраціях призводило до зниження кількості стрептоміцетів у 2,0-2,3 рази, а за максимального вмісту токсикантів у ґрунті їх чисельність зменшувалася у 3,6 рази.

Порівняння кількості стрептоміцетів на 60 та 120 доби експерименту дозволило виявити дещо іншу тенденцію формування мікроценозу. Так, у ґрунті з рівнем забруднення 1 та 5 ГДК, чисельність мікроорганізмів роду *Streptomyces* статистично достовірно не відрізняється, у той час як за максимального вмісту важких металів (15 ГДК) та максимальної тривалості їх дії (120 діб), кількість стрептоміцетів збільшується на 30%. Таким чином, у найбільше „забрудненому” ґрунті зростання їх чисельності відбувається за рахунок резистентних до цього негативного впливу форм стрептоміцетів.

Кількість стрептоміцетів (млн/г а.с. ґрунту) чорнозему звичайного, забрудненого важкими металами

Варіант досліджу	Концентрації важких металів, внесених до поживного середовища						
	Без внесення	0,75 ГДК		1 ГДК		3 ГДК	
	M ± m	M ± m	% рез.*	M ± m	% рез.*	M ± m	% рез.*
1 доба							
Контроль	4,2 ± 0,35	1,23 ± 0,11	29,3	0,93 ± 0,06	22,1	0,22 ± 0,02	5,2
1 ГДК	5,86 ± 0,33**	2,24 ± 0,16**	38,2	1,19 ± 0,13	20,3	0,29 ± 0,02**	4,9
5 ГДК	4,11 ± 0,37	1,79 ± 0,12**	43,6	0,94 ± 0,09	22,9	0,38 ± 0,03**	9,3
15 ГДК	2,4 ± 0,19**	1,44 ± 0,13**	60,0	0,73 ± 0,06**	30,4	0,33 ± 0,02**	13,8
60 доба							
Контроль	3,73 ± 0,17	1,04 ± 0,06	27,9	0,49 ± 0,03	13,1	0,16 ± 0,01	19,6
1 ГДК	4,15 ± 0,23	0,84 ± 0,07**	20,3	0,78 ± 0,07**	18,8	0,21 ± 0,02**	14,8
5 ГДК	2,54 ± 0,19**	0,69 ± 0,05**	27,2	0,59 ± 0,03**	23,2	0,2 ± 0,02	15,6
15 ГДК	0,51 ± 0,04**	0,19 ± 0,01**	37,3	0,14 ± 0,01**	27,4	0,08 ± 0,003**	16,5
120 доба							
Контроль	2,04 ± 0,14	0,43 ± 0,02	21,1	0,27 ± 0,02	13,2	0,08 ± 0,003	18,9
1 ГДК	2,5 ± 0,17	0,58 ± 0,04**	23,2	0,26 ± 0,02	10,4	0,16 ± 0,04	23,1
5 ГДК	2,09 ± 0,18	0,52 ± 0,04	24,9	0,33 ± 0,02	15,8	0,17 ± 0,02**	16,1
15 ГДК	0,66 ± 0,04**	0,21 ± 0,02**	31,8	0,13 ± 0,02**	19,7	–	–

Примітка: * – % рез. – відсоток резистентних форм стрептоміцетів від їх кількості на середовищі без внесення важких металів,
 ** – статистично достовірна різниця відносно контролю, $p < 0,05$.

Установлення чисельності резистентних до забруднення мікроорганізмів показало збільшення їх відсотку відповідно до підвищення концентрації токсиканту як в середовищі вирощування, так і в ґрунті. Зокрема, на 60 добу експерименту чисельність резистентних форм стрептоміцетів, висіяних із ґрунту, до якого було внесено 1 ГДК важких металів, на поживне середовище з концентрацією 0,75 ГДК, становила 20% від кількості стрептоміцетів, висіяних на середовище без важких металів та 30 і 40% у варіантах дослідів із середнім та максимальним рівнем забруднення ґрунту, відповідно.

Порівняно з контрольним ґрунтом, збільшення вмісту токсикантів у поживному середовищі до 1 ГДК призвело до зростання відсотка стрептоміцетів у 1,8-2 рази у ґрунті з концентрацією важких металів 5 та 15 ГДК, відповідно. Найяскравіше наведена тенденція проявилася у варіантах дослідів із максимально забрудненим ґрунтом та найвищим вмістом токсикантів у середовищі (3 ГДК). У цьому випадку відсоток резистентних форм стрептоміцетів забрудненого ґрунту в 4 рази перевищував контрольні показники.

Зі зростанням тривалості токсичного впливу важких металів, підвищення їх вмісту в поживному середовищі також призводить до збільшення в ценозі відсотка резистентних до забруднення форм стрептоміцетів.

Якісна структура угруповання резистентних форм стрептоміцетів чорнозему звичайного в контрольному ґрунті складалася з 5 серій та 3 секцій: *Albus* (серії *Albus*, *Albocoloratus*), *Cinereus* (*Achromogenes*, *Chromogenes*) та *Azureus* (серія *Coerulescens*). Вивчення динаміки змін структури угруповання стрептоміцетів показало збіднення видового біорізноманіття впродовж експерименту. Так, на 60 добу досліджень у контрольному ґрунті сукцесійні перебудови були виражені не достатньо чітко. Участь представників домінуючої секції *Albus* зменшувалася у 1,2 рази порівняно з 1 добою досліду, секції *Cinereus*, навпаки, збільшувалися в 1,3 рази, у той час як секції *Azureus* не відрізнялися від попереднього варіанту дослідів. Продовження тривалості експерименту до 120 діб призводило до помітнішої перебудови ценозу стрептоміцетів, що відобразилося в істотнішому зниженні участі у формуванні ценозу представників секцій *Cinereus* та *Albus* у 2-3 рази.

Проведені дослідження дозволили встановити, що разом зі значними змінами кількісного складу ґрунтових стрептоміцетів відбувається суттєва перебудова і їх ценозу. Забруднення ґрунту важкими металами зумовлює певну специфіку формування ценозу резистентних стрептоміцетів, порівняно з ценозом контрольного ґрунту. За мінімального вмісту токсикантів у ґрунті та їх концентрації в поживному середовищі 0,75 ГДК, як і раніше, домінуючими залишаються представники секції *Albus* (їх відсоток у ценозі на початковому етапі стресової дії становив 52%). Водночас, слід зазначити, що з підвищенням концентрації важких металів у середовищі, їх кількість зменшилася у 1,1-1,7 рази (Рис. 1). У формуванні специфічного угруповання стрептоміцетів істотну роль відігравали також види секції *Cinereus* (38%). У цьому варіанті дослідів ідентифіковані також і представники секції *Helvolo-flavus* серії *Helvulus*. Слід зазначити, що тривалий негативний вплив важких металів навіть у незначних концентраціях призводив до зникнення у ценозі представників секції *Cinereus* серії *Achromogenes*. За підвищення концентрації токсикантів у поживному середовищі (1 і 3 ГДК) спостерігається зниження біорізноманіт-

ності стрептоміцетів. У ценозі залишаються лише стрептоміцети секцій *Albus* (55%) та *Cinereus* (45%), яких можна розглядати як порівняно стійких до негативного впливу.

У ґрунті з вмістом важких металів у концентрації 5 ГДК ідентифіковані нові види стрептоміцетів. Так, наприклад, на початковому етапі стресового впливу на поживному середовищі із вмістом токсикантів 0,75 ГДК з'являються 2 нові види, які належать до секції *Roseus* серії *Roseus* та *Lavendulae*. Із підвищенням концентрацій важких металів у середовищі до 1-3 ГДК, як і в попередніх варіантах дослідів, відмічено звуження спектру стрептоміцетів в угрупованні, оскільки в цьому випадку у ґрунті, як і раніше, домінують представники секції *Albus* серії *Albocoloratus* (45%) і серії *Albus* (23%). Також трапляються представники сірих стрептоміцетів секції *Cinereus* серії *Chromogenes*, спорадично – види секції *Roseus* серії *Roseus* та секції *Azureus* серії *Coerulescens*. Зі збільшенням тривалості стресового впливу тенденція домінування видів стрептоміцетів секції *Albus* (60-70%) зберігається. Разом з цим, зростає доля участі в ценозі сірих стрептоміцетів секції *Cinereus* (до 34%). Слід зазначити, що в цьому варіанті дослідів спостерігаються також і інші структурні перебудови ценозу. Зокрема, з нього зникають види серії *Lavendulae*, але з'являються представники секції *Roseus* серії *Ruber*.

За максимального рівня забруднення ґрунту найпоширенішими на середовищі із важкими металами є резистентні форми стрептоміцетів секції *Albus* серед яких 70% складають мікроорганізми серії *Albocoloratus*. Також у ценозі наявні сірі стрептоміцети секції *Cinereus* і поодинокі трапляються представники секцій *Azureus* і *Roseus*. Поряд із цим, під час внесення у поживне середовище важких металів у концентрації 3 ГДК із збільшенням тривалості токсичного впливу (60 діб) зникають види секції *Roseus* та зменшується різноманітність секції *Cinereus* за рахунок випадання серії *Achromogenes*. Слід також зазначити, що максимальні концентрації токсикантів як у ґрунті, так і в середовищі вирощування, а також максимальна тривалість токсичного впливу (120 діб) виявилися летальними для стрептоміцетів (рис.).

Таким чином, внаслідок проведених дослідів встановлено, що важкі метали у мінімальних концентраціях здатні стимулювати ріст мікроорганізмів. З підвищенням вмісту токсикантів у ґрунті до 5-15 ГДК, відбувається пригнічення росту стрептоміцетів у 1,4-4,7 рази.

Зростання тривалості стресового впливу призводить до перебудови ценозу стрептоміцетів, яка проявляється у збільшенні чисельності їх резистентних форм. З іншого боку, підвищення концентрації важких металів у поживному середовищі викликає звуження спектру угруповання стрептоміцетів та його якісні перебудови за рахунок резистентних форм. Збільшення рівня навантаження важких металів на ґрунт зумовлює зростання долі участі стрептоміцетів секції *Albus* серії *Albocoloratus*.

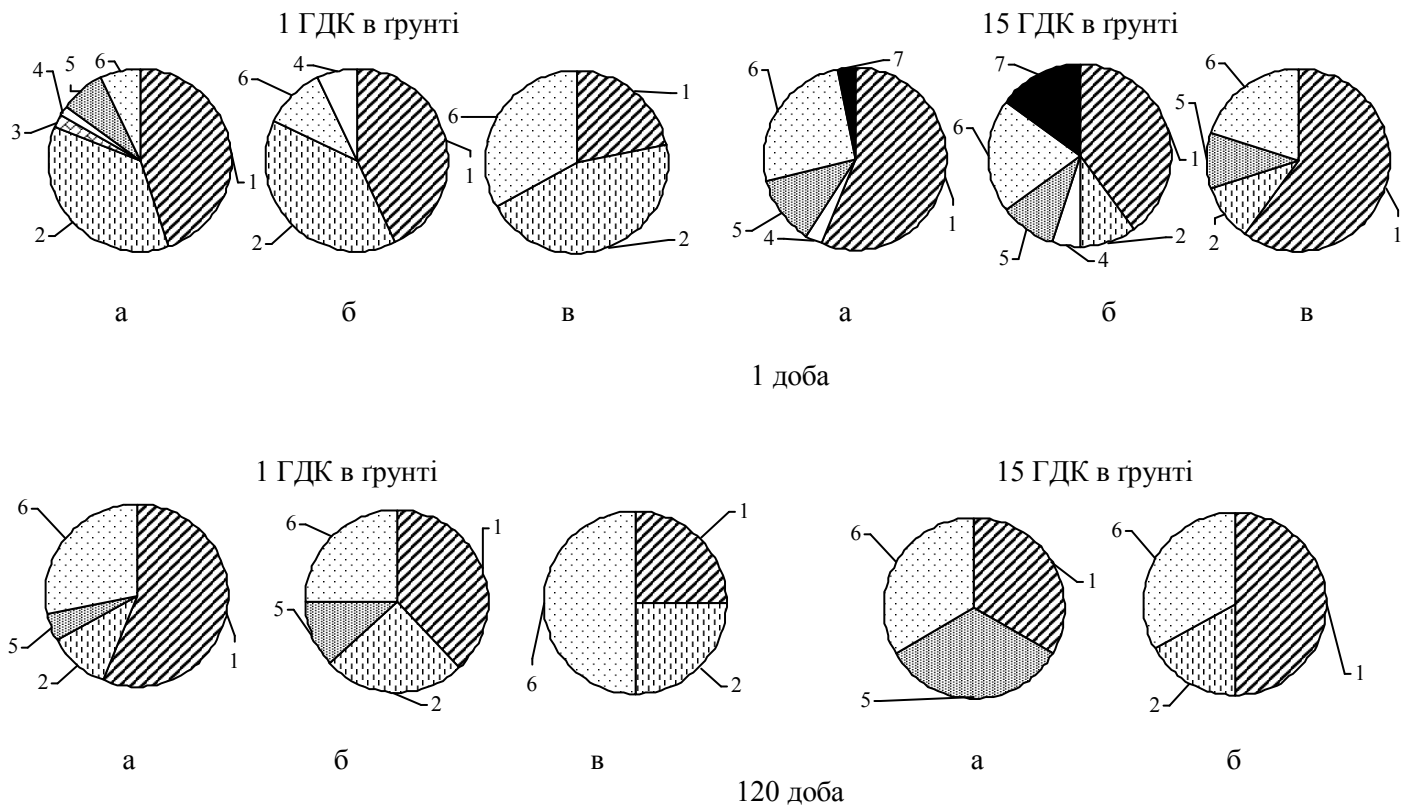


Рис. Склад угруповання стрептоміцетів (% ідентифікованих видів) чорнозему звичайного: серії: 1 – *Albocoloratus*; 2 – *Chromogenes*; 3 – *Helvolus*; 4 – *Achromogenes*; 5 – *Coerulescens*; 6 – *Albus*; 7 – *Roseus*. Концентрації важких металів у середовищі: а – 0,75 ГДК; б – 1 ГДК; в – 3 ГДК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валагурова Е.В., Козырицкая В.Е., Иутинская Г.А. Актиномицеты рода *Streptomyces*: описание видов и компьютерная программа их идентификации. – К.: Наук. думка, 2003. – 645 с.
2. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Экологические последствия загрязнения почв тяжелыми металлами. – Ростов н/Д: Изд-во СКНЦ ВШ, 2000. – 232 с.
3. Левин С.В., Гузев В.С., Асеева И.В., Бабьева И.П., Марфенина О.Е., Умаров М.Н. Тяжелые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту // Микроорганизмы и охрана почв. – М., 1989. – С. 5-46.
4. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г.Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 224 с.
5. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillum*, *Chainia* / Г.Ф.Гаузе, Т.П.Преображенская, М.А.Свешникова и др. – М.: Наука, 1983. – 248 с.
6. Podlesakova E., Nemecek J., Macurova H. Hodnoceni zateze pud rizikovymi stopovymi prvky mikrobiologickymi a biochemickymi metodami // Rostl. Vyroba. – 2000. – Vol. 46, № 9. – P. 405-415.