

**В.М. Гришко, О.В. Сищикова**

*Криворізький ботанічний сад НАН України  
буль. Маршаків, 50, Кривий Ріг, 50089, Україна*

## ЗМІНИ ЧИСЕЛЬНОСТІ І ВИДОВОГО СКЛАДУ УГРУПОВАНЬ СТРЕПТОМИЦЕТІВ У ЗАБРУДНЕНОМУ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ ҐРУНТІ

*Підвищений вміст рухомих форм Cu, Fe, Cd, Zn, Ni в техноземах проммайданчику рудозбагачувальної фабрики обумовлює зниження в 1,5–6,3 рази загальної чисельності мікроорганізмів і в 3–4 рази кількості стрептоміцетів. Одержані результати підтверджуються і даними модельного дослідю, згідно з якими кількість стрептоміцетів при внесенні  $CdSO_4$ ,  $Fe_2(SO_4)_3$ ,  $Ni(NO_3)_2$ ,  $CuSO_4$ ,  $ZnSO_4$ ,  $(CH_3COO)_2Pb \cdot Pb(OH)$  у чорнозем звичайний зменшується в 1,8–2,4 разів на 1-у та 10-у добу за дії 15 гранично допустимої концентрації (ГДК) важких металів. Відновлення чисельності мікробоценозу чорнозему звичайного за дії ГДК суміші солей важких металів спостерігається вже на 30-у добу досліджень, тоді як за дії 5 ГДК – після 90-ї доби, а за 15 ГДК – гомеостаз ценозу порушується незворотно. Домінантами угруповань стрептоміцетів техноземів є *Streptomyces albocrustosus*, *S. sporostellatus*, *S. sporogerbeus*, *S. aerionidulus* і *S. violobrunneus*. Вплив суміші важких металів у техноземі проммайданчику призводить до зниження різноманіття стрептоміцетів в угрупованні.*

*Ключові слова: важкі метали, ґрунт, стрептоміцети, ценоз, біорізноманіття.*

До актуальних проблем взаємодії суспільства та природи відноситься охорона ґрунтів та ґрунтового покриву від зростаючого техногенного впливу, зокрема від забруднення важкими металами. Екологічні наслідки цього явища включають зміни не тільки фізико-хімічних, а також біологічних властивостей ґрунту, наслідком яких є часткова або, у ряді випадків, повна втрата ґрунтами родючості [3, 8]. На сьогодні не викликає сумніву той факт, що мікробні угруповання здатні пристосовуватись до підвищеного вмісту токсичних речовин [15, 17]. Високі концентрації важких металів відіграють роль селективного фактора, внаслідок дії якого в угрупованнях переважають мікроорганізми стійкі до цього забруднення. Про актуальність зазначених досліджень свідчать роботи співробітників Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ з вивчення резистентності до сумісної дії  $Hg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $CrO_4^{2-}$  угруповання стрептоміцетів сірого опідзоленого ґрунту та ґрунтових мікроорганізмів островів Аргентинського архіпелагу та прилягаючої зони Антарктиди [1, 13].

Однак специфіка впливу комплексу важких металів на різноманітні групи мікроорганізмів та ступінь їх токсичності, зокрема стосовно угруповання стрептоміцетів у чорноземах вивчені недостатньо, тому дослідження змін чисельності і складу ґрунтового мікробоценозу залежно від дози внесених важких металів і тривалості їх впливу є досить актуальним, що і було метою наших досліджень.

**Матеріали і методи.** Об'єктом дослідження був мікробоценоз та зокрема ценоз стрептоміцетів чорнозему звичайного (балка Північна Червона) та едафотопів проммайданчику рудозбагачувальної фабрики (РЗФ) ВАТ "Північний гірничо-збагачувальний комбінат" (м. Кривий Ріг). У модельних дослідях забруднення чорнозему звичайного моделювали шляхом внесення водного розчину суміші солей важких металів (сульфату кадмію, заліза, міді і цинку, нітрату нікелю та ацетату свинцю), концентрація кожного з яких становила 1, 5 та 15 ГДК (мінімальна, середня та максимальна концентрації відповідно). Розрахунки кількості важких металів для внесення здійснювали згідно з ДСТУ, за яким 1 ГДК Cu становить 3, Cd – 3, Ni – 4, Zn – 23 та Pb – 20 мг/кг ґрунту [7]. Контролем був чорнозем звичайний без внесення важких металів. Рівень накопичення різних за рухомістю форм заліза, марганцю, цинку, нікелю, міді, свинцю і кадмію (амонійно-ацетатна витяжка, рН 4,5; кислоторозчинних, тобто важкодоступних – витяжка 1н  $HNO_3$ , та валовий вміст) в ґрунтах визначався на атомно-адсорбційному спектрофотометрі С-115 [9].

Відбір ґрунтових зразків у натурних умовах здійснювали влітку з шару ґрунту 0-10, 10-20 та 20-30 см, а в модельному досліді відбір проб проводили безпосередньо після внесення токсикантів у ґрунт (1 доба) та на 10, 30, 60, 90 і 120 добу експерименту за загальноприйняти-

© В.М. Гришко, О.В. Сищикова, 2010

ми методами. Чисельність мікроорганізмів визначали методом посіву ґрунтової суспензії на тверде живильне середовище крохмале-аміачний агар (КАА) [6].

Ідентифікацію виділених із ґрунтів стрептоміцетів здійснювали за визначниками актиноміцетів Гаузе та Валагурової [2, 11] і комп'ютерною програмою (StmID), розробленою співробітниками Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Ідентифікація проводилась за 36 діагностичними показниками.

Аналіз структури угруповань стрептоміцетів проводили з використанням загальноприйнятих в екології критеріїв. Ступінь домінування виду (або вирівняність угруповання) розраховували за індексом Бергера-Паркера (1/d). Для оцінки видового багатства угруповань стрептоміцетів застосовувався індекс Маргалефа (Dmg), схожість угруповань стрептоміцетів різних едафотопів оцінювалась за коефіцієнтом подібності Серенсена (Cs) [4, 10]. Індекс Бергера-Паркера (d):

$$d = \frac{N_{\max}}{N},$$

де:  $N_{\max}$  – чисельність найбільш представленого виду,  $N$  – загальна кількість особин. Загальноприйняте використання величини зворотної індексу Бергера-Паркера (1/d), так що його збільшення визначає зростання різноманіття і зменшення ступеня домінування окремого виду.

Індекс Маргалефа (Dmg), який залежить від кількості рідкісних видів:

$$Dmg = \frac{S-1}{\ln N},$$

де:  $S$  – кількість виділених видів в угрупованні,  $N$  – загальна чисельність всіх  $S$  видів.

Коефіцієнт подібності Серенсена (Cs):

$$Cs = \frac{2j}{a + b},$$

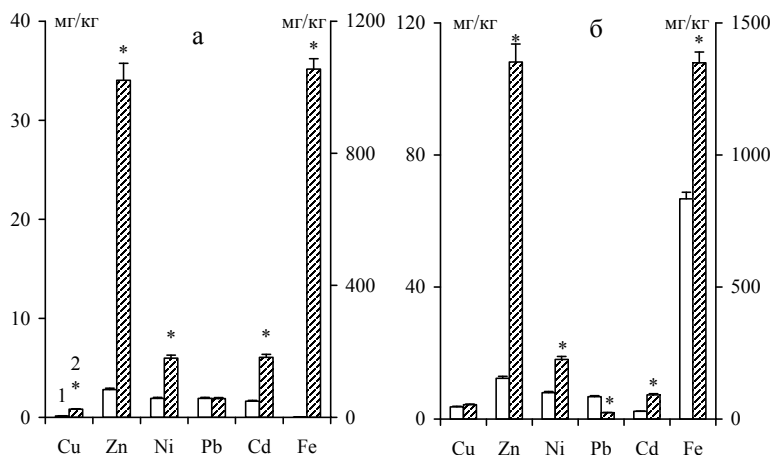
де:  $a$  – кількість видів першого угруповання,  $b$  – кількість видів другого угруповання,  $j$  – кількість загальних видів обох угруповань.

**Результати та їх обговорення.** Забруднення ґрунтів важкими металами обумовлює специфічні прояви такої важливої їх функції як здатність трансформувати речовину і енергію, що свідчить про необхідність контролювання надходження основних елементів-забруднювачів у техногенно-порушені ґрунти. Проведені дослідження дозволили встановити особливості накопичення різних за рухомістю форм важких металів в едафотопах проммайданчику рудозбагачувальної фабрики. Так, кількість найбільш рухомих форм заліза, яке відноситься до третього класу небезпеки і екстрагується амонійно-ацетатною витяжкою з ґрунту проммайданчику, більш ніж в 1400 разів перевищує його концентрацію в чорноземі звичайному (рис. 1). Визначення кількості заліза у витяжці  $1n \text{ HNO}_3$  показало, що рівень його накопичення у ґрунті проммайданчику в 1,6 рази більше, ніж у чорноземі звичайному. Поряд із цим, в едафотопі проммайданчику в 12 і в 3,7 рази збільшується вміст найбільш рухомих форм таких високонебезпечних для оточуючого середовища елементів як цинк та кадмій відповідно. Аналогічна закономірність відмічена і для менш рухомих форм цих елементів (вміст  $Zn$  та  $Cd$  в витяжці  $1n \text{ HNO}_3$  перевищує фоновий у 9 і 3 рази відповідно). Подані на рис. 1 дані свідчать, що в техногенних едафотопах зростає вміст і таких небезпечних для екосистем елементів як нікель та мідь. Так, кількість міді, яка екстрагується з технозему проммайданчику амонійно-ацетатною витяжкою перевищує фонові значення в 5,5, а нікелю – в 3 рази. Таким чином, в техноземі проммайданчику легкодоступних для мікроорганізмів та рослин форм більшості досліджених важких металів істотно перевищує їх рівень у зональному ґрунті і є одним із вирішальних чинників, які істотно впливають на виконання ґрунтом функції регуляції чисельності, складу і структури мікробного ценозу едафотопів.

Як було показано вище, техноземи проммайданчику РЗФ відрізняються доволі високим вмістом рухомих форм важких металів, що, можливо, і приводить до істотних змін в кількісному складі мікробіоценозу.

Проведений аналіз даних показав, що влітку в едафотопах проммайданчику загальною чисельністю амілолітичних мікроорганізмів в шарі технозему 0–10 см була статистично

достовірно в 6,3 рази менше, ніж в зональному ґрунті. Аналогічна тенденція характерна і для більш глибоких ґрунтових шарів (10–20 і 20–30 см). Отриманні дані дають можливість стверджувати, що влітку в шарі технозему проммайданчику РЗФ чисельність стрептоміцетів в 4,7 рази менше, ніж в чорноземі звичайному (табл. 1). В нижчих шарах (10–20 і 20–30 см) технозему кількість стрептоміцетів зменшується в 2,5 і 3,3 рази відповідно. Таким чином, в едафотопі проммайданчику в умовах аеротехногенного забруднення відбувається істотне зниження як загальної кількості амілолітичних мікроорганізмів, так і стрептоміцетів порівняно з чорноземом звичайним.



**Рис. 1.** Накопичення важких металів в зональному ґрунті та едафотопах промислового майданчика РЗФ в амонійно-ацетатній (а) і 1н HNO<sub>3</sub> (б) витяжках, мг/кг ґрунту, 1 – контроль, 2 – РЗФ, \* – різниця достовірна відносно контролю при  $p < 0,05$ , концентрація заліза відкладена за допоміжною шкалою

**Таблиця 1**

**Кількість мікроорганізмів на КАА та стрептоміцетів (млн КУО/г ґрунту) в чорноземі звичайному і ґрунті промислового майданчику РЗФ**

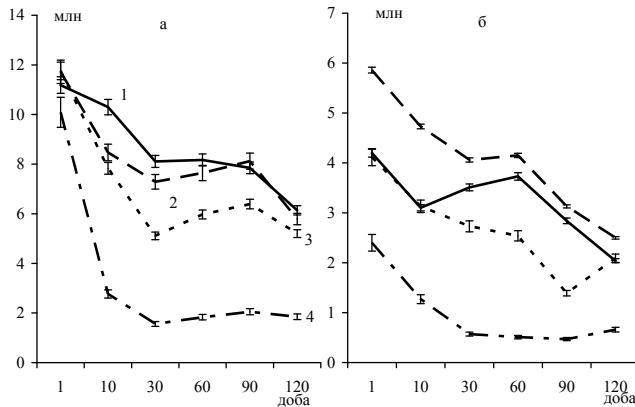
Місце відбору проб	Глибина, см	Загальна кількість		Стрептоміцети	
		$M \pm m$	V, %	$M \pm m$	V, %
РЗФ	0-10	1,03 ± 0,05*	11,7	0,4 ± 0,02*	8,6
	10-20	1,4 ± 0,05*	8,2	0,28 ± 0,01*	10,8
	20-30	1,1 ± 0,06*	12,3	0,22 ± 0,02*	13,4
Контроль	0-10	6,51 ± 0,18	6,1	1,89 ± 0,14	16,8
	10-20	2,03 ± 0,11	12,3	0,69 ± 0,05	15,6
	20-30	2,39 ± 0,09	8,0	0,73 ± 0,03	9,9

**Примітка:** \* – різниця достовірна відносно контролю при  $p < 0,05$

Наведені вище результати досліджень кількісних змін мікробіоценозу в техноземах проммайданчику РЗФ підтверджуються даними модельних експериментів. Так, безпосередньо після внесення в ґрунт важкі метали в будь-якій концентрації не призводили до змін чисельності мікробіоценозу. На початку стресової дії зміни чисельності стрептоміцетів залежали від вмісту іонів важких металів. За мінімального рівня забруднення їх кількість збільшувалась на 1,66 млн КУО/г ґрунту, за середньої концентрації суміші важких металів – не відрізнялась від контролю, у той час як вплив максимальної концентрації призводив до зниження чисельності в 1,8 рази (рис. 2). На нашу думку, одержані результати можуть бути пояснені тим, що окремі метали (Cu, Zn, Fe та ін.) у невеликих концентраціях здатні підвищувати чисельність угруповань стрептоміцетів, але ці ж метали у великих концентраціях, як правило, пригнічують біосинтетичні процеси та ріст мікроорганізмів [1, 12, 19].

Із подовженням тривалості токсичної дії до 10 діб відбувається пригнічення функціонування мікробної системи ґрунту, свідченням чого є зниження загальної чисельності мікроорганізмів

в 1,2–3,8 рази залежно від концентрації токсичних сполук, але з підвищенням концентрації важких металів доля стрептоміцетів в ценозі зростала на 10–15 % (рис. 2). Слід зазначити, що на 10 добу дослідження найбільш суттєве зменшення чисельності мікроорганізмів відмічено за дії максимальної концентрації токсикантів, коли кількість мікробного населення ґрунту знижується в 3,7 рази. Одержані дані збігаються і з результатами досліджень мікробіологічної активності 21 зразка ґрунтів Туреччини, забруднених Fe, Cu, Mn, Zn, Ni, Pb, Co та Cr, виконаними Окур [16]. В ценозі стрептоміцетів не встановлено суттєвих відмінностей співвідношення їх чисельності за варіантами дослідів порівняно з першою добою дослідження. Кількість цих мікроорганізмів зменшувалась у 2,4 рази лише при внесенні максимальної кількості важких металів.



**Рис. 2. Загальна кількість мікроорганізмів (а) та стрептоміцетів (б) на КАА (млн. КУО/г ґрунту) в ґрунті модельного дослідження за дії важких металів, 1 – контроль, 2 – 1 ГДК суміші важких металів, 3 – 5 ГДК, 4 – 15 ГДК**

Нааявні експериментальні дані дозволяють констатувати, що на 30-у добу досліджень спостерігається посилення негативного ефекту високих концентрацій важких металів на розвиток мікробоценозу чорнозему звичайного. Так, за середнього і максимального рівня забруднення загальна чисельність мікроорганізмів знижувалась в 1,6 та 2 рази відповідно. Разом із цим спостерігається поступове відновлення мікробної системи ґрунту під впливом низької концентрації токсикантів, свідченням чого є відсутність статистично достовірної різниці в кількості мікроорганізмів забрудненого та контрольного ґрунту. Подібні результати одержані в дослідженнях Smejkalova [18] та Guo [14], якими встановлено, що всі параметри активності ґрунтової мікрофлори пригнічувались важкими металами за зростання концентрації їх доступних форм.

Аналогічна тенденція відмічена і при підрахунку стрептоміцетів. Їх чисельність зменшувалась на 22 % в ґрунті з середньою концентрацією важких металів та в 6,2 рази за максимального вмісту токсикантів (рис. 2). Але слід зазначити, що поряд зі зниженням чисельності спостерігається підвищення відсотку участі стрептоміцетів (до 50–60%) в мікробному угрупованні ґрунту за мінімальної та середньої концентрації важких металів.

Спостерігається така ж тенденція змін загальної кількості амілолітичних мікроорганізмів за мінімального та середнього рівнів забруднення ґрунту зі збільшенням тривалості стресового впливу до 90 діб (рис. 2). Разом із цим, за максимальної тривалості дії важких металів, у варіантах дослідів з їх внесенням у ґрунт в концентраціях 1 та 5 ГДК, відбувається відновлення загальної чисельності мікробоценозу, свідченням чого є відсутність статистично достовірної різниці між варіантами дослідів порівняно з контролем.

Оскільки за твердженням Звягінцева [5] стрептоміцети є мікроорганізмами, які домінують на пізніх стадіях сукцесії, то формування резистентного ценозу спостерігалось на 120 добу експерименту. Так, за мінімального рівня забруднення ґрунту важкими металами чисельність стрептоміцетів перевищувала рівень контролю більш ніж на 20 %, за середнього – статистично достовірно не відрізнялась від контролю, а за максимального – зростала на 40%, порівняно з аналогічними варіантами дослідів на 90-у добу від моменту внесення токсикантів (рис. 2).

Вірогідно припустити, що збільшення кількості мікроорганізмів у забрудненому ґрунті було зумовлене зменшенням токсичності важких металів внаслідок їх мікробної трансформації, а також завдяки поступовій перебудові мікробних угруповань з переважним розвитком популяцій, резистентних до високих концентрацій токсикантів.

В результаті проведених експериментів можливо констатувати, що на ранньому етапі токсичного впливу відмічається зниження загальної чисельності мікроорганізмів залежно від концентрації важких металів. Разом із цим, внесення токсикантів у ґрунт у дозі 1 ГДК не призводить до пригнічення функціонування ценозу стрептоміцетів одразу після внесення важких металів, з подальшим зменшенням їх чисельності на 10 добу дослідження. Із подовженням тривалості дії важких металів до 30 діб за мінімального рівня забруднення спостерігається поступове відновлення мікробценозу за рахунок збільшення загальної чисельності мікроорганізмів та відносно великої (58 %) долі участі стрептоміцетів в угрупованні. За внесення до ґрунту токсикантів в концентрації 5 ГДК поновлення чисельності угруповання мікроорганізмів спостерігалось після 90 доби експерименту, у той час як за дії суміші важких металів у концентрації 15 ГДК – гомеостаз мікробценозу порушувався незворотно.

Поряд із кількісними змінами вплив токсикантів викликає і структурні перебудови в угрупованні стрептоміцетів, які проявляються у звуженні спектру видів ценозу та заміні деяких домінуючих видів. Дослідження змін в видовій структурі угруповання стрептоміцетів чорнозему показали, що в літній період в зональному ґрунті балки Північна Червона максимальний відсоток участі мали *S. sporoherbeus* – 24,1 % в поверхневому шарі ґрунту та 22,6 % в шарі 10–20 см, *S. grisinus* – 25,8 % і *S. enduracidicus* – 22,6 % в більш глибокому шарі (20–30 см), які відносяться до секцій *Azureus* і *Cinereus* (табл. 2).

Таблиця 2

Доля участі видів в угрупованні стрептоміцетів (%) на дослідних ділянках

Вид	Балка Північна Червона			Промисловий майданчик РЗФ		
	0-10 см	10-20 см	20-30 см	0-10 см	10-20 см	20-30 см
<i>S. acidiscabies</i> (A-Ac)	—	—	—	2,2	11,9	—
<i>S. aerionidulus</i> (C-Ch)	3,7	—	3,2	21,3	—	16,5
<i>S. albocrustus</i> (R-Fu)	3,7	6,5	—	—	27,1	37,9
<i>S. atratus</i> (C-Ach)	—	—	3,2	—	—	—
<i>S. brasiliensis-1</i> (A-Ac)	1,9	3,2	3,2	—	6,8	—
<i>S. caelestis</i> (Az-Co)	—	—	—	5,5	—	—
<i>S. cinereorectus</i> (C-Ach)	—	—	—	2,2	—	—
<i>S. conganensis</i> (C-Ach)	5,5	6,5	6,5	—	11,9	—
<i>S. dayalbaghensis</i> (A-Ac)	13,0	9,7	—	3,3	8,4	—
<i>S. ederensis</i> (C-Ach)	—	—	3,2	—	—	—
<i>S. enduracidicus</i> (C-Ch)	5,6	6,5	22,6	9,8	—	—
<i>S. fragmentosporus</i> (A-A)	1,9	3,2	—	—	—	—
<i>S. grisinus</i> (C-Ach)	11,1	9,7	25,8	6,6	—	8,7
<i>S. hirsutus</i> (C-Ach)	—	3,2	3,2	2,2	—	—
<i>S. lactogriseus</i> (C-Ach)	1,9	3,2	3,2	—	—	—
<i>S. luteolucescens</i> (HF-H)	1,9	—	—	—	11,9	—
<i>S. nidulosus</i> (C-Ach)	—	—	—	5,5	—	—
<i>S. marinolimosus</i> (R-F)	1,9	—	—	—	—	—
<i>S. septisporus</i> (C-Ch)	—	—	3,2	—	—	—
<i>S. spitsbergensis</i> (R-Fu)	—	3,2	—	—	—	—
<i>S. sporocanensis</i> (HF-H)	—	—	—	2,2	—	—
<i>S. sporoherbeus</i> (Az-Co)	24,1	22,6	19,4	6,0	12,8	—
<i>S. sporostellatus</i> (C-Ach)	16,4	12,9	—	18,4	—	6,7
<i>S. subhalophilus</i> (A-Ac)	1,9	3,2	3,2	10,9	—	—
<i>S. violaceomaculatus</i> (R-Ro)	5,5	3,2	—	16,8	—	12,6
<i>S. violobrunneus</i> (A-A)	—	3,2	—	5,5	22,0	20,4

**Примітка:** скорочені назви секцій та серій стрептоміцетів А – Albus, Ac – Albicoloratus, Az – Azureus, Co – Coerulescens, C – Cinereus, Ch – Chromogenes, Ach – Achromogenes, Fu – Fuscus, HF – Helvolor-flavus, H – Helvolus, R – Roseus, F – Fradiae, Ro – Roseoviolaceus, “—” не виявлено

В той час, як в едафотопі промислового майданчика в шарах ґрунту 10–20 та 20–30 см домінантом був *S. albocrustus* (секція *Roseus* серія *Fuscus*) 27,1–37,9%, а також *S. aerionidulus* (секція *Cinereus* серія *Chromogenes*) в шарі 0–10 см, доля участі якого влітку становила 21,3 %, а в шарі 20–30 см 16,5 % та *S. violobrunneus* (секція *Albus* серія *Albus*) – 22–20,4 %. Слід зазначити, що відмічене зниження кількості видів стрептоміцетів в угрупованні добре узгоджується зі зменшенням значень індексів Маргалефа та Бергера-Паркера до 2,5 і 3,5 відповідно (табл. 3). Таким чином, відбувається зменшення різноманітності угруповання і зростання відсотку участі в ценозі стрептоміцетів окремих видів, але схожість угруповання стрептоміцетів технозему з угрупованням зонального ґрунту становить 0,59 %.

Таблиця 3

Індекси екологічного різноманіття угруповань стрептоміцетів дослідних ділянок

Дослідна ділянка	Індекс Маргалефа	Індекс Бергера-Паркера	Коефіцієнт Серенсена
Промисловий майданчик РЗФ	2,5	3,5	0,59
Балка Північна Червона	3,5	7,2	—

В чорноземі звичайному модельних дослідів на початку стресової дії важких металів і надалі на 10, 30 та 60 добу домінуючим видом був *S. enduracidicus* (секція *Cinereus* серія *Chromogenes*) від 22,1 % до 32,4 %. Також на 30 добу експерименту встановлене зростання в 2,9 рази порівняно з початком дослідів долі участі в угрупованні *S. sporostellatus* (до 21,3 %). На заключному етапі сукцесії (120 доба) найбільш високий внесок у формування угруповання стрептоміцетів вносять вже 2 види: *S. sporotherbeus* (секція *Azureus* серія *Coerulescens*) – 25,6 % та *S. enduracidicus* – 21,3 % (рис. 3).

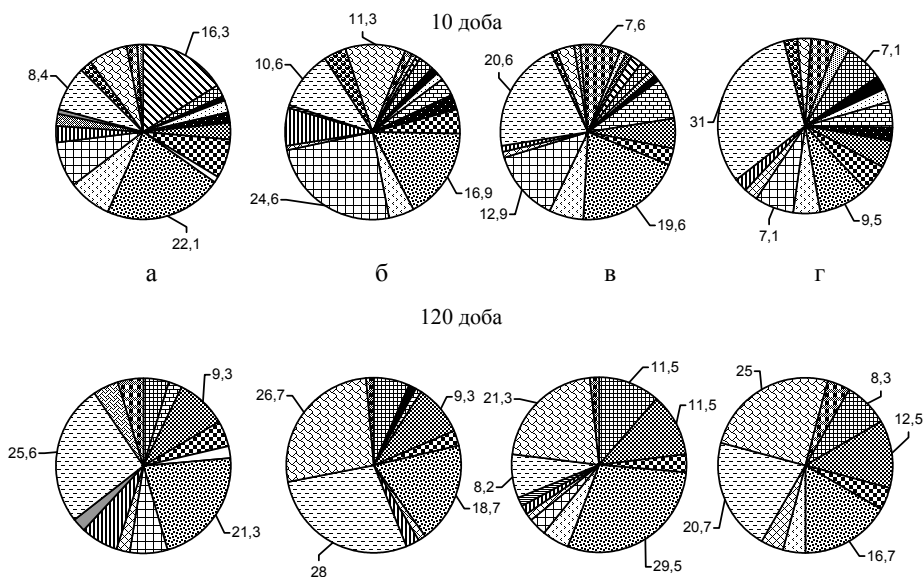


Рис. 3. Доля участі видів в угрупованні стрептоміцетів (%) у модельному експерименті з важкими металами: а – контроль, б – 1 ГДК важких металів, в – 5 ГДК, г – 15 ГДК

- – *S. acidiscabies*, ■ – *S. aerionidulus*, ■ – *S. albocrustus*,
- – *S. alboflaveolus*, ■ – *S. atratus*, ■ – *S. brasiliensis-1*, ■ – *S. caelestis*,
- – *S. canadensis*, ■ – *S. cinereorectus*, ■ – *S. conganensis*,
- – *S. dayalbaghensis*, □ – *S. ederensis*, ■ – *S. enduracidicus*,
- – *S. fragmentosporus*, ■ – *S. grisinus*, ■ – *S. hirsutus*, ■ – *S. hofunensis*,
- – *S. lactogriseus*, ■ – *S. luteolucescens*, ■ – *S. marinolimosus*,
- – *S. nidulosus*, ■ – *S. septisporus*, ■ – *S. sporotherbeus*, ■ – *S. spororutilis*,
- – *S. sporostellatus*, ■ – *S. subhalophilus*, ■ – *S. tateyamensis*,
- – *S. violaceomaculatus*, ■ – *S. violobrunneus*

При забрудненні чорнозему звичайного сумішшю солей важких металів у гранично допустимій концентрації вже на 10 добу відмічена певна перебудова ценозу за рахунок збільшення до 25 % долі участі *S. griseus*, в той час як у *S. enduracidicus* і *S. sporostellatus* – 16,9 і 11,3 % відповідно (рис. 3). З подовженням тривалості токсичного впливу до 30 діб доля участі *S. griseus* зменшується в 2 рази з подальшим його зникненням на 60 і 120 добу. Домінантом стає *S. sporostellatus* – 30,8 % та досить вагомо (до 20 %) представлений *S. sporoherbeus*. Участь *S. enduracidicus* зменшується до 9 %. Вищенаведені структурні перебудови ценозу стрептоміцетів не призвели до суттєвої різниці між угрупованнями забрудненого і незабрудненого ґрунту, що підтверджується досить великими значеннями індексу Серенсена (0,82). Поряд із цим, вплив суміші важких металів призводить до певного зниження (до 10 %) різноманіття стрептоміцетів, свідченням чого є зменшення значень індексу Маргалєфа (табл. 4).

Таблиця 4

**Індекси екологічного різноманіття угруповань стрептоміцетів в модельному досліді з важкими металами**

Варіант досліду	Індекс Маргалєфа	Індекс Бергера-Паркера	Коефіцієнт Серенсена
Контроль	3,5	3,6	—
1 ГДК ВМ	3,3	3,6	0,82
5 ГДК ВМ	3,5	4,3	0,8
15 ГДК ВМ	3,2	3,5	0,66

**Примітка:** ВМ – суміш солей важких металів у зазначеній концентрації по кожному з елементів

При внесенні в чорнозем звичайний суміші важких металів в концентрації 5 ГДК на 10 добу дослідження не відмічено чітко виражених домінантів, а найвищий відсоток участі встановлений для *S. enduracidicus* (19,6 %), *S. griseus* (12,9 %) та *S. sporoherbeus* (20,6 %) (рис. 3). При більш тривалому впливі суміші важких металів в 2,1 та 9,7 рази порівняно з початком стресової дії важких металів зростає доля участі *S. sporostellatus* і *S. fragmentosporus* відповідно. Підвищення індексу Маргалєфа і Бергера-Паркера при 5 ГДК важких металів у ґрунті відносно контролю свідчить про зростання різноманіття угруповання стрептоміцетів, яке має доволі високий рівень схожості (0,8) угруповань з зональним ґрунтом (табл. 4). Збільшення відсотку участі видів, які раніше були менш вираженими, на нашу думку, може свідчити про перебудову угруповання стрептоміцетів, яка обумовлена дією підвищеної концентрації токсикантів за їх тривалого впливу.

Забруднення ґрунту максимальною концентрацією важких металів призводило до формування специфічного ценозу стрептоміцетів. На початку стресової дії важких металів домінантами є *S. sporoherbeus* – 31 %, який був домінантом і на 30 добу експерименту. На більш пізніх стадіях сукцесії (60–90 доба) зростає відносна кількість *S. enduracidicus*. Доля участі в угрупованні *S. sporostellatus* збільшується до 20–25 %, *S. albocrustus* – до 20 %. Можливо, зростання участі цих видів стрептоміцетів в угрупованні відбувається за рахунок чутливих видів, які не витримують дії важких металів за високих концентрацій. Наявність наведеної відмінності у структурній організації угруповання стрептоміцетів відносно контролю підтверджується також суттєвим зниженням (до 20 %) коефіцієнту схожості Серенсена (табл. 4).

Одержані експериментальні дані дозволяють констатувати, що в контрольному ґрунті домінантами є *S. enduracidicus*, *S. sporoherbeus* і *S. griseus*, в той час як при забрудненні ґрунту важкими металами, в переважній більшості випадків, найвищі значення відсотку участі в ценозі притаманні *S. albocrustus*, *S. violobrunneus*, *S. sporoherbeus* та *S. sporostellatus*. Аналіз одержаних результатів дозволяє зробити припущення про їх толерантність до токсичного впливу важких металів.

## ИЗМЕНЕНИЯ ЧИСЛЕННОСТИ И ВИДОВОГО СОСТАВА СООБЩЕСТВ СТРЕПТОМИЦЕТОВ В ЗАГРЯЗНЕННОЙ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ ПОЧВЕ

### Резюме

Повышенное содержание подвижных форм Cu, Fe, Cd, Zn, Ni в технозомах промплощадки рудообогатительной фабрики обуславливает снижение в 1,5–6,3 раза общей численности микроорганизмов и в 3-4 раза количества стрептомицетов. Полученные результаты подтверждаются и данными модельного опыта, согласно которым количество стрептомицетов при внесении  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}\cdot\text{Pb}(\text{OH})$  в чернозем обыкновенный уменьшается в 1,8–2,4 раз на 1 и 10 сутки при максимальной концентрации тяжелых металлов. Восстановление численности микробиоценоза чернозема обыкновенного при действии предельно допустимой концентрации смеси солей тяжелых металлов наблюдается уже на 30 сутки исследований, тогда как при действии 5 ПДК – после 90 суток, а при 15 ПДК – гомеостаз ценоза нарушается необратимо. Доминантами сообщества стрептомицетов техноземов являются *S. albocrustus*, *S. sporostellatus*, *S. sporogerbeus*, *S. aerionidulus* и *S. violobrunneus*. Влияние смеси тяжелых металлов в технозомах промплощадки приводит к снижению разнообразия стрептомицетов в сообществе.

Ключевые слова: тяжелые металлы, почва, стрептомицеты, ценоз, биоразнообразие.

V.M. Gryshko, O.V. Syshchykova

Botanical Gardens, National Academy of Sciences of Ukraine, Kryvyi Rig

## CHANGES IN QUANTITY AND SPECIES COMPOSITION OF STREPTOMYCETES ASSOCIATIONS IN SOIL POLLUTED BY HEAVY METALS

### Summary

High content of Cu, Fe, Cd, Zn, Ni mobile forms in industrial platform technozems of ore-concentrating factory causes a 1.5-6.3-fold decrease of microorganisms total quantity and 3-4 fold decrease of streptomycetes amount. The obtained results are confirmed by the model experience information, in accordance to which the streptomycetes amount decreases 1.8–2.4 times on the 1<sup>st</sup> and 10<sup>th</sup> days when  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ ,  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}\cdot\text{Pb}(\text{OH})$  are brought in chernozem at the maximal concentration of heavy metals. The renewal of common chernozem microbiocenosis quantity under the effect of maximum possible concentration of heavy metals salts (MPC) is observed already on the 30<sup>th</sup> day of research, while at 5 MPC it is observed – after 90 days, and at 15 MPC – the cenosis homeostasis is violated irreversibly. The dominants of technozems streptomycetes association are *S. albocrustus*, *S. sporostellatus*, *S. sporogerbeus*, *S. aerionidulus* and *S. violobrunneus*. The influence of heavy metals blend in the industrial platform technozem results in the decline of streptomycetes variety in the association.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: heavy metals, soil, streptomycetes, cenosis, biodiversity.

The author's address: Gryshko V.M., Botanical Gardens of NAS of Ukraine: 50 Marshak St., Kryvyi Rig, 50089, Ukraine.

1. Андріюк К.І., Іутинська Г.О., Античук А.Ф., Валагурова О.В., Козирицька В.Є., Пономаренко С.Г. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження. – К.: Обереги, 2001. – 233 с.
2. 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.
3. Галымина В.В., Москвина Н.В. Биологические свойства урбаноземов г. Перми // 11 Всерос. науч.-практ. конф. студ., аспирантов и молодых ученых “Экология: проблемы и пути решения”: Тез. докл. – Пермь, 2003. – С. 34–37.
4. Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П. Микроорганизмы тундровых и лесных подзолов Кольского Севера. – Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2001. – 184 с.



5. Звягинцев Д.Г., Добровольская Т.Г., Головченко А.В., Зенова Г.М., Смагина М.В. Структура сапротрофного комплекса микроорганизмов в торфяниках // Микробиология. – 1991. – 60, Вып. 6. – С. 155–164.
6. Инструментальные методы в почвенной микробиологии / Под общ. ред. Е.И. Андреев. – К.: Наукова думка, 1982. – 176 с.
7. Лутинська Г.О., Петруша З.В. Резистентність ґрунтових мікроорганізмів до забруднення ґрунтів важкими металами // Мікробіол. журн. – 1999. – Т. 61, № 5. – С. 72–77.
8. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биология почв Юга России. – Ростов-на-Дону: Изд-во ЦВВР, 2004. – 350 с.
9. Методические указания по определению тяжелых металлов в почвах сельхозугодий и продукции растениеводства. – М.: ЦИНАО, 1989. – 62 с.
10. Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. – М.: Мир, 1992. – 181 с.
11. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillum*, *Chainia* / Г.Ф. Гаузе, Т.П. Преображенская, М.А. Свешникова и др. М.: Наука, 1983. – 248 с.
12. Сенцова О.Ю., Максимов В.Н. Действие тяжелых металлов на микроорганизмы // Успехи микробиологии. – 1985. – Вып. 20. – С. 227–252.
13. Таширєв А.Б., Романовская В.А., Сиома И.Б., Усенко В.П., Таширєва А.А., Матвеева Н.А., Рокитко П.В., Копытов Ю.П., Серединин Е.С., Мазин Д.А., Подгорский В.С. Антарктические микроорганизмы, устойчивые к высоким концентрациям  $Hg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $CrO_4^{2-}$  // Доповіді НАН України. – 2008. – № 1. – С. 169–176.
14. Guo L., Liao B., Huang C. Microorganism's biomass carbon and enzymes activity in the testable soil treated by Cd, Cu and Zn, at treatment by an artificial acid rain // Chin J. Appl. and Environ. Biol. – 2003. – 9, N 4. – P. 382–385.
15. Ledin M., Krantz-Rulcker C., Allard B. Microorganisms as metal sorbents: comparison with other soil constituents in multi-compartment systems // Soil Biol. Biochem. – 1999. – 31, N 12. – P. 1639–1648.
16. Okur N., Basar H., Gocmez S. Connection between microbiological activity and heavy metals maintenance in the peachy planting on a Bursa plain at watering from the river Nilufer // Ege Univ. Ziraat Fak. Derg. – 2002. – 39, N 2. – P. 103–110.
17. Oyedele D.J., Obioh I.B., Adejumo J.A. Lead contamination of soils and vegetation in the vicinity of a lead smelter in Nigeria // Sci. Total Environ. – 1995. – 2-3. – P. 189–195.
18. Smejkalova M., Mikanova O., Boruvka L. Effects of heavy metal concentrations on biological activity of soil-microorganisms // Plant. Soil and Environ. – 2003. – 49, N 7. – P. 321–326.
19. Smytka A., Mroczkowska-Backer E. Influence of cadmium ions on *Streptomyces* strains // Acta microbiol. Polon. – 1991. – N 1-2. – P.51–58.

Отримано 20.03.2009

УДК 579.871:577.115.3:57.083.1

**С.М. Мороз<sup>1</sup>, Р.І. Гвоздяк<sup>1</sup>, Є.П. Черненко<sup>2</sup>, А.М. Остапчук<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна

<sup>2</sup>Національний аграрний університет,  
вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041, Україна

## **ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА ЖИРНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД КЛІТИННИХ ЛІПІДІВ *CLAVIBACTER MICHIGANENSIS* SUBSP. *MICHIGANENSIS***

Вивчали жирнокислотний склад клітинних ліпідів *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* (Стт) при різних умовах культивування. Встановили, що він знаходиться у вузькому діапазоні  $C_{14}$ – $C_{18}$  і належить до ізоантеїзового типу. Видовою ознакою Стт є постійне, незалежне від температури, тривалості культивування і складу середовища переважання насичених розгалужених жирних кислот, серед яких домінують антеїзокислоти, в основному  $\alpha$ - $C_{15}$ . Реакцію на зміну температури вироцуння бактерій, середовища та віку культури найкраще виражали величини співвідношення між окремими жирними кислотами. При цьому зміни жирнокислотного складу від віку культури та температури культивування залежать від штаму. Вироцуння бактерій на багатому середовищі порівняно з бідним збільшує в ліпідах вміст нерозгалужених і антеїзокислот.

Ключові слова: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, ліпіди, жирні кислоти, умови культивування.

© С.М. Мороз, Р.І. Гвоздяк, Є.П. Черненко, А.М. Остапчук, 2010