



МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Mikrobiologichny Zhurnal

2

ТОМ 75

2013

ISSN 0201-8462



03>



9 770201 846004

МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ ЖУРНАЛ

НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ
ЗАСНОВАНИЙ У 1934 р.
ВИХОДИТЬ ОДИН РАЗ НА ДВА МІСЯЦІ

MICROBIOLOGICHNY ZHURNAL

Том 75, № 2, березень–квітень, 2013

КИЇВ

З М І С Т

Експериментальні праці

Григорук І.Ф., Подгорский В.С. Особенности метаболизма бактерий, устойчивых к высоким концентрациям хроматов	3
Григорук Г.П., Шевчук Т.А., Антонюк С.И., Кравченко Е.Ю., Иутинская Г.А. Влияние одновалентных катионов на синтез поверхностно-активных веществ <i>Acinetobacter baumannii</i> IMB B-7241	10
Данилова О.П., Симошко Л.Ю. Мікробіологічний моніторинг ґрунту природних та трансформованих екосистем Закарпаття України	21
Дришай Р.В., Антіпов І.О., Варбанець Л.Д. Ідентифікація 16S rRNA та PagL генів <i>Ralstonia solanaceae</i>	32
Заваль О.М., Гнатюк С.О. Вплив сполук перехідних металів на активність супероксиддисмутази сірководнювловальних бактерій <i>Desulfuromonas acetoxidans</i>	37
Заваль О.М., Суслова О.С. Методи виділення екзополімерного комплексу із планктону та біопленки <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 22M	45
Заваль О.М., Балко О.И., Авдеева Л.В. Формирование биопленки штаммами <i>Pseudomonas aeruginosa</i> украинской коллекции микроорганизмов	50
Заваль О.М., Полігалактуроназна активність мікроскопічних грибів різних грифельних груп	57
Заваль О.М., Авдеева Л.В., Войчук С.И., Ярошенко Л.В. Изменчивость свойств <i>Ralstonia bataticae</i> 17/20 после длительного хранения	67
Заваль О.М., Петров В.О., Баті В.В., Левчук О.Б., Бойко Н.В. Біологічна активність відбитків, виготовлених із різних стоматологічних матеріалів	72
Заваль О.М., Мороз С.Н., Король Н.А., Файдюк Ю.В., Кушкіна А.И. Поливалентность биогрифофоров, изолированных из плодовых деревьев, пораженных бактериальным ожогом	80
Заваль О.М., Дуніч А.А., Данилова О.І., Поліщук В.П. Властивості томатних ізолятів <i>M-2</i> У-варусів картоплі в Україні	89
Ювілеї і дати	
Заваль Анатолій Леонідович. До 75-річчя з дня народження	98
Заваль на пам'яті Анатолія Яковича Циганенка	100

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

бул. Акад. Заболотного, 154, Київ ГСП, Д03680, Україна

²ДВНЗ Ужгородський національний університет.

бул. Волощина, 32, 88000, Ужгород, Україна

МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ ҐРУНТУ ПРИРОДНИХ ТА ТРАНСФОРМОВАНИХ ЕКОСИСТЕМ ЗАКАРПАТТЯ УКРАЇНИ

Проаналізовано та узагальнено результати мікробіологічних моніторингових досліджень ґрунту пралісових та антропогенно трансформованих екосистем. Показано, що чисельність представників основних еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів варіює залежно від висоти розташування лісових масивів і рівня антропогенного навантаження. Рівень біологічної активності в усіх досліджуваних трансформованих екосистемах був найнижчим у ґрунті, який безпосередньо відбирався на прилеглій до залізничної колії або автошляхів територіях. Максимальне значення біологічної активності ґрунту зафіксовано в пралісових екосистемах. Рівень фітотоксичної активності ґрунту трансформованих екосистем був у середньому втричі вищим, ніж в еталонній пралісовій екосистемі. Фітотоксичність ґрунту – інформативний показник, який доцільно використовувати при здійсненні моніторингових досліджень ґрунту з метою оцінки антропогенного впливу на екосистеми.

Ключові слова: трансформовані екосистеми, ґрунтові мікроорганізми, біологічна активність, ензиматична активність, санітарний стан, фітотоксичність ґрунту.

Ґрунт, як складова біогеоценозу, знаходиться під впливом різного за часом, інтенсивністю, масштабом антропогенного навантаження, яке, в свою чергу, порушує нормальний перебіг ґрунтових процесів, що призводить до значних змін у функціонуванні мікробного угруповання [14-16, 22]. Відомо, що кількісний та якісний склад ґрунтової мікробіоти адекватно віддзеркалює ступінь антропогенного навантаження, тому використовується як діагностичний показник при оцінці екологічного стану ґрунту трансформованих біогеоценозів [2, 3, 10, 12, 17]. В Україні близько 60 % земельного фонду складають землі сільськогосподарського призначення. Активне використання інтенсивних агротехнологій з метою одержання високих врожаїв часто призводить до надмірного забруднення ґрунту агроекосистем ксенобіотиками [23, 25, 31, 41]. Відповідно до концепції сталого розвитку агроекосистем в Україні на період до 2025 року, яка спрямована на забезпечення ідей і принципів, декларованих конференцією ООН з навколишнього середовища і розвитку (Ріо-де-Жанейро 1992 р.) та Всесвітнім самітом із збалансованого розвитку (Йоханнесбург 2002 р.), передбачено організацію науково-методичного забезпечення комплексного агроекологічного моніторингу агроекосистем України, до біотичної складової якого входить мікробіологічний моніторинг [24, 27, 33]. Мікробіологічний моніторинг – регулярна система спостережень та діагностики за станом ґрунту екосистем з використанням показників, які характеризують функціональний стан ґрунтової мікробіоти [21, 23, 26, 29].

До основних завдань мікробіологічного моніторингу входить визначення біомаси ґрунтових мікроорганізмів, дослідження особливостей функціонування різних еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів при антропогенному навантаженні, визначення спрямованості мікробіологічних процесів у ґрунті за умов антропогенного впливу, встановлення рівня біологічної та фітотоксичної активності ґрунту різних екосистем [10, 18, 23, 28, 38]. Крім того, важливим аспектом є визначення інтенсивності ферментативних реакцій, встановлення таксономічного складу ґрунтового мікробіоценозу, формулювання рекомендацій щодо покращення екологічного стану ґрунтів різних екосистем [1, 21, 42, 44, 46].

Для здійснення фонового мікробіологічного моніторингу ґрунту використовуються екосистеми, які не зазнали прямого антропогенного впливу [8, 13, 21, 32, 43].

Саме такими екосистемами є букові праліси Карпатського Біосферного заповідника, які досліджувалися як еталонні екосистеми для порівняльного аналізу мікробіологічних показників трансформованих екосистем, а саме: агроекосистем, залізничних приміагістральних екосистем, екосистем прилеглих до автошляхів.

Матеріали і методи. Матеріалом досліджень слугували зразки ґрунту відібрані в Ужгородському, Мукачівському, Берегівському, Рахівському, Міжгірському районах Закарпатської області. Дослідження проводились протягом 2007-2012 років. Ґрунтові взірці відбирали на різній відстані від автошляхів та залізничних колій, а саме 5 м, 50 м, 100 м на глибину до 25 см, методом квадратів у чотирьохкратній повторності для приготування змішаної проби. Фоновий мікробіологічний моніторинг ґрунту проводився у букових пралісах Широколужанського масиву Карпатського біосферного заповідника. Відбір проб здійснювався за загальноприйнятою методикою на різній висоті над рівнем моря, від 500 м до 1100 м.

Перелік показників, що досліджували при здійсненні мікробіологічного моніторингу [21, 23] наведено в табл. 1.

Мікробіологічні аналізи ґрунту проводились за загальноприйнятими методиками [7, 11, 19, 30, 35]. Біологічну активність ґрунту визначали методом В. Штатнова [40]. Спрямованість мікробіологічних процесів у ґрунті визначали за К. Андреюк з співав.[3] та методиками описаними В.Волкогоном із співав.[7].

Коефіцієнт мінералізації-імобілізації розраховували за формулою:

$$K_{\text{ми}} = C_{\text{КАА}}/C_{\text{МПА}}, \text{ де}$$

$C_{\text{КАА}}$, $C_{\text{МПА}}$ – кількість мікроорганізмів, що вирости на, відповідно, крохмало-аміачному та м'ясосептонному агарі.

Коефіцієнт оліготрофності розраховували за формулою:

$$K_{\text{ол}} = C_{\text{ГА}}/(C_{\text{КАА}} + C_{\text{МПА}}), \text{ де}$$

$C_{\text{ГА}}$ – кількість мікроорганізмів, що вирости на голодному агарі.

Коефіцієнт педотрофності розраховували за відношеннями кількостей мікроорганізмів на ґрунтовому агарі ($C_{\text{Гр.А}}$) до кількості мікроорганізмів, що вирости на м'ясосептонному агарі ($C_{\text{МПА}}$):

$$K_{\text{пел}} = C_{\text{Гр.А}}/C_{\text{МПА}}$$

Таблиця 1

Перелік показників що рекомендуються для визначення при проведенні мікробіологічного моніторингу ґрунтів різних екосистем

Процес, що контролюється	Показник	Процес, що контролюється	Показник
Зміна чисельності основних груп ґрунтових мікроорганізмів.	Кількість КУО на 1г. аб. сух. ґрунту.	“Дихання ґрунту”	Інтенсивність виділення CO_2 мг/кг ґрунту за добу.
Зміна біомаси ґрунтових мікроорганізмів	Вміст вуглецю мікробної біомаси мкг/г ґрунту	Азотфіксуюча активність ґрунту	Інтенсивність виділення етилену C_2H_4 мкмоль/г ґрунту за 1 добу
Накопичення фітотоксичних метаболітів ґрунтових мікроорганізмів	% інгібування ростових процесів рослин.	Фосфатазна активність ґрунту	мг P_2O_5 / 100г ґрунту за 30 хв
Зміна стійкості екосистем	Оцінка різноманітності ґрунтового угруповання за допомогою індексів Сімпсона і Шенона $D=1/\sum Pi^2$ $H=\sum Pi*\ln Pi$	Кагалазна активність ґрунту	$\text{cm}^3 \text{O}_2$ /гр ґрунту

Токсичність ґрунту відібраних зразків визначали за методикою О. Берестецького [4]. Ферментативну активність ґрунту – методом Хазієва [36-37].

Санітарну оцінку стану ґрунтів екосистем здійснювали відповідно до ГОСТу 17.4.2.01-81(за санітарно-гельмінтологічним (СГП), ентомологічним (ЕП) показниками та показником бактеріального забруднення ґрунту (ПБЗ).

Статистичну обробку експериментальних даних проводили за Доспеховим [6].

Результати та їх обговорення. На території Карпатського біосферного заповідника збереглися пралісові екосистеми, що мають особливу цінність. Дослідження мікрофлори ґрунту букових пралісів, які є сенсибільними реагентами на вплив зовнішніх чинників та індикаторами стану екосистеми і сукцесійних процесів, що в ній відбуваються, є надзвичайно актуальним [32,39]. Нами показано, що співвідношення різних еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів змінюється залежно від висоти розташування біотопу над рівнем моря. Так, чисельність амоніфікаторів зі збільшенням висоти зменшувалась, мінімальним вмістом органіотрофів 1,22 млн. (колонієутворюючих одиниць на 1 гр абсолютно сухого ґрунту) характеризувався ґрунт, відібраний на висоті 1100 метрів над рівнем моря (табл. 2).

Таблиця 2

Чисельність різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів у ґрунті букових пралісів

№ варіанту	Висота н. р. моря, м	Чисельність ґрунтових мікроорганізмів (КУО на 1 гр аб. сухого ґрунту)					%
		Мікроміцети, *10 ³	Амоніфікатори *10 ⁶	Оліготрофи *10 ⁶	Педотрофи *10 ⁶	Бактерії, що асимілюють мінеральний азот *10 ⁶	
1	500	17	7,07	2,33	1,68	4,32	80
2	600	20	4,30	2,61	1,88	3,64	68
3	700	20	3,46	2,87	2,00	3,22	60
4	800	21	2,93	3,24	2,26	3,14	58
5	900	25	1,66	3,70	2,96	2,18	54
6	1000	26	1,30	3,80	3,12	1,96	50
7	1100	28	1,22	3,94	3,65	1,83	41
НІР ₀₅	-	0,32	0,54	0,41	0,18	0,32	0,67

Примітка: середні значення за роки досліджень

Як видно з табл. 2, на висоті 500 метрів вміст амоніфікаторів був в шість разів вищим і складав 7,07 млн. КУО /гр аб.с.гр., що свідчить про значне збагачення ґрунту органічною речовиною рослинного походження. Відповідна тенденція змін чисельності спостерігалась у випадку з бактеріями, що використовують для свого живлення мінеральний азот. Максимальна чисельність цих мікроорганізмів у ґрунті спостерігалась на висоті 500 метрів над рівнем моря і становила 4,32 млн. КУО /гр аб.с.гр.

У найвищій точці відбору (1100 м) їх чисельність була в 2,82 рази нижчою. Що стосується мікроміцетів, то слід зазначити, що коливання їх чисельності не було таким значним, як бактеріальної флори, але в едафотобах, розташованих в межах 500 –800 метрів, їх біорізноманітність була вищою, ніж в інших точках відбору проб.

Вміст мікроскопічних грибів у ґрунті пралісових екосистем варіював у межах 17–28 тис. КУО /гр аб.с.гр. Чисельність оліготрофної та педотрофної мікрофлори зі збільшенням висоти над рівнем моря збільшувалась, що вказує на зменшення по-

живних речовин, які необхідні для життєдіяльності ґрунтового мікробіоценозу, оскільки оліготрофна і педотрофна мікрофлора інтенсивно розвиваються на збіднених ґрунтах, що обумовлено їх трофічною специфічністю та відсутністю конкуренції (табл. 2).

Для того, щоб оцінити спрямованість мікробіологічних процесів у ґрунті букових пралісів, здійснювався розрахунок коефіцієнтів оліготрофності, педотрофності та коефіцієнту мінералізації-іммобілізації (табл. 3).

Таблиця 3

**Спрямованість мікробіологічних процесів у ґрунті
букових пралісів**

№ варіанту	Висота н.р. моря, м	Коефіцієнт оліготрофності	Коефіцієнт педотрофності	Коефіцієнт мінералізації-іммобілізації
1	500	0.20	0.23	0.60
2	600	0.31	0.44	0.84
3	700	0.37	0.57	0.93
4	800	0.50	0.77	1.07
5	900	0.94	1.80	1.31
6	1000	1.18	2.40	1.50
7	1100	1.29	3.00	1.50

Як видно з табл. 3, показники оліготрофності та педотрофності ґрунту зростали зі збільшенням висоти і свого максимального значення сягали на висоті 1100 метрів та становили відповідно 1.29 та 3.00. Підвищення показника педотрофності свідчить про збільшення інтенсивності розкладу органічної речовини ґрунту, зокрема гумусових сполук, а збільшення оліготрофності ґрунту вказує на зниження вмісту у ґрунті поживних речовин. Мінімальними ці показники були на висоті 500 метрів над рівнем моря і становили: коефіцієнт оліготрофності – 0.20, коефіцієнт педотрофності – 0.23, що в 6,4 разів та в 13 разів менше порівняно з максимальними значеннями цих показників у досліджуваній екосистемі. Напруженість мінералізаційних процесів у ґрунті теж збільшувалась пропорційно висоті розташування досліджуваного едафотопу і максимального значення сягала на рівні 1100 м, коефіцієнт мінералізації – іммобілізації складав 1,50, що в 2,5 рази вище, ніж в едафотопі на висоті 500 м. Сукцесійно-динамічні зміни мікробного угруповання ґрунту пов'язані в першу чергу з впливом на біоценоз абіотичних чинників, таких як температура та вологість.

Перебудова функціональної структури мікробного ценозу ґрунту, обумовлена впливом екзогенних чинників, що підтверджується не тільки зміною чисельності певних еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів, але й спрямованістю мікробіологічних процесів у ґрунті пралісових екосистем.

Мікробіологічний моніторинг ґрунту примагістральних екосистем показав (табл. 4), що ґрунт досліджуваних екосистем характеризувався значним підвищенням оліготрофної мікрофлори, мікроміцетів, спороутворювальної мікрофлори, натомість вміст азотфіксувальної мікрофлори складав лише 14 %. Вміст амоніфікаторів по мірі віддалення від залізниці від 5 до 100 метрів збільшувався в середньому втричі, мікроорганізмів, здатних асимілювати мінеральний азот та азотфіксувальної мікрофлори – вдвічі, що свідчить про перебудову мікробного ценозу ґрунту та вказує на наявність алохтонної мікрофлори. Це обумовлено не тільки фізичним та хімічним забрудненням, але й надходженням біогенних контамінантів, що в цілому ініціює створення екологічно несприятливих умов та погіршення санітарного стану педосфери в примагістральних екосистемах (табл. 4).

Таблиця 4

Чисельність різних еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів у залізничних приміагістральних екосистемах

№	Відстань від залізниці, м	Чисельність ґрунтових мікроорганізмів (КУО на 1 гр аб. сухого ґрунту)					%
		Амоніфікатори, *10 ⁶	Мікроміцети, *10 ³	Мікроби здатні асимілювати мінер.ф. азоту, *10 ⁶	Спороутворювальні бактерії, *10 ⁶	Оліготрофи, *10 ⁶	
1	0	0.80	64	0.79	2.58	4.41	14
2	50	1.68	40	0.96	1.89	3.22	18
3	100	2.42	32	1.31	1.13	2.95	26
4	50 (о.п.)	1.97	29	1.38	1.24	2.64	20
5	100 (о.п.)	2.46	25	1.56	1.15	2.86	44
НІР ₀₅	-	0.42	0.34	0.44	0.13	0.28	0.56

Примітка: середні значення за роки досліджень: (о.п.-озима пшениця)

Подібним співвідношенням еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів характеризувався ґрунт, відібраний поблизу автошляхів, на відстані 5 метрів від дороги. В досліджуваному ґрунті домінували оліготрофи та спороутворювальні бактерії, вміст азотфіксаторів складав 19 %, по мірі віддалення від автошляхів збільшувалася вміст органотрофів та відсоток *Azotobacter*, на відстані 100 метрів від дороги відсоток вмісту азотфіксувальної мікрофлори зріс у 2,7 рази, знизилася чисельність оліготрофів, мікроміцетів, натомість збільшилася у 2,8 рази чисельність амоніфікаторів (табл. 5).

Дослідження ґрунту, відібраного в прилеглий до автошляху агроекосистемі, де культивувалася кукурудза, показали, що зміни в мікробному угрупованні по мірі віддалення едафотопу від автомагістралі відбувалися більш динамічно, що обумовлено наявністю антропогенних дотацій.

Таблиця 5

Чисельність різних еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів в екосистемах прилеглих до автошляхів

№	Відстань від автодороги, м	Чисельність ґрунтових мікроорганізмів (КУО на 1 гр аб. сухого ґрунту)					%
		Амоніфікатори, *10 ⁶	Мікроміцети, *10 ³	Мікроби здатні асимілювати мінер.ф. азоту, *10 ⁶	Спороутворювальні бактерії, *10 ⁶	Оліготрофи, *10 ⁶	
1	5	3.88	103	1.24	3.17	3.78	19
2	50	5.67	80	1.67	2.87	2.93	26
3	100	11.02	62	1.95	2.31	2.22	52
4	50 (к)	6.06	44	2.21	2.07	2.03	39
5	100 (к)	16.51	28	2.66	1.89	1.24	63
НІР ₀₅	-	0.66	0.56	0.33	0.48	0.32	0.33

Примітка: середні значення за роки досліджень: (к-кукурудза)

Токсичні речовини, що утворюються мікроорганізмами, надходять в рослини безпосередньо з ґрунту, при цьому вони концентруються головним чином в надземних органах, і майже не спостерігаються в коренях рослин. Фітотоксини ґрунтових мікроорганізмів викликають істотні зміни в хімічному складі рослин, порушують

обмін речовин в них (впливають на азотний та вуглеводневий обмін), пригнічують проростання насіння, ріст паростків, розвиток рослин та знижують урожай [4, 5, 34]. Токсичні форми мікроорганізмів зустрічаються у всіх типах ґрунтів. Серед бактерій це, найчастіше, представники родів *Bacillus* та *Pseudomonas*; серед мікроміцетів – *Penicillium*, *Fusarium*; серед стрептоміцетів – *Streptomyces aurantiacus*, *S. viridans*, *S. griseus*.

Фітотоксини, які утворюють ґрунтові мікроорганізми, відносяться до різних груп хімічних сполук. Серед них зустрічаються азотовмісні та кисневмісні гетероциклічні сполуки, речовини ациклічної та ароматичної будови, похідні фенолів, хінонів, а також терпеноїди та інші [20, 45].

Для проявлення фітотоксичної дії більше значення має токсикоутворювальна активність штамів і їх інгібуюча здатність, ніж їх накопичення в ґрунті у великих кількостях.

Ґрунт, відібраний у пралісовій екосистемі, характеризувався досить низьким рівнем фітотоксичної активності – 16,71-17,43 % (табл. 6). Натомість, антропогенно трансформовані екосистеми характеризувались досить високим рівнем фітотоксичної активності, в середньому втричі вищим, ніж фоновий рівень.

Таблиця 6

Фітотоксична активність ґрунту досліджуваних екосистем

Екосистема прилегла до залізниці			Екосистема прилегла до автомагістралі			Пралісова екосистема		
№	Відстань від залізниці, м	ФА, %	№	Відстань від автомагістралі, м	ФА, %	№	Висота над рівнем моря, м	ФА, %
1	5	80,10± 1,32	1	5	70,43± 1,22	1	500	16,71± 1,04
2	50	61,23± 1,21	2	50	56,33± 1,24	2	800	17,22± 1,03
3	100	50,32± 1,24	3	100	44,49± 1,26	3	1000	17,43± 1,06
4	50 (о.п)	43,18± 1,11	4	50 (к)	38,35± 1,16	-	-	-
5	100 (о.п)	34,32± 1,05	5	100 (к)	30,62± 1,27	-	-	-

Примітка: середні значення за роки досліджень; (к-кукурудза; о. п. - озима пшениця)

Фітотоксична активність найвищою була у ґрунті, відібраному з приміагістральної екосистеми на відстані 5 м від залізничної дороги. Фітотоксичність складала 80,10 %. Далі від залізниці фітотоксична активність ґрунту поступово знижувалась і на відстані 100 м становила 50,32 %. Подібна закономірність спостерігалась і в інших досліджуваних приміагістральних екосистемах. Слід зазначити, що фітотоксична активність ґрунту в агроекосистемах була в середньому на 20 % нижчою, порівняно з лучними екосистемами. Фітотоксичність ґрунту в екосистемах, прилеглих до автошляхів, була теж досить високою, на відстані 5 метрів від дороги становила 70,43%. В агроекосистемі, де культивувалась кукурудза, рівень фітотоксичної активності в середньому на 15 % був нижчим, ніж в лучній досліджуваній екосистемі. Однак, агробіогеоценози з кукурудзою та озимою пшеницею характеризувались досить високим рівнем фітотоксичної активності порівняно з природною екосистемою, в середньому фітотоксичність ґрунту цих агроекосистем була в 2,5 рази вищою, що свідчить про формування екологічно несприятливих умов для функціонування ґрунтових мікроорганізмів, за яких активно починають розвиватись мікроорганізми з широкою екологічною валентністю, що здатні продукувати екзаметаболіти фітотоксичної дії.

Діяльність ґрунтових мікроорганізмів визначає родючість ґрунтів, їх екологічний та фітосанітарний стан. Крім того, ґрунтові мікроорганізми є високочутливими індикаторами, які миттєво реагують на наявність в екосистемах контамінантів, що віддзеркалюється на показниках біологічної активності ґрунту, зокрема фермента-

тивній активності та інтенсивності виділення вуглекислого газу з поверхні ґрунту. Результати досліджень біологічної активності ґрунту за інтенсивністю виділення вуглекислого газу представлені в табл. 7.

Високим рівнем біологічної активності ґрунту характеризувались пралісові екосистеми, інтенсивність виділення вуглекислого газу в яких коливалась в межах 88-80 мг CO₂/кг ґрунту/добу, що свідчить про сприятливі екологічні умови для функціонування ґрунтових мікроорганізмів. В трансформованих екосистемах, які зазнають перманентного антропогенного впливу інтенсивність виділення вуглекислого газу з ґрунту була в середньому втричі нижча, ніж в природних екосистемах. Для комплексного аналізу біологічної активності ґрунту як інтегрального показника функціонального стану угруповання мікроорганізмів визначались каталазна та інвертазна активність ґрунту.

Таблиця 7

Біологічна активність ґрунту досліджуваних екосистем

Екосистема прилегла до залізниці			Екосистема прилегла до автомагістралі			Пралісова екосистема		
№	Відстань від залізниці, м	(мг CO ₂ /кг. ґрунту/добу)	№	Відстань від автомагістралі, м	(мг CO ₂ /кг. ґрунту/добу)	№	Висота над рівнем моря, м	(мг CO ₂ /кг. ґрунту/добу)
1	5	23,24± 1,21	1	5	30,47± 1,26	1	500	88,65± 1,24
2	50	31,25± 1,44	2	50	36,39± 1,03	2	800	84,25± 1,77
3	100	42,32± 1,47	3	100	49,69± 1,56	3	1000	80,44± 1,76
4	50 (о.п)	47,13± 1,51	4	50 (к)	58,37± 1,36	-	-	-
5	100 (о.п)	54,55± 1,25	5	100 (к)	63,64± 1,47	-	-	-

Примітка: середні значення за роки досліджень: (к-кукурудза; о.п - озима пшениця)

У функціонуванні ґрунтових екосистем ферменти, що накопичуються у ґрунті в процесі життєдіяльності живих організмів, відіграють важливу роль. Завдяки біокаталітичним процесам за участю різних ферментів, ґрунти здійснюють свої найважливіші біогеоценологічні функції, такі як гумусово-енергетичні, трофічні, санітарно-відновлювальні тощо [36, 37]. Активність ґрунтових ферментів може використовуватись як додатковий діагностичний показник ґрунтової родючості. Одним із важливих ферментів класу оксидоредуктаз є каталаза. Її активність пов'язана із розкладом токсичного для живих організмів перекису водню. З ферментів класу гідролаз найбільш інформативним показником, який відображає каталіз гідролітичного розкладу вуглецевмістних речовин ароматичного ряду з перетворенням їх у гумусні сполуки, є інвертаза [9,13].

Результати досліджень каталазної активності ґрунту (табл. 8) показали, що її рівень залежить від антропогенного навантаження, а в агроекосистемах ще й від виду рослин що культивуються. Пралісові екосистеми характеризувались досить високим рівнем каталазної активності, який в середньому складав 6,06 см³O₂ гр ґрунту. Найбільш повільно розклад перекису водню проходив в едафотопях, розташованих в безпосередній близькості до автошляхів та залізної дороги, рівень каталазної активності коливався в межах 1,33-2,11 см³O₂ гр ґрунту. Розкладання вуглецевмістних речовин ароматичного ряду з подальшим перетворенням їх у гумусні сполуки активно проходив в пралісових екосистемах. Рівень інвертазної активності ґрунту в них був максимальним і становив у найнижчій точці відбору проб 26,34 мг глюкози гр ґрунту (табл. 9).

Каталазна активність ґрунту досліджуваних екосистем

Екосистема прилегла до залізниці			Екосистема прилегла до автомагістралі			Пралісова екосистема		
№	Відстань від залізниці, м	см ³ O ₂ /гр ґрунту	№	Відстань від автомагістралі, м	см ³ O ₂ /гр ґрунту	№	Висота над рівнем моря, м	см ³ O ₂ /гр ґрунту
1	5	1.33± 0.20	1	5	1.89± 0.35	1	500	6.34± 0.23
2	50	1.45± 0.45	2	50	1.98± 0.31	2	800	5.97± 0.76
3	100	1.98± 0.44	3	100	2.11± 0.116	3	1000	5.88± 0.31
4	50 (о.п)	1.73± 0.52	4	50 (к)	2.43± 0.36	-	-	-
5	100 (о.п)	2.33± 0.24	5	100 (к)	2.78± 0.32	-	-	-

Примітка: середні значення за роки досліджень: (к-кукурудза; о. п - озима пшениця)

Таблиця 9

Інвертна активність ґрунту досліджуваних екосистем

Екосистема прилегла до залізниці			Екосистема прилегла до автомагістралі			Пралісова екосистема		
№	Відстань від залізниці, м	мг глюкози /гр ґрунту	№	Відстань від автомагістралі, м	мг глюкози /гр ґрунту	№	Висота над рівнем моря, м	мг глюкози /гр ґрунту
1	5	4.12± 1.23	1	5	6.09± 1.87	1	500	26.34± 1.26
2	50	5.67± 1.44	2	50	7.88± 1.67	2	800	24.90± 1.44
3	100	7.34± 1.12	3	100	8.93± 1.16	3	1000	23.18± 1.38
4	50 (о.п)	9.02± 1.17	4	50 (к)	10.22± 1.66	-	-	-
5	100 (о.п)	12.04± 0.98	5	100 (к)	13.70± 1.22	-	-	-

Примітка: середні значення за роки досліджень: (к-кукурудза; о. п - озима пшениця)

Оцінку санітарного стану ґрунтів сільськогосподарських угідь, які знаходяться поблизу автошляхів та залізничної колії, здійснювали відповідно до ГОСТу 17.4.2.01-81. Результати досліджень наведено у табл. 10.

Таблиця 10

Санітарний стан досліджуваних екосистем

Екосистема прилегла до залізниці				Екосистема прилегла до автомагістралі				Пралісова екосистема			
Відстань від з.п., м	ЕП	СГП	ПБЗ	Відстань від автомагістралі, м	ЕП	СГП	ПБЗ	Висота над р.м., м	ЕП	СГП	ПБЗ
50 (о.п)	34	54	1×10 ⁻⁶	50 (к)	19	24	1×10 ⁻⁶	500	0	1	-
100 (о.п)	32	75	1×10 ⁻⁷	100 (к)	13	20	1×10 ⁻⁶	1000	0	0	-

Примітка: (к-кукурудза; о. п - озима пшениця)

Нами встановлено, що ґрунт, відібраний з агроекосистеми, де вирощувалась озима пшениця на відстані 50 м. та 100 м. від залізниці, за ентомологічним показником, санітарно-гельмінтологічним та показником бактеріального забруднення характеризувався як сильно забруднений. Ґрунтові взірці, відібрані у посівах кукурудзи, характеризувались меншим вмістом яєць гельмінтів, в 1 кг. ґрунту їх нараховувалось 24 та 20 відповідно. Чисельність личинок та лялечок мух в 0,25м² поверхні ґрунту була вдвічі нижчою, ніж в ґрунтових взірцях, відібраних з посівів озимої пшениці. Однак, слід зазначити, титр кишкової палички був досить низьким, це свідчить про значне бактеріальне забруднення ґрунту. Для порівняння результатів досліджень ґрунту, відібраного з агроекосистем, нами досліджувався ґрунт, відібраний у пралісовій екосистемі. Останній за санітарними показниками характеризувався як чистий, що

обумовлено відсутністю прямого антропогенного впливу. Оцінка санітарного стану прилеглих до автошляхів та залізниці агроєкосистем вказує на їх незадовільний екологічний стан, тому ці території не бажано використовувати для одержання первинної сільськогосподарської продукції.

Отже, чисельність представників основних еколого-трофічних груп ґрунтових мікроорганізмів варіює залежно від висоти розташування лісових масивів і рівня антропогенного навантаження. Зі збільшенням висоти кількість амоніфікаторів та бактерій, що використовують мінеральний азот зменшується, а чисельність оліготрофів та педотрофів поступово зростає. Рівень біологічної активності в усіх досліджуваних трансформованих екосистемах був найнижчим у ґрунті, який безпосередньо відбирався на прилеглих до залізничної колії або автошляхів територіях. Максимального значення показник біологічної активності ґрунту в досліджуваних екосистемах сягав на відстані 100 м, де в середньому інтенсивність виділення вуглекислого газу з ґрунту збільшувалась на 42 %. Максимальне значення біологічної активності ґрунту зафіксовано в пралісових екосистемах. Рівень фітотоксичної активності ґрунту трансформованих екосистем був у середньому втричі вищим, ніж в еталонній пралісовій екосистемі.

Оцінка санітарного стану ґрунтів прилеглих до залізниці та автошляхів агроєкосистем свідчить про те, що вони знаходяться в незадовільному стані і непридатні для повноцінного сільськогосподарського використання. Ґрунт під агрокультурами характеризувався як забруднений та сильно забруднений. Мікробіологічні моніторингові дослідження ґрунту трансформованих екосистем показали, що ведення сільськогосподарських робіт з метою одержання первинної продукції рекомендується здійснювати на відстані не менше, ніж 100 м від автодоріг та залізничної колії.

Рівень фітотоксичної активності ґрунту трансформованих екосистем був в середньому втричі вищим, ніж в еталонній пралісовій екосистемі. Таке явище обумовлено наявністю у ґрунті політантів, фітотоксичних екзометаболітів мікробного походження, це підтверджується сукцесійними змінами в угрупованні ґрунтових мікроорганізмів. Фітотоксичність ґрунту – інформативний показник, який доцільно використовувати при здійсненні моніторингових досліджень ґрунту з метою оцінки антропогенного впливу на екосистеми.

В.Ф. Патыка¹, Л.Ю. Симочко²

¹ *Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев*

² *ГБУЗ «Ужгородский национальный университет», Украина*

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПОЧВЫ ПРИРОДНЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ЭКОСИСТЕМ ЗАКАРПАТЬЯ УКРАИНЫ

Резюме

Проанализированы и обобщены результаты микробиологических мониторинговых исследований почвы пралесовых и антропогенно трансформированных экосистем. Показано, что численность представителей основных эколого-трофических групп почвенных микроорганизмов варьирует в зависимости от высоты расположения лесных массивов и уровня антропогенной загрузки. Уровень биологической активности во всех исследованных трансформированных экосистемах был самым низким в почве, которая отбиралась непосредственно на прилегающей к железной дороге и автомагистрали территории. Максимальное значение биологической активности почвы зафиксировано в пралесовых экосистемах. Уровень фитотоксической активности почвы трансформированных экосистем был в три раза выше, чем в еталонной пралесовой экосистеме. Фитотоксичность почвы – информативный показатель, который целесообразно использовать при осуществлении мониторинговых исследований почвы с целью оценки антропогенного влияния на экосистемы.

Ключевые слова: трансформированные экосистемы, почвенные микроорганизмы, биологическая активность, ферментативная активность, санитарное состояние, фитотоксичность почвы.

SOIL MICROBIOLOGICAL MONITORING OF NATURAL AND TRANSFORMED ECOSYSTEMS IN THE TRANSCARPATHIAN REGION OF UKRAINE

Summary

Results of soil microbiological monitoring of virgin forests and transformed ecosystems are analyzed and generalized. It is shown, that the number of main ecological-trophic groups of soil microorganisms varies with the height of forest massive and level of anthropogenic load. The level of biological activity of all studied transformed ecosystems was the lowest in the soil of territories directly adjacent to the railroad and highway. The maximum value of soil biological activity was fixed in virgin forest ecosystems. The level of phytotoxicity of soil in the transformed ecosystems was three times higher, than in the virgin forests.

Phytotoxicity of soil is the informative indicator: it can be used for soil monitoring studies to evaluate anthropogenic impact on ecosystems.

The paper is presented in Ukrainian.

К е у в о р д s: transformed ecosystems, soil microorganisms, biological activity, enzymatic activity, sanitary condition, phytotoxicity of soil.

Т h e a u t h o r ' s a d d r e s s: Palyka V.P., Zabolotny Institute of Microbiology and Virology National Academy of Sciences of Ukraine, 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D 03680, Ukraine.

1. Андреев К.И. Методологические аспекты изучения микробных сообществ почвы // Микробные сообщества и их функционирование в почве. – Киев: Наук. думка, 1981. – С.13–23.
2. Андреев К.И., Валахурова Е.В. Основы экологии почвенных микроорганизмов. – Киев: Наук. думка, 1992. – 224 с.
3. Андреев К.И., Луцинская Г.О., Антипчук А.Ф., Валахурова В.О., Пономаренко С.П. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження. – Київ: Обереги, 2001. – 240 с.
4. Берестецкий О.А. Фитотоксины почвенных микроорганизмов и их экологическая роль // Фитотоксичные свойства почвенных микроорганизмов. – Л., 1978. – С. 7–30.
5. Виноградский С.Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы. – М.: Изд-во АН СССР, 1952. – 792 с.
6. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1985. – 351 с.
7. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: Монографія Волкогон В.В., Надкернична О.В., Токмакова Л.М., Мельничук Т.М., Чайковська Л.О. та ін. За наук. ред. В.В. Волкогона. – Київ: Аграрна наука, 2010. – 464 с.
8. Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии. – М.: Наука, 2003. – 347 с.
9. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.Т., Зенова Г.М. Биология почв. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 2005. – 448 с.
10. Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. – 235 с.
11. Инструментальные методы в почвенной микробиологии / Под. ред. Е.И. Андреев. – Киев: Наук. думка, 1982. – 176 с.
12. Луцинская Г.О. Ґрунтова мікробіологія: Навчальний посібник. – Київ: Арістей, 2006. – 284 с.
13. Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. – Ростов на Дону: Изд-во ЦВВР, 2004. – 350 с.
14. Коць С.Я., Морсун В.В., Патыка В.Ф., Даценко В.К., Кругова Е.Д., Кириченко Е.В., Мельникова Н.Н., Михалкив Л.М. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобийный симбиоз: Монография в 4-х т. – Том 1. – Киев: Логос, 2010. – 508 с.
15. Коць С.Я., Морсун В.В., Патыка В.Ф., Маличенко С.М., Маменко П.Н., Киризий Д.А., Михалкив Л.М., Береговенко С.К., Мельникова Н.Н. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобийный симбиоз: Монография в 4-х т. – Т. 2. – Киев: Логос, 2011. – 523 с.
16. Коць С.Я., Морсун В.В., Тихонович И.А., Проворов Н.А., Патыка В.Ф., Петриченко В.Ф., Мельникова Н.Н., Маменко П.Н. Биологическая фиксация азота: генетика азотфиксации, генетическая инженерия штаммов: Монография в 4-х т. – Т. 3. – Киев: Логос, 2011. – 404 с.
17. Кудеярова Е.И. Разнообразие микробных сообществ при различных антропогенных нагрузках. – Молдова, Кишинев: Высшая школа, 1999. – 273 с.
18. Марфенина О.Е. Микробиологические аспекты почв. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. – 118 с.
19. Методы почвенной микробиологии и биохимии. / Под ред. Звягинцева Д.Г. – М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1991 – 308 с.

20. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. – М.: Изд-во Моск. ун-га, 1988. – 219 с.
21. Никитина З.В. Микробиологический мониторинг наземных экосистем. – Новосибирск: Наука. Сиб.отд., 1991. – 222 с.
22. Патики В.П., Тихонович І.А., Філін'єв І.Д., Гамаюнова В.В., Андрусенко І.І. Мікроорганізми і альтернативне землеробство / За ред. В.П. Патики. – Київ: Урожай, 1993. – 176 с.
23. Патики В.П., Тараріко О.Г. Агроекологічний моніторинг та паспортизація сільськогосподарських земель. – Київ: Фітосоціоцентр, 2002. – 296 с.
24. Патики В.П. Наукова концепція сталого розвитку агросфери України // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – Полтава, 2002. – №2-3. – С.5–9
25. Патики В.П., Макаренко Н.А., Моклячук Л.І., Середа Л.П., Шкатула Ю.М., Гриник І.В. Агроекологічна оцінка мінеральних добрив та пестицидів. – Київ: Основа, 2004. – 300 с.
26. Патики В.П., Омелянець Т.Г., Гриник І.В., Петриченко В.Ф. Екологія мікроорганізмів: Посібник / За ред. В.П. Патики. – Київ: Основа, 2007. – 192 с.
27. Патики В.П., Шкатула Ю.Н., Симочко Л.Ю. Биоиндикация и биотестирование в системе органического земледелия // Збірник наукових праць Уманського національного ун-ту садівництва. Основи біологічного рослинництва в сучасному землеробстві. – 2011. – С. 88–93.
28. Патики М.В., Танчик С.П., Колодязний О.Ю., Іванюк М.Ф., Круглов Ю.В., Мельничук М.Д., Патики Т.І. Формування біорізноманіття та філотипові структури суббактеріального комплексу чорнозему типового при вирощуванні пшениці озимої // Доповіді НАН України. – К.: 2012. – №11. – С.163-171
29. Петриченко В.Ф., Тихонович І.А., Коць С.Я., Патики М.В., Мельничук Т.М., Патики В.П. Сільськогосподарська мікробіологія і збалансований розвиток агроєкосистем // Вісник аграрної науки. – 2012. – №8. – С. 5–11.
30. Сеги Й. Методы почвенной микробиологии / под. ред. Г.С. Муромцева; пер. с венг. И.Ф. Куренного. – М.: Колос, 1983. – 296 с.
31. Симочко Л.Ю., Симочко В.В. Інтегрованість мікробного ценозу ґрунту при антропогенному навантаженні // Наукові записки державного природознавчого музею. – 2007. – Вип. 23. – С. 111–118.
32. Симочко Л.Ю., Цикун Т.В., Симочко В.В. Показники оліготрофності та педотрофності ґрунту пралісів Широколужанського масиву Карпатського біосферного заповідника // Науковий Вісник Ужгородського ун-ту. Серія Біологія. – 2008. – № 24. – С. 91–95.
33. Сьмочко Л. Ю. Биоиндикация природных и антропогенных экосистем с помощью почвенных микроорганизмов. // Матеріали міжнародної наукової конференції “Шевченківська весна 2012: біологічні науки”. – 19-23 березня 2012 року. – Київ, 2012. – С.296–297.
34. Степанов А.М. Биоиндикация на уровне экосистем // Биоиндикация и биомониторинг. – М.: Наука, 1991. – С. 59–64.
35. Тептер Е.З., Шильникова В.К., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии / Под. ред. В.К. Шильниковой. – 6-е изд. – М.: Дрофа, 2005. – 256 с.
36. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии М.: Наука, 1990. – 189с.
37. Хазиев Ф.Х. Роль ферментативной активности в осуществлении почвой экологических функций // Тезисы докладов международной научной конференции “Экология и биология почв” – Ростов-на Дону, 2005. – С. 514–515.
38. Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве. – М.: ГЕОС, 2007. – 138 с.
39. Чернявський М.В. Ліси України та збереження їхнього біологічного розмаїття. Охорона пралісів України. // Конвенція про біологічне розмаїття: громадська обізнаність і участь. – К., Стило, 1997. – С. 75-89.
40. Штатнов В.И. К методике определения биологической активности почвы // Доклады ВАС-ХНИЛ. – 1952. – Вып. 6. – С. 27–33.
41. Badreiner M.R., Talak V.B. Structure and organization of soil microorganisms in different ecological systems // Biofutur. – 1998. – N 180. – P. 19–22.
42. Cerna B., Elhottova D., Santruckova H. Functional groups of soil microbial community // International Symposium on Structure and Function of Soil Microbiota. – 2003. – P. 3–6.
43. Debeljak M. Coarse woody debris in virgin and managed forest // Ecological Indicators. – 2006. – 6. Iss. 4. – P. 733–742.
44. Gregory E., Antony V., Nowak G. Managing Soil Microorganisms to Improve Productivity of Agro-Ecosystems // Plant Science. – March 2004. – Iss. 2. – P. 175–193.
45. Lynch J.M. Promotion and inhibition of soils aggregate stabilization by microorganisms // J. Gen. Microbiol. – 1981. – N 126. – P. 371–373.
46. Tate R.L. Soil microbial diversity research: whither to now? // Soil Sci. – 1997. – 162, N 9. – P. 605–606.

Отримано 15.10.2012