

УДК 631.4

**ВЛИЯНИЕ ФОРМАЛЬДЕГИДА НА ДИНАМИКУ ЧИСЛЕННОСТИ
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ
НА ПРИМЕРЕ ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО**

**INFLUENCE OF FORMALDEHYDE ON THE NUMBER DYNAMICS
OF PHYSIOLOGICAL CLUSTERS
OF SOIL MICROORGANISMS ON THE PATTERN OF LIXIVIATED HUMUS**

Н. А. Ильина, Н. А. Казакова, Т. В. Фуфаева

N. A. Ilyina, N. A. Kazakova, T. V. Fufaeva

*ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный педагогический университет
имени И. Н. Ульянова», г. Ульяновск*

Аннотация. Изучено влияние различных доз формальдегида на динамику численности почвенных микроорганизмов чернозема выщелоченного.

Abstract. The influence of different formaldehyde doses on the number dynamics of soil microorganisms of lixiviated humus has been investigated.

Ключевые слова: *формальдегид, почвенные микроорганизмы, чернозем.*

Keywords: *formaldehyde, soil microorganisms, humus.*

Актуальность исследуемой проблемы. В настоящее время накоплен значительный объем информации о применении биохимических и биологических методов для оценки экологического состояния почв, об изменении состава микробного сообщества и связанной с ним активности ферментов, сравнительной оценке чувствительности [2]. Показано существенное влияние высоких доз химических веществ на видовой состав и численность микробиоты [3]. Микроорганизмы почв обладают высокой чувствительностью к антропогенному воздействию.

Признаком биологической деградации почвы является снижение жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, о котором можно судить по уменьшению объема активной микробной биомассы, а также по более распространенному, но менее точному показателю – дыханию почвы.

Целью исследования является изучение численности гетеротрофных бактерий, актиномицетов и плесневых грибов в пробах загрязненных почв.

Материал и методика исследований. В работе были использованы физико-химические и микробиологические методы исследований. Отбор почвы проводили в соответствии с ГОСТ 28168-89. Формальдегид определяли согласно методике СанПиН 42-128-4433-87.

Определение динамики численности почвенных микроорганизмов чернозема выщелоченного необходимо для выявления адаптивной способности аборигенных микроор-

ганизмов к загрязнителю и определения физиологических групп, устойчивых к высоким концентрациям токсиканта. Анализируя динамику численности, определяют длительность токсического эффекта действия на микробиоту и величину максимальной депрессии микроорганизмов.

Численность микроорганизмов в почве, содержащей различные концентрации загрязнителя, определяли методом последовательных разведений почвенной суспензии на 5-е и 30-е сутки [1]. Для этого брали по 1 г контрольных и опытных образцов почв и вносили в колбы со 100 мл физиологического раствора. Полученную взвесь тщательно взбалтывали в течение 15–20 минут. После осаждения крупных частиц почвы из колб отбирали по 1 мл взвеси для разведений, которые готовили в четырех стерильных пробирках с 9 мл физиологического раствора.

Плесневые грибы выявляли поверхностным методом, высевая 0,1 мл почвенной суспензии из разведения 10^{-2} на агаризованную среду Чапека-Докса. Актиномицеты выделяли так же, как и грибы, поверхностным методом, высевая 0,1 мл из разведения 10^{-3} на среду Красильникова № 1. Гетеротрофные бактерии выявляли глубинным методом посева 1 мл суспензии из разведения 10^{-5} на ГРМ-агар. Культивирование посевов осуществляли в термостате при 25 °С в течение 2 суток при выделении гетеротрофных бактерий, 5–7 суток – при выделении актиномицетов и плесневых грибов. После инкубации посевов проводили количественный учет выросших колоний и определяли количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 г почвы. Динамику численности микроорганизмов в почве с ксенобиоти́ком отражали в процентах по отношению к контролю. После 4-го пассажа в новую питательную среду из культуральной жидкости с накопительной культурой производили высев в чашки Петри с элективной твердой агаризованной средой М9 + формальдегид и отбирали изолированные колонии. Определение систематического положения отобранных штаммов проводится в соответствии с определителем бактерий Берги [4] по настоящее время.

Статистическую обработку данных проводили с помощью встроенного статистического пакета Excel (MSOffice 2007). Повторяемость всех экспериментов трехкратная.

Результаты исследований и их обсуждение. Исследования проб загрязненных почв были направлены на изучение численности гетеротрофных бактерий, актиномицетов и плесневых грибов, так как именно эти группы обеспечивают самоочищающую способность почвы и участвуют в почвообразовательных процессах.

При взаимодействии формальдегида с плесневыми грибами отмечено стимулирующее влияние максимальных концентраций. Данные по влиянию различных доз формальдегида на численность плесневых грибов в почве приведены на рис. 1. Внесение 100 и 1000 доз предельно допустимой концентрации (ПДК) увеличивало количество грибов на 10–30 %, а в почве, содержащей 10 доз ПДК, в первые дни численность грибов уменьшилась. На 30-е сутки отмечено снижение содержания грибов во всех пробах почвы с формальдегидом, причем в основном грибов родов *Mucor* и *Penicillium*. Видимо, образующиеся продукты разложения препарата обладали токсическим действием на грибы.

Анализ динамики численности актиномицетов при внесении различных доз формальдегида показал ингибирующее действие на их размножение. Данные по влиянию различных доз формальдегида на численность актиномицетов в почве приведены на рис. 2. В течение 30 суток отмечено непрерывное снижение количества актиномицетов в пробах с формальдегидом. К 30-му дню численность актиномицетов во всех пробах почвы уменьшилась до 90–97 %, что означает, что формальдегид негативно действует на их размножение.

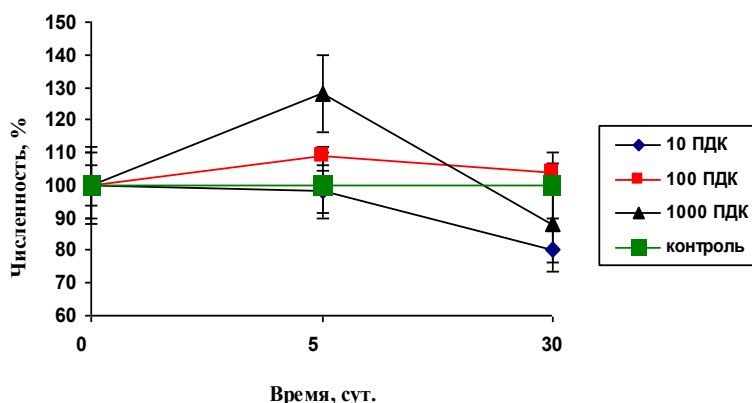


Рис. 1. Влияние различных доз формальдегида на численность плесневых грибов в почве

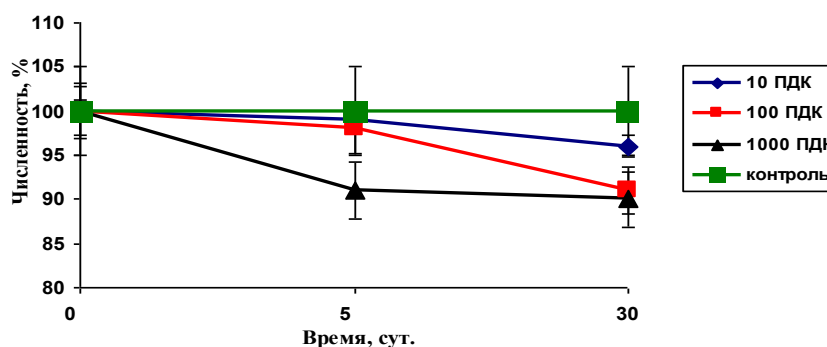


Рис. 2. Влияние различных доз формальдегида на численность актиномицетов в почве

На рис. 3 показано влияние формальдегида на численность гетеротрофных бактерий. Установлено, что в течение 30 суток происходило увеличение содержания гетеротрофных бактерий в почве, содержащей формальдегид. Причем внесение в почву концентрации 10 ПДК не сразу отразилось на размножении бактерий. В почве с максимальными дозами (100 и 1000 мг/кг) уже на пятые сутки количество бактерий на 10 и 45 % превышало контрольные значения. К 30-му дню численность гетеротрофов во всех пробах почвы увеличилась до 147–154 %. Так, действие формальдегида выразалось в непрерывном стимулировании процесса размножения бактерий, увеличение числа которых на 30-е сутки превысило содержание их в контроле в 1,5 раза.

После 4-го пассажа в новую питательную среду из культуральной жидкости с накопительной культурой производили высев в чашки Петри с элективной твердой агаризованной средой М9 + формальдегид и отбирали изолированные колонии. Таким образом удалось получить 2 изолята, устойчивых к формальдегиду в концентрации 50 мг/л, которые были исследованы на способность к деструкции в условиях непрерывного культивирования в аэробных условиях на минеральной среде М9.

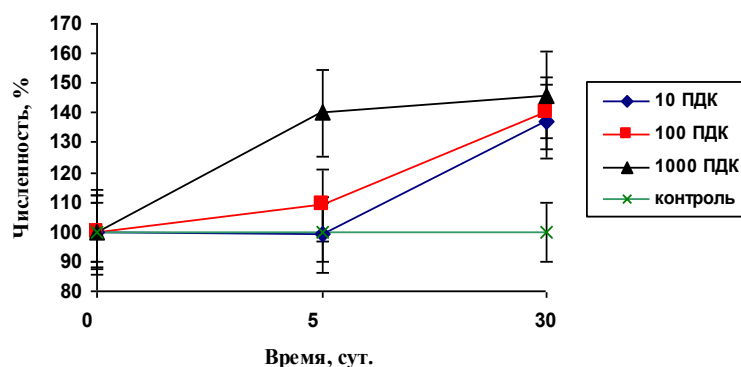


Рис. 3. Влияние различных доз формальдегида на численность гетеротрофных бактерий в почве

Выделенные 2 штамма бактерий были обозначены шифрами Фд 1 и Фд 2 (рис. 4). При микроскопическом изучении видов бактерий установлено, что это тонкие грамотрицательные палочки; на агаре Хоттингера рН 7,6 через 24 часа инкубации при температуре плюс 28 °С вырастают матовые, бугристые, с фестончатым краем колонии, дающие цветочный запах. Происходит равномерное помутнение бульона, и образуется белая пленка на поверхности. Штаммы подвижны. Физиолого-биохимические признаки: аэроб растет при температуре 5–42 °С, оптимум роста 28–37 °С. Оптимальный рН сред колеблется в пределах 7,0–7,6.

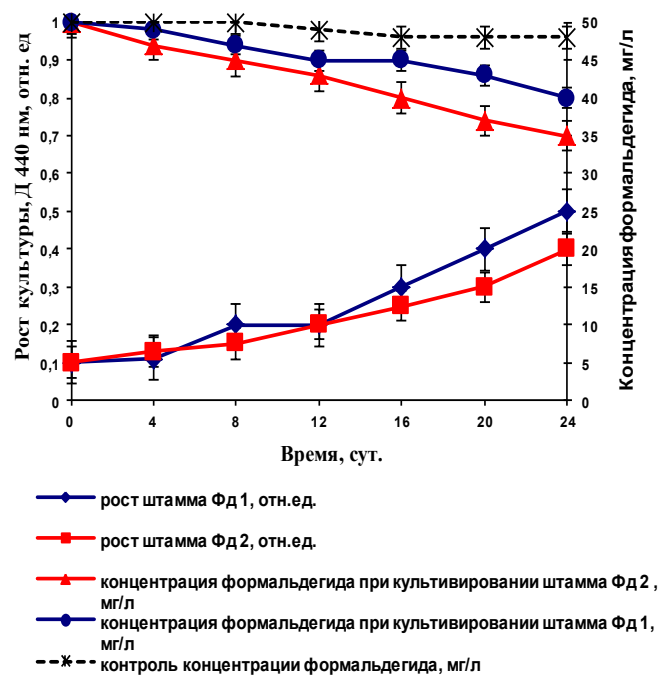


Рис. 4. Изменение концентрации формальдегида при росте штаммов деструкторов Фд 1 и Фд 2

Определение систематического положения отобранных штаммов до сих пор проводится в соответствии с определителем бактерий Берги [4].

Деструкцию наблюдали в условиях непрерывного культивирования штаммов в колбах Эрленмейера со 100 мл жидкой среды М9, в которую вносили формальдегид в качестве единственного источника углерода и энергии в концентрациях 50 мг/л. Инкубацию культуры проводили при плюс 28 °С в течение 4 суток в условиях аэрации в шейкер-инкубаторе при частоте вращения платформы 50–70 оборотов/минуту.

Результаты исследования показали, что после 48 часов инкубирования штаммы Фд 1 и Фд 2 разрушают 10 мг/л и 15 мг/л формальдегида. Изменение концентрации формальдегида при росте штаммов деструкторов Фд 1 и Фд 2 показано на рис. 4.

Резюме. Исследование изменений видового состава некоторых групп почвенных микроорганизмов чернозема выщелоченного под влиянием формальдегида показало, что этот фактор вызывает изменения в комплексе почвенных микроорганизмов. Это выражается в снижении видового богатства и разнообразия, увеличении доли толерантных к загрязнению микроорганизмов.

Предлагаемые микробиально-биологические и биохимические показатели можно использовать при диагностике техногенно нарушенных почв.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Егоров, Н. С.* Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Н. С. Егорова. – М. : МГУ, 1983. – 215 с.
2. *Казакова, Н. А.* Микробный ценоз почв как индикатор трансформации почвенного покрова / Н. А. Казакова, Н. А. Ильина // Международный научно-исследовательский журнал. – 2013. – № 6 (13). – С. 30–31.
3. *Стефурак, В. П.* Влияние техногенного загрязнения на численность и состав микробных сообществ почв / В. П. Стефурак. – Киев : Наукова думка, 1982. – 230 с.
4. *Хоулт, Дж.* Определитель бактерий Берджи : в 2 т. Т. 1 / Дж. Хоулт, Н. Криг ; под редакцией акад. РАН Г. А. Заварзина. – 9-е изд. – М. : Мир, 1997. – 430 с.