

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА МУЛЬТИСУБСТРАТНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ
ПРИ ОЦЕНКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ
ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТЫХ ПОЧВ ТЕРРИТОРИЙ, ПРИЛЕГАЮЩИХ
К ПРЕДПРИЯТИЮ ПО ПРОИЗВОДСТВУ СТРОИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ
THE USE OF THE METHOD MULTISUBSTRATE TESTING WHEN ASSESSING
THE ECOLOGICAL STATUS OF MICROBIAL COMMUNITIES
IN A SODDY-PODZOLIC SOILS OF AREAS ADJACENT TO THE PLANT
FOR THE PRODUCTION OF BUILDING MATERIALS**

Е. А. Самусик
E. Samusik

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
e.samusik@mail.ru
Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus*

Состояние почвенных микробных сообществ может служить индикатором благополучия почвенных экосистем. Нами было проведено комплексное исследование почвенных микробных сообществ, а также рассмотрена возможность применения мультисубстратного тестирования (МСТ) для оценки функциональной активности почвенных микробных сообществ, подверженных аэротехногенному загрязнению предприятием по производству строительных материалов. Выявлены существенные отличия микробных сообществ лесных и сельскохозяйственных земель. Оценка широты спектра и эффективности потребления почвенными микроорганизмами таких субстратов, как сахара, многоатомные спирты, аминокислоты, полимеры и аминокислоты показала существенные отличия микробных сообществ лесных и сельскохозяйственных земель, находящихся на разном расстоянии от источника техногенных выбросов.

The state of soil microbial communities can serve as an indicator of the well-being of soil ecosystems. We carried out a complex research of soil microbial communities, as well as the possibility of applying multisubstrate testing (MST) for assessing the functional activity of soil microbial communities exposed to aerial technogenic pollution of the enterprise on production of construction materials. Essential differences of microbial communities of forest and agricultural lands are revealed. Assessment of the spectrum latitude and efficiency of soil microorganisms consumption of such substrates as sugars, polyatomic alcohols, amino acids, polymers and amino acids showed significant differences in microbial communities of forest and agricultural lands located at different distances from the source of anthropogenic emissions.

Ключевые слова: почва, мультисубстратное тестирование, микробные сообщества, функциональная активность.

Keywords: soil, multisubstrate test, microbial community, functional activity.

Почвенное микробное сообщество – наиболее мобильный блок почвенной биоты, активно реагирующий на любые изменения экологических условий как природного, так и техногенного характера [1].

Биологическая активность почв определяется во многом жизнедеятельностью населяющих их микроорганизмов. Традиционные методы биологического мониторинга обычно связаны с выявлением структурных изменений микробного сообщества, включая поиск индикаторных популяций и анализ динамики численности отдельных представителей сообщества. Такой подход используется, в частности, при мониторинге микробных сообществ почвенных экосистем, подверженных техногенному загрязнению. Однако в этом случае не выявляются функциональные изменения микробного сообщества в целом, а сами методы анализа, связанные с выделением и определением чистых культур и количественными учетами, весьма трудоемки и далеко не всегда приемлемы с точки зрения воспроизводимости, чувствительности и экспрессности. Между тем именно функциональные характеристики определяют степень устойчивости микробного комплекса к такому загрязнению.

В последние годы широкое применение получил метод мультисубстратного тестирования (МСТ) с индикацией интенсивности потребления микроорганизмами различных источников углерода по изменению окраски соли тетразолия, который был предложен и модифицирован М. В. Горленко и П. А. Кожевиным на кафедре биологии почвы Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова в 1994 г. для изучения почвенных микробных сообществ в программной системе «ЭкоЛог», включающая планшеты с 48 ячейками со стандартным набором углеводов, амидов, аминокислот, карбоновых кислот, нуклеозидов и некоторых полимеров [2].

Цель исследования – оценка возможности применения метода мультисубстратного тестирования для характеристики функционального разнообразия микробных сообществ почв, находящихся под воздействием техногенного загрязнения, в градиенте.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- Апробация метода МСТ, применительно к почвам, прилегающих к территории цементного завода.
- Исследование микробных сообществ почвенных экосистем методом МСТ для оценки экологического состояния почв в зоне влияния цементного производства (на примере ОАО «Красносельскстройматериалы»).

Нами были исследованы образцы верхнего горизонта почв (0-20 см) лесных и сельскохозяйственных земель, отобранные на пробных площадках, расположенных на удалении 1,0 км, 1,5 км, 3,5 км и 6,0 (8,0) км в юго-восточном направлении по преобладающей розе ветров от источника загрязнения.

Мультисубстратное тестирование выполняли в соответствии со стандартной методикой [3]. При проведении анализа оценивали спектры потребления субстратов (СПС) микробными сообществами. В работе использовали стандартные 96-луночные планшеты с 18 источниками органического углерода (сахара, спирты, полимеры, соли органических кислот, аминокислоты). Планшеты инкубировали в термостате в течение 3-х суток при температуре 28–30 °С до появления визуально регистрируемой окраски ячеек. Изменение окраски субстратов вызвано развитием микроорганизмов, способных потреблять тест-субстрат, содержащийся в ячейке планшета, и восстанавливать бесцветный трифенилтетразолий в бордово-красный формазан. После окончания инкубации осуществляли фотометрическое считывание оптической плотности ячеек при длине волны 510 нм.

В результате использования МСТ нами были получены функциональные портреты микробных комплексов почвенных образцов. Наиболее популярный индекс разнообразия, используемый для обработки данных – индекс Симпсона (С) [4], а также сопутствующий ему показатель выравненности (Е) [5]. Однако существует проблема применения большинства из них к данным МСТ, так как измеряемые значения оптической плотности – это не целые числа, и к ним нельзя применять методы анализа целых значений. Данные индексы были рассчитаны в программе PAST v3.17. По результатам таких расчетов нам не удалось выявить четкие различия ($r < 0,3$ при $p < 0,05$) в богатстве функционального разнообразия почвенных комплексов сельскохозяйственных и лесных земель в градиенте расстояния от источника загрязнения.

Оценка широты спектра и эффективности потребления почвенными микроорганизмами таких субстратов как сахара, многоатомные спирты, аминокислоты, полимеры и аминокислоты показала существенные отличия микробных сообществ лесных и сельскохозяйственных земель. Нами было выявлено, что микробное сообщество почв земель сельскохозяйственного назначения потенциально способно реализовать большее число трофических функциональных возможностей по сравнению с микробным сообществом почв лесных земель вблизи источника техногенного загрязнения, трофические функции которого усечены до потребления легкодоступных источников энергии (сахаров, аминокислот). Так, корреляционным анализом подтверждена достоверная последовательная тенденция снижения показателей по мере приближения к источнику загрязнения для почв лесных земель, что напротив не характерно для интенсивно обрабатываемых почв полей сельскохозяйственного назначения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горленко, М. В. Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ / М. В. Горленко, П. А. Кожевин. – М.: МАКС Пресс, 2005. – 88 с.
2. Горленко, М. В. Дифференциация почвенных микробных сообществ с помощью мультисубстратного тестирования / М. В. Горленко, П. А. Кожевин // Микробиология. – 1994. – Т. 63, вып. 2. – С. 289–293.
3. Методика выполнения измерений интенсивности потребления тест-субстратов микробными сообществами почв и почвоподобных объектов фотометрическим методом : ФР.1.37.2010.08619., ПНД Ф Т 16.1.17-10. – М., 2010.
4. Preston–Mafham, J. Analysis of microbial community functional diversity using solecarbon-source utilisation profiles – a critique / J. Preston–Mafham, L. Boddy, P. F. Randerson // FEMS Microbiol. Ecol. – 2002. – Vol. 42, No. 1. – P. 1–14.
5. Magurran, A. E. Ecological diversity and its measurement / A. E. Magurran. – Sydney: Croom Helm, 1988. – 179 p.