

## Микробиологический статус почв в зоне действия Кирово-Чепецкого химического комбината

© 2012. Е. С. Горностаева<sup>1</sup>, аспирант, С. С. Злобин<sup>2</sup>, аспирант,  
Е. С. Сунцова<sup>2</sup>, аспирант, Т. С. Елькина<sup>1</sup>, аспирант,  
Л. И. Домрачева<sup>1,3</sup>, д.б.н., профессор, в.н.с.,

Т. Я. Ашихмина<sup>2,3</sup>, д.т.н., зав. кафедрой, зав. лабораторией,

<sup>1</sup>Вятская государственная сельскохозяйственная академия,

<sup>2</sup>Вятский государственный гуманитарный университет,

<sup>3</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,  
e-mail: ecolab2@gmail.com

В работе приведены результаты химического, радиологического, бактериологического, микологического и альгологического анализа почв в зоне действия Кирово-Чепецкого химического комбината. Результаты микробиологического анализа почвенных образцов и биотестирование почвенной вытяжки на основе цианобактерий выявили наиболее токсичные для микробиоты участки.

The results of chemical, radiological, bacteriological, mycological and algological soil analysis in the area of the Kirov-Chepetsk chemical plant are presented. Microbiological analysis of soil samples and biological testing of soil extract on the basis of cyanobacteria have identified the areas which are the most toxic to microbiota.

Ключевые слова: почва, химическое и радиологическое загрязнение, микромицеты, бактерии, водоросли, цианобактерии

Keywords: soil, chemical and radiological contamination, micromycetes, bacteria, algae, cyanobacteria

В последние годы всё отчётливее становится понимание, что здоровая почва является необходимым условием жизни человека. В то же время не снижаются темпы деградации почвы, вызванные эрозией, дегумификацией, загрязнением поллютантами, к числу которых относятся тяжёлые металлы, радионуклиды, токсичные канцерогенные соединения, остатки пестицидов и другие опасные вещества, а также заселение почвы токсигенными и фитопатогенными микробами [1]. Давно известно, что почвенные микроорганизмы активно реагируют на присутствие в среде многих поллютантов и, в частности, тяжёлых металлов (ТМ). В результате действия ТМ на микробные клетки, а также на микробные сообщества в целом, происходят существенные изменения в протекании физиолого-биохимических процессов, структуре, видовом разнообразии, количественном обилии почвенной микробиоты [2–5]. В качестве оценочных критериев степени загрязнения почвы ТМ выбирают показатели, обладающие различной степенью чувствительности. Например, к их числу относятся методы биотестирования и биоиндикации с использованием показателей общего микробного обилия, отдельных функциональных групп,

перераспределение членов инициированных сообществ, снижение уровня азотфиксации, сокращение видового богатства и разнообразия микробных комплексов и т.д.

Загрязнение почвы ТМ может происходить как в случае разовых и случайных попаданий, так и при систематическом пополнении почвы данными загрязняющими веществами вследствие того, что импактные территории располагаются в зоне действия химических, металлургических, горнодобывающих предприятий.

Цель данной работы – оценка микробиологического состояния почв в зоне действия Кирово-Чепецкого химического комбината.

Для решения поставленной цели решались следующие задачи:

- химический и радиохимический анализ почвенных образцов;
- количественный учёт почвенной сапротрофной микрофлоры;
- определение количественного и группового состава альгофлоры;
- выявление структуры популяции комплексов микромицетов;
- биотестирование уровня токсичности почвы с помощью цианобактерий.

## Объекты и методы

Исследования были проведены с образцами почв, отобранных с точек мониторинга на территории Кирово-Чепецкого химического комбината (КЧХК), расположенного в Кировской области, который более полувека является одним из крупнейших промышленных предприятий и источников техногенного воздействия на окружающую среду. Данный завод относится к химически опасным предприятиям, в связи с чем окружающая среда на территории вблизи комбината за десятилетия его производственной деятельности подвергалась воздействию широкого спектра загрязнителей, в том числе ТМ и техногенными радионуклидами [6]. К приоритетным загрязнителям относятся такие металлы как свинец, никель, цинк, кадмий, медь, из радионуклидов – цезий-137 и стронций-90.

Почвенные образцы верхнего горизонта (0–5 см) отбирались в июле 2011 г. с 8-ми пробных площадок (рис. 1). Точки отбора расположены вдоль русла р. Елховка – 904, 906, 907, 918, пойменного оз. Просное – П-13, вблизи шламонакопителя – 913 и на пойме р. Вятка – 920, 921. Все почвы гидроморфные, относятся к аллювиальному типу и характеризуются различной степенью нарушенности. Загрязнение данной территории происходит в результате изменения гидрологического режима во время половодья, когда территория зоны техногенного влияния КЧХК затопляется и происходит интенсивное вымывание поллютантов.

Содержание ТМ в почве определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) [7] на базе экоаналитической лаборатории ВятГГУ.

Радиационные исследования почвенных образцов проводили на спектрометрическом комплексе для измерения активности бета-

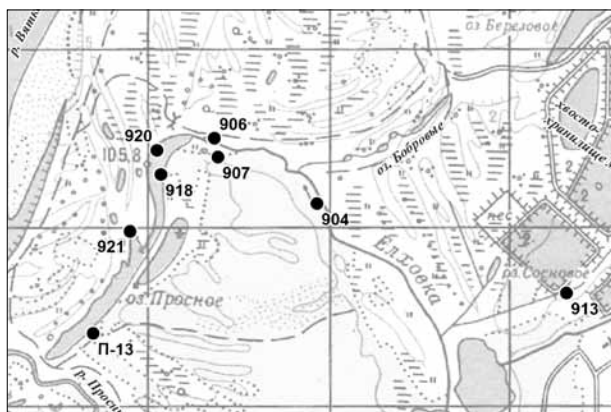


Рис. 1. Схема точек отбора исследуемой территории КЧХК

гамма – излучающих нуклидов «Прогресс». Методика основана на регистрации спектров гамма-бета-излучения испускаемого веществом исследуемого объекта с последующей их обработкой на ПК с использованием программного пакета ПРОГРЕСС.

Численность сапротрофной микрофлоры определяли путём посева почвенной суспензии на селективные питательные среды: мясопептонный агар (аммонификаторы), Эшби (азотфиксаторы), глюкозо-аммонийную среду (актиномицеты), Чапека (микробицеты), крахмало-аммиачный агар (дрожжи).

Количественный и групповой состав водорослей определяли методом прямого микроскопирования в поверхностных альгоценозах, развитие которых инициировали увлажнением почвы. Для этого в чашки Петри с образцами почв помещали стёкла обрастания. Экспозиция опытных образцов продолжалась в течение 8 недель при температуре 22–25 °С и 12-часовом освещении до появления поверхностных разрастаний на стёклах. Структуру популяции комплексов микромицетов определяли на этих же стеклах.

Установление и сравнение уровня токсичности почвенных вытяжек определяли по жизнеспособности клеток цианобактерий (ЦБ) тетразолю-топографическим методом [8]. В данной работе использовали штамм ЦБ *Nostoc linckia* (Roth.) Born and Flah. №271 из коллекции фототрофных микроорганизмов кафедры ботаники, физиологии растений и микробиологии ВГСХА. Согласно данной методике в живых клетках бесцветный 2,3,5-трифенилтетразолий хлорид (ТТХ), акцептируя мобилизованный дегидрогеназой водород, превращается в 2,3,5-трифенилформаза, имеющий красную или малиновую окраску. Поэтому клетки с ярко-красными кристаллами формаза на внутри считают живыми, а клетки, сохраняющие сине-зелёную окраску (без кристаллов) – нежизнеспособными.

Кислотность среды (рН почвенной вытяжки) измеряли при соотношении почва:вода = 1:2,5 на рН-метре «рН-150МИ». Данный способ отличается удобством и высокой точностью и позволяет измерять в более широком диапазоне и более точно (до 0,01 единицы рН), чем при помощи индикаторов.

## Результаты и обсуждения

Результаты химического анализа показывают, что в почвах на территории КЧХК пре-

вышение показателей ПДК наблюдается по Pb, которое увеличено в 6,3; 5,8; 5,5 раз в пробах № П-13, 918, 907 соответственно. Превышение по Ni в исследуемых пробах наблюдается в 4,25 раза и составляет 17 мг/кг. Во всех остальных случаях превышение уровня ПДК более, чем в 3 раза, не обнаружено. Самые загрязнённые пробы отмечены для участков №№ 918, П-13, 97, расположенных вдоль озера Просное.

Значения удельной активности (Бк/кг) естественных и техногенных радионуклидов:  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{226}\text{Ra}$  представлены в таблице 1.

По результатам радиохимического анализа почв выявлены низкие значения удельных активностей естественных радионуклидов  $^{232}\text{Th}$  и  $^{226}\text{Ra}$ . Содержание этих радионуклидов во всех почвенных пробах колеблется незначительно:  $^{226}\text{Ra}$  в пределах от 15 Бк/кг (П-13) до 73 Бк/кг (906). Значения удельной активности радионуклида  $^{232}\text{Th}$  варьируют в пределах от 24 до 43 Бк/кг. Наибольшие значения удельной активности радионуклида  $^{137}\text{Cs}$  в почве наблюдаются в точках 913 (8129 Бк/кг) и 907 (6134 Бк/кг). Наименьшие значения этого радионуклида в точке 920. Плотность загрязнения радиоактивным изотопом  $^{90}\text{Sr}$  ниже, максимальное значение удельной активности в точке 907 (187,3 Бк/кг), минимальные значения – в точках 913 и 918.

Для оценки качества почвы большое значение имеет знание её уровня кислотности, который соответствует степени концентрации водородных ионов в почвенном растворе (рН). Так, реакция микроорганизмов на действие ТМ зависит от физико-химических свойств почвы, особенно рН, который может как по-

вышать, так и снижать степень их токсичности. Анализ показал, что кислотность на рассматриваемых почвах и грунтах – от слабокислой до почти нейтральной (рис. 2). Ранее было показано [9], что токсичность меди и никеля возрастает при низких значениях рН, вероятно, это обусловлено увеличением биологической доступности металлов.

Результаты группового микробиологического анализа почв исследуемой техногенной территории представлены на рисунке 3 и таблице 2. «Взрыв» численности аммонификаторов наблюдается в 918 пробе. Данная группа бактерий минерализует органический азот до аммиака и ионов аммония. Возможно, такое увеличение численности обусловлено наносным органическим веществом, приносимым с водами во время разлива, или какими-то другими неизвестными источниками органического азота, которые в будущем нужно выявить. Таким образом, показатели численности аммонификаторов, кроме 918 пробы, находятся в пределах 10–30 тыс. КОЕ/г, что указывает на малое содержание свежего органического вещества, доступного для данного вида микроорганизмов. Численность актиномицетов во всех пробах находится примерно на одном уровне – десятки тысяч КОЕ/г. Наиболее чувствительными группами микроорганизмов на данной территории являются микромицеты и дрожжи. Так, в пробах № 906 и 907 количество микромицетов минимально и составляет 1150 КОЕ/г и 1500 КОЕ/г соответственно, а угнетение численности дрожжей до 1400 КОЕ/г наблюдается в 906 точке. Содержание азотфиксаторов колеблется от 3400 КОЕ/г в 906 пробе до 16170 КОЕ/г в 918.

Таблица 1

Удельная активность радионуклидов в почве, Бк/кг

№ пробной площадки	$^{137}\text{Cs}$	$^{90}\text{Sr}$	$^{232}\text{Th}$	$^{226}\text{Ra}$
904	2804±292	128,0±39,4	28,9±6,2	34,6±8,4
906	5420±557	115,6±43,5	32,8±6,7	73,0±12,7
907	6134±630	187,3±42,8	41,9±7,7	31,4±8,8
913	8129±832	55,6±23,7	43,0±7,8	25,1±8,2
918	4777±493	57,1±25,9	37,6±7,2	30,7±8,3
920	1004±108	78,2±24,2	28,7±6,0	21,3±6,1
921	2291±241	143,1±49,9	39,5±8,0	24,8±8,1
П-13	1832±193	104,4±33,2	24,4±5,6	15,2±6,0

Примечание: жирным шрифтом выделена максимальная удельная активность.

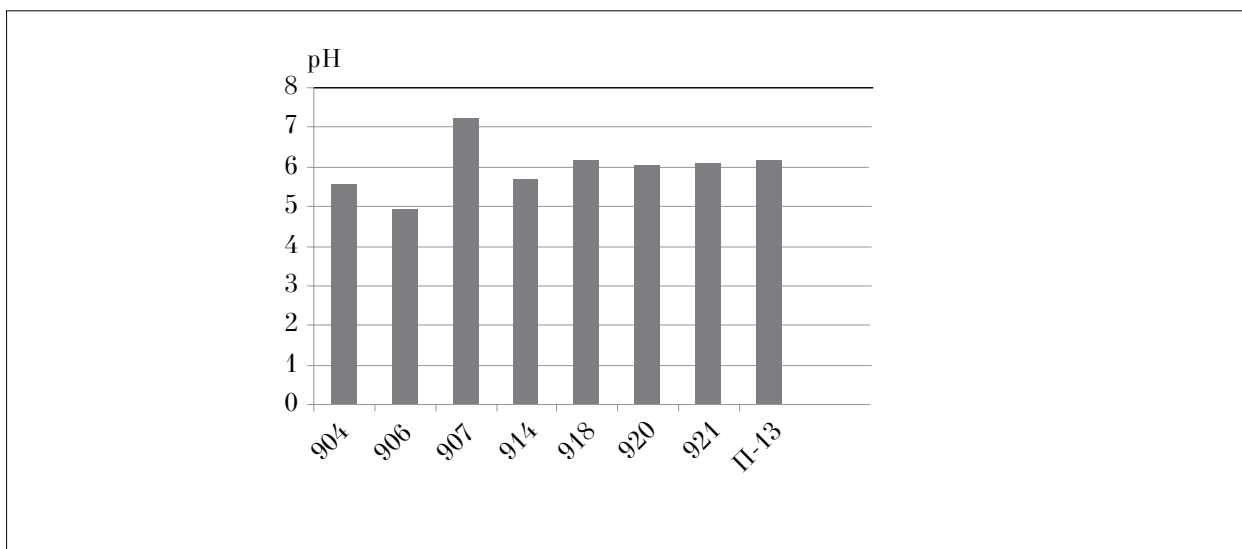


Рис. 2. Уровень кислотности почвенных образцов

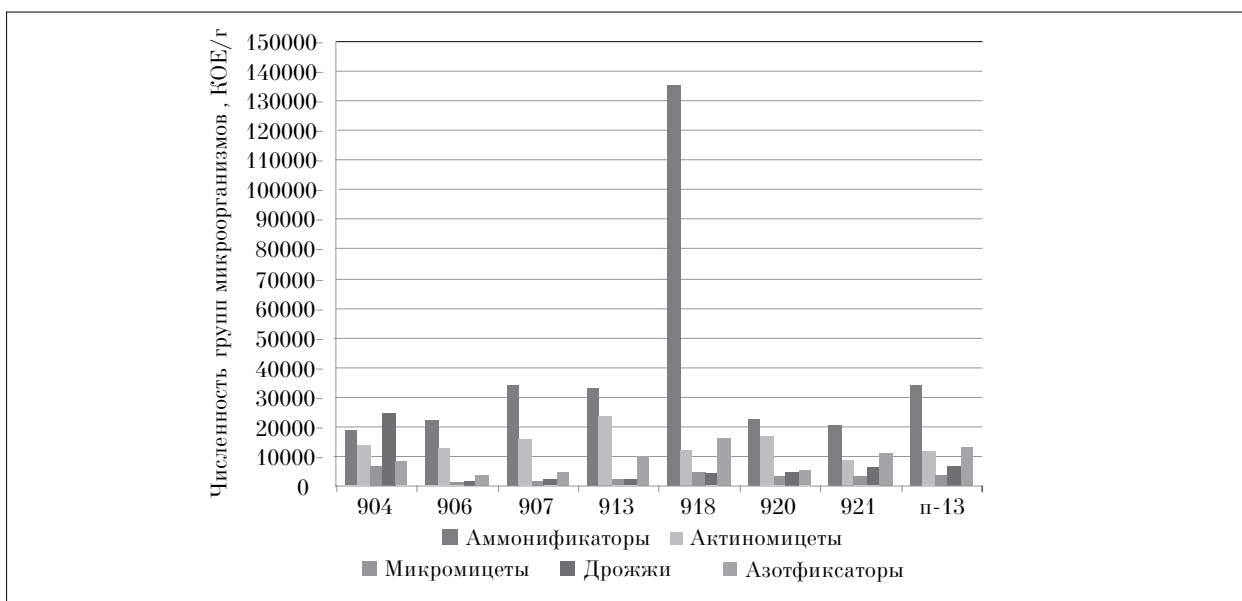


Рис. 3. Численность различных групп микроорганизмов в почвах на территории КЧХК, КОЕ/г

Таблица 2

Общее микробное число микроорганизмов в почве на территории КЧХК, КОЕ/г

№ участка	904	906	907	913	918	920	921	П-13
Численность микроорганизмов	70695	40500	57360	70400	171920	51300	48700	68200

Общее микробное число характеризуется чрезвычайно невысокими показателями, которые существенно ниже показателей численности микроорганизмов, характерных для данных типов почв незагрязнённых территорий (табл. 2).

Определение численности фототрофных микроорганизмов показало, что в их состав входят диатомовые и одноклеточные зелёные водоросли (рис. 4). Доминирующей группой среди этих микроорганизмов являются одно-

клеточные зелёные водоросли, численность которых в некоторых вариантах достигает почти 100%. В исследуемых почвенных образцах ЦБ не обнаружены, даже в следовых количествах. Диатомовые водоросли были обнаружены во всех пробах, т. к. данные почвы являются хорошо увлажнёнными, что благоприятствует развитию именно этой группы водорослей. Такая структура фототрофных комплексов, вероятно, объясняется тем, что на исследуемой территории велика концентрация до-



Рис. 4. Структура альгоценозов почв КЧХК. По оси абсцисс – номера участков

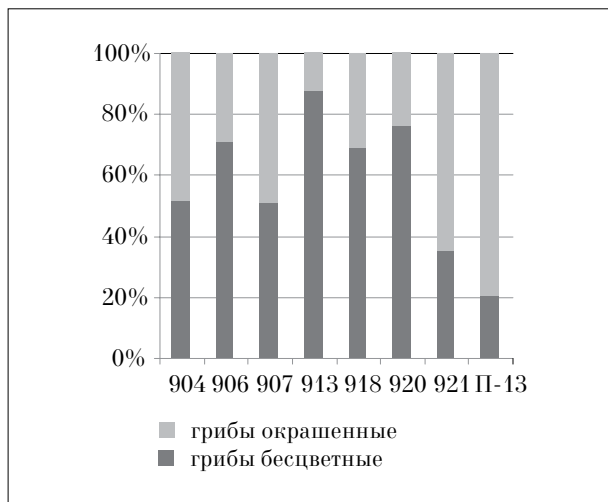


Рис. 5. Структура микокомплексов КЧХК. По оси абсцисс – номера участков

ступного азота, что приводит к стремительному размножению одноклеточных зеленых водорослей и вытеснению из структуры популяции ЦБ в целом.

Уровень химического загрязнения почвы можно определить путем проведения микологической индикации по соотношению в структуре популяции микромицетов с окрашенным и неокрашенным мицелием (рис. 5).

Анализ структуры комплексов микромицетов почвенных образцов показывает, что в шести исследуемых образцах (участки 904, 906, 907, 913, 918, 920) доминируют представители грибов с бесцветным мицелием, а в остальных – темноокрашенные формы (921, П-13). Так, максимальное число микромицетов с окрашенным мицелием наблюдается в пробе П-13 и составляет 80%. Полученные

данные по микоиндикации свидетельствует о различном уровне техногенной нагрузки на разных площадках биомониторинга.

Результаты микробиологического исследования показали, что все исследованные участки характеризуются значительной степенью экологической напряженности, о чем свидетельствует малая численность сапротрофных микроорганизмов, неравномерное развитие группировок почвенных водорослей и микромицетов, а так же рост численности темноокрашенных форм микроскопических грибов.

Биотестирование токсичности почвенных вытяжек проводили с помощью штамма ЦБ *Nostoc linckia*, который является устойчивым к поллютантам различной химической природы, в том числе и ТМ.

Определение жизнеспособности ЦБ в про-

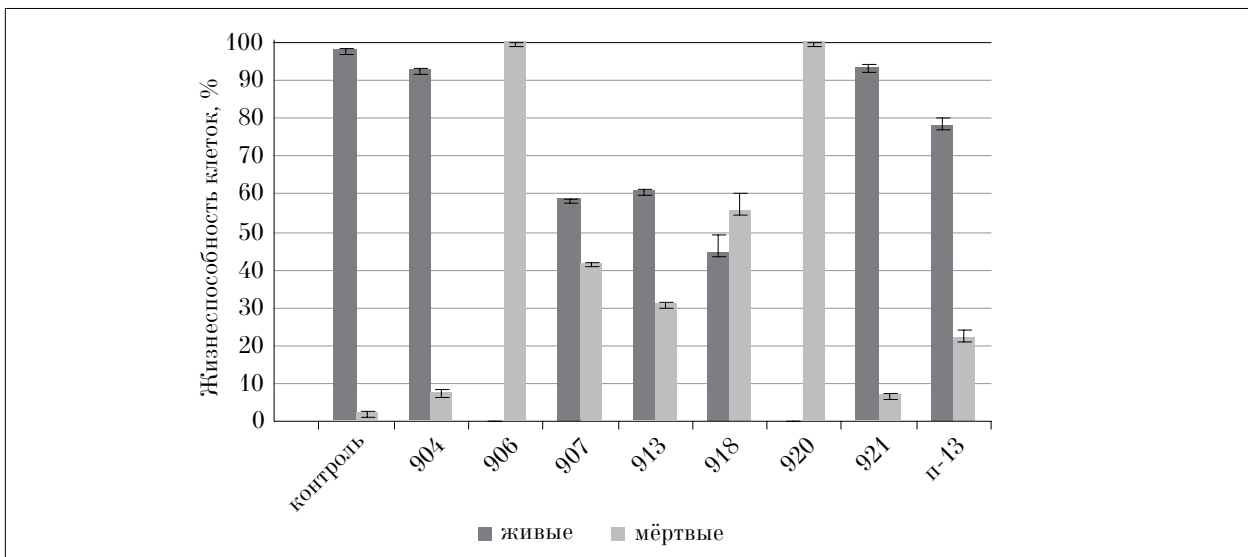


Рис. 6. Биотестирование токсичности почвенных вытяжек с помощью ЦБ *Nostoc linckia*

бах с разных техногенных территорий показало, что наибольшее число нежизнеспособных клеток, достигающее в некоторых вариантах 100%, наблюдается в пробах, отобранных на участках 904, 921, П-13 (рис.6).

### Выводы

Анализы показали, что основная радиационная нагрузка приходится на участки, расположенные в районе 3-ей секции шламонакопителя (913) и вдоль русла реки Елховки (906, 907). Наличие сравнительно высокой концентрации радионуклида цезия-137 в точке 913 объясняется, по-видимому, её расположением в непосредственной близости от шламонакопителя и хранилища РАО.

Микробиологический анализ почвенных образцов показывает, что максимальная степень развития сапротрофных микроорганизмов (свыше 170 тыс. КОЕ/г) характерна для участка № 918. На всех остальных площадках мониторинга общее микробное число колеблется в пределах от 40 до 70 тыс. КОЕ/г.

Фототрофные группировки исследуемых почв сформированы только эукариотными водорослями. При этом в структуре альгоценозов на всех участках доминирующее положение занимают одноклеточные зелёные водоросли.

Установлено, что в структуре комплекса микромицетов на 6 из 8 исследуемых участков преобладают микромицеты с неокрашенным мицелием и только на двух участках (921 и П-13) доминируют меланизированные формы грибов (до 80% в структуре микоценозов), что указывает на повышенный уровень токсичности почвы данных участков.

Биотестирование почвенных вытяжек с использованием цианобактерий показало, что высокий уровень токсичности почвы характерен для трёх участков, при этом два участ-

ка № 921 и П-13 – обнаружили также повышенную токсичность и при микологическом анализе.

*Работа выполнена в рамках конкурсного проекта на получение гранта президента РФ для государственной поддержки ведущих научных школ № (НШ 2037.2012.5)*

### Литература

1. Соколов М.С., Дородных Ю.Л., Марченко А.И. Здоровая почва как необходимое условие жизни человека // Почвоведение. 2010. № 7. С. 858–866.
2. Гапочка Л.Д. Об адаптации водорослей. М.: Изд-во МГУ, 1981. 79 с.
3. Левин С.В., Гузев В.С., Асеева И.В., Бабьева И.П., Марфенина О.Е., Умаров М.М. Тяжёлые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту // Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ, 1989. С. 9–46.
4. Фокина А.И., Домрачева Л.И., Широких И.Г., Кондакова Л.В., Огородникова С.Ю. Микробная детоксикация тяжёлых металлов (обзор) // Теор. и прикл. экология. 2008. № 1. С. 4–10.
5. Евдокимова Г.А., Переверзев В.Н., Зенкова И.В., Корнейкова М.В., Редькина В.В. Эволюция техногенных ландшафтов (на примере отходов апатитовой промышленности). Апатиты: Изд-во Кольского научного центра РАН, 2010. 146 с.
6. Скугорева С.Г., Дабах Е.В., Адамович Т.А., Кантор Г.Я., Шуктомова И.И., Ашихмина Т.Я. Изучение состояния почв на территории вблизи Кирово-Чепецкого химического комбината // Теор. и прикл. экология. 2009. № 2. С. 37–46.
7. Методика выполнения измерений массовых долей токсичных металлов в пробах почв атомно-абсорбционным методом. ФР.1.31.2007.04106. М. 13 с.
8. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я., Огородникова С.Ю., Олькова А.С., Фокина А.И. Применение тетразольно-топографического метода определения гидрогеназной активности цианобактерий в загрязнённых средах // Теор. и прикл. экология. 2008. №2. С. 23–28.