

характеризуються середньої стійкістю до солевого стресу. Виділені гібриди відрізняються від чутливих форм за характером зміни спектра пероксидази та естерази в умовах солевого стресу.

Ключові слова: пшениця, *Thinopyrum*, амфідиплоїди, солевой стресс, пероксидаза, естераза

*In a heterogeneous population of F₂ hybrids between sensitive to sodium chloride varieties of bread wheat and wheat-wheatgrass partial amphidiploids PAD 1 (*Triticum aestivum* × *Thinopyrum ponticum*) and PAD 2 (*T. aestivum* × *Th. intermedium*) hybrids are selected, which are characterized by average resistance to salt stress. Selected hybrids differ from the sensitivity forms by the character of change in the spectrum of peroxidase and esterase in the conditions of salt stress.*

Key words: wheat, *Thinopyrum*, amphidiploids, salt stress, peroxidase, esterase

Дата надходження в редакцію 26.03.2012 р.

Рецензент В.А. Власенко

Останні надходження

УДК 631.4:502.76

Т.Ф. Яковишина, к.с.-г.н., доцент

Державний вищий навчальний заклад «Придніпровська державна академія будівництва та архітектури»

ВИКОРИСТАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ, ЯК БІОІНДИКАТОРІВ ЗАБРУДНЕННЯ ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ, В СИСТЕМІ ЕКОЛОГІЧНОГО МОНІТОРИНГУ ҐРУНТІВ

Вивчено токсичну дію важких металів на основні групи мікроорганізмів, які обумовлюють ґрунтову родючість. Встановлено кореляційні залежності та рівняння регресії між сумарним показником забруднення ґрунту важкими металами, рухомими формами макроелементів та чисельністю мікроорганізмів. Запропоновано використовувати фосформобілізуючі бактерії для біоіндикації забруднення ґрунту важкими металами.

Ключові слова: важкі метали, техногенне забруднення, біоіндикатори, екологічний моніторинг, фосформобілізуючі бактерії, мікроорганізми, родючість ґрунту.

Постановка проблеми. Техногенне забруднення ґрунтів важкими металами (ВМ) проявляється не тільки локально в містах поблизу промислових підприємств переважно гірничо-металургійного та нафтохімічного комплексів, але вже й на регіональному рівні, особливо в районах, де наслідки промислової діяльності накладаються на сільськогосподарське виробництво і підсилюються інтенсивним використанням мінеральних добрив, які містять в своєму складі, як домішки, ВМ. Сучасні фізико-хімічні методи дослідження дають змогу констатувати кількість забруднювача, проте виникає потреба у визначенні екологічно значущого навантаження на ґрунт на основі реакції живих організмів-біоіндикаторів безпосередньо у зоні впливу, що, по-перше, дасть змогу ранньої діагностики стану ґрунтів, а, по-друге, забезпечить можливість оцінки родючості з подальшим прогнозуванням її змін.

Найбільш перспективними біоіндикаторами якості ґрунтового середовища є мікроорганізми, які швидко і доволі чутливо реагують на зміну складових його родючості, адже їх розвиток напряму пов'язаний з наявністю органічних та неорганічних речовин в ґрунті, крім того вони безпосередньо приймають участь у деструкції сполук природного та антропогенного походження [1].

Отже виникає потреба у використанні мікроорганізмів в якості біоіндикаторів та включенні методів біоіндикації до системи екологічного моніторингу ґрунтів для забезпечення належного контролю і збереження його родючості.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Мікроорганізмам належить важливе місце в екологічній оцінці родючості ґрунтів, приміром В.Г. Мінсєв (2001) відмічає більш динамічну реакцію мікробного угруповання, чим зміна агрохімічних показників, відповідно до антропогенного навантаження, яке спричиняють на ґрунт ВМ.

Ґрунтові мікроорганізми є невід'ємною ланкою в колообігу всіх біогенних елементів, необхідних для повноцінного живлення рослин, крім того вони безпосередньо приймають участь у ґрунтоутворенні, поліпшують родючість ґрунту [2]. Зміна складу, властивостей та кількісних співвідношень різних груп мікроорганізмів може виступати джерелом інформації для якісної екологічної оцінки стану техногенно забруднених ВМ ґрунтів стосовно їх родючості.

В якості біоіндикаторів рекомендують використовувати такі чутливі до токсичної дії ВМ мікроорганізми, як актиноміцети *Streptomyces* [3], епіфітні дріжджі *Rhodotorula rubra* [4], *Azotobacter chroococcum*, водорість *Chlorella vulgaris* [5].

Екологічні наслідки впливу забруднювачів проявляються у зменшенні загальної чисельності та видового різноманіття мікроорганізмів, збільшенні абсолютного домінування невеликої кількості видів, здебільшого грибів, як правило, не типових для нормальних умов з фітотоксичними властивостями [6].

Відома наступна чотирьох етапна концептуальна модель взаємозв'язку забруднювачів з характером функціонування ґрунтової мікробіоти:

➤ гомеостаз – характеризується низьким рівнем забруднення і, відповідно, збереженням складу і структури угруповання, при цьому загальна біомаса може трохи зростати, що пояснюється ефектом Арнд-Щульца, згідно якого акумуляція токсичних сполук в нелетальних концентраціях на поверхні клітинної оболонки змінює проникність біомембрани, порушує її бар'єрні функції і тим самим сприяє вільному надходженню катіонів і аніонів у клітину;

➤ стрес – відповідає середньому рівню забруднення, який зумовлює неспецифічну зміну угруповання при практично незмінному його складі;

➤ резистентність – високий рівень забруднення призводить до повної зміни складу угруповання і до появи популяцій мікроорганізмів стійких до забруднювачів;

➤ репресія – дуже високий рівень забруднення практично повністю пригнічує ріст і розвиток мікроорганізмів в ґрунті [3].

Висока чутливість мікроорганізмів до зовнішніх руйнівних антропогенних факторів, яка опосередковано виражається через інтенсивність виділення CO₂, дозволяє використовувати також активність мікробіоценозу, як біоіндикатор діагностики стану техногенної деградації ґрунтів. Проте при екологічному моніторингу родючості ґрунту виникає потреба у визначенні окремих груп мікроорганізмів, життєдіяльність яких пов'язана з процесами трансформації елементів мінерального живлення рослин.

Мета роботи – обґрунтування використання в якості біоіндикаторів мікроорганізмів для оцінки антропогенного впливу ВМ на родючість в системі екологічного моніторингу ґрунтів.

Об'єкт та методика досліджень. Досліджуваний ґрунт представлений чорноземом звичайним малогумусним важкосуглинковим, який сформувався на лесі під різнотравно-типчакково-ковильною рослинною асоціацією в умовах непромивного водного режиму. Агрохімічні показники чорнозему звичайного наступні: вміст гумусу (за І.В. Тюрнім) 3,5–4,0%, загального азоту 0,20–0,23%, фосфору 0,10–0,12%, валовий вміст калію 2,0–2,3%. Кількість легкогідролізованого азоту (за І.В. Тюрнім і М.М. Коновою) 10,0–11,4 мг на 100 г сухого ґрунту при можливості поповнення його доступних форм за рахунок нітрифікаційної здатності (за Кравковим) – 2,4–2,8 мг на 100 г

ґрунту. Вміст рухомих форм фосфору в орному шарі становить 8,8–9,8 мг, калію 14,3–15,4 мг у 100 г ґрунту (метод Ф.В. Чирикова). Валовий вміст мікроелементів в незабрудненому ґрунті наступний: Zn – 38,8–40,4; Mn – 473,0–484,0; Cu – 12,5–14,2; Co – 8,0–8,3; Fe – 835,0–845,0; Pb – 32,4–33,1; Cd – 0,38–0,39 мг/кг ґрунту і відповідно рухомих форм, що складають невеликий відсоток від валових: рухомого Zn – 0,96–1,20; Cu – 0,13–0,15; Co – 0,42–0,48; Mn – 57,5–63,8; Fe – 27,6–28,0; Pb – 0,05–0,10; Cd – 0,10–0,11 мг/кг. Вміст вище зазначених елементів в чорноземах, які зазнали антропогенного впливу, здебільшого коливався в межах 1,5–2,4 ГДК, проте інколи досягав і 3,6 ГДК. Тому за умов поліелементного забруднення ґрунту були згруповані за сумарним показником забруднення (СПЗ), згідно формули Саєта:

$$СПЗ = \sum_{i=1}^n K_c - (n - 1),$$

де n – число елементів, що враховуються;

K_c – коефіцієнт концентрації, який розраховували як відношення вмісту елементу в досліджуваному об'єкті до фонового його вмісту.

Реакція ґрунтового розчину близька до нейтральної (рН 6,75).

Вміст ВМ в ґрунті визначали на атомно-абсорбційному спектрофотометрі: валовий вміст після кислотної обробки ґрунту, рухомі форми у витягу ААБ (рН 4,8). Зміну агрохімічних показників родючості чорнозему звичайного в умовах забруднення ВМ вивчали за методами: амонійний азот – за Несслером колориметрично; нітратний азот – спектрофотометрично; рухомий фосфор – за Чириковим.

Біологічну активність ґрунту вивчали за методами: емісія CO₂ – за Штатновим; чисельність мікроскопічних грибів – на середовищі Чапека-Докса; бактерій, які засвоюють азот органічних сполук – на МПА; мінеральних сполук – КАА; бактерій, які мобілізують мінеральні сполуки фосфору – на середовищі Муромцева.

Коефіцієнт мінералізації органічної речовини розраховували як відношення чисельності мікроорганізмів, які ростуть на КАА до їх кількості на МПА.

Для оцінки використання мікроорганізмів, в якості біоіндикаторів, була використана наявність тісного кореляційного зв'язку між чисельністю їх окремих груп з рівнем антропогенного навантаження ВМ (СПЗ) та показниками ґрунтової родючості.

Математична обробка експериментальних даних здійснювалась методами дисперсійного, кореляційного та регресійного аналізів згідно з методиками Б.А. Доспехова (1985) та Г.Ф. Лакіна (1990) з використанням пакета Excel-2007.

Результати досліджень. Накладання наслідків промислової діяльності на сільськогосподарське виробництво призвело до утворення геохімічних аномалій радіусом до 50 км навколо крупних промислових агломерацій Дніпропетровської області, в яких вміст ВМ не тільки значно вищий за фоновий, але й перевищує норми ГДК (Г.Г.Шматков, 2011). Найбільший вклад в забруднення ґрунтів сільськогосподарських угідь давав свинець, що пов'язано з його додатковим розповсюдженням вздовж автошляхів з вихлопними газами автомобілів.

За ступенем антропогенного впливу чорноземи звичайні були розподілені на групи згідно значень СПЗ: надто слабо забруднені (СПЗ < 8), слабо забруднені (СПЗ 8-16), помірно забруднені (СПЗ 16-32). Ґрунтів з сильним (СПЗ 32-64) та надто сильним (СПЗ 64-128) ступенем забруднення ВМ, які б використовувались в сільськогосподарському виробництві, не виявлено.

Загальна біологічна активність ґрунту опосередковано відбивається через інтенсивність виділення CO₂ в процесі життєдіяльності мікроорганізмів (в першу чергу мікроскопічних грибів 2/3 від загальної кількості CO₂ і в меншій мірі – бактерій), а також дихання кореневих систем рослин (продуцентів). Базальне дихання ґрунту (інтенсивність виділення з нього CO₂) відображає кількість доступного вуглецю, необхідного для підтримання життєдіяльності мікроорганізмів. Воно пов'язано з окисленням органічних речовин до діоксиду вуглецю і води за участю кисню з виділенням енергії, яка використовується для здійснення життєвих процесів. Отже дає змогу оцінити наскільки продуктивно протікають процеси окислення – відновлення в ґрунті.

Базальне дихання ґрунту характеризує інтенсивність розкладу органічних речовин і є мірою швидкості колообігу вуглецю в ґрунті, де H₂CO₃ виконує двояку роль: по-перше, це функція загальної кількості сполук вуглецю, які надійшли в ґрунт, а, по-друге, сприяє розчиненню, і як наслідок, міграції забруднювачів.

Інтенсивність базального дихання чорнозему звичайного прямо пропорційно знижувалась відповідно до ступеня забруднення ґрунту (рис. 1), що свідчить про пригнічення мікробіологічної активності. Проте в рамках включення біоіндикаційних показників до системи екологічного моніторингу виникає питання які з груп мікроорганізмів є найбільш чутливими до забруднення ВМ, насамперед це стосується тих мікроорганізмів, які приймають безпосередню участь у трансформації елементів мінерального живлення рослин. Отже була вивчена структура мікробного біоценозу при різному ступені антропогенного навантаження ВМ на чорнозем звичайний.

Як показали результати проведеного мікробіологічного аналізу, наслідком антропогенного забруднення ВМ була зміна структури ґрунтового мікробіоценозу, а саме: збільшувалась доля мікроскопічних грибів на фоні пригнічення чисельності фосформобілізуючих бактерій, а також бактерій, які засвоюють азот мінеральних сполук (табл. 1).

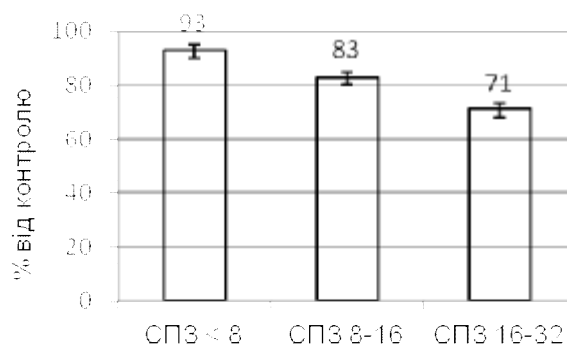


Рис. 1. Виділення CO₂

Крім того відбувалось звуження видового різноманіття асоціацій ґрунтових мікроорганізмів, особливо грибів, тобто розвивались тільки толерантні до токсичної дії ВМ види. Така висока стійкість мікроскопічних грибів до забруднення ВМ пояснювалась нейтралізуючим ефектом, який пов'язаний з виділенням в процесі їх життєдіяльності органічних кислот [7].

Коефіцієнт кореляції (0,83) свідчить про тісний зв'язок між антропогенним навантаженням, яке спричиняють на ґрунт ВМ, та чисельністю грибів. Вплив ВМ на чисельність мікроскопічних грибів задовільно описувався рівнянням регресії:

$$Г = 0,0115СПЗ^2 - 0,0955СПЗ + 12,64, R^2 = 0,86$$

де: СПЗ – сумарний показник забруднення згідно формулі Саєта;

Г – гриби на середовищі Чапека, тис/г ґрунту.

Відомо, що резистентність мікроорганізмів зумовлюється наступними типами їх взаємодії з ВМ: обмеження поглинання катіонів ВМ²⁺ з ґрунтового середовища клітинами мікроорганізмів, відкладення ВМ в нетоксичній формі всередині клітини, метилування ВМ.

Для асоціацій фосформобілізуючих та засвоюючих мінеральний азот бактерій виявлено загальну закономірність по зменшенню їх чисельності при збільшенні антропогенного навантаження ВМ на ґрунт (табл. 2), що опосередковано відбивалась через значення СПЗ і задовільно описувалась рівняннями регресії:

$$Б_{ф.м.} = 0,0021СПЗ^2 - 0,135СПЗ + 6,1367, R^2 = 0,83$$

$$Б_{а.м.} = 0,0035СПЗ^2 - 0,154СПЗ + 4,6248, R^2 = 0,93$$

де: СПЗ – сумарний показник забруднення згідно формулі Саєта;

$B_{ф.м.}$ – чисельність фосформобілізуючих бактерій, млн/г ґрунту;

$B_{а.м.}$ – чисельність бактерій, які засвоюють азот мінеральних сполук млн/г ґрунту.

Таблиця 1

Токсичний вплив ВМ на чисельність ґрунтових мікроорганізмів

Варіант	Кількість ділянок	Бактерії на середовищі, млн/г ґрунту			Коефіцієнт мінералізації (КАА/МПА)	Гриби на середовищі Чапека, тис/г ґрунту	Актиноміцети на КАА, млн/г	Обростання грудочок ґрунту азотобактером, %
		МПА	КАА	Муромцева				
Незабруднений ґрунт	4	$\frac{0,44}{\pm 0,05}$	$\frac{4,57}{\pm 0,10}$	$\frac{6,14}{\pm 0,12}$	10,38	$\frac{12,50}{\pm 0,06}$	$\frac{0,23}{\pm 0,06}$	18
Забруднений ґрунт (СПЗ < 8)	8	$\frac{0,45}{\pm 0,03}$	$\frac{3,60}{\pm 0,04}$	$\frac{5,11}{\pm 0,15}$	8,00	$\frac{12,70}{\pm 0,12}$	$\frac{0,18}{\pm 0,03}$	28
Забруднений ґрунт (СПЗ 8-16)	11	$\frac{0,47}{\pm 0,11}$	$\frac{3,38}{\pm 0,06}$	$\frac{4,96}{\pm 0,09}$	7,19	$\frac{13,34}{\pm 0,17}$	$\frac{0,24}{\pm 0,04}$	27
Забруднений ґрунт (СПЗ 16-32)	7	$\frac{0,48}{\pm 0,08}$	$\frac{2,78}{\pm 0,07}$	$\frac{4,22}{\pm 0,14}$	5,79	$\frac{14,08}{\pm 0,14}$	$\frac{0,27}{\pm 0,07}$	34
НСР _{0,95}		0,01	0,04	0,10		0,11	0,02	
P, %		0,23	0,54	0,89		0,62	0,38	

Таблиця 2

Зміна агрохімічних показників родючості чорнозему звичайного при різному рівні забруднення ВМ, мг/100 г ґрунту

Варіант	N-NH ₄	N-NO ₃	P ₂ O ₅
Незабруднений ґрунт	5,06	1,84	9,8
Забруднений ґрунт (СПЗ < 8)	5,11	1,85	9,7
Забруднений ґрунт (СПЗ 8-16)	5,16	1,88	9,3
Забруднений ґрунт (СПЗ 16-32)	5,18	1,90	9,3
НСР _{0,95}	0,02	0,03	0,1
P, %	0,32	0,48	0,61

Коефіцієнти кореляції (-0,94 і -0,95) свідчили про тісний зворотній зв'язок СПЗ з чисельністю фосформобілізуючих бактерій та бактерій, які засвоюють азот мінеральних сполук, відповідно.

Чисельність бактерій, які засвоюють азот із органічних сполук, втім як і обростання грудочок ґрунту *Azotobacter* збільшувалась.

Вивчення чисельності бактерій, пов'язаних з трансформацією органічних сполук, які містять азот, показало, що вони за рахунок лабільності ферментних систем виявились більш стійкими до токсичного впливу ВМ серед бактерій.

Зниження активності бактерій, які засвоюють азот із мінеральних сполук при високих значеннях чисельності бактерій, трансформуючих азот органічних сполук,

призводило до зменшення коефіцієнта мінералізації органічної речовини (табл. 2). Такий характер реакції-відгуку є результатом високої чутливості мікроорганізмів до стресової ситуації, яку викликає антропогенне забруднення ґрунту ВМ.

В забрудненому ВМ чорноземі звичайному вміст N-NH₄ і N-NO₃ збільшувався до 4,3 % і 3,2 % відповідно, що зумовлено витисненням катіонами ВМ²⁺ необмінно закріпленого NH₄⁺ із ГВК, підкисленням реакції ґрунтового розчину, відомо, що солі ВМ є фізіологічно кислими речовинами, та порушенням трансформації сполук, які містять азот, ґрунтовою мікробіотою (табл. 2). Будь-яких кореляційних залежностей між вмістом N-NH₄ і N-NO₃ та чисельністю мікроорганізмів встановити не вдалось.

Забруднення ґрунту ВМ сприяло зменшенню вмісту рухомого фосфору, що підсилювалось зниженням активності фосформобілізуючих бактерій. Коефіцієнт кореляції (0,86) свідчив про тісний зв'язок між чисельністю фосформобілізуючих бактерій та рухомістю фосфору.

Висновки

1. Токсична дія ВМ на мікробне угруповання чорнозему звичайного проявлялась у зниженні інтенсивності базального дихання ґрунту, порушенні процесу мінералізації органічної речовини, пригніченні чисельності фосформобілізуючих і засвоюючих мінеральний азот бактерій та, навпаки, збільшенні чисельності

мікроскопічних грибів і бактерій, які засвоюють азот органічних сполук.

2. Наявність тісного кореляційного зв'язку між чисельністю фосформобілізуючих бактерій з рівнем антропогенного навантаження ВМ, який визначали за допомогою СПЗ, та вмістом рухомого фосфору дає змогу використовувати їх

в системі екологічного моніторингу, як біоіндикатор забруднення ґрунту ВМ.

Перспективи подальших досліджень потрібно зосередити на розробці оціночної шкали рівня забруднення ґрунту ВМ залежно від активності фосформобілізуючих бактерій.

Список використаної літератури

1. Мелехова О. П. Биологический контроль окружающей среды: биоиндикация и биотестирование / О. П. Мелехова, Е. И. Егорова. – М.: Издательский центр “Академия”, 2007. – 288 с.
2. Радюкина Н. Л. Современные представления о биохимических процессах в почве / Н. Л. Радюкина, А. В. Софьин, Н. Н. Кудрявцева, Л. О. Карпачевский // Вестник Московского университета. Сер. 17. Почвоведение. – 2001. – №2. – С.13–17.
3. Звягинцев Д. Г. Экологическая роль микробных метаболитов / Д. Г.Звягинцев. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – 240 с.
4. Худяков Я. П. Периодичность микробиологических процессов в почве / Я. П.Худяков // Труды Института микробиологии АН СССР. – 1985. – №5. – С. 150.
5. Пароменская Л. Н. Альгологический метод определения фитотоксичности почв / Л. Н. Пароменская, Н. Г. Гаранькина, И. Г. Моисеева, Ю. В. Круглов // Почвоведение. – 2001. – №6. – С. 708–712.
6. Перцовская А. Ф. Изменение биологической активности дерново-подзолистой почвы различного механического состава при загрязнении тяжелыми металлами / А. Ф. Перцовская, В. П. Плугин, Н. Л. Великанов // Гигиена и санитария. – 1990. – №7. – С. 20–23.
7. Загуральская Л. М. Воздействие промышленных загрязнений на микробиологические процессы в почвах бореальных лесов района Костомукши / Л. М. Загуральская, С. С. Зяченко // Почвоведение. – 1994. – №5. – С. 105–110.

Изучено токсическое действие тяжелых металлов на основные группы микроорганизмов, которые обуславливают плодородие почвы. Определены корреляционные зависимости и уравнения регрессии между суммарным показателем загрязнения почвы тяжелыми металлами, подвижными формами макроэлементов и численностью микроорганизмов. Предложено использовать фосформобилизующие бактерии для биоиндикации загрязнения почвы тяжелыми металлами.

Ключевые слова: тяжелые металлы, техногенное загрязнение, биоиндикаторы, экологический мониторинг, фосформобилизующие бактерии, микроорганизмы, плодородие почвы.

The toxic effects of the heavy metal on the main groups of the microorganisms of the soil fertility has been studied. The correlations and regression equation were determined between the total index of the soil pollution by the heavy metals, available forms of the macroelements and the number of microorganisms. Phosphorus mobilizing bacteria has been proposed to use for the bioindication of the soil pollution by the heavy metals.

Key words: heavy metals, man-caused pollution, bio-indicators, ecological monitoring, phosphorus mobilizing bacteria, microorganisms, soil fertility.

Дата надходження в редакцію: 10.04.2012 р.

Рецензент: Е.А. Захарченко.

УДК 577.1::539.1

МІНЛИВІСТЬ КОМПОНЕНТІВ ЗАПАСНИХ БІЛКІВ НАСІННЯ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ДІЇ ГАММА-ОПРОМІНЕННЯ

Панкова О.В., здобувач

Пузік В.К., д-р с.-г. наук, професор

Головань Л.В., викладач

Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва

У статті досліджується питання впливу гамма-опромінення у різних дозах на електрофоретичний спектр запасних білків насіння та проростків пшениці. Отримані результати експерименту свідчать про високу мінливість запасних білків під впливом гамма-променів у варіанті досліду з дозою 150 Гр – в насінні, та 200 Гр – в проростках. Встановлено, що під впливом гамма-опромінення в клітинах проростків пшениці змінюється білковий обмін, зокрема, індукція нових компонентів у спектрі запасних білків насіння та проростків у малорухомій фракції легкорозчинних білків ω та γ . Помітні зміни у спектрі легкорозчинних білків під дією гамма-променів