

свойств тромбоцитов и эритроцитов / И.Н. Медведев, С.Ю. Завалишина, Е.Г. Краснова, Н.В. Кутафина // *Фундаментальные исследования*. - 2014. - № 10-1. - С. 117-120.

3. Шокур, О.А. Влияние каррагинанов на агрегацию тромбоцитов *in vitro* / О.А. Шокур, Е.В. Хожаенко, Н.Ю. Рукина, А.Б. Простакишина // *Тихоокеанский медицинский журнал*. - 2013. - № 2. - С. 25-28.

4. Белушкина, Н.Н. Рецепторы тромбоцитов – мишень для антиагрегационной терапии / Н.Н. Белушкина, О.Г. Дегтярева, А.А. Махлай // *Молекулярная медицина*. - 2011. - № 3. - С. 10–17.

5. Теория и средства апитерапии: Монография / В.Н. Крылов, А.В. Агафонов, Н.И. Кривцов, В.И. Лебедев. - М.: Комильфо-2007. - 296 с.

6. Орлов, Б.Н. Прополис и воск – пчелам и человеку. Монография / Б.Н. Орлов, Н.В. Корнева. - Н.Новгород: Изд. Ю.А. Николаева, 2001. – 192 с.

7. Омаров, Ш.М. Клиническое приме-

нение маточного молочка / Ш.М. Омаров, Б.Н. Орлов, З.Ш. Магомедова, З.М. Омарова // *Пчеловодство*. - 2011. - № 8. - С. 58-60.

8. Самаль, А.Б. Агрегация тромбоцитов: методы изучения и механизмы: Монография / А.Б. Самаль, С.Н. Черенкевич, Н.Ф. Хмара. - Минск: Универс, 1990.- 104 с.

9. Брагина, Н.А. Липидные ингибиторы фосфолипазы A_2 / Н.А. Брагина, В.В. Чупин, В.Г. Булгаков, А.Н. Шальнев // *Биоорганическая химия*. - 1999. - Т. 25. № 2. - С. 83-96.

10. Гаврилов, О.К. Задачи современной коагулологии / О.К. Гаврилов // *Гематология и трансфузиология*. - 1989. - № 6. - С. 3-7.

11. Асафова, Н.Н. Физиологически активные продукты пчелиной семьи: Общебиологические и эколого-химические аспекты. Физиологическое обоснование практического применения. Монография / Н.Н. Асафова, Б.Н. Орлов, Р.Б. Козин : под ред. Б.Н. Орлова. – Н.Новгород: Изд. Ю.А. Николаева, 2001. – 368 с.

УДК 631.4

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КСИЛОЛА НА ПОЧВЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И ВЫДЕЛЕНИЕ ДЕСТРУКТОРОВ

Ильина Наталья Анатольевна, доктор биологических наук, профессор кафедры «Зоология»

Фуфаева Татьяна Валентиновна, аспирант кафедры «Зоология»,
tanya-fufaeva@yandex.ru

Казакова Наталья Анатольевна, ассистент кафедры «География»

ФГБОУ ВПО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова»

432700, г. Ульяновск, пл. 100-летия со дня рождения В.И. Ленина, д.4,

e-mail: nakaz17@mail.ru

Ключевые слова: ксилол, актиномицеты, гетеротрофные бактерии, плесневые грибы.

В статье рассматривается воздействие различных доз ксилولا на количественный и качественный состав микроорганизмов в почве.

Введение

Отличительная особенность почвы как природного местообитания микроорганизмов связана с её гетерогенностью, которая проявляется в разных пространственных масштабах. Почвенные микроорганизмы

обитают в трехфазной полидисперсной среде, представленной твердой (минеральные и органические частицы), жидкой (почвенная вода) и газообразной (почвенный воздух) фазами.

Почвенные микроорганизмы состав-

ляют значительную часть любой биогеосистемы - экологической системы, включающей почву, косное (неживое) и биокосное (живое или произведенное живыми организмами) вещества - и активно участвуют в ее жизнедеятельности. Почва обладает высокой буферной способностью, т.е. долгое время может не изменять своих свойств под воздействием загрязнителей. Микроорганизмы почв обладают высокой чувствительностью к антропогенному воздействию. Поэтому они являются хорошими индикаторами загрязненности окружающей среды [1,2].

Объекты и методы исследований

В работе были использованы физико-химические и микробиологические методы исследований. Отбор почвы проводили в соответствии с ГОСТ 28168-89. Ксилон определяли согласно методике СанПиН 42-128-4433-87 [3].

Определение динамики численности почвенных микроорганизмов необходимо для выявления адаптивной способности аборигенных микроорганизмов 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[4].

Численность микроорганизмов в почве, содержащей различные концентрации загрязнителя, определяли методом последовательных разведений почвенной суспензии на 5 и 30 сутки [5]. 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, 5-7 суток при выделении актиномицетов и плесневых грибов. После инкубации посевов проводили количественный учет выросших колоний и определяли КОЕ в 1 г почвы. Динамику численности микроорганизмов в почве с ксенобиотиком отражали в процентах по отношению к контролю. После 4 пассажа в новую питательную среду из культуральной жидкости с накопительной культурой производили высев на чашки Петри с селективной твердой агаризованной средой М9 + формальдегид и отбирали изолированные колонии. Определение систематического положения отобранных штаммов проводится в соответствии с определителем бактерий Берги [6] по настоящее время.

Статистическую обработку данных проводили с помощью встроенного статистического пакета Excel (MSOffice 2007). Повторность всех экспериментов трехкратная [7].

Результаты исследований

В почву вносили 3, 30 и 300 мг/кг ксилон, что соответствовало 10, 100 и 1000 доз ПДК.

Высев актиномицетов из почвы выявил их активное размножение лишь в первые пять суток, причем при повышенных дозах ксилон (100 и 1000 ПДК) наблюдалось более интенсивное размножение микробов. Данные по влиянию различных доз ксилон на численность актиномицетов приведены на рис. 1. В последующие дни наблюдений отмечалось уменьшение числа актиномицетов, опустившееся ниже контрольного уровня. Очевидно, актиномицеты, используя препарат в процессе метаболизма, обусловили его распад и тем самым создали возможность использования продуктов полураспада другими физиологическими группами микробов, размножение которых, в свою очередь, оказывало конкурентное влияние на актиномицеты.

На основании данных, отраженных на рис.2, установлено, что ксилон снижал

численность гетеротрофных бактерий в течение первых пяти дней их контакта с препаратом в почве. Выявлена зависимость уменьшения численности микроорганизмов с увеличением дозы ксилы. Затем наблюдалось нарастание количественных показателей микробов к 30 суткам. При этом уровень содержания гетеротрофных бактерий превысил исходный (контрольный) в 2,3 раза. Очевидно, что высокие концентрации (100 и 1000 ПДК) вызывали торможение ростовых процессов этих микробов в первые дни эксперимента.

На рис.3 видно, что испытанные дозы ксилы обладали фунгицидным действием на плесневые грибы в течение пяти дней, которое усиливалось с увеличением внесенной в почву дозы ПДК. К 30 же суткам контакта ксилы с грибами в почве наблюдалось постепенное нарастание содержания плесневых грибов, в основном родов *Mucor* и *Penicillium*, превысившего контрольный показатель в 1,5 раза.

После 5 пассажей в новую питательную среду из культуральной жидкости с накопительной культурой производили высев на чашки Петри с селективной твердой агаризованной средой М9 + ксилы и отбирали изолированные колонии. Таким образом удалось получить 3 изолята, устойчивых к ксиле, которые были исследованы на способность к деструкции в условиях непрерывного культивирования в аэробных условиях на минеральной среде М9. Выделенные три штамма бактерий были обозначены под шифрами Кл 1, Кл 2 и Кл 3. При микроскопическом изучении видов бактерий установлено, что это мелкие грамтри-

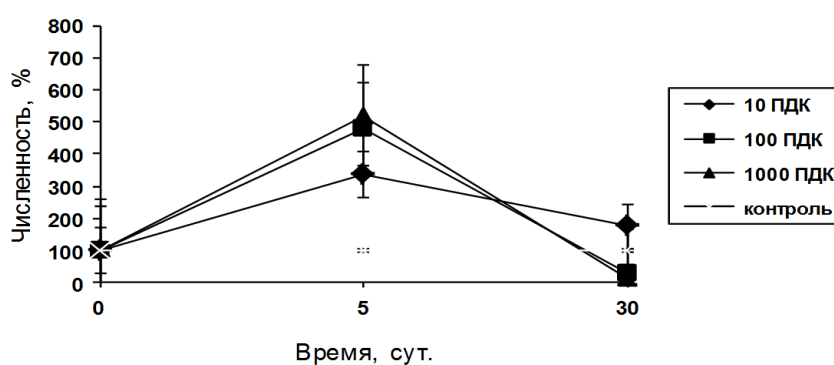


Рис. 1 – Влияние различных доз ксилы на численность актиномицетов в почве

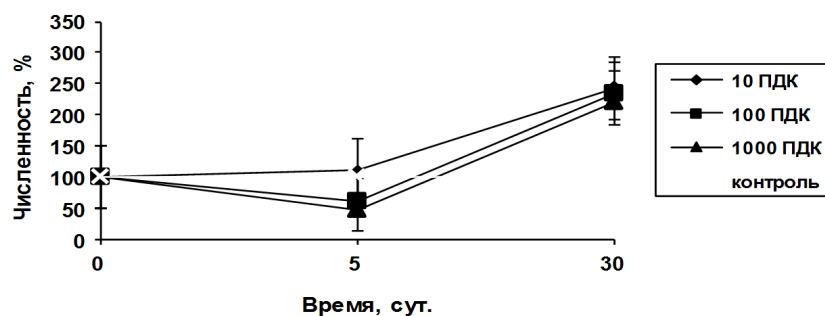


Рис. 2 – Влияние различных доз ксилы на численность гетеротрофных бактерий в почве

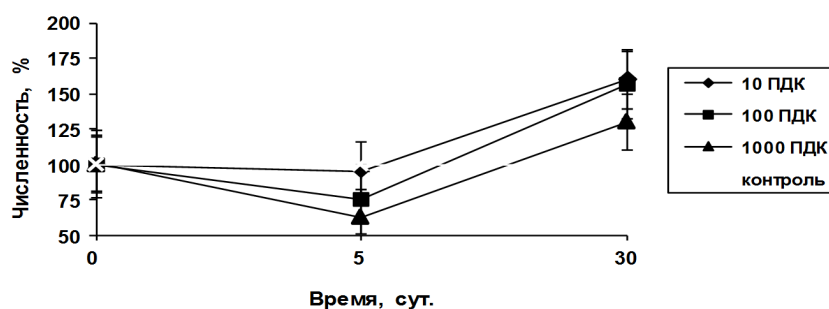


Рис. 3 – Влияние различных доз ксилы на численность плесневых грибов в почве

цательные палочки бактерий, образующие на агаре мелкие, блестящие, гладкие, с однородной структурой, мягкой консистенцией, светло-коричневые выпуклые колонии с ровным краем. Определение систематического положения отобранных штаммов проводится в соответствии с определением бактерий Берги [6] по настоящее время.

Деструкцию наблюдали в условиях непрерывного культивирования штаммов в колбах Эрленмейера со 100 мл жидкой среды М9, в которую вносили ксилу в качестве единственного источника углерода и энергии в концентрациях 100 мг/л. Инкубацию культуры проводили при +28 °С в течение 4 суток в условиях аэрации в шейкер-инкуба-

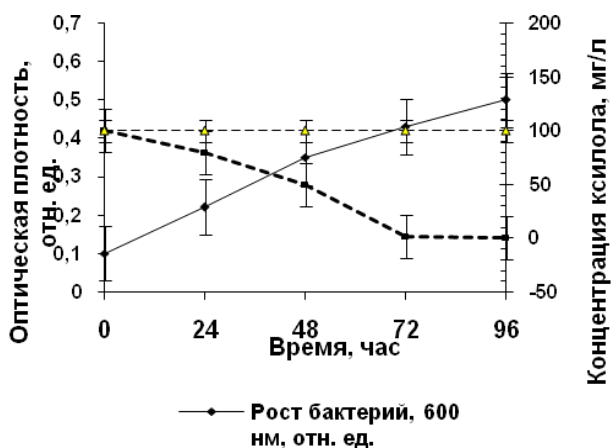


Рис. 4 – Деградация ксилола при концентрации 100 мг/л штаммами Кл 1, Кл 2 и Кл 3

торе при частоте вращения платформы 50-70 оборотов/минуту. Определение ксилола проводили в соответствии с санитарными нормами допустимых концентраций химических веществ в почве [3].

Анализ результатов показал (рис. 4), что деградация ксилола при концентрации 100 мг/л протекала 72 часа при непрерывном росте бактерий.

Определение ксилола проводили в соответствии с **ГН 2.1.7.2041-06** (Предельно допустимые концентрации химических веществ в почве) [8].

В связи с тем, что ксилол достаточно сложно поддается трансформации и не способен подвергаться полной минерализации только одним штаммом, мы использовали весь консорциум устойчивых штаммов при анализе деструкции. Недостатком этого консорциума является низкая концентрация ксилола при его утилизации, в связи с чем для эффективной работы консорциума необходимо проведение оптимизации условий биодеградации ксилола.

Выводы

Таким образом, полученные результаты показывают характер влияния доз ксило-

ла на состав и функционирование комплекса почвенных микроорганизмов. Установлено угнетающее действие ксилола на жизнеспособность некоторых исследованных физиологических групп почвенных микроорганизмов, в частности на плесневые грибы и гетеротрофные бактерии.

Библиографический список

1. Казакова, Н.А. Микробный ценоз почв как индикатор трансформации почвенного покрова / Н.А.Казакова, Н.А. Ильина // Международный научно-исследовательский журнал. - 2013. - Часть 1, №6 (13).- С. 30-31.
2. Гузев, В.С. Перспективы эколого-микробиологической экспертизы состояния почв при антропогенных воздействиях / В.С.Гузев, С.В. Левин //Почвоведение. - 1991. -№ 9. - С.50-62.
3. Санитарные нормы допустимых концентраций химических веществ в почве.-СанПиН 42-128-4433-87.
4. Марфенина, О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов/ Марфенина, О.Е. - М.: Медицина для всех, 2004. - 196 с.
5. Егоров, Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Н.С. Егоров. - М.: МГУ, 1983. – 215 с.
6. Хоулт, Дж. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. Т.1 / Дж. Хоулт, Н. Криг; под ред. Г.А. Заварзина. – М.: Мир, 1997. – 430с.
7. Ильина, Н.А. Влияние формальдегида на динамику численности физиологических групп почвенных микроорганизмов на примере чернозема выщелоченного / Н.А.Ильина, Н.А.Казакова, Т.В.Фуфаева // Вестник Чебоксарского государственного педагогического университета. – 2013.- С. 86 – 90.
8. ГН 2.1.7.2041-06. Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в почве.