

2007 - 04

**БИОЛОГО-ПОЧВЕННЫЙ ИНСТИТУТ НАН КР
ОШСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ МОН и МП КР**

На правах рукописи
УДК 576.8:502.5:631.45(575.2)(043.3)

ОМУРГАЗИЕВА ЧОЛПОН МОНОЛДОРОВНА

**ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПОЧВЕННЫЕ
МИКРОБОЦЕНОЗЫ И ИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ**

03.00.16 – экология

03.00.07 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Бишкек - 2007

025
21-23
(15)

Работа выполнена в лаборатории гельминтологии и экологии микроорганизмов Биолого-почвенного института НАН КР

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Доолоткельдиева Тинатин Доолоткельдиевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Канаев Ашимхан Токтасынович

доктор ветеринарных наук, профессор
Айтматов Муратаалы Бекматович

Ведущая организация: кафедра общей биологии, экологии и образовательных технологий биологического факультета КНУ им. Ж.Баласагына.

Защита состоится «2» марта 2007г. в 14⁰⁰ часов на заседании межведомственного диссертационного совета Д.03.06.316 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) наук при Биолого-почвенном институте НАН КР (соучредитель: ОшТУ МОН и МП КР) по адресу: 720071, г. Бишкек, проспект - Чуй, 265, кабинет №217

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке НАН КР по адресу: 720071, г. Бишкек, проспект - Чуй, 265А.

Автореферат разослан «30» января 2007г.

Ученый секретарь
межведомственного
диссертационного совета,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

Шалпыков К.Т.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Природа Кыргызстана как высокогорной экосистемы относится к системам с природным и антропогенным воздействиям. К экологически неблагоприятным зонам относятся регионы горно-рудодобывающей промышленности, где в прилегающих к ним зонах содержание токсичных элементов – тяжелых металлов (ртуть, сурьма, селен, мышьяк, медь, никель, свинец и др.) в десятки, сотни раз превышает предельно допустимую концентрацию и загрязнены тяжелыми металлами первого и второго классов, опасными для здоровья людей.

Так, в Северном Кыргызстане редкоземельные аномалии имеются в Кеминском районе, добыча их проводилась в Кыргызском горно-металлургическом комбинате, а их переработка - на Ак-Тюзской обогатительной фабрике (АОФ). Жидкие производственные стоки этих предприятий сливаются в реку Кичикемин, вода из которых используется населением Кичикеминской зоны для орошения приусадебных участков и хозяйственно-бытовых нужд. Наиболее загрязненными участками в рудниковом поселке Ак-Тюз являются регионы отстойника и территории комбината.

Почва аккумулирует загрязнения в большей степени, чем атмосфера и природные воды. Накопленные годами высокие концентрации металлов в первую очередь воздействуют на живую фазу почв, на функционирование почвенной фауны, в том числе на почвенные микроорганизмы. Микроорганизмы чутко и быстро реагируют на различные воздействия абиотических и биотических факторов среды, в том числе ксенобиотиков.

Следовательно, изменения происходящие в численности, видовом составе и ферментативной активности определенных физиологических групп микроорганизмов под воздействием тяжелых металлов могут служить показателем и надежным диагностическим критерием в оценке уровней загрязнения почв, в целом показывая на нарушения экологического равновесия в данной экосистеме. Поэтому выяснение закономерностей влияния загрязнения тяжелыми металлами на состав и функциональные свойства микрофлоры является одной из актуальных задач современной почвенной микробиологии.

В условиях Кыргызстана интенсивность и экологическая функциональность микробиологических процессов в почвах, загрязненных тяжелыми металлами остается слабоизученной.

Связь темы диссертации с научными программами. Работа является одним из разделов научного исследования по изучению микробиологического разнообразия естественных и антропогенных экосистем Кыргызстана и биотехнологического потенциала полезных видов микроорганизмов,

проводимого сотрудниками группы микробиологии лаборатории гельминтологии и экологии микроорганизмов Биолого-почвенного института НАН КР.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является выявление влияния тяжелых металлов на численность и видовое соотношение почвенных микроорганизмов, а также выявление чувствительных и устойчивых видов к этим элементам и использование их для биологического мониторинга загрязненных тяжелыми металлами экосистем.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

- Изучить влияние тяжелых металлов на микрофлору почв в условиях промышленного загрязнения.
- Изучить влияние тяжелых металлов (в частности, ртути и свинца) на численность определенных групп бактерий в почвах (модельные эксперименты).
- Изучить влияние тяжелых металлов (ртути и свинца) на видовой состав почвенных микроорганизмов, выявить чувствительные и устойчивые виды бактерий к этим элементам (модельные эксперименты).
- Выявить пороговую чувствительность микроорганизмов к ртути и свинцу и их способности адаптироваться к повышенным концентрациям данных элементов в среде.
- Отбор особоустойчивых штаммов микроорганизмов к воздействию тяжелых металлов в целях использования их для биоремедиации загрязнения в почвах.

Научная новизна. В условиях Северного Кыргызстана впервые проведены полевые исследования по выявлению токсичности тяжелых металлов на комплекс почвенных микроорганизмов в зоне промышленного загрязнения (Ак-Тюзский комбинат, Кеминский район) и по использованию микробиологических показателей почвы для биоиндикации уровней загрязнения техногенных ландшафтов.

Впервые проведены исследования по определению интенсивности целлюлозолитической ферментативной активности почвенных микроорганизмов в зоне промышленного загрязнения.

В модельных экспериментах впервые изучено взаимодействие таких элементов, как ртуть и свинец с почвенными микроорганизмами. Получены данные об изменении количественного и видового соотношения определенных групп почвенных микроорганизмов в зависимости от дозы внесенного металла и времени его воздействия на почву.

Установлена пороговая чувствительность бактерий к содержанию тяжелых металлов в среде. В результате исследований отобраны устойчивые к высоким, многократно превышающим ПДК тяжелых металлов

штаммы микроорганизмов. Экспериментально доказана способность этих штаммов к аккумуляции и детоксикации высоких концентраций ртути и свинца в почве.

Практическая значимость работы. На основании проведенных исследований предложены диагностические оценки ответных реакций микроорганизмов на уровень загрязнения почв тяжелыми металлами в зоне Ак-Тюзского промышленного комбината и на этом основании изученные загрязненные территории разделены на 4 адаптивные зоны, которые могут быть использованы для прогнозирования возможных последствий этого влияния.

В результате лабораторных испытаний были отобраны и отобраны устойчивые штаммы бактерий к повышенным концентрациям солей ртути и свинца, предназначенных к использованию в целях биоремедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами.

На основе штаммов бактерий *H5-8 Bacillus megatherium* и *H5-2 Bacillus cereus* как активных трансформаторов и концентраторов солей тяжелых металлов в перспективе планируется создание комплексных биопрепаратов позволяющих успешно устранять загрязнения тяжелыми металлами в почве. Получен патент (Патент №815) на разработку технологии получения биопрепаратов на основе культур штаммов для этой цели.

Основные положения, выносимые на защиту:

- выявление уровней загрязнения и биологической индикации на основании использования микробиологических и биохимических показателей почвы.
- пороговые концентрации солей ртути и свинца влияющие на количественное и качественное соотношение почвенных микроорганизмов и их способности адаптироваться к повышенным концентрациям данных элементов в среде.
- возможность биоремедиации загрязненных тяжелыми металлами почв с использованием устойчивых культур микроорганизмов.

Личный вклад диссертанта. Все основные результаты работы выполнены при личном участии автора.

Апробация работы. Основные результаты исследований доложены на Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию КГПУ им. И. Арабаева: «Экологическая безопасность в Кыргызстане» (Бишкек, 2001); на Международной научно-практической конференции посвященной «Году гор»: «Экологическая безопасность горной страны и новые информационные технологии в образовании» (Бишкек, 2002); на Международной научной конференции, посвященной 2200 – летию Кыргызской государственности «Современные проблемы геохимической экологии и сохранения биоразнообразия» (Бишкек, 2003); на Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика М.Н. Луцыхина «Биотехнология в мире животных и растений»

тяжелых металлов, водные растворы солей были добавлены в питательную среду в следующих концентрациях: $1 \cdot 10^{-5}$; $1 \cdot 10^{-4}$; $1 \cdot 10^{-3}$; $1 \cdot 10^{-2}$; $1 \cdot 10^{-1}$ % на 100 мл. Чувствительность микроорганизмов к содержанию в питательной среде тяжелых металлов выражали характером роста колоний и численностью колониеобразующих единиц (КОЕ).

При выявлении степень аккумуляции соли ртути и свинца особо устойчивыми культурами бактерий были использованы *H-5-8 Bacillus megatherium* и *H-5-2 Bacillus cereus* как накопители высоких концентраций и трансформаторов соли тяжелых металлов.

Посевной материал – штаммы *Bacillus megatherium* H5-8, *Bacillus cereus* H5-2 в асептических условиях вносили в количестве 10^6 ; 10^7 кл/мл, дающем начальную оптическую плотность $OD=0,1$ (ФЭК – 56 м, 540 нм, кювета 1 см) в колбы со стерильной жидкой питательной средой. В качестве жидких питательных сред мы использовали почвенные вытяжки без добавления агара, с целью максимально приблизить к естественным условиям.

Культивирование осуществляли в колбах на 250 мл с 50 мл среды на круговой качалке с 220 об/мин, при температуре 28-30°C, в которую вносились концентрированные растворы $HgSO_4$ 0,3; 0,5; 0,75 мг/л (превышающие ПДК 6, 10, 15 раза); $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ (превышающие ПДК в 10, 25, 50 раза) в дозах 1; 2,5; 5 мг/л. Контролем служили культуральная жидкость без внесения металлов.

Через каждые 6, 12, 24, 48 часов аккумулятивную активность штаммов в отношении солей ртути и свинца контролировали по изменению биомассы культуры, измеряя оптическую плотность (ФЭК-КФ-2). Кроме того, выражали характером роста и численностью колониеобразующих единиц (КОЕ), методом серийных разведений с последующим высевом и подсчетом колоний микроорганизмов на чашках с МПА. Опыт проведен в 2-х кратной повторности.

Полученные результаты обрабатывали статистически (Б.М. Доспехов, 1979).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение влияния токсичности тяжелых металлов на комплекс почвенных микроорганизмов в зоне Ак-Тюзского промышленного комбината (полевые исследования).

В наших исследованиях проблема взаимодействия тяжелых металлов и микроорганизмов в почве рассматривалась в следующем аспекте: возможность использования экофизиологические и биохимические свойства микроорганизмов в качестве биоиндикаторов на загрязнение почв тяжелыми

металлами и использования микроорганизмов для биоремедиации почв от этих загрязнений.

Для уточнения количественного содержания и оценки степени загрязнения почвы солями тяжелых металлов попадающей под влияние промышленных выбросов Ак-Тюзского горнометаллургического комбината, отобранные образцы почв подвергались спектральному анализу. Результаты исследований показали (табл.1.), Pb, Zn и Cd являются приоритетными загрязнителями данного региона, где содержание свинца и цинка в почвах превышает в 100 и более раз ПДК. Это количество несколько больше фонового содержания металлов в почвах Чуйской долины.

В почвах контрольных участков концентрация этих металлов в среднем значительно ниже (соответственно 24,9-59,6-17,5 мг/кг).

Таблица 1

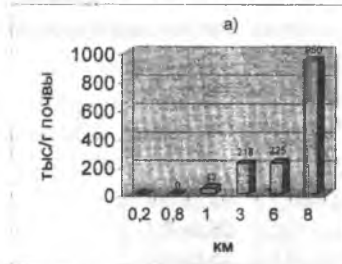
Содержание тяжелых металлов в почвах в зоне Ак-Тюзского горнометаллургического комбината (результаты спектрального анализа почв 1999-2003)

Место отбора образцов	№проб	В мг/кг воздушно-сухой почвы			
		Pb	Zn	Cu	Cd
Контрольные участки (15-30км от комбината)	1	20,9± 0,8	65± 0,4	9,9± 0,3	-
	2	22,1± 0,5	44,2± 0,1	18,2± 0,1	-
	7	25,0± 1,0	81,9± 0,1	26,0± 0,4	-
	11	33,1± 2,1	47,6 ± 0,8	15,9± 0,5	-
200-800м	3	700± 11,8	510 ± 9,8	220± 2	15± 0,05
1км от комбината	4	540 ± 3	400± 4	130± 0,2	23± 0,07
	5	500± 2	380± 3	110± 0,1	19± 0,01
3км от комбината	6	440± 1,1	380± 2	100± 0,2	13± 0,01
	8	320± 3	170± 1,8	300± 0,3	8± 0,04
6-8км от комбината	9	89,9± 5	110± 1,6	122,2± 0,1	следы
10км от комбината	18	110± 10,5	67,7± 0,9	95,0± 0,6	следы
Хвостохранилища №1	10	680± 4	350± 0,1	190± 0,9	19± 0,01
Северный участок возле отстойника	12	430± 2	350± 1,2	200± 0,7	17± 0,02
На самом середине «хвоста»	13	660± 4,1	470± 0,9	160± 0,5	22± 0,01
Южный участок	14	190± 0,8	100± 0,1	300± 0,2	следы
Восточный участок	15	390± 2,1	520± 0,7	270± 0,1	10± 0,3
Чистые концентраты	16	480 ± 2,1	380± 1,0	330± 1,1	25± 0,1
	17	500± 4,4	250± 2,1	170± 1,2	24± 0,1

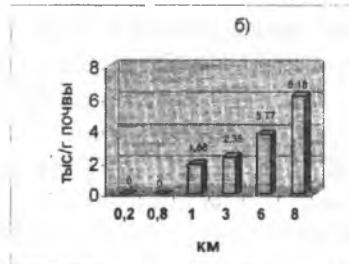
Микробиологические исследования почв в зоне Ак-Тюзского горнометаллургического комбината показали, что численность почвенных микроорганизмов может быть использована как показатель уровней загрязнения. Так, тяжелые металлы в концентрациях, приблизительно в 100-150 раз превышающих фоновые, вызывали достоверные изменения у

определенных экологических групп микроорганизмов. Наиболее чувствительной группой в исследуемом горном черноземе оказались бактерии группы азотобактер, плотность популяции которых значительно снижалась уже при 20-кратном превышении фоновых концентраций тяжелых металлов. Численность аммонифицирующих бактерий резко снижалась при 50-кратном превышении. Невысокая численность азотфиксаторов была отмечена из более отдаленных участков почвы (8-10 км), в которых ниже уровень загрязнения (рис.1в). С увеличением расстояния, численность всех исследуемых групп микроорганизмов возрастает. Так, в образцах с высокими концентрациями металлов (на 1км) суммарное количество бактерий составляет $4,2 \cdot 10^3$ КОЕ/1 гр. почвы, а в зоне 3км от комбината также численность бактерий была минимальна и составляла всего $2,18 \cdot 10^3$ КОЕ.

а) хемоорганотрофные бактерии;



б) актиномицеты;



в) азотфиксирующие бактерии

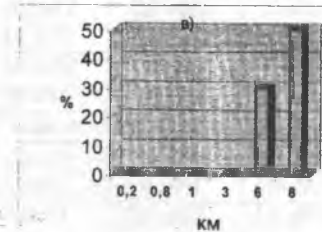


Рис.1. Численность микроорганизмов в почвах, загрязненных тяжелыми металлами на различном расстоянии от источника загрязнения.

Максимальное количество бактерий выделено из проб, отобранных на 8 и 10 км от источника загрязнения и равно $9,5 \cdot 10^5$ КОЕ (рис.1 а, б, в). Что касается актиномицетов, то их численность вблизи промышленного комбината и на 1-2км от очага загрязнения была 5-6 раза ниже, чем у других бактериальных популяций, а наибольшее их количество было обнаружено в отдаленных от загрязнения зонах.

В целом можно сказать, что 50 % ное снижение численности всех изученных групп микроорганизмов достигается лишь при 50-100-кратном

превышении фонового содержания тяжелых металлов в изученном типе почв, и именно этот результат следует в общем виде считать достоверным.

В наших исследованиях было установлено сокращение видового разнообразия комплекса почвенных микроорганизмов, абсолютное доминирование ограниченного числа видов или даже одного вида микроорганизма. На расстоянии 200-800м от источника загрязнения и на территории хвостохранилища бактерии были представлены почти исключительно одним видом – *Bacillus megatherium*. С удалением от источника загрязнения увеличивается доля других спорообразующих бактерий. Следовательно, *B. megatherium* можно использовать как устойчивый биоиндикатор к высоким концентрациям тяжелых металлов в почве. Тогда как особо чувствительными были *Azotobacter* и некоторые виды *Streptomyces*, средне чувствительными – *Pseudomonas aurentica*. Эти виды могут быть использованы как чувствительные биоиндикаторы загрязнения почв тяжелыми металлами.

Полученные результаты позволяет определенным образом представить реакцию микробного сообщества на загрязнения почвы тяжелыми металлами, и позволяют разделить изучаемую территорию на 4 зоны: зону репрессии, зону резистентности, зону стресса и зону гомеостаза (рис.2).

1) *Зона репрессии (0,2-0,8км)* – зона максимального аккумуляирования тяжелых металлов в почве, здесь встречается только один вид спорообразующих бактерий – *Bacillus megatherium*, более адаптированный к высоким содержаниям тяжелых металлов. Диагностическим признаком этого уровня загрязнения являлось практически полное подавление активности почвенных микроорганизмов, что почвы этой зоны подвержены *сильному* уровню загрязнения.

2) *зона резистентности (1-3км)* – свидетельствует о *высоком* уровне загрязнения, в котором резко сокращается состав сообщества, а доминирующее положение занимают резистентные к загрязнителю виды микроорганизмов как *Basillus megatherium*, *Streptomyces albus*.

3) *зона стресса (6-8км)* – в почвах загрязненными металлами этой зоны, происходили существенные изменения в структуре микробного сообщества, вызванные перераспределением его членов по степени доминирования.

В результате в микробной системе почвы обнаружены свойства, которые вполне определенно следует оценить как негативные. Это позволяет говорить о превышении нормы, и на этом основании можно выделить эту изучаемую зону со *средним* уровнем загрязнения.

4) *адаптивная зона гомеостаза (10-30км)* – как показали исследование, наблюдается тенденция восстановления интенсивности микробиологических процессов в почве, в частности возрастания суммарной биомассы сообщества.

(Бишкек, 2005); на заседании Ученого совета БПИ НАН КР (Бишкек, 2005); International Conference on Alpine and Polar Microbiology (Innsbruck-Austria, 27-31 March, 2006).

Публикации. По результатам исследования опубликованы 14 научных статей и получен 1 патент.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 161 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, списка использованной литературы, содержит 16 таблиц и 40 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

Дается анализ имеющихся научных данных по изучению влияния тяжелых металлов на организмы, по проблеме взаимодействия тяжелых металлов и почвенных микроорганизмов. Рассматривается принципиальная возможность биоремедиации загрязненных почв - очистки с помощью микроорганизмов.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследования служили образцы горных черноземных, темно- и светло-каштановых почв (р. Кичикемин), отобранные на расстоянии 200,800м, 1,3,6,8,10 км от источника загрязнения - Ак-Тюзского горнометаллургического комбината. Образцы почв были взяты из пахотного и целинного слоев на глубине 0-25 см, по 7 проб, с территории площадью около 100м², с учетом направления господствующих в данном районе ветров, три раза в год (весной, летом и осенью в течение 1999-2003 гг.). Контрольные образцы черноземной почвы были отобраны в незагрязненных экосистемах с таким же климатом и геологическими характеристиками (предгорные ландшафты Чонкеминского района).

Были анализированы 140 почвенных образцов. Микробиологический анализ почвенных образцов проводили согласно методам Д.Г.Звягинцева (1997). Изолировано 120 штаммов микроскопических грибов, 200 штаммов актиномицетов, 60 штаммов неспорообразующих бактерий и 310 штаммов спорообразующих бактерий.

Для определения количественного и видового состава различных групп почвенных бактерий были использованы общепринятые и современные методики и среды, приведенные в руководствах (Д.Г.Звягинцева 1980; Ф.М.Герхарда, 1983).

Количество тяжелых металлов определяли методом спектрального анализа (установка «НУР») на основе двухструнного плазмотрона

(А.И.Лазарев, И.П.Харламов,1987), на базе лаборатории атомной спектроскопии Института физики НАН КР.

Определение ферментативной целлюлолитической активности почвы загрязненной тяжелыми металлами проводили с помощью аппликационного метода (Е.Н. Мишустин,1978; Д.Г. Звягинцев,1987).

В *модельных опытах* были созданы искусственные экстремальные условия для почвенных микроорганизмов. В качестве экстремального стрессового фактора были взяты возрастающие дозы токсичных элементов: по 1 кг почвы помещались в сосуды и вносили в них соли ртути (Hg₂SO₄) превышающих фоновое содержание в 100, 1000, 5000 раз и свинца РЬ (СН₃СОО)₂*7Н₂О в виде растворов в дозах, превышающих фоновое содержание в 15,30,300 раз (500; 1000; 10000 мг/кг) и ежемесячно были исследованы почвенные образцы подопытной темно-каштановой почвы в течение одного года. В контрольных вариантах металлы в почвы не вносились. Опыт был проведен в 3-х кратной повторности.

Через 1, 6 и 12 месяцев после начала экспериментов в загрязненных и контрольных почвах численность микроорганизмов представителей различных эколого-трофических и таксономических групп определили методом посева на питательные среды: аэробных и хемоорганотрофных бактерий на мясо-пептонном агаре (МПА); актиномицетов - на крахмало-аммиачном агаре (КАА); микромицетов - на среде Чапека-Докса.

Азотфиксирующие бактерии выявляли на агаризованной безазотной среде Эшби двумя способами: нанесение частиц почвы на пластинку агара, а также путем посева почвенной суспензии.

Целлюлозоразрушающие бактерии определяли на жидкой среде Гетчинсона в пробирках с полоской фильтровальной бумаги Ватман Ni (рН 7,2-7,3). Использовали два варианта среды: с дрожжевым экстрактом (0,1 г/л) и без внесения ростовых веществ.

Родовую и видовую принадлежность изолированных штаммов бактерий устанавливали согласно определителям Берги [Manual of Determination Bacteriology, 1980; 1994], актиномицетов - Г.Ф. Гаузе, Ваксмана, Ширлинга и Готтлиба, Красильникова, микромицетов - по определителям Н.М. Пидопличко (1972), В.И. Билай (1977), М.А.Литвинова (1969).

Степень фитотоксичности почвы определяли по отношению семян растений, выращенных на тех же почвах, содержащих различные дозы свинца и ртути. Токсичность почвы выявляли по ростовым эффектам: прорастанию семян, длине проростков и корней. Опыт проводили в трех кратной повторности.

При выявлении *пороговой чувствительности и адаптационной способности* чистых культур микроорганизмов к высоким концентрациям

Таким образом, полученные данные указывают, что длительное воздействие тяжелых металлов на почвенную микробиоту в зоне Ак-Тюзского промышленного комбината проявилось в виде изменения численности и сокращения видового состава определенных физиологических групп микроорганизмов.

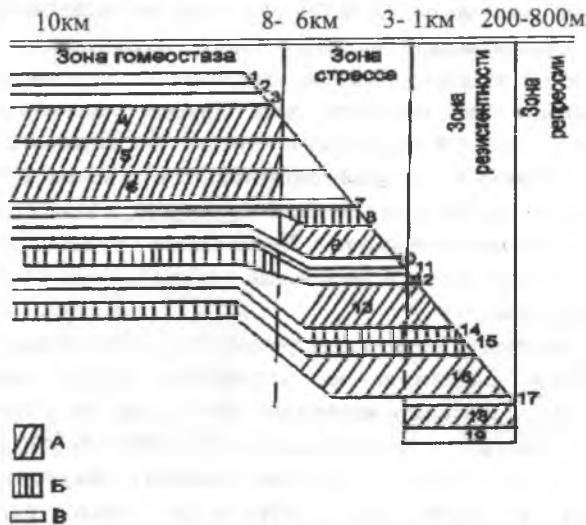


Рис.2. Влияние загрязнения почв тяжелыми металлами в зоне Ак-Тюзского комбината на организацию микробного сообщества:

А – доминирующие виды; Б – часто встречающиеся виды; В – редко встречающиеся виды.
 1 - *Streptomyces olivovariabilis*; 2 - *Streptomyces albadancus*; 3 - *Streptomyces steffiburgensis*;
 4 - *Streptomyces chromogenes*; 5 - *Streptomyces roseus*; 6 - *Penicillium purpurogenum*; 7 -
Stachybotrys sp; 8 - *Penicillium notatum* 9 - *Basillus idiosus*; 10 - *Penicillium expansum* 11 -
Penicillium viridicatum; 12 - *Cladosporium cladosporiadeles*; 13 - *Streptomyces albus*; 14 -
Stachybotrys alternans; 15 - *Streptomyces cinereus* 16 - *Basillus megatherium*; 17 - *Streptomyces globisporus roseus*; 18 - *Streptoverticillium sp*; 19 - *Aspergillus flavus*

Влияние загрязнения почв тяжелыми металлами на целлюлозолитическую активность микроорганизмов. Многие исследователи утверждают, что в почвах с техногенной нагрузкой снижается целлюлозолитическая и протеазная активность почвы, падает интенсивность дыхания микроорганизмов. В таких условиях целлюлозоразлагающие микроорганизмы испытывают угнетение в течение длительного времени. В наших исследованиях было изучено влияние загрязнения почв тяжелыми металлами на целлюлозоразлагающую активность микроорганизмов в почвах в зоне Ак-Тюзского горно-обогатительного комбината. Полученные данные показали, что целлюлозолитическая активность микроорганизмов отличается в загрязненных участках от менее загрязненных и в большей степени она отличается от контрольных (табл.2).

Если в контрольных почвах интенсивность разложения целлюлозного субстрата за период исследования составила почти 90–95 %, то в загрязненных почвах всего 10–35 %, т.е. почти в три раза ниже.

Таблица 2

Интенсивность аэробного разрушения льняной ткани при контакте с почвой в зоне загрязнения Ак-Тюзского промышленного комбината, в летне-осенние периоды (июль-октябрь)

Номера участков	Типы почв	Местоположение установленных пробных материалов	целлюлозолитическая активность, %
1	светло-каштановые	Контроль, 50км от промышленного комбината	90-95
2	темно-каштановые	вокруг промышленного комбината, 200м	10-15
3	темно-каштановые	хвостохранилища №1	5-9,2
4	темно-каштановые	1 км от комбината	35
5	темно-каштановые	3 км	37,9
6	темно-каштановые	6 км	29,5
7	горные черноземы	10км(Кичи-Кемин. заповедник)	90

Видовое разнообразие микроорганизмов участвующих в разложении целлюлозы в опытных и контрольных участках также имеет достоверное отличие. Если в контрольных образцах в разложении целлюлозы принимали активное участие обычные природные деструкторы, приспособленные к горным климатическим условиям, такие как микромицеты рода *Penicillium*: *P.vermiculatum*, *P.purpurogenum*. Тогда как в загрязненных почвах произошло перераспределение членов микробного сообщества, при этом доминирующими оказались более устойчивые к разным неблагоприятным факторам, в том числе и загрязнению виды.

Таким образом, выявление целлюлозолитической активности микроорганизмов в полевых условиях является важным биохимическим дополнительным критерием и индикационным признаком для оценки уровней загрязнения почв тяжелыми металлами. Этот метод в практическом плане может быть применен для обнаружения среднего и сильного уровней загрязнения.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ РТУТИ И СВИНЦА НА ПОЧВЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (МОДЕЛЬНЫЕ ОПЫТЫ)

В данной главе представлены результаты исследований полученных в модельных условиях. В качестве экстремального стрессового фактора были

взяты возрастающие дозы элементов – ртути и свинца и были исследованы почвенные образцы подопытной темно-каштановой почвы в течение одного года. Проведенные исследования (через 1, 6 и 12 месяцев) установили, что химические свойства и микробный состав почвенных образцов контрольных и загрязненных вариантов существенно отличаются.

Исследования показали, что в результате загрязнения почвы минимальной и максимальной дозами ртути через месяц после начала опыта наблюдалось сокращение численности большинства исследованных групп микроорганизмов (рис.3.). Так, например, количество бактерий, усваивающих органические формы азота через месяц после начала опыта уменьшалась по сравнению с контролем при дозе ртути (100 мг\кг) – в 11,9 раз. Численность сильно сокращалась и у стрептомицетов по сравнению с контролем. При минимальной дозе (100 мг\кг) металла – в 15,7 раз; при дозе (1000 мг\кг) – 121 раза, а при максимальной дозе 5000 мг\кг – 300 раз. В дальнейшем численность большинства исследованных групп микроорганизмов еще снижается через год (рис.3 б, г).

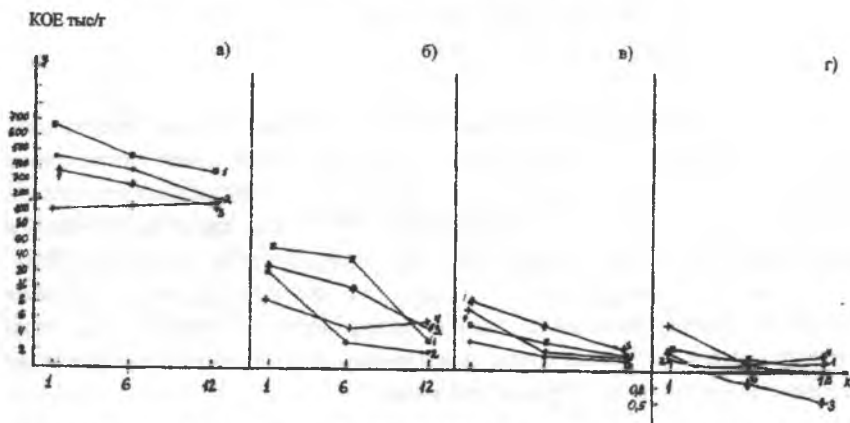


Рис.3. Влияние возрастающих доз ртути на численность почвенных бактерий
 а) контроль (незагрязненные почвы); б) при дозе 100 мг\кг; в) при дозе 1000 мг\кг; г) 5000 мг\кг. 1 – бактерии, усваивающие органические формы азота; 2 – актиномицеты; 3 – целлюлозоразлагающие микроорганизмы; 4 – микромицеты; у – содержание микроорганизмов, в тыс\г почвы; X – время, месяцы

Значительное уменьшение численности микроорганизмов отражает испытание ими сильного стрессового эффекта с возрастанием дозы металлов. Из них наиболее значительному ингибированию подвергались азотобактер. При максимальной дозе ртути (5000 мг\кг почвы) наблюдалось полное ингибирование роста азотобактер. В дозе 100 мг\кг ртути на среде Эшби рост

азотобактер составлял – 20,1%, а в средней дозе (1000 мг\кг) – 14,8%, в то же время в контроле – 98% (рис.4).

Таким образом, внесение соли ртути в дозах 100, 1000, 5000 мг\кг вызвало сильное сокращение численности и существенные изменения видовой структуры почвенных микроорганизмов. Количественные изменения в структуре микрофлоры, в большинстве случаев носили необратимый характер.

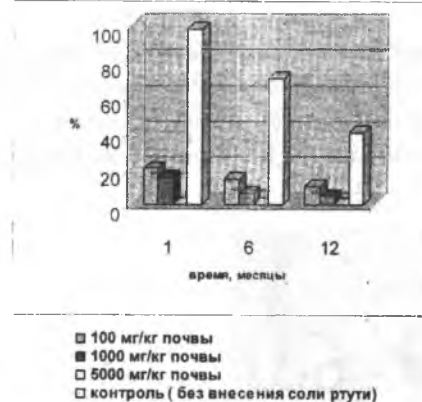


Рис.4. Изменение численности Azotobacter (в %) при ингибирующем воздействии возрастающих доз соли ртути в зависимости от продолжительности времени.
 у – количество azotobacter (в %); x – время, месяцы (через 1, 6, 12 месяцев после внесения ртути).

– Максимальная доза ртути (5000 мг\кг) была летальной для большинства исследуемых групп почвенных бактерий. Полное подавление активности почвенных микроорганизмов свидетельствует о очень сильном или катастрофическом уровне загрязнения.

– При загрязнении почв солями ртути в дозах от 100 до 1000 мг\кг была выявлена специфическая устойчивость микроорганизмов к ртути. Толерантными к действию ртути оказались определенные виды микроскопических грибов, а именно представители из рода *Penicillium*, из целлюлозоразлагающих бактерий – *Cytopaga*, а из спорообразующих высокую устойчивость показали *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megatherium*, из неспорообразующих бактерий: *Pseudomonas fluorescens*, из стрептомицетов – *Streptomyces albus*. Эти виды, несмотря на то, что испытывают токсическое действие металлов, способны развиваться в почве, содержащей исключительно высокие концентрации тяжелых металлов. Такие микроорганизмы представляют особый интерес в плане их использования в области биотехнологии для биоремедиации загрязнений.

Следует отметить, кроме ингибирующего воздействия металла, в модельных опытах значительную роль играет фактор времени,

определяющие продолжительность пребывания микроорганизмов в контакте с токсичными металлами.

Таким образом, результаты исследований показали, что даже при малых концентрациях ртути в течение 12 месяцев не произошло восстановления биоразнообразия микроорганизмов в почве. Это свидетельствует о том, что самоочищение почвы выполняемое посредством микроорганизмов от загрязняющих субстратов полностью подавлено внесенными дозами металла.

Токсичность соединений свинца для почвенных микроорганизмов.

По степени токсичности, свинец оказался менее токсичным металлом, чем ртуть, так как ингибирующее действие свинца проявилось только при средних (1000 мг/кг) и высоких дозах (10000 мг/кг) на бактерии из рода *Azotobacter* (рис.5).

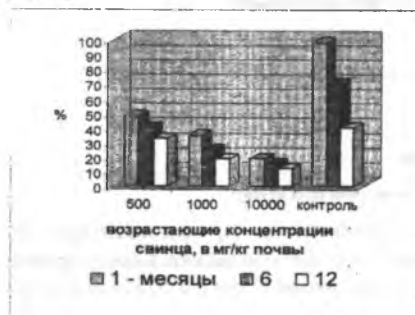


Рис.5. Изменение численности *Azotobacter* (в %) при ингибирующем воздействии возрастающих доз соли свинца в зависимости от продолжительности времени.

у-количество *azotobacter* (в%).

Так, среди исследованных микроорганизмов значительному ингибированию за период (1,6 и 12 месяцев) эксперимента подвергались микроскопические грибы и актиномицеты. Численность грибов и актиномицетов сократилась по сравнению с контролем через 6 месяца соответственно в 7,5, 7,2, 25 раза, через год - 9, 18 и 20 раза, актиномицетов через 6 месяца в 12, 10, 25 раза, а через год - 5, 10, 50 раза.

При содержании свинца 1000 и 10000 мг/кг в почве практически не обнаружены неспорообразующие бактерии, использующие органические формы азота. По сравнению с контролем в образцах с минимальными дозами (500 мг/кг) свинца видовой состав бактерий, усваивающих органические формы азота, был более разнообразен. Это свидетельствует о том, что свинец в малых дозах, возможно, не проявляет ингибирующее действие, а даже может быть использован и включен в метаболические процессы клетки бактерий.

Высокие дозы свинца характеризовались более сильным токсическим воздействием на рост микромицетов. Наблюдалось снижение частоты

встречаемости микромицетов рода *Penicillium* даже в образцах с минимальными (500 мг/кг) дозами свинца. При средних (1000 мг/кг) дозах часто обнаруживали представителей рода *Cladosporium cladosporiades*, *Cladosporium herbarum*, кроме того, был выделен не типичный данному типу почв новый вид микромицета *Nigrospora sp.*

Таким образом, наиболее чувствительными к токсическому действию свинца оказались азотобактер, неспорообразующие бактерии и некоторые виды микромицетов. Для них было характерно как наибольшее по сравнению с другими микроорганизмами сокращение численности, так и наименьший уровень восстановления их популяции. По чувствительности на втором месте были актиномицеты. Но в образцах с максимальными дозами свинца (10000мг/кг) некоторые виды актиномицетов как *Streptomyces alvus* и *Streptomyces alvadancus* проявили более выраженные адаптационные способности, оказались устойчивыми.

Самыми устойчивыми к действию свинца на все 3 периода наблюдений оказались бактерии рода *Bacillus*, из них высокой устойчивости показали *B.cereus*, *B.polymyxa*, *B.megatherium*, *B.mesentericus*; из целлюлозоразлагающих бактерий - рода *Cytofaga*; из рода стрептомицетов - *Streptomyces albus* и *Streptomyces chromogenes*, из микромицетов были *Cladosporium cladosporiades*.

Таким образом, модельные опыты позволили нам выявить ингибирующую микробиологическую активность концентрации двух токсических металлов и отметить, что достоверно ингибирующие дозы существенно отличаются от полевых условий. Если в полевых условиях изменение численности и видового состава определенных групп микроорганизмов происходило при 100-200 раза превышающих ПДК дозах металлов, то в лабораторных условиях эти показатели заметно проявились уже при дозах в 20-50 раза превышающих ПДК. Это указывает на существование природных факторов, смягчающих токсическое воздействие металлов на почвенные микроорганизмы. Эти факторы могут повлиять на трансформацию, аккумуляцию и рассеивание металлов в различных типах почв.

Фитотоксичность почвы для растений. В лабораторных условиях проводились исследования с целью выявления фитотоксичности почвы, содержащей различные дозы свинца и ртути, на рост и развитие растений (табл.3.). При высокой дозе ртути (5000 мг/кг) сильное угнетение прорастания семян пшеницы проявилось в ранней вегетации роста - произошло высыхание стеблей и корней растений. Высокие дозы свинца 10000мг/кг почвы также повлияли на рост растений, при этом уменьшалась биомасса проростков семян. Средняя доза свинца (1000мг/кг) в почвах в целом не оказывала каких-нибудь коррелятивных изменений на развитие растений, и средняя всхожесть семян составила 66%, что подтверждает не токсическое влияние этой дозы металла.

Таким образом результаты проведенных исследований показали, что при высокой концентрации свинца (10000мг/кг) и при дозе ртути 5000мг/кг

почва оказывает сильный ингибирующий эффект на рост и развитие растений.

Таблица 3

Влияние загрязненных почв солями ртути и свинца на прорастание и всхожесть семян пшеницы

Тип почв	Варианты опыта, мг/кг почвы	Количество семян, шт.	Кол-во всходов, %	Длина корня, мм	Средн. длина стебля на 12сут, мм	Масса проростка в мг
темно-	Hg x 100	150	30	1,3 ± 0,22	12,04 ± 0,28	101 ± 0,5
	x 1000	150	26,6	1,9 ± 0,27	11 ± 0,37	112 ± 0,1
	x 5000	150	14	0,5 ± 0,3	4,7 ± 0,66	78 ± 0,3
Горные каменные	Pb x 500	150	87	4,5 ± 0,32	15,9 ± 0,48	223 ± 0,45
	x 1000	150	66	2,8 ± 0,79	9,7 ± 0,38	176 ± 0,23
	x 10000	150	30	1,8-2 ± 0,34	4,5 ± 0,28	93 ± 0,13
	Контроль (без внесения металлов)	150	80	20 ± 0,89	13 ± 0,56	150 ± 0,95

Данная почва обладает сильными фитотоксичными свойствами. Этот эффект сказывается как на прорастании семян так и на развитии проростков растений, например пшеницы.

ПОРОГОВАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ БАКТЕРИЙ К СОДЕРЖАНИЮ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ.

Нами были проведены исследования по выявлению пороговых концентраций двух металлов ртути и свинца, влияющие на жизнедеятельность почвенных микроорганизмов. Некоторые микроорганизмы могут аккумулировать металлы в количестве, превышающих в десятки и сотни раз их содержание в питательной среде, при этом важное значение для масштабов поглощения имеет степень адаптации микроорганизмов к химическому составу среды обитания. Очевидно у микроорганизмов, приспособленных к избытку металла в естественной среде обитания, существуют регуляторные механизмы, контролирующие поглощение этого элемента. Адаптированные к высокому содержанию металла культуры микроорганизмов активно развиваются и максимально концентрируют металл в клетках, в то же время штамм этого же вида микроорганизма, но выделенный из сред с низким содержанием быстро погибает, а поглощение металла будет продолжаться неконтролируемыми темпами. Это говорит о том, что после достижения пороговой концентрации происходит нарушение регулирования поглощения металла из среды, приводящее к избыточному его накоплению на поверхности клетки.

Как показали результаты наших исследований, для спорообразующих бактерий, выделенных из почвы с высоким содержанием тяжелых металлов, пороговые концентрации ртути, не подавляющие рост лежат при концентрации $1 \cdot 10^{-4}$ %, предельные для роста $1 \cdot 10^{-3}$ %, для актиномицетов –

при $1 \cdot 10^{-5}$ % дозах. При этом чувствительность микроорганизмов, выделенных из сред с высоким содержанием тяжелых металлов к содержанию в питательной среде повышенной концентрации металла, на 1-2 порядка ниже, чем микроорганизмы, выделенные из сред незагрязненных этими элементами. Повышенная адаптационная способность отмечена у *B. megatherium* H5-8, затем у *B. cereus* H5-2, тогда как низкая адаптация была проявлена у тех культур, которые обитали в обычных, незагрязненных почвах.

Таким образом, для дальнейших испытаний были отобраны всего два штамма бактерий - *Bacillus megatherium* H5-8 и *Bacillus cereus* H5-2 устойчивые к свинцу и ртути.

Отбор устойчивых штаммов микроорганизмов в целях их использования для биоремедиации окружающей среды от загрязнения тяжелыми металлами.

В наших исследованиях был проведен отбор культур микроорганизмов, способных аккумулировать и трансформировать высокие концентрации тяжелых металлов, в целях использования их в дальнейшем для биоремедиации окружающей среды от загрязнений.

В последнее время наиболее широкое распространение получили методы биоремедиации, основанные на активации аборигенной почвенной микрофлоры, потенциально способной утилизировать загрязнитель за счет применения ряда агротехнических мероприятий, а также на интродукции в место загрязнения специально отобранных микроорганизмов, активно утилизирующих загрязнитель, что значительно ускоряет процессы восстановления почвы.

Анализ активности индивидуальных штаммов-бактерий и их ассоциаций в отношении трансформации солей свинца и ртути в жидкой среде показало, что ассоциации состоящие из 2-х штаммов бактерий, аккумулировали тяжелых металлов наиболее эффективно (рис.6 А, Б).

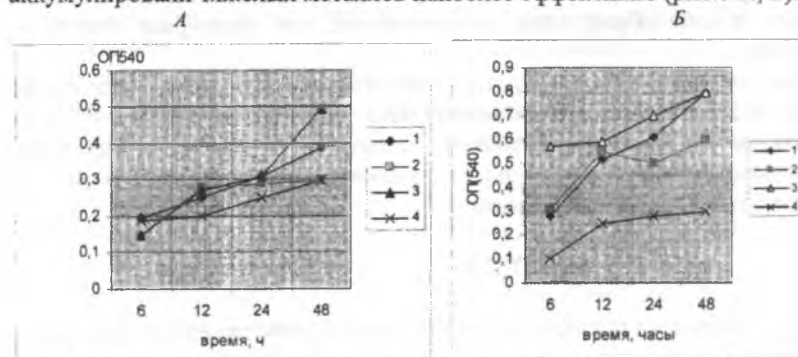


Рис.6. Динамика роста и степень аккумулятивной способности высоких концентраций ртути (А) и свинца (Б) культурами *Bacillus megatherium*, *Bacillus cereus* (H5-8+H5-2) Концентрация соли ртути (А) 1) - 0,3 мг/л; 2) - 0,5 мг/л; 3) - 0,75 мг/л; 4) - контроль (без внесения металла). Концентрация соли свинца (Б) 1) - 1 мг/л; 2) - 2,5 мг/л; 3) - 5 мг/л; 4) - контроль

Ось абсцисс - время, часы; ось ординат - плотность

Как показывают данные табл.4А,Б, у штаммов Н5-8 *Bacillus megatherium*+Н5-2 *Bacillus cereus* аккумуляция ртути заканчивается окончательно при рН 2,9-3, тогда как аккумуляция свинца при рН 4. Общей закономерностью для исследованных ассоциаций штаммов было то, что аккумулятивная способность биомассы уменьшалась с понижением рН. Наиболее высокая сорбционная способность наблюдалась в диапазоне рН 6,9-7.

Таблица 4

Влияние рН на аккумуляцию высоких концентраций ртути (А) и свинца (Б) культурами *Bacillus megatherium*, *Bacillus cereus* (Н-5-8 + Н-5-2)

А

концент ртути мг/л	Показатели рН среды через 6, 12, 24, 48 ч. роста			
	исх. рН - 7,60			
	6ч	12ч	24ч	48ч
0(контр)	7,01	6,78	7,28	6,72
0,3	4,21	4,12	4,46	4,51
0,5	6,37	6,34	6,86	6,92
0,75	3,47	3,30	3,38	3,56

Б

Концен т. соли свинца	Показатели рН среды через 6, 12, 24, 48 ч. роста			
	6ч	12ч	24ч	48ч
0(контр)	7,01	6,78	6,28	6,72
1	7,21	6,78	7,21	7,33
2,5	7,23	6,87	7,04	7,40
5	6,77	6,82	6,24	4,0

Полученные результаты показали, что используемые штаммы Н5-8 *Bacillus megatherium*+Н5-2 *Bacillus cereus* могут накапливать достаточно высокие концентрации свинца до 5 мг/л в среде, однако оптимальными являются концентрации до 1 мг/л, где удельная скорость роста и биомассы культур имеют максимальные значения. Тогда как эти штаммы могут накапливать ртути до 0,75 мг/л в среде. Кроме того, предлагаемый штамм Н-5-2 *Bacillus cereus* обладает не только аккумулятивными свойствами тяжелых металлов, но и обладает высокой антагонистической активностью в отношении фитопатогенных грибов-возбудителей корневых гнилей, а также в отношении токсинообразующих микромицетов, что расширяет спектр их применения.

Таким образом, биопрепараты получаемые на основе ассоциации штаммов Н5-8 *Bacillus megatherium*+Н5-2 *Bacillus cereus* могут быть использованы в целях биоремедиации загрязненных тяжелыми металлами почв, одновременно для защиты растений загрязненных зон от фитопатогенных микроорганизмов.

ВЫВОДЫ

1. Впервые проведена оценка степени загрязнения почв тяжелыми металлами Ак-Тюзского горнометаллургического комбината. Выявлены основные загрязнители данного производства, к которым отнесены Pb, Zn, Cu и Cd.
2. Установлено, что содержание тяжелых металлов в почве на территории комбината, вокруг хвостохранилища и в прилегающих к нему (3км) зонах превышает ПДК в 100 и более раз.

3. Микробиологический анализ установил, что селективный пресс длительного действия тяжелых металлов на почвенную биоту проявился в виде изменения численности и видового разнообразия почвенных микроорганизмов.
4. Установлено, что наиболее устойчивыми биоиндикаторами к воздействию тяжелых металлов являются спорообразующие бактерии рода *Bacillus*: *B. megatherium*, *B. cereus*, *B. mycoides*, и некоторые виды актиномицетов рода *Streptomyces*: *Streptomyces albus*, *Streptomyces cinereus*.
5. Особо чувствительным биоиндикатором был *Azotobacter*. Среднечувствительными являются бактерии рода *Pseudomonas*.
6. Максимальная доза ртути (5000 мг/кг) была летальной дозой для большинства исследуемых групп почвенных бактерий.
7. Максимальная доза свинца (10000мг/кг почвы) была летальной дозой для большинства исследуемых групп почвенных бактерий.
8. Отобраны особо устойчивые к ионам тяжелых металлов бактериальные культуры и в дальнейшем были адаптированы к высокому концентрации ртути и свинца на твердой и жидкой питательных средах.
9. Предложены эффективные штаммы (Н5-8 *Bacillus megatherium* и Н5-2 *Bacillus cereus*) - как активные накопители и устранители высоких концентраций тяжелых металлов для получения биопрепаратов в целях очистки загрязненных почв в условиях Кыргызстана.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Полученные результаты о характере взаимодействия тяжелых металлов с микроорганизмами могут быть использованы при экологическом нормировании предельно допустимых концентраций тяжелых металлов в почвах.

Полученные результаты исследования по определению ферментативной целлюлозолитической активности почв в зоне загрязнения Ак-Тюзского промышленного комбината может быть применены для обнаружения среднего и сильного уровня загрязнения.

Выделенные из почв исследуемого района наиболее устойчивые к воздействию тяжелых металлов штаммы микроорганизмов перспективны как биотехнологический объект в биоремедиации почв загрязненных территорий.

Предлагаемые штаммы бактерий Н5-8 *Bacillus megatherium*+Н5-2 *Bacillus cereus* могут накапливать достаточно высокие концентрации свинца до 5 мг/л, ртути в концентрации до 0,75 мг/л в среде и являются перспективными для использования в микробиологической промышленности для получения комплексных биопрепаратов.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

1. Синэкология микроорганизмов в загрязненных экосистемах Кыргызстана //«Экологическая безопасность в Кыргызстане»: Междунар. Науч.-

- прак. конф., посвящ. 50-летию КГПУ им И. Арабаева. – Бишкек, 2001. – С.171-174. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева).
2. Изменение численности и видового состава почвенных микроорганизмов при загрязнении почв тяжелыми металлами (модельные опыты) // Сб. науч. тр. Кырг. Аграрной академии, посвящ. 1- съезду ученых Кырг. Респуб, «Наука Кыргызстана в XXI веке», - Бишкек, 2001. - Вып.3. - С.218-221. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева).
 3. Влияние различных концентраций ртути и свинца на почвенные микроорганизмы // Сб. науч. трудов Кырг. Аграрной академии, посвящ. му международному году гор. – Бишкек, 2002. - Вып.1. - С.51-58. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева).
 4. Тяжелые металлы в почве и их воздействия на микробные комплексы (модельные опыты) // Журнал естественные науки Кыргызско - Турецкого Ун-та «Манас». – Бишкек, 2002. - Вып.3. - С.165-175. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева).
 5. Фенотипическая характеристика новых штаммов рода *Streptomyces*, выделенных из различных экотипов Кыргызстана // Исследование живой природы Кыргызстана. - Бишкек, 2002. – Вып.4. – С.27-32. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева, Н.Э. Тотубаева).
 6. Динамика численности и видового разнообразия почвенных микроорганизмов Ат-Башинской долины // Сб. науч. тр. Кырг. аграрного ун-та. – 2003. – Вып.2, - Ч.1. – С.249-253. (Соавт.: М.У. Конурбаева, Н.Э. Тотубаева).
 7. Пороговая чувствительность бактерий к содержанию в питательной среде тяжелых металлов // Вестн. Ин-та экологии и природопользования при КГПУ им. И.Арабаева. – 2003. - Вып.3. – С.163-166. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева).
 8. К изучению микробиологического разнообразия почв Внутреннего Тянь-Шаня // Вестник Института экологии и природопользования при КГПУ им. И.Арабаева. – 2003. - Вып.3. - С.109-113. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева, М.У. Конурбаева, Н.Э. Тотубаева).
 9. Токсичность соединений ртути для почвенных микроорганизмов // Исследование живой природы Кыргызстана. – Бишкек, 2004. – Вып.5. – С.29-37. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева).
 10. Токсичность соединений свинца для почвенных микроорганизмов // Исследование живой природы Кыргызстана. – Бишкек, 2004. – Вып.5. – С.38-42. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева).
 11. Микроорганизмы как биоиндикаторы загрязненных экосистем // Поиск, серия естественных и технических наук. – Алматы, 2006. - №1. - С.63-70. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева).
 12. Микробиологическое разнообразие высокогорных экосистем на примере Атбашинской долины // Вестн. КНУ имен. Жусупа Баласагына. – 2005. - Вып.5. - С.288-294. (Соавт.: Т.Д. Доолоткельдиева, М.У. Конурбаева).
 13. Изучение адаптационных способностей ассоциации штаммов бактерий к повышенным концентрациям ртути // Биотехнология в мире животных и растений. - Бишкек, 2005. – Вып.5. – С.187-191.

14. Soil microbial biodiversity of high-mountain ecosystems in Kyrgyzstan // Book of Abstracts. - Innsbruck-Austria, 2006. – p.340. (co-author T. Doolotkeldieva).
15. Пат. №815 Кырг. Респ. Штаммы бактерий *Bacillus megatherium* H5-8 и *Bacillus cereus* H5-2 (в ассоциациях) для деструкции тяжелых металлов природной среды / Т.Д. Доолоткельдиева, Ч.М. Омургазиева – 20040053.1; Заявка 16.06.2004.

Ч. Омургазиева

Резюме

Омургазиева Чолпон Монолдорвна

«Влияние тяжелых металлов на почвенные микробиоценозы и их функционирования» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.00.16 - экология и 03.00.07 – микробиология.

Ключевые слова: Экология, влияния тяжелых металлов на почвенные микроорганизмы, устойчивые и чувствительные биоиндикаторы.

Объект исследования: почвенные образцы, почвенные штаммы микроорганизмов, возрастающие соли ртути и свинца.

Цель исследований: Исследование взаимодействия тяжелых металлов и микроорганизмов в почве, возможности использования микробиологических показателей почвы в целях выявления уровней загрязнения и биологической индикации почв.

Метод исследования: Микробиологический, экологический, биохимический и биотехнологический.

Полученные результаты и их новизна: Предложены диагностические оценки ответных реакций микроорганизмов на уровень загрязнения почв тяжелыми металлами в зоне Ак-Тюзского промышленного комбината и на этом основании изученные загрязненные территории разделены на 4 адаптивные зоны.

Впервые проведены исследования по определению интенсивности целлюлозолитической ферментативной активности почвенных микроорганизмов в зоне промышленного загрязнения.

Установлена пороговая чувствительность бактерий к содержанию тяжелых металлов в среде. В результате исследований отобраны устойчивые к высоким, многократно превышающим ПДК тяжелых металлов штаммы микроорганизмов. Экспериментально доказана способность этих штаммов к аккумуляции и детоксикации высоких концентраций ртути и свинца в почве.

Степень использования: Создана коллекция новых штаммов бактерий *Bacillus* особоустойчивых к повышенным концентрациям тяжелых металлов. На основе штаммов бактерий H5-8 *Bacillus megatherium* и H5-2 *Bacillus cereus* как активных трансформаторов и концентраторов солей тяжелых металлов (Патент №815) в перспективе планируется создание комплексных биопрепаратов, позволяющих успешно устранять загрязнения тяжелыми металлами в почве. Материалы исследований будут использованы работниками Государственной службы охраны окружающей среды при

экологическом нормировании предельно допустимых концентраций тяжелых металлов в почвах и проведении природоохранных мероприятий.

Область применения: Микробиология, экология, охрана природы, защита растений.

У. Олуяфи

Өмүргазиева Чолпон Моңолдоровнанын 03.00.16 - экология жана 03.00.07 - микробиология адистиктери боюнча «Оор металлдардын топурак микробиоценозуна жана алардын тиричилигине тийгизген таасири» темасында биология илимдеринин кандидаты илимий даражасына изденүү диссертациясынын КОРУТУНДУСУ

Негизги сөздөр: Экология, оор металлдардын топурак микроорганизмдерине тийгизген таасири, туруктуу жана сезгич биоиндикаторлор.

Изилдөө объектиси: топурак үлгүлөрү, топурак микроорганизмдеринин штаммдары, сымап жана коргошун туздарынын жогорку концентрациялары.

Изилдөөнүн максаты: Топурактагы оор металлдардын жана микроорганизмдердин өз ара аракеттенүү, булгануу денгээлин жана топурактын биологиялык индикациясын аныктоо максатында топурактын микробиологиялык көрсөткүчтөрүн колдонуу мүмкүнчүлүктөрүн изилдөө.

Изилдөөнүн методу: Микробиологиялык, экологиялык, биохимиялык жана биотехнологиялык.

Алынган натыйжалар жана жаңылыктар: Актүз өнөр жай комбинатынын аймагында топурактын оор металлдар менен булганышына микроорганизмдердин жооп берүүчү реакцияларына диагностикалык баа берүүлөр сунушталды жана мунун негизинде изилдөөгө алынган булганган зоналар ыңгайлашуучу 4 зонага бөлүндү.

Биринчи жолу өнөр жайлык булгануу аймагында топурак микроорганизмдеринин целлюлозолитикалык ферментативдик активдүүлүктүн интенсивдүүлүгүн аныктоо боюнча изилдөөлөр өткөрүлдү.

Чөйрөдө оор металлдардын төмөнкү жана жогорку концентрацияларынын кармалуусуна бактериялардын сезгичтиги аныкталды. Изилдөөлөрдүн жыйынтыгында жогорку, көп эсе жогорулатылган оор металлдардын концентрацияларына туруктуу микроорганизмдердин штаммдары тандалып алынды. Бул штаммдардын топурактагы сымап менен коргошундун жогорку концентрацияларын топтоого жана детоксикациялоого жөндөмү эксперимент жүзүндө далилденди.

Пайдалануусу: Оор металлдардын жогорку концентрацияларына өзгөчө туруктуу *Bacillus* бактерияларынын жаңы штаммдарынын коллекциясы түзүлдү. Оор металлдардын туздарын активдүү трансформаторлору жана топтогучтары катары H5-8 *Bacillus megatherium* жана H5-2 *Bacillus cereus* бактерия штаммдарынын (Патент №815) негизинде топурактын оор металлдар менен булганышын жок кыла турган комплекстүү биопрепараттарды түзүү пландаштырылууда. Изилдөөнүн материалдарын Айлана чөйрөнү коргоо мамлекеттик кызматынын кызматкерлери топурактардагы оор металлдардын жол берилген концентрацияларын

экологиялык жөнгө салууда жана айлана чөйрөнү коргоочу иш-чараларды өткөрүүдө колдонмокчу.

Колдонуу тармагы: Микробиология, экология, айлана-чөйрөнү коргоо, өсүмдүктөрдү коргоо.

У. Олуяфи

Resume

Omurgazieva Cholpon Monoldorovna

Heavy metals influence on the soil microorganisms and their functioning

03.00.16 –Ecology and 03.00.07 -Microbiology

Key words: ecology, heavy metals influence on the soil microorganisms, resistant and sensitive biological indicators.

Research object: soil samples, soil strains of microorganisms, increasing mercury and lead salt.

Purpose of the research: research of mutual reaction of heavy metals and microorganisms in the soil, the possibility of using microbiological indicators of soil with a view to reveal the pollution level and microbiological indicator of soil.

Research method: microbiological, biochemical and biotechnological.

Findings and novelty: diagnostic evaluation of microorganism's response is suggested on the soil pollution level heavy metals in the Ak- Tiuz industrial center zone, and on the basis of these, the studied polluted territories are divided into four adaptive zones.

Researches are first carried out by definition of the intensity of cellulolytic enzymatic of activity of soil microorganisms in the industrial pollution zone.

The threshold sensitivity bacteria are determined for content of heavy metals in the environment. As a result of the research are selected microorganisms that are resistant to high, repeatedly exceeding Maximum Allowable Concentration of heavy metals.

By experiment is proved the ability of strains for accumulation and detoxification the high mercury and lead concentration in the soil.

Efficiency: the collection of new bacteria strains *Bacillus* is produced especially resistant to increased heavy metals concentration. In future on the basis of bacteria strains H5-8 *Bacillus megatherium* and H5-2 *Bacillus cereus* as an active transformer and thickener of heavy metals salts (Patent №815) is planning to create complex biopreparations which let to remove xenobiotic pollution, including heavy metals pollution in the soil.

The research materials will be used by employees of the State Service of Preservation of the Environment and be helpful for the ecological normalization Maximum Allowable Concentration of heavy metals in the soil.

Field of application: Microbiology, ecology, environment protection, plant protection.

У. Олуяфи

Подписано в печать решением Межведомственного диссертационного совета Д.03.06.316, протокол №4 от 19 января 2007г.