

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

САНИТАРНО-ПОКАЗАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ
АНТРОПОГЕННО ПРЕОБРАЗОВАННЫХ ПОЧВ

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 3 курса 331 группы

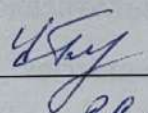
Направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Пряниковой Олеси Алексеевны

Научный руководитель:

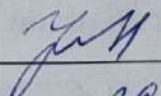
доцент кафедры микробиологии
и физиологии растений, к.б.н., доцент


26.11.25

Е. В. Глинская

Зав. кафедрой микробиологии

и физиологии растений, д.б.н., доцент


26.11.25

Д. В. Уткин

Саратов 2025

Введение

Актуальность темы. Антропогенно преобразованные почвы – это особые экологические системы, которые значительно отличаются от природных почв. Они развиваются и функционируют при сочетании химических, физических, биологических процессов, а также определяющем влиянии антропогенного фактора [1]. Между тем, эти почвы выполняют средообразующую функцию, адсорбируют различные загрязнения, во многом определяют климат территории и оказывают непосредственное влияние на здоровье человека [2]. Почва может быть источником загрязнения патогенными микроорганизмами пищевых продуктов, кормов, сырья [3]. Экологический мониторинг почв населенных пунктов, сельскохозяйственных угодий, животноводческих комплексов включает обязательное проведение токсикологической, радиологической, паразитологической и микробиологической экспертизы.

Почвенные микроорганизмы являются важным индикатором антропогенного воздействия [4]. На основании микробиологической экспертизы формируется оценка обсемененности почвы патогенными, условно-патогенными и нейтральными микроорганизмами, прогнозируется возможная ситуация, разрабатываются профилактические мероприятия для предотвращения и/или минимизации негативных последствий, комплекса долгосрочных мероприятий по восстановлению нарушенного почвенного покрова. Анализ распределения санитарно-показательных микроорганизмов в почве может помочь выявить источники загрязнения почвы, например источники сточных вод, отходов, другие антропогенные факторы. Изучение динамики численности микроорганизмов позволяет оценить эффективность проведенных мероприятий по обеззараживанию, рекультивации и улучшению состояния загрязненных почв. Оценка санитарного состояния почвенного покрова производится в соответствии с регламентированными допустимыми

уровнями содержания условно-патогенных микроорганизмов в почвах различного назначения. В случае загрязнения почвы возбудителями особо опасных инфекций обеззараживающие и восстановительные мероприятия в каждом конкретном случае разрабатываются в соответствии с действующими нормативными документами и согласовываются с региональными органами и учреждениями Госсанэпиднадзора [5].

Цель работы: характеристика санитарного состояния антропогенно преобразованных почв г. Балаково.

Задачи работы:

1. Определить численность санитарно-показательных микроорганизмов, выделенных из почв г. Балаково.
2. Выявить видовое разнообразие МАФАНМ, из почв г. Балаково.
3. . Установить биологические свойства выделенных культур.
4. Определить влияние абиотических факторов на изолированные культуры.

Материал и методы исследования. Микробиологические исследования санитарного состояния антропогенно преобразованных почв г. Балаково были проведены на базе кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского национального исследовательского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского в период 2023-2024 гг.

Объектом исследования были антропогенно измененные почвы г. Балаково. Предмет исследования – санитарно-показательные микроорганизмы антропогенно преобразованных почв г. Балаково.

В работе изучалось 20 образцов почв. Опробованию подвергали верхнюю часть почвенного горизонта «А» на глубине 20 см, где накапливается основная масса загрязнителей, оседающих из атмосферы. Площадками опробования были урбаноземы, индустриоземы, культуроземы и природные почвы.

Для изучения микробиологических показателей антропогенно преобразованных почв использовали санитарно-показательные микроорганизмы: КМАФАнМ (количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов), БГКП (бактерии группы кишечной палочки), бактерии *C. perfringens*.

Для выделения МАФАнМ применяли метод последовательных разведений [6], для определения БГКП – титрационный метод [7]. Также была использована оценка перфингенс-титра для определения наличия в пробах *Clostridium perfringens*. Идентификацию бактерий проводили на основании изучения фенотипических свойств по определителю бактерий «Bergeys manual of determinative bacteriology» (2006). [46]. Контроль видовой идентификации осуществляли с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии, который осуществляли на приборе MALDI масс-спектрометре серии microflex (Bruker Daltonics GmbH, Германия).

В работе проводили изучение субстратного спектра. Спектр используемых санитарно-показательными микроорганизмами субстратов определяли методом высева исследуемых штаммов на плотные дифференциально-диагностические питательные среды со специфическими субстратами. В качестве субстратов использовали следующие источники углерода: моносахариды (арабиноза, глюкоза, ксилоза, сорбит), олигосахариды (лактоза, мальтоза, маннит, сахароза); полисахарид крахмал. Субстратами для определения спектра разложения источников азота были органический азот (желатин и пептон), неорганический азот (нитрат калия и молекулярный азот). Посев исследуемых культур осуществляли штрихом или уколом и инкубировали при температуре 28 °С. О ферментативной активности судили по диаметру зон гидролиза субстрата или изменению цвета индикатора среды. Для визуализации зон гидролиза, в некоторых случаях, использовали

дополнительные вещества – раствор Люголя и 0,05 %-ный спиртовой раствор бромтимолового синего для поверхностно-активных веществ и пектинов [9].

В процессе исследования были проведены серии экспериментов, направленные на изучение влияния температуры, концентрации ионов водорода и хлорида натрия в среде на рост выделенных микроорганизмов. Для анализа влияния температуры эксперименты были проведены при двух различных температурных условиях: низкой (+10 °С) и высокой (+43 °С). Исследования по влиянию хлорида натрия на выделенные штаммы проводили при шести разных значениях концентрации: 1, 2, 5, 7, 10 и 15 %. Также в экспериментах использовали три различных значения водородного показателя среды: кислое (5), нейтральное (7) и щелочное (9).

Структура и объем работы. Работа, изложенная на 63 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников, приложение. Исследование проиллюстрировано 14 рисунками и содержит 11 таблиц. Список использованных источников включает 68 наименований отечественных и зарубежных авторов.

Научная новизна исследования состоит в том, что впервые был определен видовой состав санитарно-показательных микроорганизмов в различных группах почв г. Балаково.

Практическая значимость работы состоит в возможности оценить санитарное состояние антропогенно преобразованных почв и установить степень их биологической опасности для людей и животных.

Положения, выносимые на защиту

1 В антропогенно преобразованных почвах г. Балаково присутствуют санитарно-показательные микроорганизмы.

2 Видовой состав и численная обсемененность санитарно-показательными микроорганизмами зависит от групп почв.

3 Выделенные культуры бактерий демонстрируют широкий диапазон относительно субстратного спектра и проявляют высокую резистентность к абиотическим факторам среды.

Основное содержание работы

В главе 1 «Санитарно-показательные микроорганизмы антропогенно преобразованных почв» дана общая характеристика санитарно-показательных микроорганизмов, приведена классификация по источнику их происхождения, возможность обнаружения в образцах в зависимости от давности загрязнения. Описаны бактерии группы кишечной палочки, общие и термотолерантные колиформные бактерии, энтеробактерии, микроорганизмы рода *Proteus*, сульфатредуцирующие клостридии *Clostridia perfringens* и *C. sporogenes*, бактерии рода *Salmonella*, термофильные санитарно-показательные микроорганизмы, бактериофаги. В данной главе изложена информация о санитарно-микробиологических исследованиях почвы и приведено нормирование по бактериальным показателям в разных категориях почв. Также приводятся результаты исследований почв селитебных территорий отечественных и зарубежных авторов.

В главе 2 «Материал и методы исследования» указано, что объектом исследования стали антропогенно нарушенные почвы, расположенные в черте г. Балаково Саратовской области, дана характеристика города как крупного промышленного центра и его почвенного покрова, раскрыты понятия «урбаноземы», «индустриоземы», «культуроземы», «природные почвы». В главе описываются методы, которые были использованы в исследовании.

В главе 3 «Результаты исследования» представлены итоги работы и их обсуждение. Анализ полученных результатов показал, что численность

МАФАНМ варьировала от 4,7 до 9,8 IgKOE/г. Самое высокое содержание МАФАНМ было зафиксировано в природных почвах и культуросемах, так как они содержат больше органического вещества, чем почвы урбаноземов и индустриоземов, а также менее загрязнены тяжелыми металлами и другими токсическими веществами. Ни в одной из проб не было обнаружено БГКП и *C. perfringens*, что указывало на отсутствие фекального загрязнения. Видовая идентификация изолятов выявила 4 рода, 8 видов микроорганизмов: *Bacillus circulans*, *Bacillus simplex*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus halodurans*, *Jonesia denitrificans*, *Dermabacter hominus*, *Cellumonas flavigena*. В главе рассчитаны индексы общности и встречаемости: самый высокий индекс общности был выявлен у урбаноземов, наибольший индекс встречаемости (35 %) – у штамма *B. circulans*.

Результаты изучения свойств выделенных культур показали, что наибольшую ферментативную активность по отношению к моносахаридам наблюдали при использовании арабинозы и глюкозы, по отношению к олигосахаридам все штаммы проявляли активность при расщеплении сахарозы и шесть штаммов – при расщеплении маннита, крахмал окислялся практически всеми бактериями за исключением *D. hominus*. В целом, наиболее широкой спектр использования углеводов был характерен для *B. circulans* и *B. subtilis*, наиболее ограничены в выборе углеводного субстрата *B. simplex* и *D. hominis*. По результатам исследования выявлено, что все исследуемые штаммы могли усваивать органический азот в виде пептона и желатина и почти все азот неорганических соединений. Исследования по определению устойчивости выделенных бактерий к изменениям физико-химических факторов среды показали, что все исследуемые штаммы обладали широким диапазоном выживаемости, но наиболее устойчивым к абиотическим факторам оказался *D. hominis*, что можно объяснить его высокой степенью адаптации благодаря

наличию комплекса ферментов и механизмов, позволяющих снижать негативное воздействие неблагоприятных факторов.

Выводы

1 Из антропогенно преобразованных почв, отобранных в черте г. Балаково, выделено 4 рода, 8 видов мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов: *B. circulans*, *B. simplex*, *B. subtilis*, *B. mycoides*, *B. halodurans*, *J. denitrificans*, *D. hominus*, *C. flavigena*. Все обнаруженные микроорганизмы относились к палочковидным формам, кокковых форм обнаружено не было. БГКП и сульфитредуцирующие клостридии в пробах почв не выделены.

2 Численность МАФАНМ варьировала от 4,7 до 9,8 lgКОЕ/г. В урбаноземах численность МАФАНМ была зафиксирована в диапазоне от 5 до 7,2 lgКОЕ/г. В пробах индустриоземов численные показатели варьировали от 5,2 до 7,2 lgКОЕ/г. В пробах культуроземов количественные показатели находились в диапазоне от 5,7 до 7,4 lgКОЕ/г. Пробы природных почв характеризовались количественными данными от 4,7 до 9,8 lgКОЕ/г.

3 Максимальными численными показателями среди изолятов обладал штамм *B. circulans* (9,8 lgКОЕ/г), который был отобран в таких группах почв, как урбаноземы, культуроземы и природные почвы. Наименьшими количественными показателями характеризовался штамм *C. flavigena* (5,7 lgКОЕ/г), который выделен из культуроземов. Наибольшим индексом встречаемости (35 %) обладал штамм *B. circulans*. Наименьший индекс встречаемости (5 %) был характерен для *B. subtilis*, *D. hominus*, *C. flavigena*. Уровень видового сходства между группами почв (индекс Жаккара) варьировал от 0,33 до 0,17.

4 Штамм *B. circulans* расщеплял все углеводные субстраты, за исключением сорбита и маннита. Штаммы *B. subtilis* и *C. flavigena* были способны использовать все исследованные субстраты, за исключением ксилозы и сорбита. Штамм *B. simplex* был способен расщеплять в качестве углеводов глюкозу, маннит, сахарозу и крахмал. Крахмал расщепляли все исследуемые штаммы, за исключением *D. hominis*. Самый широкий спектр использования углеводов характерен для *B. circulans* и *B. subtilis*, наиболее ограничены в выборе углеводного субстрата *B. simplex* и *D. hominis*.

5 Штаммы *B. circulans*, *B. simplex*, *B. subtilis*, *B. mycoides* были способны использовать все исследованные субстраты в качестве источника азота. Штаммы *B. halodurans*, *J. denitrificans*, *D. hominis*, *C. flavigena* не были приспособлены к использованию ряда форм неорганического азота.

6 Наиболее резистентным к абиотическим факторам среды являлся штамм *D. hominis* благодаря устойчивости к концентрации хлорида натрия (1-15 %), температуре (10-43°C) и уровню pH в среде (5-10). Концентрация 10 и 15 % была неприемлема для *J. denitrificans*. Почти все штаммы, кроме *B. halodurans* и *D. hominis* не выживали при концентрации хлорида натрия 15 %. Штамм *B. circulans* не рос при pH10, штамм *B. halodurans* – при pH5.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Микробные показатели городских почв и их роль в оценке экосистемных сервисов (обзор) / Н. Д. Ананьева [и др.] // Почвоведение. – 2021. – №10. – С. 1231-1246.

2 Ерофеева, В. В. Оценка загрязнения почв урбанизированных экосистем (на примере г. Москвы) / В. В. Ерофеева, Е. В. Аникина // Международный научно-исследовательский журнал. – 2001. – №4-2 (106). – С. 53-57. DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.106.4.034>.

3 Минченко, Л. А. Санитарно-микробиологическое исследование почвы / Л. А. Минченко // Столыпинский вестник. – 2021. – №3. – С. 279-286.

4 Биологическая активность микробных сообществ в почвах некоторых городов России / Г. В. Стома [и др.] // Почвоведение. – 2020. – №6. – С. 703-715.

5 Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 №3 об утверждении СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий». [Электронный ресурс] [сайт]. URL: https://mru125.fmba.gov.ru/deyatelnost/profilaktika-narusheniy/2/info.php?ELEMENT_ID=42205. Загл. с экрана. Яз. рус.

6 Методические рекомендации. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды. МР 4.2.0202-20. [Электронный ресурс] [сайт]. URL:

<https://docs.cntd.ru/document/573595605?marker=7D20K3>.

(дата обращения: 15.09.2025). Загл. с экрана. Яз. рус.

7 МУК 4.2.3695-21.4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы микробиологического контроля почвы. Методические указания. [Электронный ресурс] [сайт]. URL: https://meganorm.ru/mega_doc/norm/metodicheskie-ukazaniya/0/muk_4_2_3695-21_4_2_metody_kontrolya_biologicheskie_i.html. (дата обращения: 15.09.2025). Загл. с экрана. Яз. рус.

8 Определитель бактерий Берджи в двух томах. Т. 2 / Дж. Хоулт [и др.]. – М.: Мир, 1997. – 368 с.

9 Егоров, Н. С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: практическое пособие / Н. С. Егоров – М.: Московский государственный университет, 1983. – 251 с.

