

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

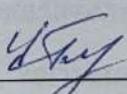
Направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Пряниковой Олеси Алексеевны

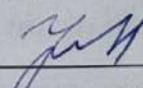
Научный руководитель:

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 обеззаражающие 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 урбанизмы, индустириоземы, 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 высея исследуемых штаммов на плотные дифференциально-диагностические питательные среды со специфическими субстратами. В качестве субстратов использовали следующие источники углерода: моносахариды (арabinоза, 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 штихом 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 °C) и высокой (+43 °C). 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 lgКОЕ/г. Самое высокое содержание МАФАнМ было зафиксировано в природных почвах и культуроземах, так как они содержат больше органического вещества, чем почвы урбаноземов и индустроземов, 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 hominis*, *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. hominis*. 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 урбанизмах численность МАФАнМ была зафиксирована в диапазоне от 5 до 7,2 lgКОЕ/г. В пробах индустроземов 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 урбанизмы, 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 исследование 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 широкой 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. Стота [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.](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_kontrolja_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.

