

Научно-исследовательская работа

Экология

**ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ
СНЕЖНОГО И ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА МУРМАНСКОЙ ОБЛАСТИ**

Выполнила:

Дядик Тамара Владимировна

учащаяся 10 класса

МБОУ СОШ №15, Россия, г.Апатиты

Коркачева Дина Александровна

научный руководитель

МБОУ СОШ №15, Россия, г.Апатиты

ВВЕДЕНИЕ

Одна из важнейших проблем городов – все возрастающее загрязнение окружающей среды химическими элементами, которое представляет опасность для живых организмов и, в первую очередь, для человека. Невнимание к проблемам меняющейся под воздействием человека экологической обстановки способно привести к непоправимым последствиям.

Микроорганизмы являются биоиндикаторами загрязнения окружающей среды, а их исследование одним из наиболее информативных методов анализа окружающей среды. Микробиологический анализ нужен нам для того, чтобы своевременно констатировать изменения в окружающих человека экосистемах.

Объектом настоящего исследования является микробиологическое состояние почвенного и снежного покрова в трех геолокациях, расположенных на территории Мурманской области: в г. Апатиты (антропогенный ландшафт), в промышленной зоне комбината Североникель (техногенный ландшафт) и на границе Лапландского заповедника в районе реки Чуна (природный ландшафт).

Предметом исследования являются микроорганизмы (колонии грибов), содержащиеся в снежном и почвенном покровах в выбранных для исследования геолокациях.

В ходе исследования была выдвинута следующая гипотеза: в результате длительного антропогенного и техногенного воздействия на природные экосистемы изменяется микробиологическое состояние снежного и почвенного покровов

Целью работы стала оценка изменений микробиологического состояния снежного и почвенного покровов, сформировавшихся под влиянием интенсивного антропогенного и техногенного воздействий на природные экосистемы, формирующие среду обитания и жизнедеятельности человека.

Для достижения поставленной цели в работе были решены следующие задачи:

1. Изучены снег и почва как места обитания микроорганизмов
2. Изучены и освоены методики посева и учета микроорганизмов на плотных питательных средах
3. Проведен микробиологический анализ снежного и почвенного покровов
4. Проанализированы различия в микробиологическом состоянии снежного и почвенного покрова

ГЛАВА I. ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1.1. Микроорганизмы почвы

Основные среды обитания микроорганизмов в природе – вода, воздух и почва. В целях данного исследования в качестве среды обитания микроорганизмов будут изучены почва и снег.

Почва является естественным местом проживания многих микроорганизмов.

В почве они находят все условия, необходимые для развития: питательные вещества, влагу, достаточную аэрацию, защиту от прямых солнечных лучей и высушивания. По мере углубления число микроорганизмов сокращается. На глубине в 25 см количество их в 10-20 раз меньше, чем в поверхностном слое толщиной 1-2 см. На глубине более 1,5 м встречаются лишь единичные особи. Меняется с глубиной и качественный состав микробиоты [1].

Необходимо отметить, что существует преобладание грибов определенных видов в разных типах почв, например, в северной зоне, где слабы минерализационные процессы, — грибы родов *Penicillium* и *Mucor*, размножающиеся на субстратах с большим количеством свежих растительных остатков. По мере продвижений к югу их вытесняют представители рода *Aspergillus*, в южных почвах уменьшается не только общая численность грибов

рода *Penicillium*, но и разнообразие их видового состава. В черноземах, каштановых почвах и сероземах обильна развиваются грибы рода *Fusarium*, широко распространенные и в почвах тропических лесов. Некоторые грибы живут в широком диапазоне щелочно-кислотных условий и встречаются в кислых, нейтральных и щелочных почвах [2].

На количественный и качественный состав микроорганизмов оказывают влияние различные факторы. К основным следует отнести следующие:

- тип почв: наиболее богаты микроорганизмами черноземные почвы (около 1 млрд кл./г почвы), ввиду обильной растительности с богатой корневой системой [3]. Кроме того, характер почв влияет и на глубину проникновения микроорганизмов. Так, в более влажных северных почвах жизнь микроорганизмов как бы «прижата» к поверхности, а в легких, щелочных (южных почвах) – жизнь микроорганизмов «углубляется» [4];

- влажность почвы: во влажных почвах размножение микроорганизмов лучше, чем в сухих. Однако в почвах торфяных болот (несмотря на большое количество влаги и органических веществ), микроорганизмов мало, поскольку эти почвы имеют кислую среду;

- аэрация: песчаные почвы аэрируются лучше, поэтому в них больше микроорганизмов;

- климатические условия и сезонность: в теплое время года микроорганизмов в почве гораздо больше, чем зимой. Биологическая активность всех почвенных микроорганизмов увеличивается осенью и заметно снижается в зимний период.

1.2. Микроорганизмы снега

Снег – это форма атмосферных осадков, состоящая из мелких кристаллов льда. Снег обладает высокой сорбционной способностью и поглощает из атмосферы как микроорганизмы, так и вредные вещества (газовые и пылевые массы). Группа ученых из университета Луизианы обнаружила, что за образование почти всех осадков, в том числе и снега, могут отвечать бактерии

Pseudomonas syringae [5]. Численность бактерий на поверхности снегов варьируется в широких пределах, но в целом сравнительно невысока и составляет от 100 до 1 млн кл/мл. талой воды. Для сравнения, численность бактерий в 1 грамме почвы достигает 1 млрд.клеток [6].

Снег можно считать «временным» местообитанием живых микроорганизмов, поскольку при изменении температуры он превращается в талую воду и затем, вместе с накопленными веществами поступает в почву.

Количественный состав микроорганизмов в снежных покровах, как и в почве, напрямую зависит от ряда факторов: высоты, плотности, слоистости и продолжительности залегания снежного покрова, а также антропогенной и техногенной нагрузки на экосистему.

Исходя из вышесказанного можно обобщить и систематизировать факторы, влияющие на количество и качество микроорганизмов, обитающих в снежных и почвенных покровах (рис.1)

Почвенные покровы	Снежные покровы
<ul style="list-style-type: none"> •тип почв •аэрация •влажность •климатические условия и сезонность 	<ul style="list-style-type: none"> •высота снежного покрова •плотность •слоистость •продолжительность залегания

Рисунок 1- Факторы, влияющие на количество и качество микроорганизмов

Оценка состояния обитающих в почве и снеге микроорганизмов, их биоразнообразие имеет важное значение при экологическом мониторинге: выделении зон экологического неблагополучия, расчете ущерба, нанесенного деятельностью человека, определении устойчивости экосистемы и воздействию тех или иных антропогенных, техногенных и природных факторов. Поэтому в качестве объектов исследования были выбраны снежные и почвенные покровы как биоиндикаторы загрязнения окружающей среды.

1.3.Содержание методики посева и учета на плотных питательных средах

В лабораторной практике применяются два метода количественного учета микроорганизмов [5]:

1. Метод посева и учет на плотных питательных средах;
2. Методы прямого учета под микроскопом.

Выбор метода зависит от цели исследования. Используемая нами в данной работе методика посева на плотные питательные среды позволяет учесть не только численность микроорганизмов, но и получить чистые культуры. В большинстве случаев для изучения и учёта микроорганизмов проводится поверхностный посев на чашки Петри. Глубинный посев проводится реже, как правило, для учёта грибов.

Для получения сравнимых результатов подсчёт колоний определённой группы микроорганизмов проводят через одно и тоже время. Обычно учёт микрофлоры на мясопептонном агаре проводят через трое суток после посева, актиномицетов через 7-15, грибов и дрожжей 5-7 суток. Колонии считают с обратной стороны чашки, отмечая их чернилами. В случае непрозрачности сред, учет ведется сверху чашки. После подсчета числа колоний на параллельных чашках, находится среднее и, исходя из полученных данных, определяется количество клеток в 1 мл исследуемой суспензии (предполагается, что условно 1 клетка, спора или обрывок гифы дают 1 колонию).

На каждой чашке проводят внимательное сравнение и описание морфологии колоний под лупой. Далее составляется описание колоний по следующей схеме:

1. Форма колоний: округлая, неправильная, амёбовидная, ризойдная.
2. Профиль колоний: плоский, выпуклый, конусовидный, каплевидный, вогнутый
3. Цвет колоний

4. Форма края колонии: дольчатый, выпуклый-зубчатый, цельный, бахромчатый, разорванный, спиралевидный, ветвистый, и т.п.

5. Структура колонии: крупнозернистая, мелкозернистая, струйная, волокнистая

6. Вид микрогрибов (определялся по справочнику [Index Fungorum]).

Для разведений готовят пробирки со стерильной водой по 9 мл в каждой. Стерильной пипеткой берут 1 мл исследуемого материала и вносят в пробирку, и получают разведение 1:10 или первое разведение, далее 1 мл полученной суспензии переносят в следующую пробирку и получают разведение 1:100 или третье разведение и т.д. Таким образом, в 1 мл суспензии во втором разведении содержится в 10 раз меньше клеток, чем в первом, а в третьем разведении – в 100 раз меньше клеток и т.д.

В данной работе очень важно провести тщательное перемешивание суспензии при помощи пипетки. После подготовки разведения проводится посев на нужные среды из подходящего разведения.

ГЛАВА II. ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

2.1. Характеристика места взятия проб почвенного и снежного покровов

Для проведения эксперимента нами было определено 3 места отбора снежных и почвенных проб, расположенных в разных районах Мурманской области. Почвенные и снежные пробы для микробиологического анализа брали в течение двух лет. Для оценки последствий антропогенного и техногенного воздействия на природные экосистемы взятие проб осуществлялось в зоне длительного техногенного воздействия - район города Мончегорска вблизи комбината «Североникель», в относительно чистой экологической зоне (без существенного техногенного и антропогенного воздействия) - район Лапландского заповедника вблизи реки Чуна и в зоне сильного антропогенного воздействия - город Апатиты, Академгородок. Выбор пробных площадей был обусловлен выдвинутой ранее гипотезой. Описание мест взятия проб и их характеристика представлены в Приложении 1.

2.2. Постановка эксперимента

Взятие снежных и почвенных проб осуществлялось разными способами и в разное время года, исходя из общепринятых методик. С каждого пробного участка взято по три в 2017 году и по пять в 2018 году индивидуальных образцов снега и почвы.

Снежные пробы. Отбор снежных проб был проведен в середине мая. Высота снежного покрова в местах взятия проб составляла не менее метра. Все пробы отбирались с помощью пластиковой трубы диаметром 10 см и длиной 30 см. Затем полученный снежный столб помещался в заранее подготовленные и промаркированные контейнеры. Далее путем естественного снеготаяния при температуре 25 градусов Цельсия, снежные пробы превращались в талую воду для дальнейших исследований.



Рисунок 2 - Результаты посева грибов в пробах снега

Почвенные пробы. В начале сентября 2017 и 2018 гг. были отобраны почвенные пробы. Для этого на пробных площадях мы выкапывали куб земли 30*30*25(22) и срезали с него ножом, заранее подготовленным и обработанным 96% спиртом, слой корней. Далее полученную пробу помещали в стерильную крафт бумагу. Каждая проба была пронумерована, подписана и помещена в полиэтиленовый пакет.

Далее полученный экспериментальный материал исследовался в Лаборатории «Экология микроорганизмов» ИППЭС КНЦ РАН. Микробиологическое исследование выполнено общепринятой в практике стандартной методикой, описанной в теоретической части работы в п.1.3. На рисунке 2 показаны результаты посева грибов в пробах снега в первом и втором разведениях.

2.3. Результаты эксперимента и их анализ

Проведенный в 2017-2018 годах эксперимент показал четкую взаимосвязь между видами загрязнения, обусловленными воздействием человека на природные экосистемы, и количеством микроорганизмов и изменением их численности в течение двух лет в снежном и почвенном покровах (табл.1,2).

Таблица 1. Динамика численности колоний грибов в снежном покрове

Место взятия	2017		2018	
	Всего колоний	Площадь взятия проб	Всего колоний	Площадь взятия проб
Экологически чистый район (природный заповедник - Река Чуна):	130	225 м ²	106	225 м ²
Антропогенное (городская черта г.Апатиты - Академический городок)	253	225 м ²	110	225 м ²
Техногенное (вблизи комбината «Североникель»)	21	225 м ²	90	225 м ²

Таблица 2. Динамика численности колоний грибов в почвенном покрове

Место взятия	2017		2018	
	Всего колоний	Площадь взятия проб	Всего колоний	Площадь взятия проб

Место взятия	2017		2018	
	Всего колоний	Площадь взятия проб	Всего колоний	Площадь взятия проб
Экологически чистый район (природный заповедник - Река Чуна):	76	225 м ²	451	225 м ²
Антропогенное (городская черта г.Апатиты - Академический городок)	49	225 м ²	478	225 м ²
Техногенное (вблизи комбината «Североникель»)	19	225 м ²	364	225 м ²

Из таблиц 1 и 2 видно, что наибольшее количество микроорганизмов было обнаружено в снежных и почвенных покровах в районе Академгородка г.Апатиты. Очевидно, данный факт обусловлен спецификой загрязнения снега в городе: бытовые отходы, экскременты, шерсть домашних животных и городских птиц, продукты дыхания человека и животных.

Наименьшее количество микроорганизмов обнаружено в районе комбината «Североникель», это обусловлено большим количеством выбросов, длительным и интенсивным химическим загрязнением атмосферы и почвы солями серной кислоты, что сделало природную среду малоприспособленной для жизни микроорганизмов.

Среднее, очевидно, соответствующее природным «фоновым» концентрациям значение было обнаружено в снежном и почвенном покрове в районе реки Чуна на территории Лапландского заповедника.

Изменение только численности микроорганизмов в почве и в снегу не является достаточной доказательной базой для подтверждения поставленной гипотезы, поэтому мы решили изучить их видовое разнообразие. Изучение видов, полученных образцов осуществлялось под микроскопом, а их вид определялся по справочникам.

Для изучения видового состава микрогрибов рассчитаем их обилие в снежном и почвенном покрове:

$$\text{Обилие} = \frac{\text{количество грибов одного вида}}{\text{общее количество грибов}} \times 100\%$$

Результаты приведены в таблицах(3,4,5)

Таблица 3. Обилие микрогрибов (г. Апатиты)

Место	Вид	Количество (%)	
		2017	2018
Апатиты	<i>Aspergillus repens</i>	-	30
Апатиты	<i>Aspergillus niger</i>	-	9
Апатиты	<i>Areobasidium pullulans</i>	-	22
Апатиты	<i>Penicillium decumbens</i>	-	10
Апатиты	<i>Sterilia mycelia</i>	-	3
Апатиты	<i>Aspergillus fumigatus</i>	36	-

Таблица 4. Обилие микрогрибов (в районе «Североникеля»)

Место	Вид	Количество (%)	
		2017	2018
«Североникель»	<i>Aspergillus niger</i>	-	8
«Североникель»	<i>Penicillium multicolor</i>	-	1
«Североникель»	<i>Penicillium glabrum</i>	19	71
«Североникель»	<i>Penicillium janthirellum</i>	19	1
«Североникель»	<i>Penicillium implicatum</i>	25	8
«Североникель»	<i>Aspergillus repens</i>	-	2

Таблица 5. Обилие микрогрибов (район реки «Чуны»)

Место	Вид	Количество (%)	
		2017	2018
Река «Чуна»	<i>Aspergillus repens</i>	-	2
Река «Чуна»	<i>Aspergillus niger</i>	-	22
Река «Чуна»	<i>Aspergillus sydowii</i>	-	5
Река «Чуна»	<i>Penicillium glabrum</i>	-	27
Река «Чуна»	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	-	2
Река «Чуна»	<i>Cladosporium herbarum</i>	-	2
Река «Чуна»	<i>Strachybotrys chartonum</i>	-	2

Река «Чуна»	<i>Monilia sitophila</i>	6	-
Река «Чуна»	<i>Aspergillus fumigatus</i>	10	-
Река «Чуна»	<i>Penicillum janthinellum</i>	5	-

Из таблиц видно, что в разные периоды взятия проб наблюдается разный видовой состав микроорганизмов. Данное различие может быть обусловлено, прежде всего, разными метеорологическими условиями (влажность, температура, количество осадков и т.п). Кроме того, следует отметить, что летом 2017 года была низкая температура, а летом 2018 года температура была аномально высокой для наших широт, объясняя тем самым резкое увеличение разных видов гриба рода *Aspergillus*, распространённых в более южных широтах. Данный вид микроорганизма является условно-патогенным и его доминирование в городской черте (район Академгородка в г. Апатиты) обусловлено спецификой антропогенных загрязнений.

В районе комбината «Североникель», особых изменений в видовом составе не произошло. Наблюдается отсутствие многообразия различных видов микроорганизмов, доказывая тем самым значительное техногенное воздействие на экосистемы данного района. Незначительное число микрогрибов рода *Penicillum* объясняется их высокой адаптационной способностью.

В районе реки «Чуна», являющимся наиболее чистым районом наблюдается самое большое разнообразие родов (*Penicillum*, *Aspergillus*, *Monilia*, *Strachybotrys*, *Cladosporium*), это может быть обусловлено тем, что в этом районе нет ни сильного антропогенного, ни техногенного воздействий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования поставленная цель была достигнута, а выдвинутая гипотеза - доказана.

В ходе исследования были получены результаты и сделаны следующие выводы:

1. Оценка состояния обитающих в почве и снеге микроорганизмов имеет важное значение при экологическом мониторинге: выделении зон экологического неблагополучия, расчете ущерба, нанесенного деятельностью человека, определении устойчивости экосистемы и воздействию тех или иных антропогенных, техногенных и природных факторов.

2. В результате проведенного эксперимента была обнаружена различная концентрация микроорганизмов в снежных и почвенных покровах. Количество микробов и микробиологическое разнообразие в почве выше по сравнению со снегом.

3. Анализ показал, что наибольшее количество микроорганизмов обитает в городских снежных и почвенных покровах. Данный факт обусловлен, главным образом, спецификой антропогенного загрязнения снега в городе (бытовые отходы, экскременты и шерсть домашних животных и городских птиц, продукты дыхания человека и животных). Техногенное воздействие, проявляющееся в районе комбината «Североникель» в форме длительного и интенсивного химического загрязнения атмосферы и почвы солями серной кислоты, сделало природную среду малоприспособленной для жизни микроорганизмов. Поэтому численность бактерий и грибов в этих пробах оказалась наименьшей. В пробах снега из экологически благополучного района реки Чуна в результате эксперимента было обнаружено среднее для исследованных пробных территорий количество микроорганизмов, которое можно считать естественным «фоновым» природным значением.

4. Результаты анализа видового разнообразия микрогрибов также однозначно свидетельствует о более «благоприятной» среде обитания в городе

по сравнению с подвергшейся длительному техногенному воздействию средой в районе комбината «Североникель» и естественной природной средой.

СПИСОК ИНФОРМАЦИОННЫХ РЕСУРСОВ

1. Полянская М.Л., Горбачева М.А., Звягинцева Д.Г. [Размеры бактерий в черноземе в ходе микробной сукцессии при инкубировании почвы в аэробных и анаэробных условиях // Почвоведение. - №11. – 2012, с.1181-1187.](#)
2. Микроорганизмы в почве [Электронный ресурс] URL: <http://www.activestudy.info/mikroorganizmy-v-pochvax/>
3. Анализ жизнедеятельности микроорганизмов почвы [Электронный ресурс] URL: www.newreferat.com/
4. Дождь и снег появляются благодаря бактериям в облаках //Membrana. Люди. Идеи. Технологии. [Электронный ресурс] URL: www.membrana.ru/particle/12352
5. Лабораторный практикум по микробиологии [Электронный ресурс] URL: www.docme.ru
6. Лопатина А.В. Оценка разнообразия микроорганизмов поверхностного снега прибрежных зон Восточной Антарктиды. Режим доступа.- www.elibrary.ru

