

## МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 631.4

В. С. Артамонова<sup>a</sup>, С. Б. Бортникова<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>b</sup> Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А. Трофимука СО РАН, Новосибирск, Россия

### О СОСТОЯНИИ ПОЧВЕННЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДСКОГО ЛЕСА

Исследованы азотфиксрующие бактерии почв озелененной территории Новосибирского Академгородка. Научный центр был построен в середине XX в. и представлял собой образец сочетания вековой тайги, лесопарка и современного города. Природные ландшафты и леса научного центра относятся к объектам культурного наследия региона. В настоящее время возросли рекреационные и транспортные нагрузки, что негативно отразилось на состоянии лесов. Предприято комплексное изучение почв, в рамках которого исследованы аэробные азотфиксрующие свободноживущие и симбиотические бактерии почв. Определены встречаемость и скорость роста *Azotobacter chroococcum*, содержание жизнеспособных олигонитрофильных бактерий, обилие и состояние *Bacillus mycoides*, количество бактериоидов на корнях клевера красного. Проанализированы взаимоотношения азотобактера с фузариозными грибами. Показано, что в придорожных экосистемах наблюдается накопление меди, свинца и цинка, что негативно отражается на скорости роста азотобактерий. Штаммы азотобактера, выявленные из загрязненных почв, обнаруживают антагонизм по отношению к микромицетам, обитающим в почве слабонарушенных естественных лесов. На фоне загрязнения снижается содержание бактериоидов. Аммонифицирующие бактерии обнаруживают полиморфизм. Олигонитрофильные бактерии характеризуются измельчением колоний и снижением жизнеспособного пула до уровня бедных почв. Обосновывается необходимость принятия срочных мер для сохранения природного микробного ресурса почв, участвующего в пополнении их азотом, фиксированным из атмосферы.

**Ключевые слова:** городские почвы; аэробные бактерии; азотфиксация; аммонификация; приспособительная изменчивость; городской лес.

V. S. Artamonova<sup>a</sup>, S. B. Bortnikova<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Soil Science and Agrochemistry, SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Trofimuk Institute of Petroleum Geology and Geophysics SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

### THE STATUS OF NITROGEN-FIXING BACTERIA IN SOILS OF URBAN FOREST

Researched nitrogen-fixing bacteria of soil of greenspace Novosibirsk Akademgorodok. The scientific centre was built in the mid-twentieth century and represented a mix of age-old tai-Ki, forest Park and the modern city. Natural landscapes and forests science centre отноsheny to object-there is cultural heritage of the region. Currently, increased recreational and transportation load-ing, which had a negative effect on forest condition. Undertaken a comprehensive study of the soil in which investigated aerobic free-living and symbiotic nitrogen-fixing bacteria of the soil. Determined the incidence and the rate of growth of *Azotobacter chroococcum*, the content of innespace-tion oligonitrophilic bacteria, the abundance and condition of *Bacillus mycoides*, the number of bacteroids in the roots of red clover. Analyzed the relationship of Azotobacter with Fusarium fungi. It is shown that in roadside ecosystems is observed the accumulation of copper, lead and zinc that negative-but affects the growth rate of azotobacteria. Strains of Azotobacter, identified from anthropogenic over-strongly contaminated soils exhibit antagonism against micromyctes inhabiting the soil, the SLA-binarysense natural forests. Against the background of pollution reduced content of bacteroids. Ammonium-pozirauschie bacteria detect the polymorphism. Oligonitrophilic bacteria are characterized by the grinding of colonies and decrease in the viable pool to the level of poor soils. The necessity for urgent measures to preserve the natural microbial resource of the soils, the participants in the replenishment of nitrogen fixed from the atmosphere

**Key words:** soils of the city; aerobic bacteria; nitrogen fixation; ammonification; antagonist; adaptive changeability; urban forest.

Современное состояние озелененных территорий разного типа, особенно в крупных городах

России, вызывает большую озабоченность в связи с сокращением сроков жизни деревьев, плохим об-

листвением крон. Городские леса сибирского мегаполиса – г. Новосибирска – в этом отношении не исключение. Особую обеспокоенность представляют лесные массивы научного центра, на территории которого в последние два десятилетия возросли рекреационные и транспортные нагрузки, увеличилась плотность административной и жилой застройки, что негативно отразилось на состоянии лесов Академгородка, которое оказалось порою катастрофическим [Таран, 2013].

С целью сохранения уникального объекта в марте 2014 г. управление по государственной охране объектов культурного наследия по Новосибирской обл. включило Академгородок вместе с его природными ландшафтами и лесами в перечень объектов культурного наследия региона [Здания и леса ...].

Новосибирский Академгородок был создан в середине XX в. по особому проекту как город-лес с чередованием жилых кварталов и массивов лесных насаждений, окружен широкими полосами сосновых боров и лесопарком Ботанического сада. При разработке Верхней зоны научного центра архитекторы вписали в естественный ландшафт административно-жилые комплексы и объекты озеленения с максимальным сохранением лесов. В середине 70-х гг. ХХ в. Академгородок представлял образец сочетания вековой тайги, лесопарка и современного города. К настоящему времени выявлено ухудшение состояния ценнейшего природоохранного объекта в связи с антропогенными нагрузками и отсутствием необходимых уходов за лесом, понизивших сопротивляемость деревьев к вредителям и возбудителям болезней. Среди приоритетов в ведении лесного хозяйства отмечается повышение плодородия почв и ограничение рекреационной и транспортной нагрузки. Особенно это касается лесов Верхней зоны и прилегающего к ней Пироговского лесного массива, которые расположены в границах традиционной территории Новосибирского научного центра. Здесь же расположен национальный научно-исследовательский университет, численность студентов которого в последние годы возросла.

С конца ХХ в. на данной территории были предприняты неоднократные попытки оценить экологическое и лесорастительное состояние почв. Были установлены изменения физико-химического статуса почв, выявлено локальное повышение содержания в них тяжелых металлов и токсичных микромицетов [Сысо, Смоленцев, Артамонова, 2013]. Установлено влияние автотранспортных и рекреационных нагрузок на альгологическую и микробиологическую характеристику почв, метаболическую активность аэробных азотфикссирующих микроорганизмов [Артамонова, 2002]. О снижении биогенного азота в городских почвах сообщалось и для других сибирских регионов [Напрасникова, Данько, 2000].

Цель данной работы – подробный анализ со-

стояния и развития свободноживущей азотфикссирующей бактерии *Azotobacter chroococcum*, запаса жизнеспособного пула олигонитрофильных бактерий, обилия аммонифицирующей бактерии *Bacillus mycoides* и содержания бактероидов на корнях бобовых растений. Интерес к бактероидам (клубеньковым бактериям) обусловлен тем, что они участвуют в симбиотической фиксации азота, поставляют биогенный азот растениям и педобиоте. О присутствии диазотрофных бактерий, включая *Azotobacter*, на поверхности корней растений и в соприкасающейся с ними почве сообщалось ранее [Блэк, 1973]. Азотобактер способен проявлять положительный хемотаксис к веществам корневых выделений [Mandimba, Heulin, Bally et al., 1986], может использовать экссудат корней как источник энергии и трофического материала. Однако сведений о поведении азотобактера в почвах лесных экосистем, испытывающих транспортное загрязнение и рекреационные нагрузки, недостаточно. Наряду с этим, нами проанализированы взаимоотношения азотобактера с фузариозными микромицетами, содержание которых в почвах сибирского мегаполиса велико [Артамонова, 2002; Артамонова и др., 2007; Артамонова, Лютых, Смирнова, 2009]. Антифунгальный эффект был выявлен ранее в почвах г. Перми [Артамонова, Еремченко, 2015]. В предлагаемой работе мы использовали те же подходы, что и для почв селитебно-транспортной зоны, прилегающей к Черняевскому лесу уральского мегаполиса.

## Материалы и методы исследования

В настоящей статье приведены результаты обследования почв лесных экосистем Верхней (центральной) зоны Новосибирского Академгородка и ее окрестностей. Территория зоны расположена на водораздельном плато, расчлененном овражно-балочной сетью, а ее окраины примыкают к пологому делювиальному шлейфу, граничащему с террасами р. Оби. На данной территории развиваются смешанные березово-сосновые травяные и сосновые леса с кустарниковым покровом.

По степени антропогенной нарушенности исследованные лесные массивы отнесены к слабо нарушенным естественным лесам и нарушенным лесам «буферной» зоны [Лашинский, Макунина, Мальцева, 2013].

В центральной части лесного массива, который представляет группу слабонарушенных лесов, на них выделен контрольный участок, как наименее подверженный антропогенным нагрузкам (точка № 4). Влияние выраженной рекреационной нагрузки на такие леса было изучено на участках, расположенных вблизи границ ЦСБС СО РАН, в районе р. Зырянка (точки № 10, 11). Воздействие транспортного загрязнения исследовано на примере придорожных лесных экосистем, испытывающих

преимущественное загрязнение автомобильными эмиссиями (точки № 2, 3). Также рассмотрено влияние припаркованного к окраине леса маршрутного автотранспорта (автостоянка, Цветной проезд). В последнем случае имеет место комплексное загрязнение лесных экосистем эмиссиями автотранспорта и горюче-смазочными материалами (точка № 5).

В группе нарушенных лесов «буферной» зоны изучены участки, расположенные вблизи институтов и административных учреждений по пр. Лаврентьеву. Все они в той или иной мере испытывают комплексное воздействие автотранспорта и рекреации (точки № 1, 8, 9).

Наряду с облесенными территориями, нами обследованы участки со следами сведенного леса: на въезде в Академгородок и в районе Технопарка (точки 6, 7). Места отбора почвенных образцов для бактериологического анализа представлены на картосхеме (рис. 1).

Для бактериологического анализа почвенные образцы отбирались с глубины 0–10 см согласно нормативным требованиям [Гигиеническая..., 1999]. В дальнейшем образцы почв просеивались через почвенное сито № 2. Полученная мелкоземистая фракция подвергалась бактериальному и химическому анализу. Определение встречаемости азотобактера в пробах мелкозёма определяли традиционным методом обрастаания комочеков [Красильников, 1958]. Предварительно пробу мелкозёма (около 2 мг каждая порция) в 50-кратном количестве помещали на твердую безазотистую питательную среду Эшби, находящуюся в чашках Петри, в 3–4-кратной повторности [Бабьева, Агре, 1971]. Чашки с мелкоземом, содержащим азотобактер, помещали в термостат на сутки при  $t = 28^{\circ}\text{C}$  [Сэти, 1983], поскольку рост азотобактера был активным. Через сутки содержимое чашки фотографировали, изображение переносили в программу «Corel», затем на экране монитора оконтуривали границы бактериального ореола вокруг комочка мелкозёма и границы самого комочка мелкозёма. С помощью заданных функций компьютерной программы определяли площадь того и другого.

Метод учета бактериальных обрастааний почвенных или мелкоземистых комочеков (масс, порций) наиболее приближен к естественным условиям [Алексеева, 2005]. Он обеспечивает выявление азотобактера и других бактерий в почвенных пробах даже при низком содержании микроорганизмов. Число обросших комочеков (частота колонизации, обилия) встречается в списке критериев оценки биологической активности почв [Методические указания..., 2003]. Показатель подавления (в процентах) числа обрастааний включен в список экологогигиенических показателей класса опасности

отходов производства и потребления [СП 2.1.7.1386-03].



Рис. 1. Карта-схема размещения точек отбора почвенных проб:

1 – лесная буферная зона между ИЯФ СО РАН и пр. Лаврентьеву; 2 – придорожная экосистема около леса, пр. Строителей; 3 – придорожная экосистема около леса, ИПА СО РАН; 4 – лес между ИПА СО РАН и ул. Пирогова; 5 – автостоянка около леса, Цветной проезд; 6 – придорожная экосистема, технопарк; 7 – придорожная экосистема на въезде в Академгородок на перекрестке Бердского шоссе и пр. Строителей; 8 – лесная буферная зона около ИНХ СО РАН; 9 – лесная буферная зона, ул. Терешковой; 10 – лес, около границы ЦСБС СО РАН, пойма р. Зырянки; 11 – лес, ул. Золотодлинская, берег р. Зырянки

В последние годы показатель встречаемости азотобактера (по числу обрастааний) используют в индикации химического загрязнения почвы [Мынбаева, Курманбаев, Воронова, 2011], выявлении изменений биологических свойств почв, загрязненных тяжелыми металлами [Капралова, 2012], в оценке экологического состояния почв, загрязненных нефтепродуктами и тяжелыми металлами [Феоктистова, 2012], в оценке токсичности антигололедных средств [Коньшина, 2014]. Однако учет ореола роста азотобактера вокруг почвенных комочеков производится редко в силу технических сложностей. Мы заимствовали компьютерный подход, распространенный в картографическом учете видов (площадей). Запас жизнеспособных олигонитрофильных бактерий рассчитывали по

числу колонисобразующих единиц (КОЕ) на среде Мишустиной [Клевенская, 1985].

Для учета встречаемости аммонифицирующей бактерии *Bacillus mycoides* использовали метод обраствания мелкоземистых комочеков, предварительно размещенных на мясопептонном агаре (МПА) [Мишустин, 1972]. Регистрировали частоту обраствания мелкозёма бактерией и полиморфность её колоний.

Содержание бактериондов определяли на корнях клевера красного летом и осенью. С этой целью растения выкапывались (по 4 штуки в каждом конкретном случае), и в лабораторных условиях учитывалось число присутствующих на корнях клубеньков.

Для выявления отсутствия или присутствия антагонизма между азотбактером и микромицетами использовали метод «почвенного сэндвича» и метод «подсадки» [Сэги, 1983], когда на газон микромицетов или рядом с ним помещаются диски культуры бактерии.

Содержание химических элементов определяли методом РФА-СИ для твердых проб на станции ВЭПП-3 Института ядерной физики СО РАН. Предварительно почвенные пробы высушивали при комнатной температуре, затем измельчали до размера менее 0.1 мм. Порция порошка 30 мг спрессовывалась в таблетки диаметром 10 мм при давлении 100 кг/см<sup>2</sup>. Измерения проведены при энергии активации 30 keV. Применялся метод внутренних стандартов. Обработка эмиссионных спектров проводилась с помощью программы AXIL. Стандартные образцы СГХМ-4, СДО-4и РУС-1 выбирались в качестве образцов сравнения [Ариятуров, 1990]. Чувствительность определения элементов на базе СИ – 0.1 г/т. Результаты исследований обрабатывались с применением математической статистики и корреляционного анализа (программы Statistica 6.0).

## Результаты и их обсуждение

Исследованные почвы относятся по показателям состава и свойств поверхностных горизонтов (табл. 1) в среднем к слабокислым, мало- и среднегумусовым, супесчаным дерново-подзолистым. Это предполагает их малую устойчивость к основным видам антропогенного воздействия, имеющим место на территории Академгородка.

Наши исследования показали, что в почвах исследованных слабонарушенных лесов и нарушенных лесов «буферной» зоны азотбактер и олиго-нитрофильные бактерии обнаружены повсеместно. Встречаемость азотбактера – 100%-ная. Присутствие ореола роста бактерии вокруг мелкоземистых частиц независимо от места отбора пробы постоянно регистрировалось через 24 ч. (n=150), что свидетельствует о высокой скорости размно-

жения азотбактера. Однако в точке № 5, где существует комбинированное воздействие транспортного загрязнения, и в точках № 6, 7, где лес ранее был сведен, рост азотбактера ослаблен (рис. 2). В почве контрольного участка (точка № 4) и почвах нарушенных лесов «буферных» зон (точки № 1–3) азотбактер развивается лучше. Средние статистические значения площади бактериального ореола вокруг мелкозема в точках № 5, 6, 7 составляют 142.8–154.7 мм<sup>2</sup>, в то время как в точках № 1–4, диапазон шире: 121.3–163.1 мм<sup>2</sup> (табл. 2). Можно предположить, что в последней группе точек отбора проявилось позитивное влияние леса.

Таблица 1  
Статистические показатели состава и свойств поверхностных горизонтов (или слоев) почв ННЦ (n=117) [Сысо, Смоленцев, Артамонова, 2013]

Показатель	Пределы значений		$M \pm \sigma$	v, %
	min	max		
pH водный	4.48	8.00	6.62±0.81	12
pH солевой	3.99	7.98	6.13±1.16	19
Гумус, %	0.29	13.16	3.26±2.29	70
Физическая глина, %	1.69	27.3	12.19±5.17	42

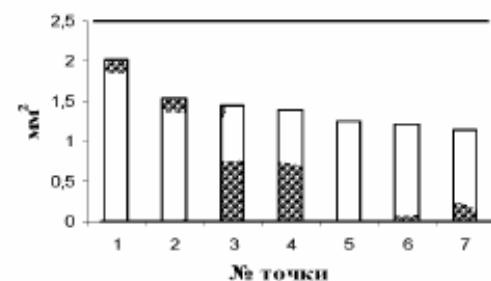


Рис. 2. Рост азотбактера вокруг 1 мм<sup>2</sup> мелкозёма, сут.:

1 – лесная буферная зона между ИЯФ СО РАН и пр. Лаврентьева; 2 – придорожная экосистема около леса, пр. Строителей; 3 – придорожная экосистема около леса, ИПА СО РАН; 4 – лес между ИПА СО РАН и ул. Пирогова; 5 – придорожная экосистема около леса, Цветной просезд, автостоянка; 6 – придорожная экосистема, технопарк; 7 – придорожная экосистема на въезде в Академгородок на перекрестке Бердского проспекта и пр. Строителей

Диапазон средних величин площади мелкозема имеет схожую тенденцию. В точках № 5–7 он составляет 163.1–192.9 мм<sup>2</sup>, в то время как в точках № 1–4, он шире: 186.0–254.5 мм<sup>2</sup>. Суммарная площадь мелкозема и ореола в точках № 5–7 составила 306–348 мм<sup>2</sup>, в то время как в точке № 3 достигла максимума – 398 мм<sup>2</sup>. Следовательно, техногенное загрязнение, которое имеет место на участке парковки автотранспорта и на участках сведения леса, негативно отражается на жизнедея-

тельности азотбактера. Судя по данным вероятности равенства средних значений (табл. 3), полученные результаты обнаруживают достоверные различия. Следует сказать, что некоторые данные

оказались ниже порога значимости при достаточно низкой ошибке. Можно допустить, что с увеличением выборки они могут превзойти выбранный порог значимости.

Таблица 2

## Статистические показатели роста азотбактера, сут., n=150

№	S	M±σ	v, %	Доверительный интервал		НСР p0,05
				-95,0%	+95,0%	
1	O	126.4±19.0	15.0	118.7	134.1	7.7
	M	254.5±45.6	17.9	243.9	265.1	10.6
	K	380.9±157.5	15.1	375.2	386.6	5.7
2	O	121.3±21.1	17.4	89.3	153.2	32.0
	M	186.0±51.9	27.9	131.3	240.7	54.7
	K	307.3±68.4	22.3	220.7	393.9	86.6
3	O	163.1±27.9	17.1	145.1	181.1	18.0
	M	235.4±38.3	16.3	210.7	260.1	24.7
	K	398.4±55.2	13.8	356.3	440.5	42.1
4	O	150.9±21.4	14.2	129.6	172.2	21.3
	M	209.6±37.7	18.0	178.9	240.3	30.7
	K	360.4±50.0	13.9	308.4	412.5	52.0
5	O	154.7±20.7	13.4	135.9	173.5	18.8
	M	192.9±41.9	21.7	168.8	216.9	24.1
	K	347.6±52.8	15.2	304.8	390.4	42.8
6	O	146.0±24.3	16.6	100.3	191.7	45.7
	M	178.0±38.6	21.7	121.5	234.4	56.4
	K	324.0±59.4	18.3	221.9	426.1	102.1
7	O	142.8±28.3	19.8	96.3	189.4	46.6
	M	163.1±41.6	25.5	109.5	216.7	53.6
	K	306.0±60.7	19.8	206.0	405.9	100.0

Примечание. № – номер точки отбора пробы; S – площадь,  $\text{мм}^2$ ; O – площадь ореола бактерий; M – площадь мелкозёма; K – суммарная площадь (O+M).

Таблица 3

## Вероятность равенства средних значений площади бактериального ореола

№	1	2	3	4	5	6	7
1		0.62	0.00*	0.03*	0.01*	0.07	0.12
2	0.62		0.00*	0.01*	0.00*	0.02*	0.05*
3	0.00*	0.00*		0.25	0.42	0.11	0.06
4	0.03*	0.01*	0.25		0.71	0.64	0.44
5	0.01*	0.00*	0.43	0.71		0.41	0.26
6	0.07	0.02*	0.11	0.64	0.41		0.76
7	0.12	0.05*	0.06	0.44	0.26	0.76	

Примечание. № – номер точки отбора пробы; \* – достоверное различие,  $p = 0.05$ .

Ингибируют рост азотбактера группа тяжелых металлов, содержание которых, судя по геохимическому анализу почвенных проб, возрастает в присутствии техногенного загрязнения, особенно в точке № 5 (табл. 4). Здесь повышенное содержание Cu, Zn, Pb. Вместе с тем, выявленные концентрации тяжелых металлов соответствует диапазону ПДК и ОДК, приведенному ранее для почв данной территории [Богуславский, Зольников, Лямина, Сысо, 2013], а также не выходят за пределы кларковых значений для городских почв [Алексеенко и Алексеенко, 2013].

Сравнение скорости роста азотбактера летом и осенью в прикорневой зоне клевера красного по данным площади ореола вокруг мелкозема обна-

ружило схожую тенденцию негативного влияния транспортного загрязнения на бактерию (рис. 3). При этом содержание бактериондов в летний период имело четкую обратную зависимость (табл. 5). Осенью же содержание бактериондов на корнях клевера красного в обстановке техногенного загрязнения заметно снизилось, но тенденция роста азотбактера осталась прежней. Осенью бактериоиды побурели, стали сплющенными в виде бляшек размером около 0.3–0.5 мм, в то время как в отсутствии транспортного загрязнения они оставались бледно-розовыми, округлыми и меньшего размера (около 0.1 мм).

Можно предположить, что техногенное загрязнение привело к ускоренному старению клубень-

ков, потеряв ими способности фиксировать атмосферный азот, снижению запаса азотистых соединений вокруг них.

Таблица 4

**Геохимический состав в поверхностном слое (0-10 см) почв ННЦ, мг/кг (по данным РГА-СИ, аналитик Ю.П. Колмогоров)**

Элемент	№ пробы			Кларк*
	4	2	5	
K, %	1.26	1.04	1.0	1.34
Ca, %	1.35	6.44	6.91	5.38
Mn, %	0.081	0.051	0.032	0.073
Fe, %	2.07	1.54	1.40	2.23
V	58	35	29	100
Cr	47	47	56	290
Ni	29	39	28	33
Cu	14	20	44	39
Zn	55	62	93	160
Pb	13	18	53	55
Ga	10	7.9	9.4	16
Ge	1.2	1.9	2.8	1.8
Rb	58	44	41	58
Sr	150	140	150	460
Y	38	24	12	23
Zr	182	88	87	260
As	5.0	12	<0.01	16
Mo	2.0	1.8	3.9	2.4

\* – по данным В.А. Алексеенко и А.В. Алексеенко [2013].

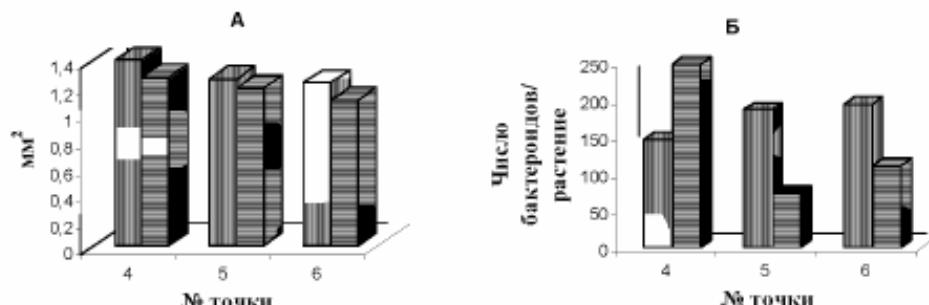


Рис. 3. Рост азотобактера в присутствии бактероидов на корнях клевера красного (n=4):

4 – лес между ИПА СО РАН и ул. Пирогова; 5 – придорожная экосистема около леса, Цветной проезд; 6 – придорожная экосистема, технопарк. А – площадь ореола азотобактера вокруг 1мм<sup>2</sup> мелкозёма, сут.; Б – число бактероидов на 1 растение; ■ – лето, □ – осень

Таблица 5

**Статистические показатели содержания бактероидов на корнях клевера красного (в шт./растение), n=4**

№ точки	Время отбора	Пределы значений, min-max	M±σ	HCP0, 05
4	Л	135-155	144±8.5	13.59
	О	230-265	246±14.9	23.76
5	Л	150-220	185±31.1	49.47
	О	65-82	72±7.8	12.42
6	Л	175-205	193±13.2	21.05
	О	95-115	109±9.5	15.06

Примечание. Л – лето, О – осень.

Анализ олигонитрофильных бактерий показал, что пул колониеобразующих единиц во всех исследованных почвенных пробах остается на уровне экологической значимости [Звягинцев, 1987], но

на уровне бедных и очень бедных почв [Звягинцев, 1991]. Наибольший пул жизнеспособных бактерий обнаружен в точке № 5 (рис. 4), в остальных случаях он ниже. В составе жизнеспособного пула

олигонитрофильных бактерий во всех ситуациях присутствуют карликовые формы, что свидетельствует об остром дефиците биогенного азота в почве.

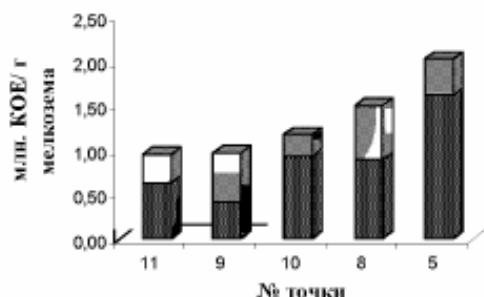


Рис. 4. Жизнеспособный пул олигонитрофильных бактерий, млн. КОЕ/г мелкозёма:

■ – типичные формы, ■ – карликовые формы.  
Точки отбора проб: 5 – придорожная экосистема около леса, Цветной проезд; 8 – лесная буферная зона около ИНХ СО РАН; 9 – лесная буферная зона, ул. Терешковой; 10 – лес, около границы ЦСБС СО РАН, пойма р. Зырянки; 11 – лес, ул. Золотодолинская, берег р. Зырянки

Он формируется уже на этапе аммонификации азотсодержащих соединений вследствие роста *Bacillus mycoides*, не способной утилизировать минеральный азот. Встречаемость этой бактерии 100%-ная, причем этот потребитель аммонийного азота фенотипически изменен: в техногенно загрязненной среде обитания он имеет выраженную ризоидную структуру колоний в отличие от типичной нитчатой формы.

Подобная адаптация бациллы к техногенному загрязнению была обнаружена нами в почвах, прилегающих к автомагистралям г. Перми [Артамонова, Еремченко, 2015]. Что касается компенсации биогенного азота с экзометаболитами азотобактера, то, скорее всего, она замедлена, поскольку в присутствии Cu и Fe, которых в наших пробах немало (см. табл. 4), скорость распада этих органических соединений может снижаться до 50% [Тейт, 1991].

Выявленные взаимоотношения азотобактера с фузариозными грибами неоднозначны. Штаммы азотобактера, выделенные из почв с техногенным загрязнением, в присутствии микромицетов этих же почв, не проявили антифунгальный эффект.

Однако эти же штаммы азотобактера в присутствии микромицетов, выделенных из контрольного участка, характеризуются ускоренным ростом и выраженным разрушением поверхности колонии грибов. Агрессивный характер азотобактера, в данном случае, обусловлен, скорее всего, приобретенной адаптацией к токсичной среде обитания. Выживанию и росту бактерии в техногенной среде способствует ослизниение и пигментирование, а

также продукты распада углеводородных соединений, разлагаемых микромицетами [Билай, Коваль, 1980]. В свою очередь, микромицеты сами используют азотистые соединения азотобактера. Ускоренный рост азотобактера в присутствии техногенного загрязнения – это, возможно, проявление его экологической тактики. Подобная способность увеличивать радиальный рост колоний выявлена для актиномицетов [Соловьева, 2015] в городских условиях обитания.

### Заключение

Таким образом, свободноживущие и симбиотические азотфиксировавшие бактерии почв слабонарушенных и нарушенных «буферных» лесов обнаруживают ухудшение состояния при техногенном загрязнении среды обитания. Наибольшее снижение роста азотобактера выявлено на фоне комплексного загрязнения почв автомобильными эмиссиями и горюче-смазочными маслами. Содержание тяжелых металлов (Cu, Pb, Zn) в поверхностном слое (0–10 см) возрастает суммарно в 2.6 раза по сравнению с контрольным лесным участком. Поведение азотобактера на фоне данного загрязнения аналогично таковому в придорожных участках со сведенным лесом. В нарушенных «буферных» лесах воздействие автомобильных эмиссий и рекреационной нагрузки оказывает меньшее воздействие на рост азотобактерии.

Снижение развития азотобактерий негативно отражается на запасе в почвах всех лесов жизнеспособных олигонитрофильных бактерий. Их пул соответствует бедным и очень бедным почвам, хотя и сохраняет экологическую значимость. Этому способствует полиморфизм бактерий, выживание их в преданабиотическом состоянии, о чём свидетельствует измельчение колоний до «карликовых» форм. Диссоциирование обнаружено также у диазотрофных и аммонифицирующих бактерий. Культурально-морфологические изменения азотобактера в техногенно загрязненной почве выражаются в ослизнении и пигментировании колоний. Особенностью диссоциированных штаммов является отсутствие антифунгального эффекта в присутствии фузариозных микромицетов и выраженный antagonизм по отношению к грибам контрольного лесного участка.

Таким образом, адаптация азотобактерий к техногенному загрязнению лесных местообитаний обеспечивает им высокую встречаемость. Однако развитие бактерий ослаблено, что не способствует пополнению почв биогенным азотом, необходимым корням растений. Для улучшения качества среды обитания диазотрофных бактерий и повышения их азотфиксацией активности необходимо ограничить техногенные нагрузки в пределах

транспортно-коммуникационных сообщений. Сохранение природного микробного ресурса,участвующего в пополнении почв азотом, фиксированным из атмосферы, будет способствовать устойчивости деревьев лесных экосистем к антропогенным нагрузкам и фитопатогенам.

### Библиографический список

- Алексеева А.Е. Физиолого-биохимическая активность и биоразнообразие штаммов *Azotobacter chroococcum*, выделенных из почв Нижегородской области: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород, 2005. 24 с.
- Алексеенко В.А., Алексеенко А.В. Химические элементы в геохимических системах. Кларки почв селитебных ландшафтов. Ростов н/Д: Изд-во ЮФУ, 2013. 388 с.
- Арнаутов Н.В. Стандартные образцы химического состава природных минеральных веществ: метод рекомендации. Новосибирск: Изд-во ИГ СО РАН, 1990. 220 с.
- Артамонова В.С. Микробиологические особенности антропогенно преобразованных почв Западной Сибири. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. 225 с.
- Артамонова В.С., Еремченко О.З. Адаптивные признаки *Azotobacter chroococcum* Beiyrinck и *Bacillus mycoides* Flügge в городских почвах // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2015. Вып. 2. С. 158–166.
- Артамонова В.С., Бортникова С.Б., Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Смирнова Н.В., Шапорина Н.А. Микробные комплексы почв урбанизированных территорий // Сибирский экологический журнал. 2007. Т. 14, № 5. С. 797–808.
- Артамонова В.С., Лютьих И.В., Смирнова Н.В. Биогенные экотоксиканты городских почв // Сибирский экологический журнал. 2009. Т. 16, № 2. С. 269–277.
- Бабьева И.П., Аре Н.С. Практическое руководство по биологии почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1971. С. 106.
- Блэк К.А. Растение и почва. М.: Колос, 1973. 503 с.
- Билай В.И., Коваль Э.З. Рост грибов на углеводородах нефти. К.: Наук. думка, 1980. 340 с.
- Богуславский А.Е., Зольников И.Д., Ламина А.В., Сысо А.И. Геохимическая характеристика территории // Динамика экосистем Новосибирского Академгородка. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2013. С. 44–54.
- Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест: метод. указания. М., 1999. 38 с.
- Заягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987. 256 с.
- Заягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 304 с.
- Здания и леса Академгородка стали объектами культурного наследия. URL: <http://news.ngs.ru/more/1715888>.
- Клевенская И.Л. Олигонитрофильные микроорганизмы почв Западной Сибири. Новосибирск: Наука, 1974. 250 с.
- Каправова О.А. Изменение биологических свойств почв г. Ростова-на-Дону при загрязнении тяжелыми металлами: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ростов н/Д, 2012. 24 с.
- Коньшина С.М. Оценка токсичности антигололедных средств методом биотестирования // Антропогенная трансформация природной среды. Научные чтения памяти Н.Ф. Реймерса и Ф.Р. Штильмарка. Пермь, 2014. С. 60–63.
- Красильников Н.А. Микроорганизмы почв и высшие растения. М.: Изд-во АН СССР, 1958. С. 71–106, 196–197.
- Лащинский И.Н., Макунина Н.И., Мальцева Т.В. очерк растительности // Динамика экосистем Новосибирского Академгородка. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2013. С. 85–104.
- Методические указания по проведению комплексного мониторинга плодородия почв сельскохозяйственного назначения. М., 2003. С. 82.
- Министрин Е.Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия. М.: Наука, 1972. 343 с.
- Мынбаева Б.Н., Курманбаев А.А., Воронова Н.В. Микробная бионидикация почв г. Алматы с помощью культуры *Azotobacter* // Fundamental research. 2011. № 6. С. 206–209.
- Напрасникова Е.В., Данько Л.В. Экологобиохимическое состояние почвенного покрова урбанизированных территорий // Геохимическая экология и биогеохимическое изучение таксонов биосфера: материалы 3-й Рос. биогеохим. школы. Новосибирск, 2000. С. 125–126.
- Соловьева Е.С. Экологические особенности актиномицетовых комплексов в городских почвах: дис. ... канд. биол. наук. Киров, 2014. 175 с.
- СП 2.1.7.1386-03. Почва, очистка населенных мест. Отходы производства и потребления. Определение класса опасности токсичных отходов производства и потребления. М., 2003. 15 с.
- Сээн Й. Методы почвенной микробиологии. М.: Колос, 1983. 296 с.
- Сысо А.И., Смоленцев Б.А., Артамонова В.С. Почвенный покров и его антропогенная трансформация // Динамика экосистем Новосибирского Академгородка. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2013. С. 55–74.
- Таран И.В. Проблема сохранения лесов и объектов зеленого строительства // Динамика экосистем Новосибирского Академгородка. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2013. С. 9–15.
- Тейт Р. Органическое вещество почвы: биологические и экологические аспекты. М.: Мир, 1991. С. 259–270.
- Феоктистова И.Д. Оценка экологического состояния

- почв урбанизированных территорий, загрязненных нефтепродуктами и тяжелыми металлами: (на примере г. Владимира): автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владимир, 2012. 22 с.
- Mondimba G., Heulin T., Bally R., Guckert A., Balandreau J. Chemotaxis of free-living nitrogen-fixing bacteria towards maize mucilage // Plant Soil. 1986. Vol. 90. P. 129.
- References**
- Alekseeva A.E. Fiziologo-biochimicheskaja aktivnost' i bioraznoobrazie štammov *Azotobacter chroococcum*, vydelennykh iz počv Nizhegorodskoj oblasti. Avtoref. diss. kand. biol. nauk [The physiological and biochemical activity and biodiversity of strains of *Azotobacter chroococcum* isolated from soil of the Nizhniy Novgorod region. Abstract Ph. D.J. Nizhniy Novgorod, 2005. 24 p.
- Alekseenko V.A., Alekseenko A.V. Khimicheskie elementy v geochemicheskikh sistemakh. Klarki počv selitebnykh landshaftov [Chemical elements in geochemical systems. Clarke of soil in residential territories. Rostov-on-Don. PH SFU, 2013. 388 p.
- Arnautov N.V. Standartnye obrazzi himicheskogo sastava prirodnih mineralnyh vechestv. The methodical recommendation [The standard samples of chemical composition of natural mineral substances. Guidelines]. Novosibirsk: Nauka, PH IGG SB RAS, 1990. 220 p. (In Russ.)
- Artamonova V.S. Mikrobiologicheskie osobennosti antropogenno preobrazovannyh počv Zapadnoj Sibiri [Microbiological features of anthropogenically transformed soils of Western Siberia]. Novosibirsk, Siberian branch of the RAS Publ., 2002. 222 p. (In Russ.)
- Artamonova V.S., Bortnikova S.B., Ivshina I.B., Kamenskikh T.N., Smirnova N.V., Shaporina N.A. [Microbial complexes of soils in urbanized areas]. Sibirskij ekologicheskij žurnal. V. 14, N 5 (2007): pp. 797-808. (In Russ.)
- Artamonova V.S., Eremchenko O.S. [Adaptive characteristics of *Azotobacter chroococcum* Beijerinck and *Bacillus mycoides* Flugge in urban soils]. Vestnik Permskogo universiteta. V. 2. (2015): pp. 158-166. (In Russ.).
- Artamonova V.S., Ljutych I.V., Smirnova N.V., Shaporina N.A. [Biogenic toxicants urban soils complexes of soils in urbanized areas]. Sibirskij ekologicheskij žurnal. V. 16, N 2 (2009); pp. 269-277. (In Russ.).
- Bab'eva I.P., Agre N.S. Prakticheskoe rukovodstvo po biologii počv [A practical Handbook on the biology of soils]. Moscow, Moscow University Publ., 1971. 106 p. (In Russ.).
- Bilay V.I., Koval E.S. Rost gribov na uglevodorodach nefti [The growth of fungi on petroleum hydrocarbons]. Kiev: Naukova Dumka Publ., 1980. 340 p. (In Russ.).
- Blek K.A. Rastenie i počva [Plant and soil]. Moscow, Kolos Publ., 1973. 503 p. (In Russ.).
- Boguslavskii A.E., Zolnikov I.D., Lyamina A.V., Syso A.I. [Geochemical characteristics of territories]. Dinamika ekosistem Novosibirskogo Akademgorodoka [Dynamics of ecosystems of Novosibirsk Academgorodok]. Novosibirsk: SB RAS Publ., 2013, pp. 44-54. (In Russ.).
- Buildings and forests of Akademgorodok became the objects of cultural heritage. Available at: <http://news.ngs.ru/more/1715888>. (In Russ.).
- Hygienic assessment of soil quality residential areas: Guidelines. Moscow, 1999. 38 p. (In Russ.).
- Zvyagintsev D.G. Pochva i mikroorganizmy [The soil and microorganisms]. M.: MSU Publ., 1987. 256 p. (In Russ.).
- Zvyagintsev D.G. Metody pochvennoy mikrobiologii i biokhimii [Methods of soil microbiology and biochemistry]. M.: PH MSU, 1991. 304 p. (In Russ.).
- Feoktistova I.D. Ocena ekologicheskogo sostojaniya počv urbanizirovannyh territorij, zagrjaznennyh nefteproduktami i tjaželyimi metallami: (na primere g. Vladimir). Avtoref. diss. kand. biol. nauk [Assessment of the ecological state of soils in urbanized areas polluted with oil products and heavy metals: (on the example of Vladimir). Abstract Ph.D.J. Vladimir, 2012. 22 p. (In Russ.).
- Klevenskaya I.L. Oligonitrofil'nye mikroorganizmy počv Zapadnoi Sibiri [Oligonitrophilous soil microorganisms of Western Siberia]. Novosibirsk: Nauka Publ., 1974. 250 p. (In Russ.).
- Kapralova O.V. Izmenenie biologicheskikh svojstv počv g. Rostova-na Donu pri zagrjaznenii tjaželyimi metallami. Avtoref. diss. kand. biol. nauk [The change of biological properties of soils of Rostov-on-Don at pollution with heavy metals. Abstract Ph.D.J. Rostov-on-Don, 2012. 24 p. (In Russ.).
- Kon'sina S.M. [Evaluation of the toxicity of antiicing means by the method of biotesting] Antropogen-naja transformacija prirodnoj sredy. Naumečtenija pamjati N.F. Rejmersa i F.R. Stilmarka [Anthropogenic transformation of the natural environment. Scientific readings in memory of N.F. of Reimers and F.R. Shtilmark: proceedings of the international School-seminar of young]. Perm, 2014, pp. 60-63. (In Russ.).
- Krasil'nikov N.A. Mikroorganizmy počv v vyssie rastenija [The soil microorganisms and higher plants]. Moscow, AN USSR Publ., 1985, pp. 71-106, 196-197. (In Russ.).
- Lashchinskiy N.N., Makunina N.I., Maletseva T.V. [The essay of vegetation]. Dinamika Ecosystem Novosibirskogo Akademgorodoka [Dynamics of ecosystems of Novosibirsk Academgorodok]. Novosibirsk: SB RAS Publ., 2013, pp. 44-54. (In Russ.).

- Russ).
- Mandimba G., Heulin T., Bally R., Guckert A., Balandreau J. Chemotaxis of free-living nitrogen-fixing bacteria towards maize mucilage. *Plant and Soil*, V. 90, (1986); pp. 129.
- Metodičeskie ukazanija po provedeniju kompleksnogo monitoringa plodorodija počv sel'skochozjajstvennogo naznačenija* [Methodical instructions on carrying out comprehensive monitoring of soil fertility for agricultural purposes]. Moscow: Rosinform agrotech Publ., 2003. 82 p. (In Russ.).
- Mishustin E.N. *Mikroorganizmy i produktivnost' zemledelija* [Microorganisms and productivity of agriculture]. Moscow, Nauka Publ., 1972. 343 p. (In Russ.).
- Mynbaeva B.N., Kurnmanbaev A.A., Voronova N.V. [Microbial bioinoculation of soil Almaty with *Azotobacter* culture]. *Fundamental research*. N 6 (2011); pp. 206-209. (In Russ.).
- Naprasnikova E.V., Danko L.V. [Ecological and geochemical state of soil on urbanized areas] *Geokhemiceskay ekologija i biogeokhemiceskoe izuchenie taksonov biosfery* [Geochemical ecology and biogeochemical investigation of the biosphere taxa: Proceedings of 3<sup>rd</sup> Russian biogeochemical workshop]. Novosibirsk, 2000, p. 125 – 126. (In Russ.).
- Solovyeva E.S. *Ecologicheskie osobennosti aktinomizotovikh kompleksov v gorodskikh počvakh*. Diss.
- kand.biol.nauk* [Ecological features of actinomycetes complexes in urban soils. Ph.D. biol. sci.]. Kirov, 2014. 175 p. (In Russ.).
- Sanitary rules venture 2.1.7. 1386-03. Soil, cleaning of populated areas. Wastes of production and consumption. The definition of the hazard class of toxic wastes of production and consumption. Moscow, 2003. 15 p. (In Russ.).
- Ségi J. *Metodi počvennoj mikrobiologii* [Methods of soil Microbiology]. Moscow, Kolos Publ., 1983. 293 p. (In Russ.).
- Sysko A.I., Smolentsev B.A., Artamonova V.S. [The soil cover and its anthropogenic transformation] *Dinamika ecosystem Novosibirskogo Akademgorodka* [Dynamics of ecosystems of Novosibirsk Academgorodok]. Novosibirsk, SB RAS Publ., 2013, pp. 55-74. (In Russ.).
- Taran I.V. [The problem of conservation and green building objects] *Dinamika ecosystem Novosibirskogo Akademgorodka* [Dynamics of the Novosibirsk Akademgorodok ecosystems]. Novosibirsk: SB RAS Publ., 2013, pp. 9-15. (In Russ.).
- Tejt R. *Organicheskoe veščestvo počv: biologičeskie i ēkologičeskie aspekty* [Soil organic matter: biological and ecological aspects]. Moscow, Mir Publ., 1991. pp. 259-270. (In Russ.).

Поступила в редакцию 14.03.2016

#### Об авторах

Артамонова Валентина Сергеевна, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории рекультивации почв Институт почвоведения и агрохимии СО РАН 630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8/2; artamonova@issa.nsc.ru; (383)3639031

Бортникова Светлана Борисовна, доктор геолого-минералогических наук, профессор Институт нефтегазовой геологии им. А.А. Трофимука, СО РАН 630090, Новосибирск, пр. Коптюга, 3; bortnikovasb@ipgg.sbras.ru; (383)3309536

#### About the authors

Artamonova Valentina Sergeevna, doctor of biology, dozent, senior researcher laboratory of recultivation soils  
Institute of Soil Science and Agrochemistry, SB of the RAS. 8/2, Lavrentjev pr., Novosibirsk, Russia, 630090; artamonova@issa.nsc.ru; (383)3639016

Bortnikova Svetlana Borisovna, doctor of geology, professor  
Trofimuk Institute of Petroleum Geology and Geophysics SB RAS. Russia, Novosibirsk, pr. academician Koptug, 3, 630090; bortnikovasb@ipgg.sbras.ru; (383)3309536