



УДК 579.23; 579.22; 579.083.13; 579.64

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКРОМИЦЕТОВ В ПОЧВАХ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ АКВАТОРИИ КАЗАХСТАНСКОГО СЕКТОРА КАСПИЙСКОГО МОРЯ

Н.Л. Нечай, Ж.Б. Орозалиева, О.Н. Хапилина, А.К. Турганбаева,
А.А. Курмантаева, Л.Ф. Созинова

Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан КН МОН РК, г. Астана
e-mail: lbps@biocenter.kz

В статье представлены результаты определения количества микроскопических грибов в почвах Каспийской акватории. Выявлено различное количество микромицетов в точках отбора проб в зависимости от загрязнения почв нефтью в районах месторождений. Состав микромицетов на участках со значительным нефтяным загрязнением был скудным и представлен в основном родами *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*. Наиболее часто встречались представители рода *Aspergillus*, они отмечены во всех исследованных образцах почвы. Практически во всех образцах почвы обнаружены грибы родов *Alternaria* и *Fusarium*. Грибы рода *Trichoderma* отмечены только в почве месторождения «Кульсары».

Введение

Прикаспийский регион Казахстана располагает ценными биологическими ресурсами, значительным минерально-сырьевым потенциалом и, в связи с особенностями географического расположения, имеет исключительно важное стратегическое значение не только в экономике, но и во внешней политике страны. Увеличение объемов добычи полезных ископаемых, в частности нефти, неизбежно сопровождается возрастанием масштабов загрязнения окружающей среды. Биоиндикаторами степени загрязнения могут служить почвенные микроорганизмы, которые, как компонент наземной экосистемы, испытывают на себе его действие и наиболее чутко реагируют на любое изменение условий среды обитания. Грибы – большая группа организмов, численность которой достигает примерно 100 тысяч видов. Они играют большую роль в природе и жизни человека [1]. Микроскопические грибы (микромицеты) и сапротрофные спорообразующие бактерии (бациллы) – обычные обитатели почв и участвуют в процессах, связанных с разложением органических субстратов [2]. Грибы являются жизненно необходимым компонентом для функционирования и саморегулирования наземных и водных экосистем Земли и ее биосферы. По сравнению с другими организмами грибы

считаются более устойчивыми к действию токсических веществ, имеют высокий адаптационный потенциал, способны нейтрализовать некоторые токсические соединения. Поэтому в систему оценки техногенных воздействий целесообразно включать комплекс микологических показателей [3]. Антропогенное загрязнение уменьшает видовое разнообразие на территории Каспийского бассейна, в том числе и видовое разнообразие почвенных микроорганизмов. В связи с этим, представляет интерес изучение микобиоты в загрязненных нефтью, тяжелыми металлами почвах. Проведенные исследования позволят провести скрининг биохимических свойств, молекулярных признаков микроорганизмов, провести сравнительный анализ распространения микромицетов на территории Прикаспийского региона. Полученные данные могут использоваться в последующем для разработок технологий восстановления загрязненных в результате человеческой деятельности экосистем в Каспийском регионе.

Материалы и методы

Исследования микобиоты почв акватории северной части Каспийского моря с дельтами рек Урал и Кигач, входящих в состав Государственной заповедной зоны, проводились в 2008–2009 годах



в рамках НТП «Комплексное эколого-эпидемиологическое обследование биоценоза Каспийской акватории и разработка мер по его оздоровлению».

Образцы почв отбирали в ходе маршрутных обследований в следующих географических точках: г. Атырау, с. Доссор, с. Сарыкамыс, с. Жанбай, месторождения «Сагиз», «Кошкар», «Комсомольское», «Кульсары», «Косчагыл», «Каратон» и др.

Выделение и учет микромицетов осуществлялись стандартными микологическими методами [4, 5].

Выделение сапротрофных микромицетов осуществляли на плотных питательных средах (Чапек, картофельном агаре), подкисленных для подавления роста бактерий, методом последовательных разведений (глубинного посева). Численность выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на вес сухой почвы. Микробиологический анализ проводился в 5 повторностях. Для идентификации родового состава грибов использованы определители [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

Результаты исследований

В качестве биоиндикаторов экосистем сейчас часто используют наиболее быстро реагирующие на изменение окружающей среды биоиндикаторы микроорганизмы. Их развитие и активность находятся в прямой связи с составом органических и неорганических веществ в среде обитания, так как микроорганизмы способны разрушать соединения естественного и антропогенного происхождения. На этом основаны принципы биоиндикации с использованием микроорганизмов. Для оценки состояния почв в загрязненных нефтью и тяжелыми металлами необходимо иметь сведения о составе, количестве и функциональной активности последних. В результате анализа количества колониеобразующих единиц установлено, что микромицеты распределялись в почве участков прибрежной зоны неравномерно. Наибольшее

количество отмечалось в почвах города Атырау и села Жанбай – 1,03 и 2,581 тыс. КОЕ/г соответственно (рисунок 1). В почвах месторождения «Комсомольское» количество грибов на порядок ниже, чем в почвах г. Атырау, и составляет 0,026 тыс. КОЕ/г. Незначительное количество микромицетов отмечено и в почвенных образцах села Доссор, месторождения «Сагиз», месторождения «Кульсары». При анализе почвенных образцов наблюдается тенденция снижения численности микромицетов в почвах месторождений. Это связано с интенсивностью загрязнения почв в результате антропогенного воздействия.

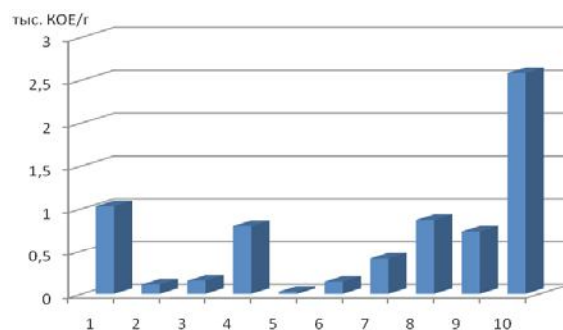


Рис. 1. Количество колониеобразующих единиц микромицетов почвы (2008 г.):

1 - г. Атырау; 2 - с. Доссор; 3 - месторождение «Сагиз»; 4 - месторождение «Кошкар»; 5 - месторождение «Комсомольское»; 6 - месторождение «Кульсары»; 7 - месторождение «Косчагыл»; 8 - месторождение «Каратон»; 9 - с. Сарыкамыс; 10 - с. Жанбай

Состав микромицетов на участках месторождений со значительным нефтяным загрязнением был скудным и представлен в основном родами *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, а их количество было минимальным в сравнении с целинными участками. Аналогичные результаты исследований описаны в литературе, где указывается, что при контакте токсических веществ нефти с развивающимися микромицетами спорообразование сокращается [16, 17].

В исследуемых почвах наиболее часто встречаются микромицеты родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Trichoderma* (рисунок 2).

Процентное соотношение родов грибов представлено в таблице 1.

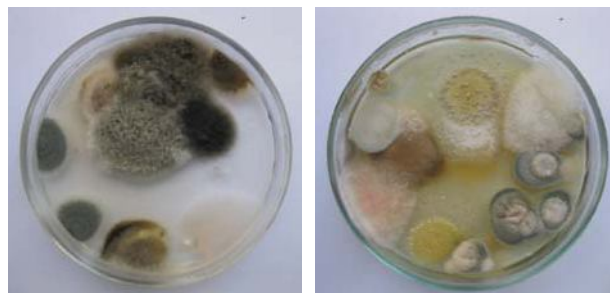


Рис. 2. Микромицеты почвы:

1 – из проб почвы г. Атырау; 2 – из проб почвы с. Жанбай

Таблица 1
Родовой состав микромицетов почвы
(2008 г.)

Вариант	Количество колоний грибов, %					
	<i>Pen.</i>	<i>Asp.</i>	<i>Fus.</i>	<i>Alt.</i>	<i>Trich.</i>	про- чис
г. Атырау	17	0	33	17	0	33
с. Доссор	100	0	0	0	0	0
Месторожде- ние «Сагиз»	17	17	12	37	0	17
Месторожде- ние «Кошкар»	33	0	11	12	0	44
Месторожде- ние «Комсо- мольское»	12	0	11	11	0	66
Месторожде- ние «Кульсары»	33	11	11	6	17	22
Месторожде- ние «Косчагыл»	50	9	8	8	0	25
Месторожде- ние «Каратон»	25	0	12	25	0	38
с. Сарыкамыс	13	0	29	29	0	29
с. Жанбай	46	8	15	8	0	23

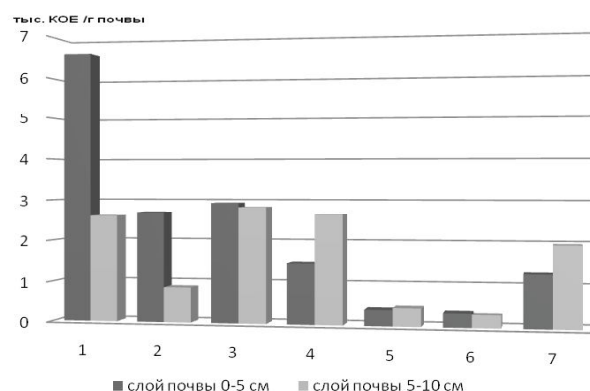


Рис. 3. Количество колониеобразующих единиц микромицетов почвы (май 2009 г.):

1 - п. Ганюшкино; 2 - п. Забурнье; 3 - месторождение Забурнье; 4 - месторождение Жанаталап; 5 - месторождение Балгимбаева; 6 - месторождение Камысты; 7 - г. Атырау

Наиболее часто встречались представители рода *Penicillium* - они отмечены во всех исследованных образцах почвы и зачастую являлись доминирующей группой грибов. Практически во всех образцах почвы обнаружены грибы родов *Alternaria* и *Fusarium*. Грибы рода *Trichoderma* отмечены только в почве месторождения «Кульсары» (рисунок 3).

Можно отметить преобладание светлоокрашенных гифомицетов во всех исследуемых образцах почвы. Темноокрашенные микромицеты представлены в основном родом *Alternaria*, остальные отнесены к прочим грибам.

В 2009 году проводились полевые экспедиционные работы на территории Атырауской области на побережье Каспийского моря: в окрестности г. Атырау, в поселках: Ганюшкино, Забурнье, на месторождениях: Забурнье, Жанаталап, Балгимбаева, Камысты. Отбор проб производился в мае. В весенние месяцы на территории прикаспийской акватории сложились благоприятные условия для размножения, развития и активной деятельности микроскопических грибов в почве. Об этом свидетельствует увеличение их количества в почве в сравнении с этими же показателями в августе 2008 г. Если в почвах месторождений количество микромицетов составляло 0,026-0,869 тыс. КОЕ/г (в 2008 г.), то в весенние месяцы их количество достигало 0,31-2,93 тыс. КОЕ/г (таблица 2).

Микробиологический анализ почвы показал, что при увеличении глубины количество микроскопических грибов снижается. Например, в слое 0-5 см численность микроскопических грибов составляла 0,36-6,60 тыс. КОЕ/г, а на глубине 5-10 см - 0,31-2,83 тыс. КОЕ/г. Исключение составили образцы почвы с точки №4 (месторождение «Жанаталап»), точки №5 (месторождение «Балгимбаева»), точка №7 (г. Атырау), где численность микромицетов на глубине 5-10 см была несколько выше, чем на глубине до 5 см.



Таблица 2

**Родовой состав микромицетов, выделенных из почвы различных участков
Атырауской области (май 2009 г.)**

Вариант	Слой почвы	Количество колоний грибов, %							
		<i>Pen</i>	<i>Asp</i>	<i>Fus</i>	<i>Alt</i>	<i>Trich</i>	<i>Bip</i>	<i>Muc</i>	прочие
Точка №1 п. «Ганюшкино» (контроль)	0-5	8	7	32	8	0	2	0	43
	5-10	27	8	27	4	0	0	0	34
Точка №2 п. «Забурунь»	0-5	1	1	29	6	0	0	0	63
	5-10	6	12	12	6	0	0	0	64
Точка №3 месторождение «Забурунь»	0-5	72	7	9	3	0	0	0	9
	5-10	82	9	4	1	0	0	0	4
Точка №4 месторождение «Жанаталап»	0-5	45	21	14	0	3	0	0	17
	5-10	58	15	4	0	0	0	6	14
Точка №5 месторождение «Балгимбаева»	0-5	0	25	25	38	0	0	0	12
	5-10	0	55	0	12	0	0	0	33
Точка №6 месторождение «Камысты»	0-5	14	14	14	14	0	0	14	30
	5-10	17	17	0	0	0	0	0	66
Точка №7 г. Атырау	0-5	4	28	44	4	0	0	0	20
	5-10	5	11	29	16	0	0	0	39

Это связано с неблагоприятными экологическими условиями, в частности со значительным нефтяным загрязнением поверхности почвы и созданием анаэробных условий в более глубоких слоях почвы. Можно отметить видовое разнообразие микромицетов в более плодородных почвах, где богатая растительность. Численность грибов родов *Aspergillus* и *Penicillium* в слое 5-10 см несколько выше, чем в слое 0-5 см. Количество грибов рода *Alternaria* и *Fusarium* больше в слое почвы 0-5 см, чем в слое 5-10 см. Вероятно, это связано с экологическими особенностями представителей этих родов. Грибы рода *Aspergillus* и *Penicillium* являются космополитами и они способны выживать и адаптироваться в различных экологических условиях. Среди грибов рода *Aspergillus* доминирующее положение занимали виды *A. fumigatus*, *A. terreus*. Данные виды относятся к активным разрушителям углеводов [16].

Также был проведен микологический анализ почвенных образцов, отобранных в ходе полевых экспедиционных работ в августе 2009 года на территории Атырауской области побережья Каспийского моря. В результате исследований было отмечено, что на численность почвенных микромицетов существенное влияние оказали климати-

ческие и погодные условия региона. В связи с высокой температурой воздуха, поверхности почвы и низким количеством осадков численность почвенных грибов в верхнем горизонте снизилась практически в 2-7 раз в сравнении с аналогичными результатами, полученными в мае этого года (таблица 3).

Если весной численность почвенных грибов варьировала в зависимости от варианта от 0,31 тыс. КОЕ/г почвы до 6,6 тыс. КОЕ/г почвы (рисунок 4), то к концу лета численность грибов составила 0,041–3,060 тыс. КОЕ/г почвы.

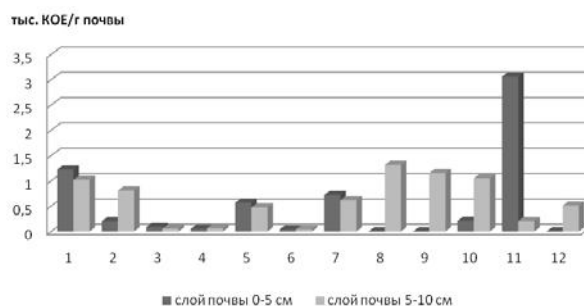


Рис. 4. Количество колониеобразующих единиц микромицетов почвы (август 2009 г.):

1 – Искене; 2 – Северное Искене; 3 – Байшонас; 4 – Карсак; 5 – Ботакан; 6 – Коспагыл; 7 – Кажегали; 8 – Көк-Арна; 9 – Прорва 2; 10 – Каражанбас 1; 11 – Каражанбас 2; 12 – Каламкас



Таблица 3

**Родовой состав микромицетов, выделенных из почвы различных участков
Атырауской области (август 2009 г.)**

Вариант	Слой почвы	Количество колоний грибов, %				
		<i>Pen</i>	<i>Asp</i>	<i>Fus</i>	<i>Alt</i>	прочие
Точка №1	0-5	0	0	25	33	42
месторождение «Искене»	5-10	0	0	10	20	70
Точка №2	0-5	0	0	100	0	0
месторождение «Северное Искене»	5-10	0	63	25	0	12
Точка №3	0-5	63	25	12	0	0
месторождение «Байшонас»	5-10	0	20	0	0	80
Точка №4	0-5	0	0	0	0	100
месторождение «Карсак»	5-10	0	0	0	0	83
Точка №5	0-5	20	6	2	5	57
месторождение «Ботакан»	5-10	55	11	5	0	24
Точка №6	0-5	0	50	0	25	25
месторождение «Косшагыл»	5-10	0	25	0	0	75
Точка №9	0-5	0	0	29	14	57
бывшее месторождение «Кажегали»	5-10	0	0	33	17	50
Точка №11	0-5	0	0	0	0	0
месторождение «Көк-Арна»	5-10	100	0	0	0	0
Точка №14	0-5	0	0	0	0	0
месторождение «Прорва 2»	5-10	18	73	9	0	0
Точка №16	0-5	0	0	50	0	50
месторождение «Каражанбас 1»	5-10	0	0	0	0	100
Точка №17	0-5	7	70	10	0	13
месторождение «Каражанбас 2»	5-10	0	100	0	0	0
Точка №19	0-5	0	0	0	0	0
месторождение «Каламкас»	5-10	0	80	20	0	0

В точке №7 (месторождение «Каратон»), точке №8 (месторождение «Терең-Өзек»), точке №10 (месторождение «Кара-Арна»), точке №12 (месторождение «Теңіз»), точке №13 (месторождение «Прорва»), точке №15 (месторождение «Актобе»), точке №18 (месторождение «Нефтяной амбар»), точке №20 за санитарно-защитной зоной (месторождение «Каражанбас») количество почвенных грибов настолько низкое, что посев методом разведений не дал результатов как при разведении 1:1000, так и при разведении 1:10.

В большинстве исследуемых вариантов прослеживается закономерность снижения численности микроскопических грибов по мере увеличения глубины отбора проб. В точках, где отмечалась скудная растительность или таковая отсутствовала,

численность грибов в слое 5-10 см была выше, чем в слое почвы 0-5 см (точка №11, месторождение «Көк-Арна»; точка №14, месторождение «Прорва 2»; точка №16, месторождение «Каражанбас 1»; точка №19, месторождение «Каламкас»).

Следовательно, численность микроскопических грибов в данных экологических и почвенно-климатических условиях зависит не только от химического состава и загрязненности почвенных горизонтов, но и от количества и видового разнообразия растений. Значительное разнообразие почвенных грибов отмечено на вариантах: точка №1 месторождение «Искене», точка №4 месторождение «Карсак», точка №5 месторождение «Ботакан», точка №6 месторождение «Косшагыл», точка №9 месторождение «Кажегали», точка №16



месторождение «Каражанбас 1», точка №17 месторождение «Каражанбас 2», где кроме учитываемых нами постоянно выделяемых представителей родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* и *Fusarium*, выделилось значительное количество темноокрашенных гифомицетов. Эти грибы были отнесены к прочим и требуют дополнительной родовой идентификации. В отдельных вариантах численность прочих грибов составляла 100%.

Заключение

В почвах прикаспийской территории численность почвенных микромицетов может варьировать от 0,041 до 6,60 тыс. КОЕ/г, в зависимости от времени года и глубины почвенного слоя. В микробиоте почв преобладают грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* и др. В

бедных гумусом почвах месторождений число микроскопических грибов резко снижается в сравнении с целинными участками, где отмечается растительный покров. Также изменяется соотношение различных родов грибов. В почвах, загрязненных нефтью, доминирующее положение занимают грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*. Кроме того, наблюдались сезонные изменения в родовом составе почвенных микромицетов. В весенний период отмечалось значительное количество грибов рода *Aspergillus*, *Fusarium*, а в летний период преобладали темноокрашенные гифомицеты и грибы рода *Alternaria*. Во многом это связано с вегетационным периодом растений. Так как многие представители родов *Alternaria* и темноокрашенных гифомицетов являются фитопатогенами, их цикл развития во многом зависит от периодов роста растений.

Литература

1. Черепанова Н.П., Тобиас А.В. Морфология и размножение грибов. – Москва: Академия, 2006. – 160 с.
2. Киреева Н.А., Рафикова Г.Ф. Разнообразие спорообразующих микроорганизмов в условиях нефтяного загрязнения почвы // Тезисы международной конференции «Микроорганизмы и биосфера». – Москва, 2007. – С. 58-59.
3. Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. – Москва: Наука, 2007. – 215 с.
4. Практикум по микробиологии / Под ред. И. Нетрусова, М.А. Егорова и др. – Москва, 2005. – 601 с.
5. Красильников Н.А. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов. – М.: Изд-во МГУ, 1966. – 216 с.
6. Билай В.И. Фузариин. – Киев: Наукова Думка, 1977. – 443 с.
7. Хасанов Б.А. Определитель грибов возбудителей «гельминтоспориоз» из родов *Bipolaris*, *Drechslera*, *Exserohilum*. – Ташкент: Фан, 1992. – 224 с.
8. Курсанов Л.И. Пособие по определению грибов из родов *Aspergillus* и *Penicillium*. – Москва, 1947. – 112 с.
9. Кириленко Т.С. Атлас родов почвенных грибов. – Киев, 1977. – С. 128.
10. Ермакова Б.Д. Почвенные грибы и обыкновенная корневая гниль колосовых зерновых. – Алма-Ата: Наука, 1988. – 144 с.
11. Пидопличко Н.М. Пенициллин. – Киев, 1972. – 150 с.
12. Мельник В.А. Класс *Hyphomycetes*. Определитель грибов России, Вып. 1., сем. *Dematiaceae*. – С.-Петербург: Наука, 2000. – 371 с.
13. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. – Москва: Мир, 2001. – 486 с.
14. Каратыгин И.В. Определитель грибов России. – Санкт-Петербург: Наука, 2002. – 135 с.



15. Мельник В.А. Определитель грибов России. Класс *Hiphomycetes*. – Санкт-Петербург: Наука, 2000. – 371 с.
16. Алиева С.Р. Оптимальные условия культивирования грибов Каспийского моря деградирующих нефтяное загрязнение // Материалы 5 межд. конференции «Изучение грибов в биоценозах». – Пермь, 2009. - С. 18-20.
17. Киреева Н.А. Влияние выбросов нефтехимических производств на структуру микроскопических грибов почв и сопутствующих сред // Материалы 7 межд. конференции «Проблемы лесной фитопатологии и микологии». – Пермь, 2009. - С. 83-86.

Түйін

Мақалада Каспий акваториясындағы топырақтағы микроскопиялы саңырауқұлақтардың санын анықтаудың нәтижелері көрсетілген. Кен аймағындағы мұнаймен топырақты ластауға байланысты сынау алынған нүктелерде микромицеттердің әр түрлі саны табылды. Мұнаймен ластану деңгейі жоғары болған учасқтарда микромицеттердің құрамы тақыл болды және көбінесе *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium* микромицеттердің негізгі тектермен көрсетілген. Көбінесе *Penicillium* тегінің өкілдері жиі кездесті, олар ерттелінген топырақтардың барлық үлгілерінде кездесті. Топырақтың барлық үлгілерінде *Alternaria* және *Fusarium* тегінің саңырауқұлақтары табылды. *Trichoderma* текті саңырауқұлақтар тек «Кульсары» кен орнында кездесті.

Summary

The data of quantity of fungi in soil of Caspian area are presented in this article. The quantity of micromycetes in testing points was depended from pollution of soils by oil in areas of oil extracting. The variety of micromycetes on area of oil extraction with significant oil pollution was poor and was presented basically by genus *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*. There were most often the fungi of genus *Penicillium*, they were noted in all investigated samples of ground. Practically in all samples of ground fungi of genus *Alternaria* and *Fusarium* were found out. Fungi of genus *Trichoderma* were noted only in ground of area «Kulsary».