

## ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ В ПОЧВАХ

**Ключевые слова:** целлюлозолитические бактерии, пигменты микроорганизмов, экзополисахариды, слизи, гумусовые кислоты, тяжелые металлы, свинец, кадмий.

### Введение

Хорошо известно, что миксобактерии, разрушающие целлюлозу растительных остатков, выделяют в окружающую среду внеклеточные слизи (экзополисахариды), а также пигменты, сахара и органические кислоты [1-3]. Пигменты и экзополисахариды выполняют ряд важнейших биологических и экологических функций. Они защищают клетки от высыхания, предохраняют от воздействия ультрафиолетовых лучей, являются резервным фондом клетки. Слизь участвует в формировании структуры почвы. Экологические функции метаболитов целлюлозолитических миксобактерий изучены недостаточно. Отмечаются такие важнейшие экологические функции, как синтез биологически активных веществ, стимулирующих рост растений и участие сообщества целлюлозолитических бактерий с бактериями-спутниками в биологической фиксации азота атмосферы [3, 4].

Проблема защиты окружающей среды от загрязнения тяжелыми металлами тесно связана с ассимиляцией и детоксикацией подвижных форм их биологическими объектами, в частности микроорганизмами [3].

Ориентировочные подсчеты показывают [3], что почвенные микроорганизмы закрепляют от 1 до 15% запаса подвижных форм микроэлементов – марганца, бора, меди, молибдена, участвуя в их биологическом круговороте в ландшафтах.

Целью данной работы являлось выявление экологической роли метаболитов, выделяемых клетками целлюлозолитических бактерий в детоксикации тяжелых металлов свинца и кадмия в почвах.

В задачи исследований входило:

1) изучение возможности связывания двух тяжелых металлов – свинца и кадмия – метаболитами бактерий (экзополисахаридными слизями, пигментами, органиче-

скими кислотами), разрушающих целлюлозу;

2) сопоставление по активности воздействия на растворимые соединения свинца и кадмия гумусовых кислот почв, микроорганизмов и их метаболитов.

### Объекты и методы исследования

Целлюлозолитические бактерии из почв выделяли методом комочков на среду Гетчинсона с 0,7% агара и кружками фильтровальной бумаги. Очистку культур бактерий проводили термическим методом [3].

Меланиноподобные пигменты целлюлозных бактерий при выращивании на средах с моно- и полифенолами (тирозин и гваякол) выделены по методике [5]. Слизь целлюлозных бактерий получали и очищали общепринятым методом [3].

Гуминовые и фульвокислоты для опыта получены из лаборатории генезиса и географии почв Института почвоведения и агрохимии СО РАН.

Смесь тяжелых металлов с органическими веществом почв или метаболитами микроорганизмов тщательно встряхивали и оставляли при 24-26°C на одни сутки и далее определяли осаждение тяжелых металлов. Нужную pH среды устанавливали 0,1н NaOH и 1н HCl.

### Результаты исследований

Осаждение органоминеральных соединений свинца и кадмия приведено в таблицах 1, 2. При добавлении металлов во всех случаях при кислом значении реакции среды растворы были прозрачные, то есть моментального осаждения металлов не наблюдалось. В дальнейшем осаждение тяжелых металлов происходило, и опыт продолжался до полного осаждения. Вероятно, в результате химических реакций (например, замещения водорода карбоксильных групп в органическом веществе и метаболитах микроорганизмов на тяжелые металлы) и явлений коагуляции, адсорбции, седиментации образуются нерастворимые органоминеральные комплексы.

Таблица 1  
Соосаждение тяжелых металлов гумусовыми кислотами почв и метаболитами микроорганизмов при рН 5,0 по суткам, мг

Испытуемое органическое вещество	Свинец							Кадмий										
	азотнокислый			уксуснокислый				сернокислый			хлористый							
	1	2	7	1	2	11	15	1	6	9	11	19	22	2	9	11	19	22
Гуминовая кислота чернозема	0,5		0,5							0,61						0,61		
Фульвокислота чернозема	0,5		0,5				0,5							0,5				
Гуминовая кислота дерново-подзолистой	0,5		0,5					0,56								0,69		
Фульвокислота дерново-подзолистой	0,51		0,52						0,59						0,59			
Пигмент 8-й культуры монофенольный полифенольный	0,51		0,52										0,90					0,90
Пигмент 4-й культуры меланиноподобный	0,51		0,7										0,90					0,90
Слизь 68-й культуры 8-й	1,02					1,02												1,02
32-й	1,02					1,02												1,02
Глюкоза	0,51						0,65							0,65				
Лимонная кислота	0,51						0,65							0,65				

Примечание. Исходная концентрация органического вещества 1 мг/мл.

Таблица 2  
Соосаждение тяжелых металлов гумусовыми кислотами почв и метаболитами микроорганизмов при рН 7,0 по суткам, мг

Испытуемое органическое вещество	Свинец							Кадмий											
	азотнокислый			уксуснокислый				азотнокислый			уксуснокислый								
	1	2	5	9	1	2	5	9	1	2	20	1	2	20	1	2	11	20	
Гуминовая кислота чернозема	0,55						0,55												0,61
Фульвокислота чернозема	0,5													0,5					0,5
Гуминовая кислота дерново-подзолистой	0,55						0,55							0,5					0,5
Фульвокислота дерново-подзолистой	0,59							0,59							0,51				0,51
Пигмент 8-й культуры монофенольный полифенольный	0,63																	0,87	0,87
Слизь 68-й культуры 8-й	0,83																	0,83	0,83
Глюкоза	0,51						0,57							0,5					0,5
Лимонная кислота	0,21						0,57							0,5					0,5

Примечание. Исходная концентрация органического вещества 1 мг/мл.

Осаждения органических веществ и метаболитов микроорганизмов в контроле (без добавления свинца или кадмия) не наблюдалось. Степень связывания свинца и кадмия с гумусовыми кислотами чернозема выщелоченного и дерново-подзолистой почвы и метаболитами микроорганизмов заметно отличалась. Коагулирующее действие металла зависело и от его связи с различными анионами (табл. 1, 2).

**Свинец.** Растворы, где к органическому веществу почв и метаболитов микроорганизмов добавляли азотнокислый свинец, сразу мутнели до молочно-белого цвета при рН 7. Эти коллоидные осадки сохранялись в течение суток. Затем произошло расслоение на две части: осадок и верхнюю прозрачную жидкость. Этот осадок не взбалтывается и не поднимается при взбалтывании, что характерно для комплексообразующих соединений хелатного типа. Полная коагуляция соединений свинца обнаружена при слабокислой реакции среды (рН 5), где органическое вещество находилось в форме гуминовой кислоты, выделенной из чернозема выщелоченно-

го, или меланиноподобных пигментов, полученных при выращивании микроорганизмов на среде с полифенолами. Это свидетельствует о высокой конденсированности ароматических ядер пигментов.

Следует отметить, что пигменты микроорганизмов, образуемые на монофенолах (тирозин), и такие метаболиты микроорганизмов, как глюкоза и лимонная кислота, обладают большей коагулирующей способностью при взаимодействии со свинцом в кислой среде, чем слизи микроорганизмов. Высокая способность слизи к комплексообразованию хорошо проявляется в нейтральных средах, где они связывают больше свинца, чем пигменты и гумусовые кислоты почв.

Видимо, в нейтральных почвах слизиобразующие микроорганизмы будут играть большую экологическую роль в связывании и осаждении свинца из его растворимых соединений, чем в кислых.

Количество свинца, связываемого при образовании металлоорганических комплексов, зависит не только от рН, но и соотношения органического вещества к металлу (табл. 3).

Таблица 3

*Взаимодействие свинца с гумусовыми кислотами и метаболитами целлюлозных бактерий*

Весовые соотношения органического вещества к металлу	Органическое вещество	Длительность опыта, сут.	Полнота осаждения
5,0:1	Гуминовая кислота чернозема	9	Нет
2,5:1	"	9	"
1,66:1	"	9	"
1,25:1	"	5	Полное
1,0:1	"	1	"
5,0:1	Гуминовая кислота дерново-подзолистой почвы	9	Нет
2,5:1	"	9	"
1,66:1	"	9	"
1,25:1	"	3	"
1,0:1	"	1	Полное
5,0:1	Пигмент 8-й культуры меланиноподобный	15	Нет
2,5:1	"	15	"
1,66:1	"	15	"
1,25:1	"	15	Полное
1,0:1	"	1	"
5,0:1	Пигмент 4-й культуры меланиноподобный	9	Нет
2,5:1	"	9	"
1,66:1	"	9	"
1,25:1	"	3	Полное
1,0:1	"	1	"

Известна высокая комплексообразующая способность гуминовых кислот при высоких значениях рН. Такая же способность нами выявлена у различных метаболитов микроорганизмов. При кислой реакции среды в азотнокислой форме осаждаются метаболитами микроорганизмов значительно быстрее, чем в уксуснокислой форме (соответственно, через 2 и 6-16 сут.). Это означает, что свинец в азотнокислой форме связывается органическим веществом почв быстрее, чем свинец органоминеральных соединений.

В связи с этим можно предположить, что свинец, попадая в кислую почву в виде органоминеральных соединений, может сохранить свою токсичность более длительное время, чем в составе минеральных.

Степень детоксикации и осаждения свинца изменялась в зависимости от содержания испытуемого органического вещества и металла (табл. 3). При отношении от 1,7 до 5 ни с гуминовыми кислотами дерново-подзолистых почв и черноземов, ни с пигментами образование комплексных соединений не наблюдалось. Полное осаждение свинца наблюдалось только при соотношении органического вещества и металла от 1 до 1,25.

Процесс детоксикации свинца метаболитами целлюлозолитических бактерий зависит от формы соединений металла. При кислой реакции среды свинец азотнокислый осаждается гумусовыми кислотами быстрее, чем свинец уксуснокислый. Это, возможно, связано с анионным эффектом. Видимо, свинец уксуснокислый будет оказывать более длительное токсическое действие на биоту, чем азотнокислый. В нейтральных почвах в детоксикации свинца более велика роль метаболитов почвенных микроорганизмов, особенно слизиобразующих целлюлозолитических.

**Кадмий.** Осаждение кадмия из различных соединений при взаимодействии с органическим веществом почв или метаболитами микроорганизмов осуществляется иначе, чем свинца. Кадмийорганические комплексы при нейтральной реакции среды образуются очень активно (через 1-2 сут.). Метаболиты микроорганизмов (за исключением пигментов) взаимодействуют с кадмием в его различных соедине-

ния, как гумусовые кислоты почв (табл. 2).

Осаждение комплексов кадмия при кислой реакции среды происходит крайне медленно как органическим веществом почв, так и метаболитами микроорганизмов и только через 11-22 сут. Видимо, токсические свойства кадмия будут проявляться в кислых почвах более длительный промежуток времени, чем токсичность соединений свинца.

### Выводы

1. Экологическая функция метаболитов целлюлозолитических бактерий в детоксикации свинца и кадмия неодинакова. Способность образовывать нерастворимые органоминеральные комплексы проявляется более ярко со свинцом, чем с кадмием.

2. Интенсивность связывания тяжелых металлов больше зависит от реакции почвенной среды и соотношения «органическое вещество (гумусовые кислоты или метаболиты) – металл», чем от формы соединений металла в среде.

3. Экологическая функция детоксикации свинца в кислых почвах связана больше с пигментами целлюлозолитических бактерий, а в нейтральных почвах – с их экзополисахаридными слизями.

### Библиографический список

1. Возняковская Ю.М. Микрофлора растений и урожай / Ю.М. Возняковская. – Л., 1969. – 239 с.
2. Имшенецкий А.А. Разложение целлюлозы бактериями / А.А. Имшенецкий // Природа. – 1944. – № 2. – С. 36-40.
3. Наплекова Н.Н. Аэробное разложение целлюлозы микроорганизмами в почвах Западной Сибири / Н.Н. Наплекова. – Новосибирск: Наука, 1974. – 250 с.
4. Наплекова Н.Н. Биоиндикация загрязнения почв свинцом и кадмием по микробным ценозам / Н.Н. Наплекова, М.Д. Степанова. – Новосибирск, 2000. – 123 с.
5. Davis R.J. Preparation of purified polysaccharides from Rhizobium / R.J. Davis, C.E. Clapp // Appl. Microbiol. – 1961. – Vol. 1. – P. 68.

