

УДК 579.63.631.427

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ УРБАНОЗЕМОВ НЕКОТОРЫХ ЮЖНЫХ ГОРОДОВ РОССИИ

© 2021 г. А. М. Глушакова^{a, b, *}, Л. В. Лысак^a, А. Б. Умарова^a, Т. В. Прокофьева^a,
Ю. В. Подушин^c, Г. С. Быкова^a, Л. П. Малюкова^d

^aМГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

^bНИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Малый Казенный пер., 5А, Москва, 105064 Россия

^cКубанский ГАУ, ул. Калинина, 13, Краснодар, 35004 Россия

^dВНИИ цветоводства и субтропических культур, ул. Яна Фабрициуса, 2/28, Сочи, 354002 Россия

*e-mail: aglush1982@gmail.com

Поступила в редакцию 12.03.2020 г.

После доработки 05.06.2020 г.

Принята к публикации 10.06.2020 г.

Исследованы урбаноземы, характеризующиеся различной интенсивностью антропогенного воздействия, на территории некоторых крупнейших (Краснодар), крупных (Сочи, Симферополь) и больших (Майкоп) городов России. Полученные данные о разнообразии бактериальных комплексов городских почв свидетельствуют о том, что в урбаноземах с высокой антропогенной нагрузкой (Сочи, Симферополь, Краснодар) происходит значительная трансформация бактериального комплекса в сторону увеличения представленности семейства *Enterobacteriaceae*. Кроме санитарно-показательных микроорганизмов (*E. coli*, *En. faecalis*), в почвах этих городов выявлено присутствие бактерий родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, некоторые виды которых могут вызывать кишечные и аллергические заболевания. В урбаноземе Сочи обнаружены споры сульфитредуцирующих клостридий, в том числе *Clostridium perfringens*. В урбаноземе Майкопа, где численность населения наименьшая из всех исследованных городов, изменения в структуре бактериальных сообществ практически не выражены. Индексы санитарно-показательных микроорганизмов (бактерий группы кишечной палочки и энтерококков) в урбаноземах всех исследованных городов, за исключением Майкопа, превышали нормативный показатель для чистых почв (<10 КОЕ/г).

Ключевые слова: урбоэкосистема, экологическое состояние городов, санитарная обстановка, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Clostridium perfringens*

DOI: 10.31857/S0032180X21020052

ВВЕДЕНИЕ

Почвы представляют собой обязательный и неотъемлемый компонент урбоэкосистемы [1, 16, 19]. Они во многом определяют экологическое и санитарное состояние городов [16, 22]. Городские почвы существенно отличаются от зональных (фоновых) аналогов по ряду химических, физических и биологических свойств. Это отражается на выполнении городскими почвами важнейших экологических функций [14, 15, 27]: обеспечения нормального роста и развития растений в городе, способности почвы к самоочищению от различного рода загрязняющих твердых, жидких и газообразных веществ, трансформации углерода и азота, регуляции газового состава воздуха в городской среде. Основная экологическая функция почвы заключается в обеззараживании городской среды от патогенных и потенциально патогенных микроорганизмов и их токсинов [16, 24].

Постоянными и обязательными обитателями почв являются микроорганизмы, играющие важную роль в круговороте веществ в природе, и определяющие состояние других компонентов экосистемы [4, 5, 25]. Почвы населены микроорганизмами разных таксономических и экологотрофических групп (целлюлозолитики, азотфиксаторы, аммонификаторы, нитрификаторы и др.) [4, 5]. В условиях города высокая численность населения, промышленная и хозяйственная деятельность человека неизбежно приводят к трансформации автохтонных микробных сообществ [12, 25]. Ранее показано [12, 13], что в городских почвах в условиях сильного антропогенного воздействия в сапротрофном бактериальном комплексе происходит перераспределение таксонов в пользу увеличения удельного веса бактерий, адаптированных к определенным типам загрязнений. Особого внимания заслуживает увеличение представленности семейства

Enterobacteriaceae (роды *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*) при хозяйственно-бытовом загрязнении почвы, среди которых большое число видов относится к патогенным, потенциально патогенным и аллергенным бактериям [13, 14].

Получение репрезентативных результатов о таксономическом разнообразии культивируемых сапротрофных бактерий и присутствии санитарно-показательных бактерий в урбаноземах городов России с различной антропогенной нагрузкой является актуальной задачей. Следует отметить, что комплексная оценка изменений в структуре сапротрофного бактериального комплекса одновременно с оценкой санитарно-микробиологического состояния городской почвы до настоящего времени не проводилась.

Получение достоверных результатов о составе сапротрофного бактериального комплекса одновременно с оценкой санитарно-микробиологического состояния почвы в городской среде необходимо для разработки эффективных природоохранных мероприятий по улучшению городской среды. Очевидно, что комплексная характеристика сообщества культивируемых бактерий может стать перспективной системой для дальнейшего мониторинга и биоиндикации состояния городской среды в целом [2, 21–23].

Цель работы – комплексная характеристика бактериальных сообществ урбаноземов на территории городов Сочи, Симферополь, Краснодар и Майкоп, различающихся по интенсивности антропогенной нагрузки.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследовали образцы урбаноземов, отобранные на территории городов Краснодар, Майкоп, Симферополь и Сочи. Для исследования выбрали почвы, расположенные на внутренних дворовых территориях образовательных и научных учреждений с основными постройками зданий в 1950–1970 гг. Почвы представляли собой урбаноземы с включениями хозяйственно-бытовых и строительных материалов, они имели признаки зональности и специфики отложений, на которых были сформированы. Для простоты изложения результатов все типичные городские почвы, имеющие значительную степень антропогенной трансформации, названы “урбаноземы”. С одной стороны, этот термин, введенный для определенного типа почв [16], давно используется для обозначения всех почв, на формирование которых активно повлияла селитебная среда. С другой стороны, все почвы, объединенные нами под этим названием, имеют в профиле диагностический горизонт урбик [17]. Подробные названия даны в соответствии с Классификацией и диагностикой почв России (2004) [7] и с проектом груп-

пы авторов введения городских почв в эту классификацию [17]. Так, в Краснодаре они представлены урбочерноземом миграционно-сегрегационным тяжелосуглинистым на карбонатных лёссовидных суглинках (WRB – Calcic Chernozem (Technic)), в Майкопе – урбостратоземом техногенным, мало-мощным, карбонатсодержащим, глинистым, на техногенных отложениях, подстилаемых аллювием речных террас (Urbic Technosol), в Симферополе – темногумусовой мелкой супесчаной на техногенных отложениях (Urbic Technosol), в Сочи – урбостратоземом среднемощным гидроморфизованным среднесуглинистым, подстилаемым бетонной плитой (Isolatic Urbic Technosol).

Для контроля фоновой антропогенной нагрузки в городской среде использовали почвы ботанических садов, расположенных в центральных районах Краснодара, Симферополя, Сочи. Они представлены следующими почвами: черноземом урбостратифицированным миграционно-сегрегационным мощным тяжелосуглинистым на карбонатных лёссовидных суглинках (Calcic Chernozem), стратоземом темногумусовым водноаккумулятивным на щебнистом делювии (Skeletal Regosol) и желтоземом глееватым галечниковым (Stagnic Alisol) соответственно.

В качестве фоновых выбирали почвы территорий в нескольких километрах от городской черты. Для Краснодара почва представлена черноземом миграционно-сегрегационным тяжелосуглинистым на карбонатных лёссовидных суглинках (Calcic Chernozem), для Майкопа – темной слитой типичной среднемощной тяжелосуглинистой почвой на отложениях речной террасы (Leptic Vertisol) и Симферополя – агрочерноземом маломощным среднепахотным гидрометаморфизованным легкосуглинистым на гравелистом делювии (Gleyic Chernozem).

Отбор почвенных образцов проводили в 2019 г. в летне-осенний период на глубинах: 0–10, 30–50 и 60–70 см. Всего проанализировано 49 смешанных образцов.

Численность и таксономическую структуру культивируемых бактерий сапротрофного комплекса на родовом уровне определяли классическим методом посева. Расчет производили на грамм абсолютно-сухой почвы. Использовали агаризованную глюкозо-пептонно-дрожжевую среду, которая позволяет выделить из почвы до 50 родов блока аэробных и факультативно-анаэробных бактерий [6, 10, 11]. Идентификацию бактерий до рода проводили на основании фенотипических (микроморфологических, физиолого-биохимических и некоторых хемотаксономических) признаков по ключу для определения почвенных бактерий и общепринятым определителям [6, 11]. В соответствии с относительным обилием отдельных родов (таксонов) бактерий выделяли следующие груп-

пы: доминанты – относительное обилие >30%; субдоминанты – от 20 до 30%; группа среднего обилия – от 10 до 20%; минорные компоненты – <10% [11]. Статистическую обработку данных по численности и относительному обилию бактерий проводили с использованием программ Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 8.0.

Содержание санитарно-показательных микроорганизмов определяли в соответствии с методическими указаниями Федерального центра Госсанэпиднадзора Минздрава России (МУ 2.1.7.730-99 Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест). В соответствии с МУ 2.1.7.730-99, при выборе объектов санитарного контроля почв в первую очередь обследуют территории повышенного риска воздействия на здоровье населения (детские дошкольные, школьные и лечебные учреждения, селитебные территории, зоны санитарной охраны водоемов, питьевого водоснабжения, земли занятые под сельхозкультуры, рекреационные зоны и т. д.). Отбор образцов рекомендуется проводить два раза в год в осенний и весенний периоды.

В образцах почвы определяли численность бактерий группы кишечной палочки (БГКП) и энтерококков, присутствие спор сульфитредуцирующих клостридий (в том числе *Clostridium perfringens*) в соответствии с методическими рекомендациями (Методы микробиологического контроля почвы. Методические рекомендации № ФЦ/4022-2004). В России количественный учет спор *Clostridium perfringens* предусмотрен при санитарных исследованиях почвы, лечебных грязей, воды открытых водоемов, контроле качества водоподготовки. При контроле почв данный показатель именуется перфрингенс-титром. Это наименьшее весовое количество почвы, в котором обнаруживаются жизнеспособные клетки *C. perfringens*.

Для учета БГКП использовали метод посева на агаризованную среду Эндо. При обнаружении роста лактозоположительных колоний их исследовали на наличие оксидазной активности, проводили тест Грегерсена с 3%-ным КОН для определения грам-принадлежности и ферментацию лактозы до кислоты и газа. Рассчитывали численность колиформных бактерий в 1 г почвы, а также коли-индекс (количественный показатель фекального загрязнения субстрата, определяется числом микроорганизмов, нормальных обитателей кишечника человека, главным образом, *Escherichia coli* в 1 г почвы).

Численность энтерококков определяли методом мембранной фильтрации в соответствии с методическими рекомендациями (Методы микробиологического контроля почвы. Методические рекомендации № ФЦ/4022-2004). Рассчитывали количество энтерококков в образце в 1 г почвы.

Для выявления и учета спор сульфитредуцирующих клостридий использовали высокоспецифичную коммерческую среду, содержащую соли тиогликолевой кислоты и антибиотики (SPS-agar). Численность спор сульфитредуцирующих клостридий определяли методом мембранной фильтрации в соответствии с методическими рекомендациями (Методы микробиологического контроля почвы. Методические рекомендации № ФЦ/4022-2004). При идентификации *Clostridium perfringens*, доминирующих бактерий среди сульфитоокисляющих клостридий, определяли подвижность клеток, каталазную активность, способность к нитратредукции, утилизации лактозы и разжижению желатина.

Идентификацию энтеробактерий до видового и родового уровней, проводили на основании анализа варибельной последовательности v3-v4 региона 16S рНК. Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, в групповом показателе “энтерококки” (*Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*) определяли долю санитарно-показательного вида *Enterococcus faecalis*. Всего идентифицировали 108 штаммов (что составило 62% от всех выделенных штаммов).

ДНК выделяли из чистых культур бактерий с использованием набора PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent в соответствии с рекомендациями производителя. ПЦР-продукт варибельной последовательности v3-v4 региона 16S рНК секвенировали по стандартному протоколу MicroSeq 500 16S rDNA Bacterial Identification Kits Protocol (ThermoFisher) с использованием стандартных праймеров fD1/rD1 [26]. Капиллярный форез проводили на генетическом анализаторе ABI Prism 3130. Для анализа полученных электрофореграмм и последовательностей нуклеотидов применяли программное обеспечение MicroSeq ID v.2.0 Software и валидированную библиотеку MicroSeq ID 16S rDNA 500 Library v2.0. 55. Последовательности 16S рДНК анализировали в Научно-производственной компании “Синтол” (Москва).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая численность культивируемых бактерий сапротрофного комплекса (метод посева на глюкозо-пептонно-дрожжевую среду) во всех исследованных почвах была наибольшей на глубине 0–10 см в горизонтах А1 и U1 (табл. 1). В верхних гумусовых горизонтах А1 городских фоновых почв, зональных фоновых почв и в горизонте U1 урбаноземов она составила 10⁶ КОЕ/г. В урбаноземах в горизонте U1 численность бактерий была незначительно больше, чем в горизонте А1. В горизонте U2/U3 почв Сочи численность бактерий была значительно, на порядок, больше, чем в аналогичном горизонте других исследованных урбаноземов и в горизонте А1/АВ городских фоновых и зональных фоновых почв. Вниз по профилю фоно-

Таблица 1. Общая численность бактерий сапротрофного комплекса (среднее и доверительный интервал) в урбано-землах, городских фоновых и зональных фоновых почвах Сочи, Симферополя, Краснодара и Майкопа, КОЕ/г

Горизонт, глубина, см	Сочи	Симферополь	Краснодар	Майкоп
Урбанозем				
U1, 0–10	$(2.72 \pm 0.49) \times 10^6$	$(2.51 \pm 0.66) \times 10^6$	$(2.11 \pm 0.36) \times 10^6$	$(1.99 \pm 0.40) \times 10^6$
U2/U3, 30–50	$(3.14 \pm 0.52) \times 10^5$	$(3.52 \pm 0.50) \times 10^4$	$(2.78 \pm 0.54) \times 10^4$	$(2.14 \pm 0.61) \times 10^4$
U3/U5, >60	$(1.69 \pm 0.72) \times 10^3$	$(1.17 \pm 0.56) \times 10^3$	$(1.11 \pm 0.50) \times 10^3$	$(0.82 \pm 0.61) \times 10^3$
A1, 0–10	$(2.12 \pm 0.61) \times 10^6$	$(2.10 \pm 0.40) \times 10^6$	$(1.97 \pm 0.56) \times 10^6$	–
Городской фон				
A1/AB, 30–50	$(3.96 \pm 0.44) \times 10^4$	$(3.54 \pm 0.62) \times 10^4$	$(2.82 \pm 0.40) \times 10^4$	–
AB/B, >60	$(1.16 \pm 0.52) \times 10^3$	$(1.22 \pm 0.24) \times 10^3$	$(1.02 \pm 0.61) \times 10^3$	–
Загородный фон				
A1, 0–10	–	$(1.90 \pm 0.42) \times 10^6$	$(1.82 \pm 0.66) \times 10^6$	$(1.91 \pm 0.52) \times 10^6$
A1/AB, 30–50	–	$(3.74 \pm 0.45) \times 10^4$	$(3.14 \pm 0.55) \times 10^4$	$(1.56 \pm 0.44) \times 10^4$
AB/B, >60	–	$(0.98 \pm 0.64) \times 10^3$	$(1.19 \pm 0.36) \times 10^3$	$(1.12 \pm 0.61) \times 10^3$

Примечание. Прочерк – не определяли.

вых почв и урбаноземов численность бактерий закономерно уменьшалась. Минимальные значения численности зафиксированы на глубине более 60 см (горизонты AB/B и U3/U5).

Таким образом, распределение бактерий в пределах почвенного профиля носило общий характер и состояло в уменьшении плотности популяций по мере перехода от верхнего к нижним горизонтам.

Таксономическая структура сапротрофного бактериального комплекса исследованных урбаноземов характеризовалась специфическими особенностями. В верхних горизонтах всех исследованных городских почв доминировали представители семейства *Enterobacteriaceae* и род *Arthrobacter*, которые указывают на присутствие хозяйственно-бытового и строительного загрязнения. Структура сапротрофного бактериального блока городских фоновых и зональных фоновых почв в городах Сочи, Симферополь, Краснодар и Майкоп характеризовалась схожим составом группы доминантов и субдоминантов, а также группы среднего обилия (табл. 2) и была близка основным закономерностям в распределении таксономического разнообразия бактерий сапротрофного комплекса в фоновых (зональных) почвах [4, 10, 14].

Определение содержания санитарно-показательных микроорганизмов в урбаноземах (табл. 3) крупнейших, крупных и больших городов России выявило минимальное превышение индекса (<10 КОЕ/г) содержания санитарно-показательных микроорганизмов по показателю БГКП в горизонте U1 (34 КОЕ/г) в Краснодаре, максимальное – в Сочи в горизонтах U1 (96 КОЕ/г) и U2 (82 КОЕ/г) и Симферополе в горизонте U1

(68 КОЕ/г) и U2 (46 КОЕ/г). Индекс содержания санитарно-показательных микроорганизмов по показателю энтерококки характеризовался минимальным превышением (14 КОЕ/г) в Краснодаре в горизонте U1 и максимальным в Сочи (38 КОЕ/г) в горизонтах U1 и U2 (15 КОЕ/г). Перфрингес-титр (наименьшее количество почвы в граммах, в котором определяется одна жизнеспособная клетка *C. perfringens*) для всех исследованных урбаноземов, за исключением урбанозема Сочи (горизонт U1), не превышал допустимых нормативных значений (≤ 0.01 г). В Сочи он составил 0.02 г. В нижней части профиля в горизонте U3 (глубина более 60 см) в урбаноземах Сочи, Симферополя, Краснодара, а также во всех горизонтах городских фоновых и зональных фоновых почв санитарно-показательные микроорганизмы не обнаружены. В изученном урбаноземе Майкопа санитарно-показательные микроорганизмы не обнаружены ни в одном горизонте, что требует дальнейших исследований территории города (табл. 3). Превышение индексов санитарно-показательных микроорганизмов свидетельствуют как о недавнем (индексы БГКП, энтерококков), так и давнем (перфрингес-титр) фекальном загрязнении урбаноземов.

Величина содержания микроорганизмов в урбаноземах Сочи и Симферополя позволяет оценить их санитарное состояние как умеренно опасное по общепринятой шкале в горизонте U1 на глубине 0–10 см (Методы микробиологического контроля почвы. Методические рекомендации № ФЦ/4022-2004). Следует отметить, что в Сочи значения санитарно-микробиологических показателей (оценочных индексов) были особенно высокими. Это связано как со значительной плотностью населения, так и с высокой антропогенной нагрузкой на городскую среду в крупнейшем курортном городе

Таблица 2. Структура сапротрофного бактериального комплекса урбаноземов, городских фоновых и зональных фоновых почв в исследованных городах (цифры около таксонов обозначают города: 1 – Сочи; 2 – Симферополь; 3 – Майкоп; 4 – Краснодар)

Горизонт, глубина, см	Доминанты, >30%	Субдоминанты 20–30%	Группа среднего обилия, 10–20%
Урбанозем			
U1, 0–10	<i>Enterobacteriaceae</i> (1, 2, 3) <i>Arthrobacter</i> (1, 2, 3, 4) <i>Streptomyces</i> (4)	<i>Bacillus</i> (1, 2, 3, 4) <i>Mycrococcus</i> (4) <i>Enterobacteriaceae</i> (4)	<i>Rhodococcus</i> (4) <i>Pseudomonas</i> (4)
U2/U3, 30–50	<i>Arthrobacter</i> (1, 2, 3, 4) <i>Streptomyces</i> (4)	<i>Bacillus</i> (1, 2, 3, 4)	<i>Rhodococcus</i> (4)
U3/U5, >60	<i>Arthrobacter</i> (1, 2, 3, 4)	<i>Bacillus</i> (1, 2, 3, 4)	<i>Rhodococcus</i> (1, 2, 3, 4)
Городской фон			
A1, 0–10	<i>Pseudomonas</i> (4) <i>Flavobacterium</i> (2) <i>Xanthomonas</i> (1)	<i>Xanthomonas</i> (2, 4) <i>Flavobacterium</i> (1)	<i>Streptomyces</i> (1, 2, 4) <i>Enterobacteriaceae</i> (1, 2, 4) <i>Mycrococcus</i> (1, 2) <i>Cytophaga</i> (1, 2, 4)
A1/AB, 30–50	<i>Bacillus</i> (1, 2, 4)	<i>Pseudomonas</i> (4) <i>Arthrobacter</i> (1, 2, 4)	<i>Cellulomonas</i> (4) <i>Streptomyces</i> (1, 2)
AB/B, >60	<i>Bacillus</i> (1, 2, 4)	<i>Arthrobacter</i> (1, 2, 4)	<i>Cytophaga</i> (4)
Загородный фон			
A1, 0–10	<i>Pseudomonas</i> (2, 3, 4) <i>Flavobacterium</i> (2, 3, 4)	<i>Cytophaga</i> (2) <i>Cellulomonas</i> (4) <i>Mycrococcus</i> (3)	<i>Streptomyces</i> (2, 3) <i>Rhodococcus</i> (4)
A1/AB, 30–50	<i>Bacillus</i> (2, 3, 4) <i>Arthrobacter</i> (2, 3, 4)	<i>Pseudomonas</i> (3) <i>Cytophaga</i> (2, 4)	<i>Streptomyces</i> (2, 3, 4)
AB/B, >60	<i>Bacillus</i> (2, 3, 4)	<i>Arthrobacter</i> (2, 3, 4)	<i>Streptomyces</i> (2, 3, 4)

Таблица 3. Содержание санитарно-показательных микроорганизмов в урбаноземах городов Сочи, Симферополь, Краснодар и Майкоп

Горизонт, глубина, см	Индекс, КОЕ/г	
	энтерококков	БГКП
Сочи		
U1, 0–10	38 ± 0.22	96 ± 0.37
U2, 30–50	15 ± 0.54	82 ± 0.41
U3, >60	–	–
Симферополь		
U1, 0–10	16 ± 0.76	68 ± 0.37
U1, 30–50	9 ± 0.11	46 ± 0.43
U3, >60	–	–
Краснодар		
U1, 0–10	14 ± 0.11	34 ± 0.19
U2, 30–50	2 ± 0.10	4 ± 0.12
U3, >60	–	–
Майкоп		
U1, 0–10	–	–
U2, 30–50	–	–
U3, >60	–	–

Примечание. Прочерк – не обнаружено.

России (численность населения в Сочи более 400 тыс. человек, а в летний период, с учетом туристической нагрузки на город, превышает 5 млн человек). Сочи характеризуется самой большой в мире протяженностью пляжной зоны, где (а также в прилегающих участках) микробиологическое загрязнение почвы особенно велико. Со сточными водами микроорганизмы попадают в иловые осадки, что может приводить к инфицированию почвы. Патогенные и потенциально патогенные бактерии, адсорбируясь на поверхности частиц и осадков сточных вод, строительного мусора, могут продолжительное время сохранять жизнедеятельность и вирулентность.

Микробное загрязнение урбаноземов больших городов (Майкоп) по сравнению с крупнейшими (Краснодар) и крупными (Сочи, Симферополь) менее выражено, что является следствием меньшей хозяйственно-бытовой антропогенной нагрузки на городские почвы. Численность населения в Майкопе составляет около 140 тыс. человек, туристическая нагрузка на город невелика.

Из-за высокой численности населения в городах увеличивается количество бытовых отходов, зон их размещения в городской среде и количество поступающих в почву экскрементов домашних животных. Именно хозяйственно-бытовые и

Таблица 4. Относительное обилие *E. coli*, *E. faecalis* и других бактерий, входящих в группу БГКП и энтерококков К, выделенных из урбаноземов Сочи, Симферополя, Краснодара и Майкопа, %

Род и вид бактерий	Сочи	Симферополь	Краснодар	Майкоп
<i>E. coli</i>	58.7	52.5	26.5	—
<i>E. faecalis</i>	11.5	10.0	8.0	—
<i>E. faecium</i>	5.3	4.7	2.2	—
<i>E. durans</i>	3.2	1.3	1.1	—
<i>Klebsiella</i> spp.	7.1	11.2	11.4	—
<i>Enterobacter</i> spp.	5.1	10.5	12.1	—
<i>Citrobacter</i> spp.	3.2	6.1	4.1	—
<i>Serratia</i> spp.	2.2	1.2	—	—
Другие	3.6	2.6	34.6	100.0

фекальные отходы являются главными источниками загрязняющих почву веществ, а также аллергенных, патогенных и потенциально патогенных микроорганизмов [2, 12].

Видовая идентификация выделенных санитарно-показательных микроорганизмов, проведенная с помощью секвенирования гена *16SpPHK*, выявила присутствие в значительном количестве как санитарно-показательных видов, так и родов бактерий с высокой долей потенциально-патогенных видов в исследованных урбаноземах городов Сочи, Симферополь и Краснодар по сравнению с Майкопом. Кроме бактерий видов *E. coli* и *En. faecalis*, занимающих ведущие позиции как показатели фекального загрязнения и представляющих наибольшую угрозу здоровью человека, среди выделенных бактерий присутствовали представители родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* (табл. 4). Значительное число видов этих родов также может вызывать кишечные и аллергические заболевания у людей с пониженным иммунным статусом [8, 19].

Обнаруженные в горизонте U1 г. Сочи споры сульфитредуцирующих клостридий, представленные, в основном, видом *Clostridium perfringens*, свидетельствует о давнем фекальном загрязнении. Кроме того, сульфитредуцирующие клостридии рассматриваются как индикаторные микроорганизмы. Наличие их в почве указывает на возможное присутствие сходных по устойчивости цист и ооцист простейших и яиц гельминтов [19].

Ранее установлено, что бактериальные сообщества городских почв в различных городах России значительно отличаются по таксономической структуре от зональных ненарушенных почв. В сильнозагрязненных городских почвах в сапротрофном бактериальном комплексе происходит перераспределение таксонов в пользу увеличения удельного веса бактерий, адаптированных к определенным типам загрязнений: пигментированные родококки — нефть, полихлорбифенилы, артро-

бактерии, азотобактер — подщелачивание почвы, энтеробактерии — хозяйственно-бытовое загрязнение. Подобные изменения предлагается рассматривать как индикационные. В загрязненных городских почвах и сопряженных субстратах аккумулируются опасные для человека потенциально патогенные энтеробактерии и аллергенные родококки [10, 12, 13].

Близкие по направленности изменения обнаружены при изучении почвенных комплексов микроскопических грибов и дрожжей. По сравнению с зональными аналогами в городских загрязненных почвах регистрируется уменьшение содержания грибного мицелия и увеличение содержания спор. Таксономическое разнообразие урбаноземов характеризуется сравнительно небольшим числом доминантов и наличием большого количества видов с низкой встречаемостью. При анализе различных городских почв, в частности, Москвы, выявлен высокий уровень присутствия потенциально патогенных грибов (более 60%). Как наиболее частых представителей этой группы в почвах Москвы выделяли виды родов *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*), *Fusarium* (*F. moniliforme*, *F. oxysporum*), *Paecilomyces variotii*; в городах Московского региона (Серпухов, Пушкино) те же виды, а в городах Заполярья — *Acremonium kilense*, *F. moniliforme* (Кандалакша) и *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *Alternaria flavus*, *Paecilomyces variotii* (Лабытнанги). В урбаноземах также возрастает по сравнению с природными зональными почвами присутствие темноокрашенных грибов. Среди них большинство видов является аллергенными для человека, например, *Alternaria alternata*, *Cladosporium* spp. и др. [9, 15].

Наибольшее таксономическое разнообразие почвенных дрожжей характерно для урбаноземов, примыкающих к придомовым зонам складирования бытовых отходов. Обнаружено, что в урбаноземах города-миллионника Москвы вблизи зон складирования бытовых отходов, частота встречаемости клинически важных видов дрож-

жей (*Candida parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Diutina catenulata* и *Pichia kudriavzevii*) достигала 35% [20]. Повышенную опасность вызывает тот факт, что у многих природных штаммов оппортунистических дрожжей рода *Candida*, в том числе выделенных из урбаноземов, выявляется резистентность к широко применяемым антибиотикам [3].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведено комплексное исследование структуры сапротрофного бактериального комплекса городских почв одновременно с оценкой санитарно-микробиологического состояния. Показано, что в урбаноземах на территории некоторых южных крупнейших (Краснодар) и крупных (Симферополь, Сочи) городов России происходит трансформация бактериального комплекса в сторону увеличения представленности семейства *Enterobacteriaceae* по сравнению с городскими фоновыми и зональными фоновыми почвами. Чем интенсивнее антропогенное воздействие (высокая численность населения, туристическая нагрузка, близость прибрежной полосы), тем сильнее выражено изменение в структуре комплекса. При доминировании в сапротрофном бактериальном комплексе почв семейства *Enterobacteriaceae* в верхнем горизонте городских почв, находящихся под влиянием значительной антропогенной нагрузки, происходит увеличение численности и разнообразия санитарно-показательных микроорганизмов. Максимальное содержание *E. coli*, *En. faecalis*, *Cl. perfringens*, представляющих наибольшую угрозу здоровью человека, выявлено в южных урбаноземах Сочи, для которого деформация природного биоценоза под воздействием антропогенных факторов выражена наиболее ярко. Наряду с санитарно-показательными микроорганизмами в урбаноземах обнаружены потенциально-патогенные бактерии родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, некоторые виды которых могут вызывать кишечные и аллергические заболевания. Очевидно, что в городских почвах, находящихся под влиянием сильной антропогенной нагрузки, может происходить нарушение такой важной экологической функции почвы, как “бактериальный фильтр”, что может представлять определенную опасность для здоровья населения.

Известно, что почва, как среда обитания микроорганизмов, тесно взаимосвязана с воздушной и водными средами. Очевидно, что урбаноземы с высоким содержанием санитарно-показательных и потенциально-патогенных микроорганизмов будут оказывать негативное влияние на сопряженные среды. Они могут выступать в качестве агента распространения патогенных и потенциально-патогенных микроорганизмов.

Изучение разнообразия как бактериальных, так микробных комплексов городских почв пред-

ставляет значительный интерес не только с точки зрения фундаментальной науки, но и в практическом отношении, вследствие важной роли микроорганизмов в создании и поддержании устойчивости городских экосистем, а также с точки зрения изучения микроорганизмов, которые могут прямо или косвенно оказывать неблагоприятное воздействие на здоровье населения городов.

Дальнейшие мониторинговые исследования микробных комплексов урбаноземов необходимы для разработки эффективных гигиенических и природоохранных рекомендаций по улучшению состояния городской среды.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-29-05252 мк.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ананьева Н.Д.* Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв. М.: Наука, 2003. 223 с.
2. *Ашихмина Т.Я., Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Широких И.Г., Широких А.А., Фокина А.И., Скугорова С.Г., Горностаева Е.А., Соловьёва Е.С., Товстик Е.В., Огородникова С.Ю., Зыкова Ю.Н.* Микроорганизмы как агенты биомониторинга и биоремедиации загрязненных почв. Киров: Науч. изд-во ВятГУ, 2018. 254 с.
3. *Глушаклова А.М., Качалкин А.В., Ахапкина И.Г.* Мониторинг чувствительности к антимикотикам природных штаммов и клинических изолятов дрожжевых грибов // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62. № 5. С. 296–300.
4. *Добровольская Т.Г.* Структура бактериальных сообществ почв. М.: ИКЦ “Академкнига”, 2002. 282 с.
5. *Добровольская Т.Г., Звягинцев Д.Г., Чернов И.Ю., Головченко А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Манучарова Н.А., Марфенина О.Е., Полянская Л.М., Степанов А.Л., Умаров М.М.* Роль микроорганизмов в экологических функциях почв // Почвоведение. 2015. № 9. С. 1087–1096.
6. *Звягинцев Д.Г.* (ред.). Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 304 с.
7. Классификация и диагностика почв России Смоленск: Ойкумена, 2004. 342 с.
8. *Кондакова Г.В.* Санитарная микробиология. Ярославль: ЯрГУ, 2005. 84 с.
9. *Кулько А.Б., Марфенина О.Е.* Распространение микроскопических грибов в придорожных зонах городских автомагистралей // Микробиология. 2001. Т. 70. № 5. С. 709–713.

10. Лысак Л.В. Бактериальные сообщества городских почв. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2010. 46 с.
11. Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификация почвенных бактерий. М.: Макс-пресс, 2003. 120 с.
12. Лысак Л.В., Лапыгина Е.В. Разнообразие бактериальных сообществ городских почв // Почвоведение. 2018. № 9. С. 1108–1114.
13. Лысак Л.В., Сидоренко Н.Н. О видовом разнообразии родококков в городских почвах // Микробиология. 1997. Т. 66. № 4. С. 574–576.
14. Лысак Л.В., Сидоренко Н.Н., Марфенина О.Е., Звягинцев Д.Г. Микробные комплексы городских почв // Почвоведение. 2000. № 1. С. 80–85.
15. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 196 с.
16. Почва, город, экология / Отв. ред. Г.В. Добровольский. М.: Фонд “За экономическую грамотность”, 1997. 320 с.
17. Прокофьева Т.В., Герасимова М.И., Безуглова О.С., Бахматова К.А., Гольева А.А., Горбов С.Н., Жарикова Е.А., Матинян Н.Н., Наквасина Е.Н., Сивцева Н.Е. Введение почв и почвоподобных образований городских территорий в классификацию почв России // Почвоведение. 2014. № 10. С. 1155–1164. <https://doi.org/10.7868/S0032180X14100104>
18. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология / Под ред. А.С. Лабинской. М.: Изд-во БИНОМ, 2008. 1080 с.
19. Соколов М.С., Соколов Д.М., Тымчук С.Н., Ларин В.Е. Методология и показатели санитарно-микробиологического контроля безопасности почвы (аналитический обзор) // Биосфера. 2014. Т. 6. № 2. С. 158–169.
20. Тепеева А.Н., Глушакова А.М., Качалкин А.В. Особенности дрожжевых сообществ почв города Москвы // Микробиология. 2018. Т. 87. № 3. С. 303–313.
21. Терехова В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы // Почвоведение. 2011. № 2. С. 190–198.
22. Трошина Е.Н. Мониторинг гигиенического состояния городских почв как элемент оценки риска здоровью населения // Здоровье населения и среда обитания. 2008. № 12. С. 34–35.
23. Трухина Г.М., Егорова И.П., Дерябкина Л.А. Гигиеническая оценка результатов мониторинговых наблюдений за состоянием почв города // Гигиена: прошлое, настоящее и будущее. 2001. Вып. 1. С. 601–603.
24. Экологические функции городских почв / Отв. ред. А.С. Курбатова. — М. Смоленск: Маджента, 2004. 232 с.
25. Andreoni V., Cavalca L., Rao M.A., Nocerino G., Bernasconi S., Dell’Amico E., Colombo M., Gianfreda L. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils // Chemosphere. 2004. № 57. P. 401–412.
26. Baker G.S., Smith J., Cowan D.A. Review and reanalysis of domain-specific 16S primers // J. Microbiol. Methods. 2003. № 55. P. 541–555.
27. Braun B., Bockelmann U., Grohmann E., Szewzyk U. Polyphasic characterization of the bacterial community in an urban soil profile with *in situ* and culture-dependent methods // Appl. Soil Ecology. 2006. V. 31. № 3. P. 267–279.

Bacteriological Complexes of Urbanozems from Some Southern Cities of Russian Federation

A. M. Glushakova^{1,2,*}, L. V. Lysak¹, A. B. Umarova¹, T. V. Prokofieva¹,
Yu. V. Podushin³, G. S. Bykova¹, and L. P. Malukova⁴

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

²Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, 105064 Russia

³Kuban SAU, Krasnodar, 350044 Russia

⁴Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Sochi, 354002 Russia

*e-mail: aglush1982@gmail.com

Urban soils differing in the intensity of anthropogenic loads in them were studied in several largest (Krasnodar), large (Sochi, Simferopol), and moderately large (Maikop) cities of southern Russia. The obtained data on the diversity of bacterial complexes in these soils suggest that in the urban soils with the high anthropogenic load (Sochi, Simferopol, Krasnodar), a considerable transformation of natural bacterial complexes takes place with a sharp increase in representation of Enterobacteriaceae. Along with microorganisms indicative of the sanitary state of urban soils (*E. coli*, *En. faecalis*), the soils also contain bacteria belonging to *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Serratia* genera; some of their species may cause intestinal and allergic diseases. In the urban soil of Sochi, the spores of sulfite-reducing *Clostridia*, including *Clostridium perfringens* have been found. In the urban soil of Maikop with the lowest population density among the studied cities, changes in the structure of natural bacterial complexes are virtually absent. The abundances of sanitary-indicative microorganisms (*E. coli* and *Enterococcus faecalis*) enterococci in urban soils of all the studied cities, except for Maikop, exceeded the normative value for sanitary-safe clean soils (<10 CFU/g soil).

Keywords: urboecosystem, ecological state of cities, sanitary conditions, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Clostridium perfringens*