



УДК 504.05+579.26

## Реакція мікробіоти ґрунту на дію важких металів у зоні впливу залізничного транспорту

Н.Ю. Бобрик<sup>1</sup>, М.В. Кривцова<sup>1</sup>, В.І. Ніколайчук<sup>1</sup>, І. Волощук<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ДВНЗ «Ужгородський національний університет», Ужгород, Україна

<sup>2</sup>Університет Матея Бела, Банська Бистриця, Словачька Республіка

Виявлено закономірності перебудови мікробних ценозів ґрунтів територій, що перебувають у зоні впливу залізничної лінії Чоп – Ужгород – Самбір (у межах Закарпатської області). У ґрунтах, наближених до залізничних колій, відбувається зміна співвідношення мікробних угруповань ґрунту, яка характеризується зниженням кількості азотфіксаторів, мікроміцетів, олігонітрофілів, амілолітичної та педотрофної мікрофлори порівняно з контролем. Відбувається підвищення кількості амоніфікаторів за рахунок спорової мікробіоти та ентеробактерій. У лучних і буроземних ґрунтах кількість олігонітрофілів, міксобактерій та амілолітичних бактерій закономірно знижується з віддаленням від залізничної колії у зв'язку з підвищеною кислотністю ґрунтів і поліметалічним забрудненням рухомими формами важких металів. За результатами кореляційного аналізу встановлено середні та сильні кореляційні зв'язки між кількістю еколого-трофічних груп мікроорганізмів та вмістом кислоторозчинних форм свинцю. У ґрунтах усіх моніторингових ділянок найчутливішу реакцію на вміст важких металів проявили азотфіксатори та мікроскопічні гриби.

*Ключові слова:* залізничні колії; кислоторозчинні форми важких металів; ґрунтова мікробіота; еколого-трофічні групи мікроорганізмів

## Response of soil microflora to impact of heavy metals in zones of influence of railway transport

N. Bobryk<sup>1</sup>, M. Kryvtsova<sup>1</sup>, V. Nikolajchuk<sup>1</sup>, I. Voloshchuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine

<sup>2</sup>University of Matej Bel, Banská Bystrica, Slovak Republik

Monitoring research on the areas intensively and continuously affected by technogenic loading has remained topical until nowadays. The soil as a basic component of many ecosystems, including the structure of its microbial cenoses, remains an informative index of a system's overall stability. The areas affected by railway transport have been scarcely studied. Due to the above, the aim of this work has been to establish the transformation regularities of soil microbial cenoses of territories close to railways and to establish the groups of microorganisms that are a sensitive criterion of technogenic vehicular influence. For the purpose of microbiological research, soil samples were taken at different distances from the railway track (0, 25, 50, 100 and 250 m) within five monitoring sections of the T Chop – Uzhhorod – Sambor railway (in the territory of Zakarpatska oblast). The number of ecological trophic groups was identified by means of inoculation on nutrient media using the method of serial dilution of soil suspensions. The research showed that in all types of soils that were adjacent to railway tracks, the number of ammonifiers and spore microbiota was high due to the high content of heavy metals (beyond the background levels). Besides, the bacterial microflora on beef-extract agar was characterized by homogeneity with domination of enteric bacteria and spore bacteria. Simultaneously, the numbers of nitrogen-fixing microorganisms, micromycetes, oligonitrophils, amylolytic and pedotrophic microflorae were shown to be low compared to the control. Farther from the railway track, pigmental species of bacteria appeared in the soil samples, attesting to the activity of self-purification processes. Correlation analysis of the data showed that the soil microbiota of the railway-side areas was undergoing changes as affected by heightened contents of heavy metals. Existence of medium and close connections was

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», вул. Волюшина, 32, Ужгород, 88000, Україна  
Uzhgorod National University, Voloshyn Str., 32, Uzhgorod, 88000, Ukraine  
Tel.: +38-031-335-12. E-mail: NadjaBobrik@mail.ru

Університет Матея Бела, вул. На Амфітеатр, 1, Банська Бистриця, 974000, Словачька Республіка  
University of Matej Bel, Cesta na Amfiteater Str., 1, Banská Bystrica, 974000, Slovak Republik  
Tel.: +421-48-446-62-12. E-mail: voloscuk@soprs.sk

established between the number of microorganisms of ecological trophic groups and the content of acid-soluble lead forms at the levels of 0.72–1.72 maximum permissible concentrations. It was the nitrogen-fixing microorganisms and microscopic fungi that showed a fast response to heavy metals, which was an indication of their possible use as indicators of the ecological state of technogenically transformed soils.

*Keywords:* railway tracks; acid-soluble forms of heavy metals; soil microbiota; ecological trophic groups of microorganisms

## Вступ

В умовах інтенсифікації техногенного навантаження на довкілля біологічна індикація набуває дедалі більшої актуальності (Kulbachko et al., 2011; Tsvetkova et al., 2016). Здійснення об'єктивної екологічної оцінки біогеоценозів можливе за умови поєднання фізико-хімічних методів із біоіндикаційними (Andrejuk et al., 2001; Nikolajchuk, 2004; Brygadyrenko, 2006; Zemlianyi, 2014; Belokon, 2015; Brygadyrenko and Ivanysyn, 2015). Одним з основних критеріїв біотестування у системі екологічного моніторингу довкілля виступає інтенсивність перебігу біологічних процесів у ґрунтах, зокрема, структура мікробних угруповань (Brookes, 1993; Andrejuk et al., 2001). Вивчення поширення угруповань мікроорганізмів антропогенно порушених ґрунтів дає інформацію не тільки про ступінь їх деградації, а і про екологічний стан досліджуваних екосистем у цілому. На біоценотичному рівні організації живого реакція ґрунтової мікробіоти на антропогенні забруднювачі виражається у зміні її кількісного та якісного складу (Andrejuk et al., 2001). Виявляється висока інформативність мікробіологічних показників дає змогу всебічно оцінювати спрямованість трансформації речовини у ґрунтових умовах (Margesin et al., 2000; Nikolajchuk, 2004; Hinojosa et al., 2009). Суттєва перебудова структури мікробіоценозів ґрунту супроводжується зменшенням їх таксономічного різноманіття та появою нових домінантів. Мікробіологічні показники застосовують у моніторингу ґрунтів за умов тривалого антропогенного навантаження. Вони дозволяють визначити глибину впливу вже на ранніх стадіях сукцесій мікробіоценозів з інтегральною оцінкою стану ґрунту (Andrejuk et al., 2001).

На теренах України питання впливу залізничного транспорту на довкілля залишається маловивченим. Тривале функціонування залізничного транспорту в умовах Закарпаття може виступати джерелом забруднення ґрунтів кислоторозчинними формами важких металів (ВМ) (Zn, Ni, Pb, Cu) (Bobryk, 2015). Виявлено суттєву перебудову мікробних ценозів ґрунту на прикладі призалізничних територій м. Чоп (Nicolajchuk et al., 2009) та смт. Великий Березний (Bobryk et al., 2012). Численні публікації свідчать про чутливість мікробного ценозу до забруднення важкими металами (Kozdrój, 1995; Andrejuk et al., 2001; Rajapaksha et al., 2004; Frey et al., 2006; Gülser and Erdoğan, 2007; Chien, et al., 2008; Halász, et al., 2008; Epelde et al., 2010; Płaza et al., 2010; Zhang, et al., 2010; Lenart and Wolny-Kołodka, 2012). Однак більшість досліджень спрямована на визначення реакції ґрунтової мікробіоти на штучно створені високі дози ВМ в умовах лабораторного експерименту, не враховуючи природні ґрунтово-кліматичні умови екотопу ґрунтових мікробіоценозів. Мета цієї статті – виявити перебудову мікробних угруповань ґрунту, який перебуває у зоні тривалого впливу залізничного транспорту Закарпатської області, та виокремити групи

мікроорганізмів, які найчутливіше реагують на вплив техногенного транспортного навантаження.

## Матеріал і методи досліджень

ґрунти для досліджень відбирали протягом 2013–2015 рр. у межах п'яти моніторингових ділянок (околиці м. Чоп, м. Ужгород, м. Перечин, смт. Великий Березний та с. Волосянка) на різних відстанях від залізничних колій магістралі Чоп – Ужгород – Самбір (0, 25, 50 і 100 м). ґрунти, відібрані на відстані 250 м від залізничної колії, приймали за контроль. Аналіз мікробного ценозу ґрунту проводили з використанням диференційно-діагностичних живильних середовищ методом серійних розведень ґрунтової суспензії. Для визначення кількості амоніфікаторів використовували м'ясопептонний агар (МПА), актиноміцетів та мікроорганізмів, що мінералізують мінеральні форми азоту (амілолітичних) – крохмаль-аміачний агар (КАА), міксобактерій – картопляний агар, мікроскопічних грибів – середовище Сабуро, оліготрофів – голодний агар (ГА), олігонітрофілів – середовище Ешбі, педотрофів – ґрунтовий агар (ГрА), бактерій групи кишкової палички (БКПП) – середовище Ендо. Підрахунок колоній та вивчення морфологічних, культуральних властивостей виділених ізолятів проводили загальноприйнятими мікробіологічними методами (Zvjagincev, 1991). Кількість мікроорганізмів виражали в колонієтвірних одиницях (КУО) на один грам абсолютно сухого ґрунту з урахуванням коефіцієнта вологості та розведення ґрунтової суспензії. Відносну кількість азотобактера визначали методом аплікації ґрунтових грудочок на середовищі Ешбі. Результат виражали у відсотках оброслих грудочок ґрунту до загальної їх кількості.

Оцінку достовірних відмінностей у кількості мікроорганізмів проводили методом ANOVA. Результати порівняння багатьох вибірок оцінювали за допомогою тесту Тьюкі. Відмінності були визнані статистично значущими за  $P < 0,05$ .

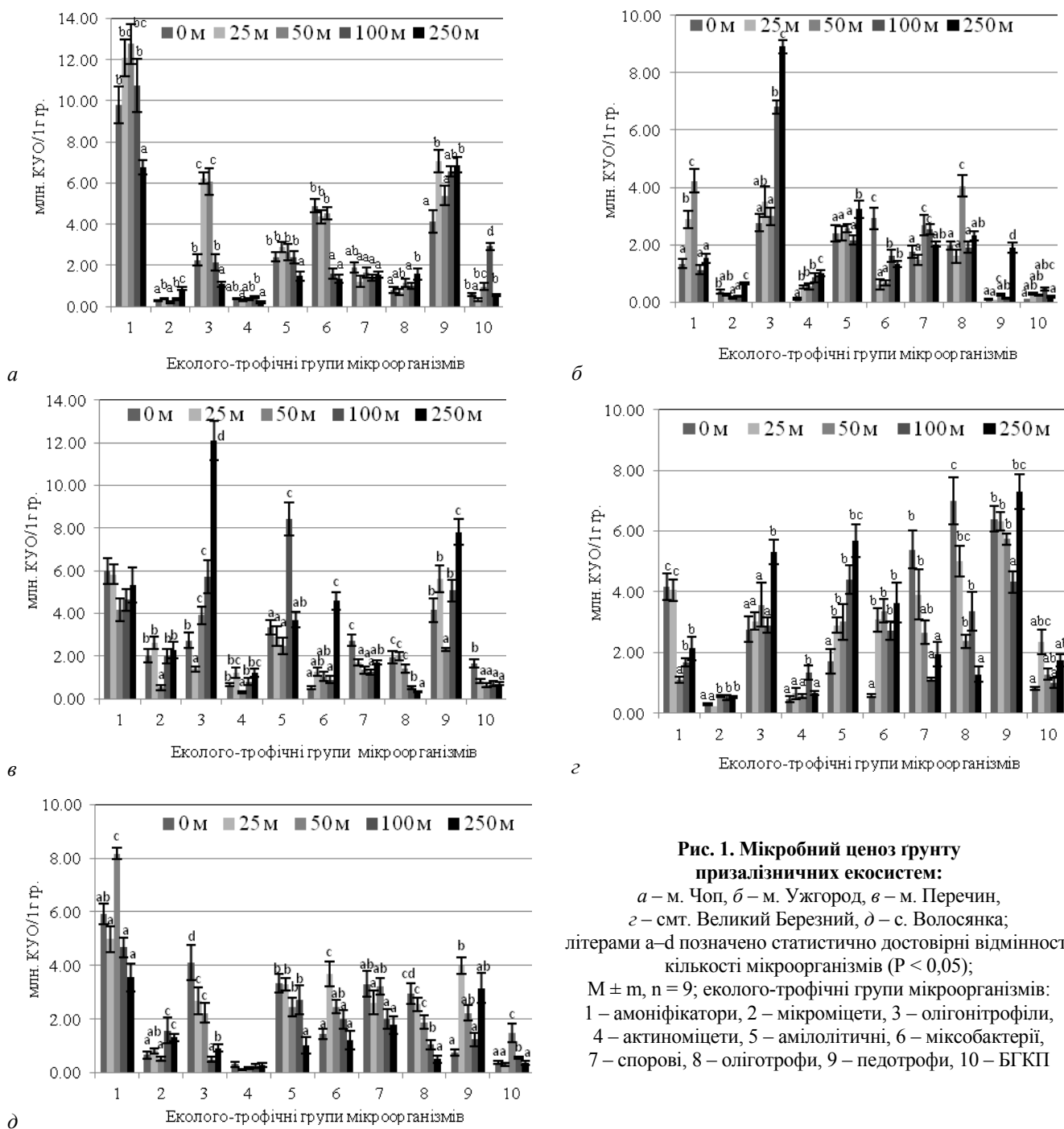
## Результати та їх обговорення

**Структура мікробіоти ґрунту призалізничних територій.** Кількісний аналіз мікробного угруповання проводили шляхом виявлення та підрахунку морфологічних типів окремих еколого-трофічних груп мікроорганізмів. Мікробіологічний аналіз лучних ґрунтів призалізничних територій м. Чоп показав, що за умов тривалого впливу залізничного транспорту відбувається перебудова мікробного ценозу. Еколого-геохімічне обстеження ґрунтів показало, що зона 0–100 м від залізничної колії характеризується підвищеним вмістом кислоторозчинних форм ВМ, який перевищує фонові показники в 1,01–2,89 рази. Кислотність ґрунту коливається у широких межах ( $pH_{\text{сол}} = 4,78–7,07$ ). При цьому ґрунти, відібрані на відстані 25, 100 та 250 м від

залізничної колії, характеризуються слабо- та середнь-окислою реакцією ( $pH = 4,68, 5,40$  та  $4,78$  відповідно).

Виявлено достовірне підвищення кількості амоніфікаторів, олігонітрофілів та амілолітичних мікроорганізмів на відстані 0–100 м від залізничної колії порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ). Найбільшу кількість амоніфікаторів виявлено на відстані 25 та 50 м від залізничної колії ( $12,09 \pm 1,07$  і  $12,75 \pm 0,95$  млн КУО/г абсолютно сухого ґрунту відповідно), що удвічі більше, ніж у ґрунті контрольної ділянки ( $6,75 \pm 0,35$  млн КУО/г). У випадку посіву зразків забруднених ґрунтів на середовище МПА переважали ентеробактерії та спорова мікробіота. Аналогічно найбільшу

кількість олігонітрофілів виявлено на відстані 25 та 50 м від залізничної колії ( $6,07$ – $6,24$  млн КУО/г), а на відстані 100 та 250 м від залізничної колії їх кількість зменшується у 3–5 разів (рис. 1). Кількість міксобактерій суттєво перевищувала контрольні показники на відстані 0–50 м від колії. ґрунти контрольної ділянки володіли слабкокислою реакцією ( $pH_{\text{сол}} = 4,78$ ), що ймовірно лімітує кількість міксобактерій та амілолітичної мікробіоти. Кількість мікроміцетів і педотрофів поступово збільшувалась на віддаленні від залізничної колії ( $P < 0,05$ ). Зниження кількісних показників педотрофної мікрофлори збігається з високим вмістом виявлених кислоторозчинних форм Рb на рівні 1 ГДК (0 м).



**Рис. 1. Мікробний ценоз ґрунту призалізничних екосистем:**

*а* – м. Чоп, *б* – м. Ужгород, *в* – м. Перечин, *г* – смт. Великий Березний, *д* – с. Волясьянка; літерами *а–д* позначено статистично достовірні відмінності кількості мікроорганізмів ( $P < 0,05$ );  $M \pm m$ ,  $n = 9$ ; еколого-трофічні групи мікроорганізмів: 1 – амоніфікатори, 2 – мікроміцети, 3 – олігонітрофіли, 4 – актиноміцети, 5 – амілолітичні, 6 – міксобактерії, 7 – спорові, 8 – оліготрофи, 9 – педотрофи, 10 – БГКП

Під час дослідження ґрунтів м. Ужгород виявлено акумуляцію кислотозчинних форм Cu, Pb, Zn, Ni на відстані 25–50 м і підвищену кислотність ( $pH_{\text{сол}} = 5,26$  та

$4,83$  відповідно). На відстані 0–100 м від колії встановлено вміст Pb, що перевищує ГДК у 1,27–1,72 рази. У ґрунті на відстані 25–50 м від колії відбувається достовірне

підвищення кількості амоніфікаторів порівняно з іншими точками. Чисельність амоніфікаторів сягала максимального значення на відстані 50 м від залізничної колії ( $4,23 \pm 0,41$  млн. КУО/г), а на ділянці 100–250 м від залізничної колії їх кількість зменшувалась учетверо. Подібні тенденції виявлено також для розподілу оліготрофів у призалізничних ґрунтах. Підвищена чисельність амоніфікаторів та оліготрофної мікрофлори ґрунту на відстані 50 м від колії збігається з високим вмістом кислоторозчинних форм Pb на рівні 1,72 ГДК ( $r = +0,53$ ). У працях інших авторів на прикладі сірого лісового ґрунту також установлено, що за умов забруднення ґрунту солями цинку та свинцю на рівні 1–5 ГДК (розрахунок за кислоторозчинними фракціями) кількість амоніфікувальних бактерій зростає на 26–31% порівняно з контролем (Malynovs'ka and Litvin, 2012). Ґрунти заплавних едафотопів Закарпаття, забруднені важкими металами (Zn, Pb, Cu та Mn) внаслідок аварій на гірничорудних підприємствах Румунії, характеризувались високими значеннями амоніфікаторів порівняно з фоновими незабрудненими ґрунтами (Bojko et al., 2008). У ґрунті, відбраному на відстані 25–50 м від залізничної колії, у зв'язку з поліметалічним забрудненням ґрунту відбувається зниження міксобактерій удвічі порівняно з контролем. На віддаленні від залізничної колії 250 м відбувається суттєве поступове підвищення кількості мікроміцетів, актиноміцетів, олігонітрофілів, педотрофів порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ), що вказує на поліпшення трофічного режиму та активізацію мінералізаційних процесів. Такі зміни у структурі мікробних угруповань зумовлені дією кислоторозчинних форм важких металів, про що свідчать середні та високі негативні кореляційні зв'язки між даними показниками ( $r = -0,51 \dots -0,90$ ). Отже, на віддаленні від залізничної колії відбувається стабілізація мікробіологічних показників, що проявляється у поступовому підвищенні кількості вказаних еколого-трофічних груп мікроорганізмів (Nikolajchuk et al., 2009; Bobryk et al., 2012).

Перебудова мікробного угруповання ґрунтів призалізничних територій м. Перечин також значною мірою пов'язана з умістом кислоторозчинних форм ВМ, що перевищують фонові показники. На відстані 0 м від колії встановлено найвищий вміст Pb, що в 1,2 раза перевищує ГДК, 25 м – Zn, Ni (Кс = 10,54 та 3,59 відповідно), 50 м – Cu (Кс = 2,72). За кислотністю ґрунту оцінювали як близькі до нейтральних ( $pH_{\text{сол}} = 5,79$ ). При цьому зразки ґрунту на відстані 25 та 50 м, забруднені важкими металами, характеризувались слабо- та середньокислою реакцією ( $pH = 5,26$  та  $4,83$  відповідно). У ґрунтах, прилеглих до залізничних колій (0–50 м), кількість актиноміцетів і педотрофів зменшувалась удвічі порівняно з контролем. Тісні негативні кореляційні зв'язки виявлено між умістом кислоторозчинних форм Pb та кількістю олігонітрофілів, міксобактерій, яка достовірно знижувалась у 6–9 разів порівняно з контрольними ґрунтами ( $r = -0,79$  та  $-0,74$  відповідно). Кількість амоніфікаторів коливалась у межах 4,17–6,00 млн КУО/г і суттєво не відрізнялась на різних відстанях від залізничної колії. Проте мікрофлора ґрунту, відбраного на відстані 100 та 250 м, характеризувалась більшим різноманіттям і переважанням пігментних форм бактерій порівняно з бактеріальною мікробіотою наближених до залізничних колій ґрунтів. Достовірно зниження кількості актино-

міцетів, мікроміцетів та педотрофів відбувалось у ґрунтах, відібраних на відстані 50 м від колії у разі поліметалічного забруднення кислоторозчинними формами ВМ (Cu – 0,71 ГДК; Zn – 0,37 ГДК; Pb – 0,86 ГДК). На відстані 0 м від залізничної колії реєстрували найбільшу кількість БГКП, оліготрофів та спорової мікробіоти, що достовірно відрізняється від решти точок відбору проб ( $P < 0,05$ ). Кількість БГКП поблизу залізничних колій (0 м) становила  $1,66 \pm 0,19$  млн КУО/г, а в ґрунті контрольної ділянки їх кількість зменшується вдвічі. Це свідчить, що здатність ґрунту до самоочищення від бактерій значно знижується поблизу залізничних шляхів.

Під час аналізу ґрунтів смт. Великий Березний поліметалічне забруднення кислоторозчинними формами ВМ виявлено на відстані 0 м (Cu – Кс = 1,2; Ni – Кс = 3,4) та 25 м від залізничної колії (Pb – Кс = 1,1; Zn – Кс = 1,4). Реакція ґрунтів відповідає близькій до нейтральної ( $pH_{\text{сол}} = 5,9$ ), а на відстані 25 та 100 м від залізничної колії виявлено підвищену кислотність ґрунтів ( $pH_{\text{сол}} = 5,05$  та  $5,50$  відповідно). Мікробіологічний аналіз ґрунтів даної моніторингової ділянки показав, що на віддаленні від залізничної колії кількість мікроорганізмів поступово збільшується. У ґрунті поблизу залізничних колій кількість мікроміцетів становила  $0,29 \pm 0,03$  млн КУО/г, олігонітрофілів –  $2,77 \pm 0,42$ , амілолітичних –  $1,71 \pm 0,40$ , педотрофів –  $6,40 \pm 0,41$  млн КУО/г абсолютно сухого ґрунту. У ґрунті контрольної ділянки зі зниженням вмісту кислоторозчинних форм важких металів їх кількість зростала в 2–5 разів. Підвищення кількості амілолітичних бактерій та міксоміцетів відбувається на відстані 25–250 м, мікроскопічних грибів – 50–250 м від залізничної колії. У ґрунті, відбраному на відстані 0–100 м від колії, кількість олігонітрофів суттєво не відрізнялась, проте у контролі їх кількість достовірно зростала ( $P < 0,05$ ). Із поступовим підвищенням кількості бактерій на відстані 100 м від залізничної колії відбувається зниження кількості педотрофів, що узгоджується з підвищеною кислотністю ґрунту ( $pH_{\text{сол}} = 5,5$ ). Одночасно за низьких показників кількості основних еколого-трофічних груп мікроорганізмів у наближених до колій ґрунтах у випадку поліметалічного забруднення важкими металами відбувається підвищення вмісту спорової мікробіоти ( $r = +0,50$  –  $+0,69$ ) та оліготрофів ( $r = +0,52$  –  $+0,68$ ) (Bobryk et al., 2012). Така перебудова мікробоценозу на відстані 0–25 м від залізничної колії збігається з високим умістом кислоторозчинних форм Cu, Pb, Zn на рівні 0,5–0,7 ГДК. При цьому за рахунок ентеробактерій і спорових бактерій підвищується чисельність амоніфікаторів на середовищі МПА. У зразках, відібраних на відстані 50 і 250 м від залізничної колії, з'являються пігментні види бактерій, що свідчить про активність процесів самоочищення ґрунту.

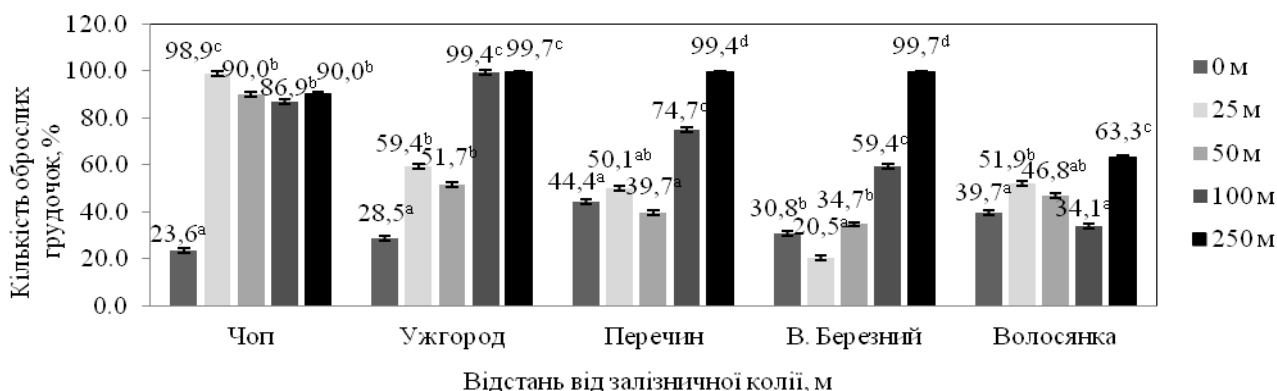
Мікробний ценоз ґрунтів с. Волосянка відрізняється від попередніх моніторингових ділянок, що пояснюється гірським рельєфом і підвищенням гіпсометричного рівня контрольної ділянки (525 м н. р. м.). На даній території переважають бурі гірсько-лісові ґрунти, які володіють високою кислотністю ґрунтового розчину ( $pH_{\text{сол}} = 3,93$ – $5,18$ ). Висока або низька кислотність ґрунтів лімітує нормальний розвиток ґрунтових організмів. Еколого-геохімічне обстеження буроземних ґрунтів призалізничних територій с. Волосянка показало, на відстані 0–100 м відбувається забруднення рухомими формами Pb (Кс =

1,10–1,29) та Ni ( $K_c = 2,22–3,11$ ). На відстані 0 м колії виявлено слабокислі ґрунти ( $pH_{\text{сол}} = 5,18$ ) 25 м – сильнокислі ( $pH_{\text{сол}} = 4,42$ ), 50–100–250 м – дуже сильнокислі ( $pH_{\text{сол}} = 4,07, 3,89$  та  $3,93$  відповідно). У зв'язку з високою кислотністю ґрунту кількість олігонітрофілів, міксобактерій та амілолітичних бактерій поступово знижується у контрольних ґрунтах. У ґрунті поблизу залізничних колій чисельність олігонітрофілів становить  $4,10 \pm 0,65$  млн КУО/г, амілолітичних –  $3,33 \pm 0,33$  млн КУО/г, а на відстані 250 м від залізничної колії кількість зменшується у 3–4 рази. З наближенням до залізничної колії зростає кількість оліготрофілів і спорової мікробіоти порівняно з контролем. Достовірне підвищення кількості амоніфікаторів та БГКП відбувається на відстані 50 м від залізничної колії ( $P < 0,05$ ), де реєстрували високий вміст кислоторозчинних форм Pb та Zn на рівні 0,78 та 0,25 ГДК ( $r = +0,55$  та  $r = +0,53$  відповідно). На середовищі МПА бактеріальна мікробіота одноманітна з переважанням ентеробактерій. Найвищий вміст амоніфікаторів виявлено на відстані 50 м від залізничної колії ( $8,17 \pm 0,97$  млн КУО/г), а в контролі їх кількість зменшується майже утричі. Щодо педотрофітів, то їх кількість поступово зростає з  $0,74 \pm 0,11$  (поблизу залізничної колії) до  $3,16 \pm 0,57$  млн КУО/г (у контрольних ґрунтах). Аналогічна тенденція встановлена і для кількості мікроміцетів. Кількість актиноміцетів суттєво не змінюється у ґрунтах призалізничних територій.

Отже, у ґрунтах призалізничних територій у межах Закарпатської області відбувається суттєва перебудова структури мікробних ценозів. У зв'язку з поліметалічним

забрудненням кислоторозчинними формами ВМ відбувається однотипна перебудова мікробних угруповань, що проявлялась у достовірному підвищенні кількості амоніфікаторів, спорової мікробіоти та зниженні кількості мікроміцетів. Зміна співвідношення еколого-трофічних груп мікроорганізмів – чутливий критерій стану ґрунтів, забруднених важкими металами. Середні та тісні кореляційні зв'язки встановлено між кількістю різних груп мікроорганізмів та вмістом кислоторозчинних форм свинцю на рівні 0,72–1,72 ГДК. Установлені залежності відповідають ланцюгу токсичності важких металів на бактерії (Bojko et al., 2008).

**Розподіл бактерій роду *Azotobacter* у ґрунтах призалізничних територій.** Техногенний вплив порушує рівновагу мікробних угруповань ґрунту. Особливу увагу слід звернути на вміст вільноживучого азотфіксатора роду *Azotobacter* техногенно трансформованих ґрунтів, який значною мірою визначає біологічний потенціал ґрунтів, забезпеченість їх поживними елементами та фітотоксичність. Крім того, чутливість азотобактера як універсального тесту проявляється не тільки в сильно забруднених ґрунтах, а і в ґрунтах із середнім та низьким ступенями токсичності (Andrejuk et al., 2001). Відносна чисельність азотфіксаторів роду *Azotobacter* у ґрунтах моніторингових ділянок суттєво зростає на відстані 25–250 м від залізничної колії ( $P < 0,05$ ). На відстані 0 м від залізничної колії реєстрували низький відсоток азотфіксаторів (28,5–44,4%), а вже у ґрунті контрольних ділянок даний показник збільшується в 2,2–3,5 рази (рис. 2).



**Рис. 2. Вміст вільноживучих азотфіксаторів роду *Azotobacter* у ґрунтах призалізничних територій:** буквами а–d позначено достовірну різницю вмісту азотфіксаторів за  $P < 0,05$  (тест Тьюкі);  $M \pm m$ ,  $n = 9$

Між відсотком азотфіксаторів та вмістом рухомих форм Cu, Pb, Zn, Ni у ґрунтах виявлено негативні середні та високі кореляційні зв'язки. Найвиразніше дана тенденція проявляється у ґрунтах м. Ужгород, де встановлено обернену кореляційну залежність між досліджуваними показниками ( $r = -0,69 \dots -0,86$ ). У ґрунтах м. Чоп, м. Перечин та с. Волосянка низький відсоток азотфіксаторів відповідає високому вмісту кислоторозчинних форм свинцю ( $r = -0,56 \dots -0,78$ ) та нікелю ( $r = -0,52 \dots -0,56$ ). Тенденцію зниження чисельності азотобактера пропорційно кількості полутантів підтверджено працями інших дослідників (Thavamani et al., 2012; Malynov'ska and Litvin, 2012; Khudhur, 2013). Проведені дослідження свідчать про високу чутливість бактерій роду *Azotobacter* до вмісту у ґрунтах важких металів, що дозволяє рекомендувати використання азотфіксаторів як показника забруднення ґрунтів.

## Висновки

Виявлено закономірності перебудови мікробних ценозів ґрунтів на п'яти моніторингових ділянках, розташованих у зоні впливу залізничної магістралі Чоп – Ужгород – Самбір (у межах Закарпатської області). В усіх типах ґрунтів поблизу залізничних колій у зв'язку з високим вмістом важких металів відбувається підвищення кількості амоніфікаторів і спорової мікробіоти. При цьому бактеріальна мікрофлора на середовищі МПА характеризується домінуванням ентеробактерій і спорових бактерій. Відбувається зменшення кількості азотфіксаторів, мікроміцетів, олігонітрофілів, амілолітичної та педотрофної мікрофлори порівняно з контролем. На віддаленні від залізничної колії

у зразках ґрунту з'являються пігментні види бактерій, що свідчить про активність процесів самоочищення. У лучних і буроземних ґрунтах виявлено тенденцію закономірного зниження кількості олігонітрофілів, міксобактерій та амілолітичних бактерій на віддаленні від залізничної колії у зв'язку з підвищеною кислотністю. Перебудова складу мікробіоти ґрунту призалізничних територій відбувається за впливу підвищеного вмісту важких металів, про що свідчать дані кореляційного аналізу. Найбільшу кількість середніх та сильних кореляційних зв'язків встановлено між кількістю мікроорганізмів еколого-трофічних груп і вмістом кислоторозчинних форм свинцю на рівні 0,72–1,72 ГДК.

### Бібліографічні посилання

- Andrejuk, K.I., Iutyns'ka, G.O., Antypchuk, A.F., Valagurova, O.V., Kozyruc'ka, V.J., Ponomarenko, S.P., 2001. Funkcionuvannja mikrobnyh ugrupovan' v umovah antropogenogo navantazhennja [Functioning of microbial cenoses under anthropogenic load]. Oberegy, Kyiv (in Ukrainian).
- Bobyryk, N.J., 2015. Poshyrennja ta akumuljacija vazhkyh metaliv u ґruntah przyzaliznychnyh terytorij [Spreading and accumulation of heavy metals in soils of railway-side areas]. Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol. 23(2), 183–189 (in Ukrainian).
- Bobyryk, N.J., Kryvcova, M.V., Nikolajchuk, V.I., 2012. Mikrobocenz ґruntu luchnoi' ekosystemy v umovah vplyvu zaliznychnogo transport [Soil microbocenosis under influence of railway transport]. Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol. 20(2), 3–9 (in Ukrainian).
- Bojko, N., Balazhi, S., Galas, J.L., Koval', G., Koval'chuk, N., Kozlovsk'kyj, V., Kolesnyk, A., Legan', O., Romanjuk, N., Suharjev, S., Tot, M.D., Chonka, I., Chundak, S., Shymon, A., 2008. Zabrudnjuvachi ta i'h vplyvy na ekologichno vrazlyvi ekosystemy Verhn'ogo Potysjsja [Pollutants and their impact on the ecologically vulnerable ecosystems of the Upper Tysa River basin]. Nired'gaza, Uzhgorod (in Ukrainian).
- Brookes, P.C., 1993. The potential of microbiological properties as indicators in soil pollution monitoring. Soil Monitoring 15, 229–254.
- Belokon, S.V., 2015. *Drosophila melanogaster* Mg. jak test-ob'jekt skryninhu ksenobiotykyv na akarycydnu aktyvnist' [*Drosophila melanogaster* Mg. as the test-object for screening xenobiotics on acaricidal activity]. Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University 5(1), 145–155 (in Ukrainian).
- Brygadyrenko, V.V., 2006. Vozmozhnosti ispol'zovaniya napochvennyh bespozvonochnyh dlya indikacii gradacij uvlazhneniya edafotopa v lesnyh ekosistemah [The possibility to use soil invertebrates to indicate soil moisture gradations in the forest ecosystems]. Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol. 14(1), 21–26 (in Russian).
- Brygadyrenko, V., Ivanyshyn, V., 2015. Changes in the body mass of *Megaphyllum kievense* (Diplopoda, Julidae) and the granulometric composition of leaf litter subject to different concentrations of copper. J. Forest Sci. 61(9), 369–376.
- Chien, C., Kuo, Y., Chen, C., Hung, C., Yeh, C., Yeh, W., 2008. Microbial diversity of soil bacteria in agricultural field contaminated with heavy metals. J. Environ. Sci. 20(3), 359–363.
- Epelde, L., Becerril, J.M., Kowalchuk, G.A., Deng, Y., Zhou, J., Carbisu, C., 2010. Impact of metal pollution and *Thlaspi caerulescens* growth on soil microbial communities. Appl. Environ. Microb. 76(23), 7843–7853.
- Frey, B., Stemmer, M., Widmer, F., Luster, J., Sperisen, C., 2006. Microbial activity and community structure of a soil after heavy metal contamination in a model forest ecosystem. Soil Biol. Biochem. 38(7), 1745–1756.
- Gülser, F., Erdoğan, E., 2007. The effects of heavy metal pollution on enzyme activities and basal soil respiration of roadside soils. Environ. Monit. Assess. 145(1), 127–133.
- Halász, J.L., Chonka, I., Tóth, M.D., Boyko, N., Balázs, S., 2008. Microorganism and enzyme activities in the soil of landfill sites of Bereg county. Arch. Agron. Soil Sci. 54(5), 465–479.
- Hinojosa, M.B., Garcia-Ruiz, R., Carreira, J.A., Dick, R.P., 2009. Utilizing microbial community structure and function to evaluate the health of heavy metal polluted soils. In: Sherameti, I., Varma, A. (eds). Soil heavy metals. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 185–224.
- Khudhur, M., 2013. Effect of some pesticides on growth, nitrogen fixation and nifgenes in *Azotobacter chroococcum* and *Azotobacter vinelandii* isolated from soil. J. Toxicol. Environ. Health Sci. 5(9), 166–171.
- Kozdrój, J., 1995. Microbial responses to single or successive soil contamination with Cd or Cu. Soil Biol Biochem. 27, 1459–1465.
- Kulbachko, Y., Loza, I., Pakhomov, O., Didur, O., 2011. The zoological remediation of technogen faulted soil in the industrial region of the Ukraine Steppe zone. In: Behnassi, M. et al. (eds.), Sustainable agricultural development. Springer Science + Business Media, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, 115–123.
- Lenart, A., Wolny-Koładka, K., 2012. The effect of heavy metal concentration and soil pH on the abundance of selected microbial groups within Arcelor Mittal Poland Steelworks in Cracow. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 90(1), 85–90.
- Malynovs'ka, I.M., Litvin, J.I., 2012. Mikrobni ugrupovannja sirogo lisovogo ґruntu, zabrudnenogo zrostajuchymy dozamy vazhkyh metaliv [Microbial cenoses of grey forest soils contaminated with growing doses of heavy metals]. Gruntoznavstvo 13, 84–91 (in Ukrainian).
- Margesin, R., Zimmerbauer, A., Schinner, F., 2000. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. Chemosphere 40(3), 339–346.
- Nikolajchuk, V.I., 2004. Ekologichnyj stan Zakarpattja. Problemy i perspektivy [Ecological situation in Transcarpathia. Problems and prospects]. Medium, Uzhgorod (in Ukrainian).
- Nikolajchuk, V.I., Kryvcova, M.V., Symochko, L.J., Symochko, V.V., Kolesnyk, A.V., Kolesnyk, O.B., 2009. Kompleksne vyvchennja ekologichnogo stanu zaliznychnyh pry magistr'al'nyh ekosystem Zakarpattja [A complex study of ecological situation of the railway-side ecosystems of Transcarpathia]. Gruntoznavstvo 10, 13–21 (in Ukrainian).
- Plaza, G.A., Nałecz-Jawecki, G., Pinyakong, O., Illmer, P., Margesin, R., 2010. Ecotoxicological and microbiological characterization of soils from heavy-metal- and hydrocarbon-contaminated sites. Environ. Monit. Assess. 163(1), 477–488.
- Rajapaksha, R.M., Tobor-Kapłon, R. M., Bååth, E., 2004. Metal toxicity affects fungal and bacterial activities in soil differently. Appl. Environ. Microb. 70(5), 2966–2973.
- Thavamani, P., Malik, S., Beer, M., Megharaj, M., Naidu, R., 2012. Microbial activity and diversity in long-term mixed contaminated soils with respect to polyaromatic hydrocarbons and heavy metals. J. Environ. Manage. 99, 10–17.
- Tsvetkova, N.M., Pakhomov, O.Y., Serdyuk, S.M., Yakyba, M.S., 2016. Biologichne riznomanittja Ukrainy. Dnipropetrovs'ka oblast'. Grunty. Metaly u gruntah [Biological diversity of Ukraine. The Dnipropetrovsk region. Soils. Metals in the soils]. Lira, Dnipropetrovsk (in Ukrainian).
- Zemlianyi, O.A., 2014. Deyaki osoblyvosti vyvedennja kadmiyu z ekskretsiyamy laboratornykh shchuriv v umovakh eksperymentu [Cadmium excretion in feces of rats at experimental conditions]. Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University 4(3), 55–69 (in Ukrainian).
- Zhang, F.-P., Li, C.-F., Tong, L.-G., Yue, L.-X., Li, P., Ciren, Y.-J., Cao, C.-G., 2010. Response of microbial characteristics to heavy metal pollution of mining soils in central Tibet, China. Appl. Soil Ecol. 45(3), 144–151.
- Zvjagincev, D.G. (ed.), 1991. Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii [Methods of soil microbiology and biochemistry]. MGU, Moscow (in Russian).

Надійшла до редколегії 14.03.2016