

ПОЧВЕННЫЙ МИКРОБИОМ В УСЛОВИЯХ АНТРОПОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

УДК 502.53:631.46

ОБИЛИЕ И РАЗНООБРАЗИЕ ПРОКАРИОТНЫХ СООБЩЕСТВ ПЫЛЕАЭРОЗОЛЯ И ГОРОДСКИХ ПОЧВ НА ТЕРРИТОРИИ МОСКВЫ

© 2023 г. Л. В. Лысак^{а, *}, С. А. Шоба^а, Т. В. Прокофьева^а,
А. М. Глушакова^{а, b}, Н. В. Гончаров^а, А. А. Белов^а

^аМГУ 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

*e-mail: lvlysak@mail.ru

Поступила в редакцию 19.10.2022 г.

После доработки 30.12.2022 г.

Принята к публикации 30.12.2022 г.

Получена комплексная (количественная и качественная) характеристика прокариотных сообществ твердых атмосферных выпадений (пылеаэрозоля) и образцов почв на территории г. Москвы на участках с разной интенсивностью антропогенной нагрузки. Общая численность бактерий в исследованных образцах твердых атмосферных выпадений (ТАВ) была меньше численности бактерий в образцах почв; актиномицетный мицелий в образцах ТАВ не обнаружен, хотя отмечался в образцах почв. Численность сапротрофных культивируемых бактерий в образцах ТАВ была на порядок меньше, чем в поверхностных горизонтах урбаноземов и реплантозема, отобранных на тех же участках. Среди культивируемых бактерий в пылеаэрозолях преобладали бактерии рода *Micrococcus*, в почвах преобладали представители филума Proteobacteria. В образцах ТАВ обнаружены представители семейства Enterobacteriaceae среди которых имеются виды, являющиеся потенциальными патогенами человека. Максимальное видовое разнообразие бактерий семейства Enterobacteriaceae зафиксировано в образцах ТАВ, отобранных на участках с повышенной антропогенной и транспортной нагрузкой. Санитарно-показательная бактерия *Escherichia coli* обнаружена во всех образцах ТАВ, ее содержание варьировало от 10 до 100 КОЕ/г, что по степени эпидемической опасности характеризует ТАВ как умеренно опасные. Экологические индексы, рассчитанные для прокариотных сообществ *in situ* (баркодинг гена 16S рРНК), свидетельствуют о меньшем таксономическом разнообразии прокариотных сообществ ТАВ по сравнению с сообществами близко расположенных городских почв.

Ключевые слова: урбанозем (Urbic Technosol), реплантозем (Urbic Technosol), численность бактерий, ДНК-метабаркодинг, санитарное-состояние почв, экологические функции почв, атмосферный пылеаэрозоль

DOI: 10.31857/S0032180X22601359, EDN: IFETYW

ВВЕДЕНИЕ

Одним из приоритетных направлений современных экологических исследований урбанизированных территорий (мегаполисов) является мониторинг пылевого загрязнения воздушной среды [41]. Пыль все чаще оказывается в числе основных загрязнителей воздуха крупнейших городов [40].

Главными компонентами твердого аэрозоля атмосферы являются почвенно-породные частицы, поднимаемые с поверхности земли в результате эрозионных процессов, а также первичные биологические аэрозольные частицы — организмы (аэропланктон) или их остатки: клетки бактерий, споры грибов, живые клетки водорослей, одноклеточные животные и др. [28, 36]. Но большая часть исследований уличной пыли связана с

тем, что на территориях с активной антропогенной нагрузкой, куда можно причислить все мегаполисы мира, в составе атмосферного аэрозоля появляется множество загрязнителей минеральной и органической природы [30–34].

Тем не менее пылеаэрозоль является переносчиком не только сапротрофных микроорганизмов, но и возбудителей оппортунистических инфекций (потенциально патогенных микроорганизмов) и аллергенных видов микроорганизмов. Некоторые штаммы этих организмов могут проявлять устойчивость к известным, широко применяемым в медицине противомикробным средствам (антибиотикам) из-за горизонтального переноса генов устойчивости к антибиотикам в микробных сообществах [16, 38]. В свою очередь антибиотикорезистентные штаммы микроорга-

низмов в окружающей человека атмосфере несут большую опасность для населения с ослабленным иммунитетом [17, 18, 26]. Несмотря на осуществляемый в обязательном порядке контроль показателей общей запыленности атмосферы в урбоэкосистемах (показатели $PM_{2.5}$ и PM_{10}), роль твердых частиц в перемещении микроорганизмов в атмосфере и связь их с почвенными микроорганизмами изучена недостаточно [35].

Цель работы — изучение обилия и разнообразия прокариотных сообществ городской пыли и поверхностных горизонтов почв г. Москвы, на участках с различной антропогенной нагрузкой.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на территории г. Москва, расположенного в центре Восточно-Европейской равнины, сложенной рыхлыми мелкодисперсными отложениями преимущественно ледникового и водно-ледникового происхождения. Климат региона умеренно-континентальный с холодной снежной зимой и умеренно теплым летом [14]. Материал для исследований собрали летом 2021 г.

Участок 1 расположен в центральном округе города на ул. Льва Толстого и включает Дом-музей Льва Толстого в Хамовниках с примыкающим к нему садом и окрестными дворами с жилыми и офисными зданиями. Ул. Льва Толстого представляет собой однополосную дорогу, осуществляющую транзитную функцию между соседними микрорайонами. Степень автотранспортной нагрузки — средняя. Отбор проб проводили с подоконников, стен и элементов забора (1.5 м от поверхности). Тип функционального использования — рекреационный, общественно-деловой. Образцы поверхностного горизонта почв отбирали на участке, примыкающем с юго-востока к музею-усадьбе, из урбанозема легкосуглинистого с подсыпками компоста под газоном в 5 м от дорожного полотна.

Участок 2 расположен в западном административном округе г. Москвы вдоль ул. Вересаева и включает непосредственно саму улицу, часть территории Института минералогии, геохимии и кристаллохимии редких элементов РАН (ИМГРЭ РАН), а также примыкающие дворовые территории и сквер. Ул. Вересаева — однополосная дорога, заканчивающаяся тупиком, характеризуется низкой степенью автотранспортной нагрузки. Сбор проб пыли проводили с подоконников и стен зданий (1.5 м от поверхности). Тип функционального использования — жилой и общественно-деловой. Образцы почвы отбирали из верхнего горизонта урбанозема легкосуглинистого, вскрытого на территории института под газоном из злаков и рудеральных видов.

Участок 3 располагается в районе Дорогомилово в Западном административном округе г. Москвы на пересечении крупных автомагистралей города: Кутузовского проспекта и Третьего транспортного кольца (ТТК). ТТК — десятиполосная крупная транспортная артерия города, одна из трех основных кольцевых магистралей, характеризуется высокой степенью автотранспортной нагрузки. Участок обособлен от примыкающих территорий шумозащитными экранами. Пробы пыли отбирали с отбойников (0.7 м от поверхности), шумозащитных экранов (1.5 м от поверхности). Тип функционального использования — транспортный. Пробы почвы отбирали из верхнего горизонта реплантозема супесчаного на участке с газонной растительностью, расположенной над Кутузовским тоннелем.

Участок 4 расположен в Донском районе г. Москвы (на границе Южного и Центрального административных округов) вдоль Ленинского проспекта и включает территорию Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН), Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова, а также соседние жилые здания, располагающиеся вдоль проспекта. Ленинский проспект — крупная десятиполосная автодорога, соединяющая периферию города с его центром. Степень автотранспортной нагрузки — высокая. Сбор пыли осуществляли с подоконников и выступающих элементов зданий (1.5 м от поверхности). Тип функционального использования — транспортный, общественно-деловой. Пробы ТАН собирали с помощью сметов с жестяных подоконников и других внешних элементов жилых зданий. Пробы почвы отбирали из урбанозема легкосуглинистого вскрытого на территории ИПЭЭ РАН.

Общую численность бактерий и длину актиномицетного мицелия определяли с помощью прямого люминесцентно-микроскопического метода с применением красителя акридина оранжевого. Учет численности прокариотных клеток проводили с использованием люминесцентного микроскопа ZEISS Axioscope 2+. Численность бактерий и длину актиномицетного мицелия рассчитывали по общепринятым формулам [5].

Определение численности и таксономической структуры культивируемых сапротрофных бактерий проводили при помощи посева на плотную питательную глюкозо-пептонно-дрожжевую среду с добавлением нистатина для подавления роста микроскопических грибов [8]. Посевы изучали на 10–14 сут инкубации. Представителей отдельных морфотипов бактерий выделяли в чистые культуры и определяли до рода на основании микроморфологических, культуральных и некоторых физиолого-биохимических признаков. Культивируемые сапротрофные бактерии идентифици-

ровали в помощь определителя Берджи [21], ключа для определения родов почвенных бактерий [8], в некоторых случаях секвенированием гена 16S рРНК [19]. Полученные данные статистически обрабатывали с использованием программы Microsoft Office Excel 2019.

Структуры сапротрофного бактериального комплекса определяли на основании критериев, разработанных на кафедре биологии почв МГУ им. М.В. Ломоносова [8]. Выделяли следующие группы обилия: доминанты (>30%), субдоминанты (20–30%), группа среднего обилия (10–20%) и минорные компоненты (<10%). Для более полной характеристики прокариотных сообществ исследованных образцов рассчитывали показатели обилия, проводили их сравнительный анализ. Кроме того, рассчитывали коэффициент Кожевина (k) [6], как отношение данных люминесцентной микроскопии (M , кл./г) к данным посевов на плотную питательную среду (P , кл./г):

$$k = \frac{M}{P}.$$

Содержание санитарно-показательных микроорганизмов в исследованных образцах изучали в соответствии с методическими указаниями Федерального центра госсанэпиднадзора Минздрава России (МУ 2.1.7.730-99. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест). Определяли численность представителей семейства Enterobacteriaceae, наличие кишечной палочки (*Escherichia coli*), энтерококков (*Enterococcus* spp.), клостридий (*Clostridium* spp.) в соответствии с методическими рекомендациями [10, 11].

Идентификацию выделенных штаммов проводили молекулярно-генетическими методами на основании анализа нуклеотидных последовательностей переменных участков V3–V4 региона гена 16S рРНК с последующим использованием базы данных NCBI BLAST. Для идентификации *Escherichia coli* и других представителей семейства Enterobacteriaceae из образцов твердых атмосферных выпадений и почвы использовали посев на хромогенную высокоселективную среду Rebecca® EB (NF Validation EN ISO 16140).

Таксономическую структуру прокариотных сообществ *in situ* определяли методом высокопроизводительного секвенирования библиотек генов 16S рРНК с использованием платформы Illumina MiSeq методом парноконцевого чтения (2 × 300 пар оснований) с генерацией не менее 10000 парных прочтений на образец по последовательностям гена гипервариабельного региона V3–V4 16S рРНК. Подготовку образцов осуществляли по двухстадийной ПЦР: амплификацией фрагмента V3–V4 региона гена 16S рРНК и последующей амплификацией полученных ПЦР-продуктов с целью баркодирования библиотек. Полученные ДНК-библиотеки после очистки на магнитных частицах и

измерения концентрации флуориметрическим методом использовали в качестве матриц для высокопроизводительного секвенирования.

Данные высокопроизводительного секвенирования обрабатывали с использованием автоматизированного алгоритма QIIME [23], включающего объединение прямых и обратноконцевых прочтений, удаление технических последовательностей, фильтрации последовательностей с низкими показателями достоверности прочтения отдельных нуклеотидов (качество <Q20), фильтрации химерных последовательностей. Для разбиения последовательностей на операционные таксономические единицы использовали алгоритм с открытым референсным порогом классификации 97%. Выравнивание прочтений на последовательность 16S рРНК и распределение последовательностей по таксономическим единицам проводили с использованием базы данных Silva версии 132 [37].

Разнообразие и сходство бактериальных сообществ исследованных субстратов оценивали с помощью индексов α -разнообразия, рассчитанных при объединении полученных последовательностей в операционных таксономических единицах с уровнем сходства нуклеотидных последовательностей 97%.

Рассчитывали индексы разнообразия Шеннона и Пиелу. Более высокие значения индексов указывают на большее разнообразие [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение показателей общей численности бактерий в образцах ТАВ и верхних горизонтах почв. Общая численность бактерий в образцах пылеаэрозоля (ТАВ) варьировала от 1.5 до 4.7×10^9 кл./г. Максимальные показатели численности бактерий выявили в пылеаэрозолях, отобранных на участке 2 (ИМГРЭ), а минимальные – на участке 1 (Хамовники). Общая численность бактерий в образцах почвы варьировала от 3.9 до 8.2×10^9 кл./г, максимальная численность обнаружена в реплантоземе, отобранном на участке 3 (ТТК – газон над магистралью), минимальная – в урбаноземе участка 4 (ИПЭЭ).

Во всех исследованных участках показатели общей численности бактерий в ТАВ были меньше, чем в почве. В образцах, отобранных на участках с высокой антропогенной нагрузкой (участки 1, 2 и 3), численность бактерий в почве была в 2.3–4.5 раза больше численности бактерий в ТАВ, а на участках с меньшей антропогенной нагрузкой (участок 4) эти показатели отличались мало (табл. 1).

Во всех исследованных образцах ТАВ актиномицетный мицелий не обнаружен, а в образцах урбаноземов он выявлен в незначительном количестве 10–50 м/г только на участках 2 и 3. Можно

Таблица 1. Общая численность прокариот и численность сапротрофных бактерий в образцах твердых атмосферных выпадений и почв г. Москвы с участков 1–4

Показатель	Участок 1 Хамовники		Участок 2 ИМГРЭ		Участок 3 ТТК		Участок 4 ИПЭЭ	
	ТАВ	почва	ТАВ	почва	ТАВ	почва	ТАВ	почва
Общая численность прокариот, $\times 10^9$ кл./г $\pm$ стандартная ошибка среднего; $n = 6$	1.5 ± 0.2	6.7 ± 0.7	4.7 ± 0.47	8.2 ± 0.82	2.8 ± 0.28	6.5 ± 0.65	3.4 ± 0.34	3.9 ± 0.4
Численность сапротрофного бактериального комплекса, $\times 10^6$ КОЕ/г стандартная ошибка среднего; $n = 5$	3.2 ± 0.3	17.9 ± 1.8	4.70 ± 0.47	10.25 ± 1.20	2.71 ± 0.28	31.54 ± 3.15	2.84 ± 0.28	19.51 ± 2.2
Коэффициент Кожевина (k)	469	376	1000	803.9	1037	206.4	1214	200

Примечание. n – повторность при определении показателей численности бактерий.

предположить, что в ТАВ актиномицеты присутствуют в виде спор, известно, что бактерии в атмосфере подвергаются большему воздействию УФ-лучей и высушиванию, чем в почве [28].

Численность и структура сапротрофного бактериального комплекса ТАВ и почв. Численность культивируемых сапротрофных бактерий в образцах ТАВ варьировала в диапазоне от 2.7 до 4.7×10^6 КОЕ/г почвы: максимальная численность зарегистрирована в пылеаэрозоле, собранном на участке 2. В почвах численность сапротрофных бактерий варьировала от 1.2 до 3.15×10^7 КОЕ/г почвы. Максимальная численность 3.2×10^7 КОЕ/г почвы зарегистрирована в урбаноземе, отобранном на участке 4. Численность сапротрофных бактерий во всех исследуемых образцах почв превышала их количество в образцах ТАВ в 5–10 раз. Полученные для почв величины близки значениям, характерным для верхнего горизонта почв умеренного пояса России [3, 7].

Обычно значения коэффициента k для верхних почвенных горизонтов колеблются от 200 до 500 с постепенным увеличением в десятки и сотни раз по мере углубления в почвенный профиль [6], что свидетельствует о нарастании численности олиготрофных бактерий и бактерий, которые находятся в жизнеспособном некультивируемом состоянии и не выделяются на обычных питательных средах. Коэффициент k , рассчитанный для ТАВ, колеблется в диапазоне 469–1214 ед., что сопоставимо с данными, полученными ранее для нижних горизонтов почв, и может свидетельствовать, что в пылеаэрозоле бактерии находятся в условиях ограниченного присутствия ростовых субстратов, возможно, что они пребывают в жизнеспособном, но некультивируемом состоянии.

Доминирующими в культивируемых сапротрофных бактериальных комплексах твердых атмосферных выпадений являлись бактерии рода *Micrococcus*, субдоминантные позиции занимали представители филума Proteobacteria, в основном бактерии родов *Mycobacterium* и *Cytophaga*. В образцах ТАВ выявлены культуры родов *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, занимающие минорные позиции.

В образцах урбаноземов и реплантозема доминировали бактерии филума Proteobacteria (бактерии родов *Mycobacterium*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Xantomonas*, *Erwinia*); субдоминантами были актиномицеты рода *Streptomyces*. Среди культивируемых бактерий, выделенных из почв, идентифицированы представители родов *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Rhodococcus*.

Обращает на себя внимание преобладание ($>30\%$) во всех образцах ТАВ бактерий филума Actinobacteria (главным образом, рода *Micrococcus*), что отмечалось многими авторами [28]. Большинство родов, выявленных в качестве группы среднего обилия и минорных компонентов, известно своей устойчивостью к высушиванию и другим неблагоприятным экологическим факторам [4, 20].

Значительное содержание актиномицетов (рода *Streptomyces*) и коринеподобных бактерий (рода *Arthrobacter*) в городских почвах показано ранее [9], что может быть связано с преимущественно щелочной реакцией среды городских почв.

Численность санитарно-показательных микроорганизмов в исследованных образцах ТАВ и городских почв. Обнаружение санитарно-показательных организмов и их высокое относительное обилие являются важным свидетельством антропогенной нагрузки на почву, а присутствие их в твердых ат-

Таблица 2. Относительное обилие отдельных видов культивируемых бактерий, выделенных из образцов ТАВ и городских почв на среде Ребесса, %

Вид	Участок 1 Хамовники		Участок 2 ИМГРЭ		Участок 3 ТТК		Участок № 4 ИПЭЭ	
	ТАВ	почва	ТАВ	почва	ТАВ	почва	ТАВ	почва
<i>Arthrobacter humicola</i>	0	0	0.55	2.3	0.2	0	0	0
<i>Arthrobacter ramosus</i>	0	1.65	0	1.8	0	0	4.35	0
<i>Arthrobacter polychromogenes</i>	0	0.85	0	0	0	0	1.55	0
<i>Bacillus frigoritolerans</i>	6.7	0	8.25	0	8.4	0	11.3	0
<i>Bacillus megaterium</i>	16.3	7.45	15.7	36.25	22.05	20.8	13.6	30.8
<i>Bacillus pumilus</i>	0	3.9	1.05	0	0	5.3	2.4	2.9
<i>Bacillus silvestris</i>	0	3.25	0.55	3.05	0.6	5.35	0.45	5.6
<i>Bacillus simplex</i>	0	0	0	0	0	4.8	1.8	2.1
<i>Bacillus</i> sp. 1	0	0	0	0	0	0	6.75	0
<i>Bacillus</i> sp. 2	0	0.45	7.65	5.3	6.85	10.9	1.55	6.2
<i>Citrobacter europaeus</i>	22.1	26.05	20.45	27.25	22.85	28.1	12.3	15.6
<i>Escherichia coli</i>	17.8	13.85	18.7	13.9	13.1	19.6	15.85	8.8
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	0.55	1.55	0	0	0	2.55	3.6
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0.25	0	0	0	0	0	1.05	2.25
<i>Enterobacter cloacae</i>	5.8	2.25	0	0.55	6.1	0	7.25	8.05
<i>Enterobacter kobei</i>	0	0	0	0	0	0	0.4	0
<i>Klebsiella granulomatis</i>	2.05	1.1	7.6	6.4	7.05	0	3.6	3.75
<i>Klebsiella grimontii</i>	1.2	5.6	0	1.9	0.9	1.75	4.05	5.1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	0	0.55	1.6	1.6
<i>Klebsiella variicola</i>	0.8	0.6	1.7	0	0	0	1.35	1.25
<i>Microbacterium resistens</i>	0	0	0	0	0.45	0	0	0
<i>Rhodococcus coprophilus</i>	6.65	2.6	0.75	0.4	0	0	2.15	2.4
<i>Rhodococcus equi</i>	13.1	5.15	0	0	0	0	2.05	0
<i>Rhodococcus fascians</i>	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Rhodococcus soli</i>	0	22.9	12.6	0	5.9	0	1.05	0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	0	0	2.9	0.7	4.2	0	0	0
<i>Staphylococcus</i> sp.	7.25	1.8	0	0.2	1.35	2.85	0	0

мосферных выпадениях говорит о вкладе бактерий, ассоциированных с человеком и животными. Известно, что накопление в городских почвах потенциально патогенных (представители семейства Enterobacteriaceae), а также потенциально аллергенных бактерий из родов *Rhodococcus* и *Micrococcus*, свидетельствует о серьезном нарушении экологических функций почвы, как “бактериального фильтра”, и может представлять опасность для здоровья человека. Представители филума Proteobacteria, в значительных количествах обнаруженные в составе бактериального комплекса урбаноземов и ТАВ, на основании изучения микроморфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков были отнесены к семейству Enterobacteriaceae.

При помощи метода посева на селективную для санитарно-значимых бактерий питательную среду Ребесса из исследованных образцов были выделены представители семейства Enterobacteriaceae и некоторые сапротрофные бактерии. Всего было выделено 27 штаммов представителей родов *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Staphylococcus*, *Microbacterium*. Структура культивируемых комплексов, выделенных на среде Ребесса, представлена в табл. 2.

Стафилококки являются естественными резидентами кожи и слизистых оболочек. Они обнаружены на всех участках, которые захватывали жилую и общественную зоны города. Стафилококков (*Staphylococcus sciuri* и *Staphylococcus* sp.) в

Таблица 3. Показатели биологического разнообразия культивируемых бактериальных сообществ исследованных образцов

Индекс	Участок 1 Хамовники		Участок 2 ИМГРЭ		Участок 3 ТТК		Участок 4 ИПЭЭ	
	ТАВ	почва	ТАВ	почва	ТАВ	почва	ТАВ	почва
Шеннона, <i>H</i>	3.04	3.18	3.13	2.55	3.11	2.75	3.87	3.29
Пиелу, <i>E</i>	0.64	0.67	0.66	0.54	0.65	0.58	0.82	0.69

ТАВ, как правило, было больше, чем в почве. Полученные данные свидетельствуют, что высокое содержание потенциально-патогенных микроорганизмов в почве коррелирует с большой долей их в ТАВ. Максимальное видовое разнообразие бактерий семейства Enterobacteriaceae зафиксировано в образцах ТАВ, отобранных на участках с повышенной нагрузкой (центр города и транспортная зона): Хамовники и ТТК. Вероятно, что в зоне автотранспортного загрязнения почва хуже всего справляется с функцией самоочищения от потенциальных патогенов, что отражается на содержании этих организмов в ТАВ.

Индекс бактерий группы кишечной палочки во всех участках оценивали по наличию *Escherichia coli*. Это санитарно-показательный организм, постоянно обитающий в теле человека и теплокровных животных. Его присутствие в почве однозначно свидетельствует о наличии в ней выделений человека и/или животных; численность санитарно-показательных организмов прямо пропорциональна степени фекального загрязнения почвы. Для всех исследованных участков значение индекса находилось в пределах >10 , но <100 КОЕ/г, т.е. почвы всех участков по оценке степени эпидемической опасности относятся к умеренно опасным. Для ТАВ нормативы по содержанию бактерий группы кишечной палочки в настоящее время не разработаны, но их численность в ТАВ сравнима или даже превышает содержание в почве. Следовательно, исследованные пылеаэрозоли можно рассматривать как умеренно опасные. Относительное обилие бактерий *Escherichia coli* практически во всех образцах ТАВ было больше, чем в образцах городских почв, а представителей рода *Citrobacter* больше в почве и меньше в ТАВ.

Общеизвестно, что многие почвенные микроорганизмы проявляют высокую устойчивость к антибиотикам [1]. В феврале 2017 г. ВОЗ опубликовала список микроорганизмов, наиболее устойчивых к антибиотикам. В этом списке представители семейства Enterobacteriaceae занимают одну из ведущих позиций. Основной представитель этой группы микроорганизмов — вид *Escherichia coli*, штаммы которого из пылеаэрозоля тестировали в настоящем исследовании. Они проявили наибольшую резистентность

к тикарциллин-клавуланату — антибиотик из группы пенициллины-клавулоновая кислота (ингибиторы β -лактамаз). Доля устойчивых штаммов составила 65.6%. Явление антибиотикорезистентности у микроорганизмов отмечается на всех континентах, но его распространенность во многом зависит от политики использования антибиотиков и существенно отличается в разных регионах [29].

На основании полученных данных о видовом разнообразии комплекса культивируемых бактерий рассчитывали экологические показатели, характеризующие видовое разнообразие бактериального комплекса (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствуют о высоком разнообразии исследованных комплексов культивируемых сапротрофных бактерий. Значения индекса Шеннона варьировали в ТАВ от 3.04 до 3.87, в почвах от 2.55 до 3.29. Это свидетельствует о значительном таксономическом разнообразии комплексов, как ТАВ, так и городских почв. Обращает на себя внимание большее разнообразие комплексов ТАВ на участках 2, 3 и 4. Возможно, это связано с большим привнесением в них аллохтонных микроорганизмов с автомагистралей. Полученные большие значения индекса выравненности Пиелу в большинстве исследованных комплексов ТАВ также могут быть связаны с активным поступлением в них микроорганизмов из воздуха. В целом видовое разнообразие в ТАВ было больше в точках с максимальной антропогенной нагрузкой.

Таксономическая характеристика прокариотных сообществ образцов ТАВ и городских почв *in situ*. Характеристика филогенетического разнообразия прокариотного сообщества *in situ* образцов ТАВ и верхнего горизонта урбаназема на участке 1 (Хамовники) и реплантозема на участке 3 (ТТК) была произведена из-за их приуроченности к контрастным условиям по антропогенной нагрузке (рис. 1).

В исследованных образцах пылеаэрозолей и почв выявлено >10 филумов прокариот. Представители домена Archaea обнаружены только в образце верхнего слоя реплантозема (компостно-минеральный слой), отобранного на участке 3 (ТТК): все полученные последовательности принадле-

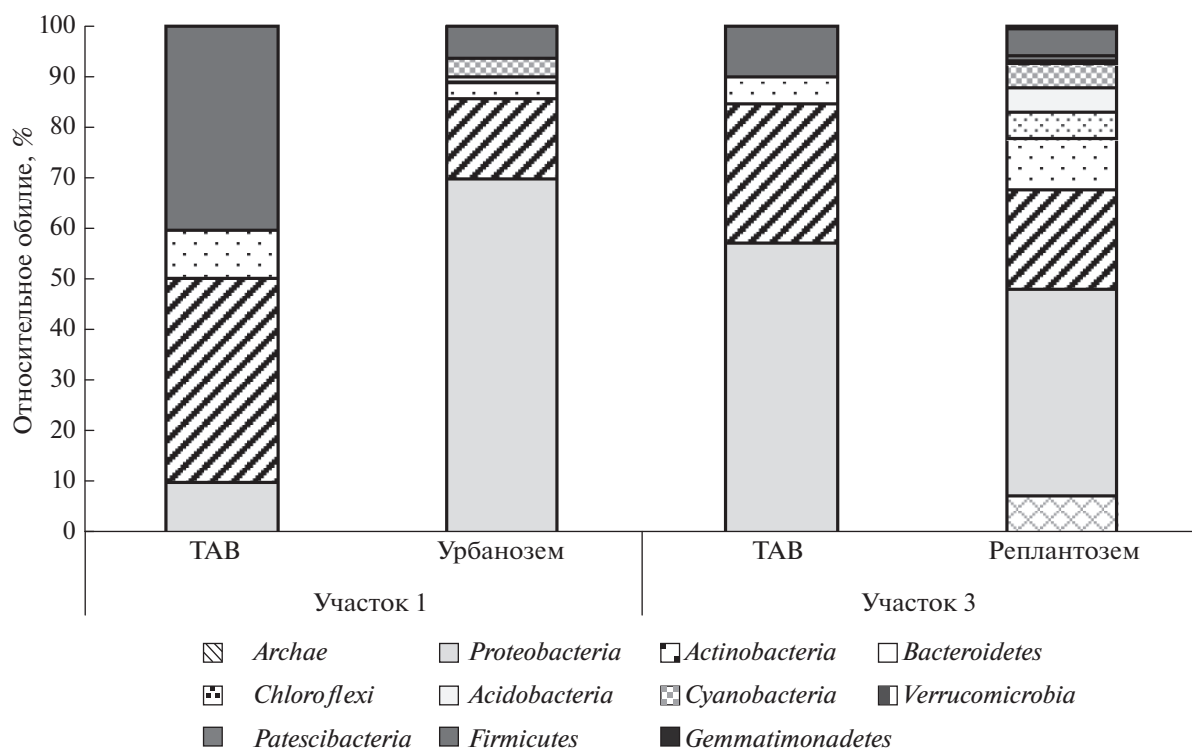


Рис. 1. Структура прокариотных сообществ пылеаэрозолей и урбаноземов участков 1 (Хамовники) и 3 (ТТК) *in situ*.

жали археям филума *Thaumarchaeota* и составляли 7% от общего числа прокариот в этом образце. Представители этого филума – нитрифицирующие археи, способные к окислению аммиака в анаэробных условиях и являющиеся хемолитотрофами [2, 39].

Во всех исследованных образцах пылеаэрозолей и почвы доминировали прокариоты филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, их доля в сообществах превышала 10%. Также обнаружены представители филумов *Chloroflexi*, *Acidobacteria*, *Cyanobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Patescibacteria* и *Gemmatimonadetes*.

Обращает на себя внимание, что содержание отдельных филумов в пылеаэрозоле и городских почвах значительно различалось как по относительному содержанию отдельных филумов, так и

их числу. В пылеаэрозоле с участка 3 (ТТК) и городских почвах преобладающими являлись бактерии филума *Proteobacteria* (41–70%), меньше было содержание представителей филумов *Actinobacteria* (16–28%) и *Bacteroidetes* (3–10%). Больше филогенетическое разнообразие было характерно для образцов почв, меньшее – для пылеаэрозолей, что проявлялось как на уровне выявленных таксонов, так и для индексов биоразнообразия (табл. 4).

Минимальное филогенетическое разнообразие отмечено в образце пылеаэрозоля, отобранного на участке 1. Здесь выявлены только прокариоты, принадлежащие к трем филумам, причем доминировали *Firmicutes* и *Actinobacteria* (40%), известные своей устойчивостью к высушиванию, воздействию УФ-облучения и других факторов среды [4, 20].

Таблица 4. Индексы биоразнообразия прокариотных сообществ пылеаэрозолей и городских почв *in situ*

Участок	Образец	Индекс биоразнообразия		
		Чао	Шеннона	Симпсона
1, Хамовники	ТАВ	40.50	3.23	0.84
	Почва	95.60	5.31	0.97
3, ТТК	ТАВ	33.50	3.41	0.90
	Почва	88.60	5.82	0.98

Представители филума *Proteobacteria* являлись доминирующими в образцах урбанозема (участок 1, Хамовники) и пылеаэрозоля (участок 3, ТТК). Наибольшим было содержание представителей классов Alpha- и Gammaproteobacteria. Эти данные коррелируют с результатами, полученными при помощи метода посева, свидетельствующими о присутствии в пылеаэрозоле и городских почвах энтеробактерий, которые являются типичными представителями класса Gammaproteobacteria. Бактерии класса Alphaproteobacteria, обнаруженные в значительных количествах в исследованных образцах в основном принадлежали к порядкам Sphingomonadales, Rhizobiales, Caulobacteriales, Xanthomonadales (в городских почвах) и Sphingomonadales и Caulobacteriales (в пылеаэрозолях). Известно, что представители порядков Sphingomonadales, Rhizobiales и Xanthomonadales содержат значительное число видов бактерий, обычно выделяющихся из почвы и тесно связанных с высшими растениями [13, 15, 22, 24, 25].

Филум Bacteroidetes в основном был представлен порядками Chitinophagales, Cytophagales, Sphingobacteriales и Flavobacteriales. В образцах пылеаэрозоля доминировали бактерии, принадлежащие к порядку Flavobacteriales. В образце реплантозема (ТТК) выявлено наличие сравнительно недавно описанного и малоизученного филума Gemmatimonadetes. Ранее бактерии этого филума выделялись из почв прерий, лугов, а также эвтрофных озерных отложений и альпийских горных почв. Разнообразие сред, в которых были обнаружены прокариоты из данного филума, предполагает адаптацию бактерий к условиям низкой увлажненности [27], которая характерна для сухих периодов года в тропиках.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые представлена комплексная (количественная и качественная) характеристика прокариотных сообществ твердых атмосферных выпадений (пылеаэрозоля) и городских почв (урбаноземов и реплантозема) на территории г. Москвы на участках с разной интенсивностью антропогенной нагрузки.

Общая численность бактерий в исследованных образцах твердых атмосферных выпадений (ТАВ) была меньше численности бактерий в образцах городских почв; актиномицетный мицелий в образцах ТАВ не выявлен, хотя обнаружен в образцах почв, что позволяет предположить, что актиномицеты присутствуют в пылеаэрозоле в виде спор. Численность сапротрофных культивируемых бактерий в образцах ТАВ составляла миллионы колониеобразующих единиц на грамм и была на порядок меньше, чем в верхних горизонтах почв, отобранных на тех же участках. Среди культивируемых бактерий в пылеаэрозолях доминировали представители рода *Micrococcus*, в то

время как в почвах — представители филума *Proteobacteria*. В образцах твердых атмосферных выпадений обнаружены представители семейства Enterobacteriaceae (бактерии родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* и *Citrobacter*), среди которых имеются виды, потенциально патогенные для человека. Максимальное видовое разнообразие бактерий семейства Enterobacteriaceae зафиксировано в образцах ТАВ, отобранных на участках с повышенной транспортной нагрузкой и в центральных районах города. Санитарно-показательная бактерия *Escherichia coli* обнаружена во всех образцах ТАВ и почв на изученных участках, ее содержание варьировало от 10 до 100 КОЕ/г, что по оценке степени эпидемической опасности позволяет отнести эти почвы и пылеаэрозоли к классу умеренно опасных. Рассчитанные экологические показатели свидетельствуют о высоком разнообразии культивируемых бактерий в ТАВ и городских почвах на участках с повышенной антропогенной нагрузкой за счет обилия представителей семейства Enterobacteriaceae. На основании значений экологических индексов, рассчитанных для прокариотных сообществ *in situ* (баркодирование гена 16S рРНК), можно сделать вывод, что сообщества пылеаэрозолей характеризуется более низким таксономическим разнообразием по сравнению с сообществами близко расположенных урбаноземов и реплантозема. Очевидно, что на формирование прокариотных сообществ пылеаэрозолей оказывает значительное влияние индивидуальная устойчивость микроорганизмов к факторам среды, процессы пылепереноса, а также степень антропогенной нагрузки.

Проведенный филогенетический анализ пылеаэрозоля и почв на территории Хамовников и ТТК показал, что всех исследованных образцах доминировали представители филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* и *Firmicutes*. Содержание отдельных филумов в пылеаэрозоле и почвах значительно различалось, как по относительному содержанию отдельных филумов, так и их числу, в почвах в большей степени были представлены *Proteobacteria*, в ТАВ филум *Actinobacteria*, известный своей устойчивостью к воздействию УФ-лучей и высушиванию. Большое филогенетическое разнообразие характерно для образцов почв, меньшее — в образцах пылеаэрозоля, что проявлялось как на уровне выявленных таксонов, так и на уровне экологических индексов (индексы Чао и Шеннона).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке проекта РФФИ № 19-05-50093 (“Микромир”) и в рамках программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы МГУ им. М.В. Ломоносова “Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Виноградова К.А., Булгакова В.Г., Полин А.Н., Кожевин П.А. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистомы, ее объем, разнообразие и развитие // Антибиотики и химиотерапия. 2013. Т. 58. № 5–6. С. 38–48.
2. Воробьева Л.И. Археи: учебное пособие для вузов. М.: ИКЦ “Академкнига”, 2007. 234 с.
3. Глушакова А.М., Лысак Л.В., Умарова А.Б., Прокофьева Т.В., Подушин Ю.В., Быкова Г.С., Маликова Л.П. Бактериальные комплексы урбаноземов некоторых южных городов России // Почвоведение. 2021. № 2. С. 224–231. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21020052>
4. Добровольская Т.Г. Структура бактериальных сообществ почв. М.: ИКЦ “Академкнига”, 2002. 281 с.
5. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 60 с.
6. Кожевин П.А. Микробные популяции в природе. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. 175 с.
7. Лысак Л.В. Бактериальные сообщества городских почв. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 2010.
8. Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. М.: МАКС Пресс, 2003. 120 с.
9. Лысак Л.В., Лапыгина Е.В. Разнообразие бактериальных сообществ городских почв // Почвоведение. 2018. № 9. С. 1108–1114. <https://doi.org/10.1134/S0032180X18090071>
10. МР ФЦ/4022 Методы микробиологического контроля почвы.
11. МУ 2.1.7.730-99. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест.
12. Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение М.: Мир, 1992. 184 с.
13. Першина Е.В., Чернов Т.И. Основные физико-химические параметры почв, определяющие структуру почвенного метабенома // Основные достижения и перспективы почвенной метабеномики. 2017. С. 88–96.
14. Ревич Б.А. Климат, качество атмосферного воздуха и здоровье москвичей. М.: Адамант, 2006. 255 с.
15. Тихонович И.А., Чернов Т.И., Железова А.Д., Тхакахова А.К., Андронов Е.Е., Кутюкова О.В. Таксономическая структура прокариотных сообществ почв разных биоклиматических зон // Бюл. Почв. ин-та им. В.В. Докучаева. 2018. № 95. С. 125–153.
16. Aminov R.I., Mackie R.I. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes // FEMS Microbiol. Lett. 2007. V. 271. № 2. P. 147–161. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00757.x>
17. Arabaghian H., Salloum T., Alousi S., Panossian B., Araj G.F., Tokajian S. Molecular characterization of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella quasipneumoniae* isolated from Lebanon // Sci. Rep. 2019. V. 9. № 1. P. 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36554-2>
18. Araújo R., Vázquez Calderón F., Sánchez López J., Azevedo I.C., Bruhn A., Fluch S., Ullmann J. Current status of the algae production industry in Europe: an emerging sector of the blue bioeconomy // Front. Mar. Sci. 2021. V. 7. P. 626389. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.626389>
19. Belov A.A., Cheptsov V.S., Manucharova N.A., Ezhelev Z.S. Bacterial communities of Novaya Zemlya archipelago ice and permafrost // Geosciences. 2020. V. 10 № 2. P. 67. <https://doi.org/10.3390/geosciences10020067>
20. Belov A.A., Cheptsov V.S., Vorobyova E.A., Manucharova N.A., Ezhelev Z.S. Stress-tolerance and taxonomy of culturable bacterial communities isolated from a central Mojave Desert soil sample // Geosciences. 2019. V. 9 № 4. P. 166. <https://doi.org/10.3390/geosciences9040166>
21. Bergey D.H. Bergey’s Manual® of Systematic Bacteriology. Springer Science & Business Media, 2001.
22. Bulgarelli D., Garrido-Oter R., Münch P.C., Weiman A., Dröge J., Pan Y., Schulze-Lefert P. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley // Cell Host Microbe. 2015. V. 17 № 3. P. 392–403. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.01.011>
23. Caporaso J.G., Kuczynski J., Stombaugh J., Bittinger K., Bushman F.D., Costello E.K., Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data // Nat. Methods. 2010. V. 7. № 5. P. 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
24. Chaparro J.M., Badri D., Vivanco J.M. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development // The ISME J. 2014. V. 8. № 4. P. 790–803. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.196>
25. Daniel R. The metagenomics of soil // Nat. Rev. Microbiol. 2005. V. 3. P. 470–478. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1160>
26. Davin-Regli A., Pagès J.M. Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment // Front. Microbiol. 2015. V. 6. P. 392. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00392>
27. de Bruyn J., Nixon L., Fawaz M., Johnson M., Radošević M. Global Biogeography and Quantitative Seasonal Dynamics of Gemmatimonadetes in Soil // Appl. Environ. Microbiol. 2011. V. 77. № 17. P. 6295–6300. <https://doi.org/10.1128/AEM.05005-11>
28. Després V.R., Huffman J.A., Burrows S. M., Hoose C., Safatov A., Buryak G., Jaenicke R. Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review // Tellus B: Chem. Phys. Meteorol. 2012. V. 64. № 1. P. 15598. <https://doi.org/10.3402/tellusb.v64i0.15598>
29. Glushakova A.M., Kachalkin A.V., Prokofeva T.V., Lysak L.V. Enterobacteriaceae in soils and atmospheric dust aerosol accumulations of Moscow city // Current Res. Microbiol. Sci. 2022. V. 3. P. 100124. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100124>
30. Goel A., Kumar P. Characterisation of nanoparticle emissions and exposure at traffic intersections through fast-response mobile and sequential measurements //

- Atmos. Environ. 2015. V. 107. P. 374–390.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.02.002>
31. Karagulian F., Belis C.A., Dora C.F.C., Prüss-Ustün A.M., Bonjour S., Adair-Rohani H., Amann M. Contributions to cities' ambient particulate matter (PM): A systematic review of local source contributions at global level // Atmos. Environ. 2015. V. 120. P. 475–483.
<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.08.087>
 32. Kumari S., Jain M.K. A critical review on air quality index // Environ. Pollut. 2018. P. 87–102.
https://doi.org/10.1007/978-981-10-5792-2_8
 33. Luong L.M., Phung D., Sly P.D., Morawska L., Thai P.K. The association between particulate air pollution and respiratory admissions among young children in Hanoi, Vietnam // Sci. Total Environ. 2017. V. 578. P. 249–255.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.012>
 34. Phan C.C., Nguyen T.Q.H., Nguyen M.K., Park K.H., Bae G.N., Seung-bok L., Bach Q. Aerosol mass and major composition characterization of ambient air in Ho Chi Minh City, Vietnam // Int. J. Environ. Sci. Technol. 2020. V. 17. № 6. P. 3189–3198.
<https://doi.org/10.1007/s13762-020-02640-0>
 35. Prokof'eva T.V., Shoba S.A., Lysak L.V., Ivanova A.E., Glushakova A.M., Shishkov V.A., Lapygina E.V., Shilalka P.D., Glebova A.A. Organic constituents and biota in the urban atmospheric solid aerosol: potential effects on urban soils // Eurasian Soil Sci. 2021. 54. №. 10. P. 1532–1545.
<https://doi.org/10.1134/S1064229321100094>
 36. Prokof'eva T.V., Kiryushin A.V., Shishkov V.A., Ivannikov E.A. The importance of dust material in urban soil formation: the experience on study of two young Technosols on dust depositions // J. Soils Sediments. 2017. V. 17. № 2. P. 515–524.
<https://doi.org/10.1007/s11368-016-1546-7>
 37. Pruesse E., Quast C., Knittel K., Fuchs B.M., Ludwig W., Peplies J., Glöckner, F.O. SILVA: a comprehensive on-line resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB // Nucleic Acids Res. 2007. V. 35. № 21. P. 7188–7196.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkm864>
 38. Stokes H.W., Gillings M.R. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens // FEMS Microbiol. Rev. 2011. V. 35. № 5. P. 790–819.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00273.x>
 39. Tournai M., Stieglmeier M., Spang A., Könneke M., Schintlmeister A., Urich T., Schleper C. Nitrososphaera viennensis, an ammonia oxidizing archaeon from soil // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. № 20. P. 8420–8425.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1013488108>
 40. Vlasov D., Kosheleva N., Kasimov N. Spatial distribution and sources of potentially toxic elements in road dust and its PM10 fraction of Moscow megacity // Sci. Total Environ. 2021. V. 761. P. 143267.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143267>
 41. World Health Organization. Air quality guidelines for Europe. World Health Organization. Regional Office for Europe, 2000.

Abundance and Diversity of Prokaryotic Communities of Dust Aerosol and Urban Soils on the Territory of Moscow

L. V. Lysak^{1, *}, S. A. Shoba¹, T. V. Prokof'eva¹,
 A. M. Glushakova^{1, 2}, N. V. Goncharov¹, and A. A. Belov¹

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

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

*e-mail: lvlysak@mail.ru

The complex (quantitative and qualitative) characteristics of prokaryotic communities of solid atmospheric fallouts (dust aerosol) and soils in the territory of Moscow in areas with different intensity of anthropogenic load have been done. The total number of bacteria in the studied samples of solid atmospheric fallouts (SAF) was lower than the number of bacteria in soil samples; actinomycete mycelium was not found in the dust samples, although it was found in soil samples. The number of culturable saprotrophic bacteria in dust samples was an order of magnitude lower than in Urbic Technosols taken from the same plots. Representatives of the genus *Micrococcus* dominated among cultivated bacteria in the dust aerosols, while representatives of the phylum Proteobacteria dominated in soils. Representatives of the Enterobacteriaceae family were found in the dust samples, among which there are species that are potential human pathogens. The maximum biodiversity of bacteria of the Enterobacteriaceae family was recorded in the dust samples taken in areas with increased anthropogenic and transport load. The sanitary-indicative bacterium *Escherichia coli* was found in all samples of the dust and Urbic Technosols, its content varied (from 10 to 100 CFU/g), according to the degree of epidemic danger it characterizes dust and soils as moderately dangerous. Ecological indices calculated for prokaryotic communities in situ (barcoding of the 16S rRNA gene) indicate a lower taxonomic diversity of SAF prokaryotic communities compared to communities of closely spaced Urbic Technosols.

Keywords: Urbic Technosols, bacterial abundance, DNA metabarcoding, soil sanitary condition, ecological functions of soils, atmospheric solids