



UNIVERZITET U  
Kragujevcu  
AGRONOMSKI FAKULTET U  
ČAČKU



UNIVERSITY OF  
Kragujevac  
FACULTY OF  
AGRONOMY  
ČAČAK

# XXIII SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI

sa međunarodnim učešćem

- ZBORNIK RADOVA -



Čačak, 9 - 10. Mart 2018. godine

# **XXIII SAVETOVANJE O BIOTEHNOLOGIJI**

**sa međunarodnim učešćem**

**- Zbornik radova -**

## **ORGANIZATOR I IZDAVAČ**

**Univerzitet u Kragujevcu,  
Agronomski fakultet u Čačku**

### **Organizacioni odbor**

dr Vladimir Kurćubić, dr Ljiljana Bošković Rakočević, dr Nemanja Miletić,  
dr Vladimir Dosković, Radmila Ilić, dipl. inž., Srđan Bošković

### **Programski odbor**

dr Leka Mandić, dr Vladeta Stevović, dr Snežana Bogosavljević-Bošković,  
dr Tomo Milošević, dr Radojica Đoković, dr Milomirka Madić, dr Goran  
Dugalić, dr Gordana Šekularac, dr Biljana Veljković, dr Nikola Bokan, dr  
Vladimir Kurćubić, dr Goran Marković, dr Gorica Paunović, dr Snežana  
Tanasković, dr Nemanja Miletić, dr Milan Nikolić, dr Igor Đurović, dr  
Milevica Bojović, dr Branko Čupina, dr Zora Dajić, dr Sanja Vasiljević, dr  
Aleksandra Stanojković Sebić, dr Milan M. Petrović, dr Jasmina Zdravković,  
dr Zoran Lugić, dr Zoran Jovović, dr Vesna Milić, dr Nikola Mičić, dr Milan  
Lukić, dr Desimir Knežević, dr Nebojša Ilić, dr Đoko Bunevski, dr Vera  
Đekić, dr Slavica Vesković

### **Tehnički urednici**

dr Nemanja Miletić, dipl. inž. Dušan Marković

**Tiraž:** 160 primeraka

### **Štampa**

*Grafička radnja štamparija Bajić, V. Ignjatovića 12, Trbušani, Čačak*

## PROUČAVANJE FUNKCIONALNIH PROFILA MIKROBNIH ZAJEDNICA ZAGAĐENIH ZEMLJIŠTA

*Dragutin Đukić<sup>1</sup>, Aleksandar Semjonov<sup>2</sup>, Leka Mandić<sup>1</sup>, Vesna Đurović<sup>1</sup>,  
Milica Zelenika<sup>1</sup>, Aleksandra Stanojković-Sebić<sup>3</sup>*

**Izvod:** U ovom pregednom radu se razmatraju načini sagledavanja reakcije zemljišnih mikroorganizama na različite oblike tehnogenog zagađenja pomoću metoda multisupstratnog testiranja i inicirane mikrobne zajednice, kao i modifikacione promenljivosti koja se odlikuje određenom adaptivnom reakcijom (zona homeostaze, zona stresa, zona rezistencije i zona represije) mikrobnog sistema zemljišta.

**Ključne reči:** zemljište, zagađenje, mikroorganizmi, homeostaza, stres, rezistencija, represija.

### Uvod

Negativna posledica nekontrolisanog intenziviranja industrijalizacije, urbanizacije, transporta i hemizacije poljoprivrede je zagađenje biogeosfere, pa prema tome, i pedosfere. Mikroorganizmi imaju glavnu ulogu u samoočišćavanju zemljišta od zagađenja („Микроорганизми и охрана почв., 1989; Guzev i Levin, 2001; Emcev, 2001; Đukić i sar., 2007; Đukić i sar., 2012; Đukić i sar., 2013). Rad predstavlja osvrt na najvažnije tehnogene zagađivače zemljišta i njihov uticaj na mikrobni sistem u njemu.

### Uticaj mineralnih đubriva na mikroorganizme u zemljištu

Otpornost zemljišta i zemljišnih mikroorganizama na uticaj mineralnih đubriva utvrđuje se na osnovu ocene modifikacione promenljivosti zemljišta pomoću *inicirane mikrobne zajednice* (IMZ) - Guzev (2001). Određuje se uticaj različitih doza mineralnih đubriva na strukturu vrsta inicirane zajednice mikromiceta i aktinomiceta, kao i na aktivnost procesa azotofiksacije i denitrifikacije u zemljištu. Utvrđeno je da stabilnost mikrobnog sistema zavisi od tipa zemljišta, stepena njegove kultivisanosti i vrste đubriva. Utvrđeno je, takođe, da se negativno dejstvo visokih doza azotnih, kalijumovih i potpunog mineralnog đubriva (posebno u slučaju njihove dugotrajne primene) manifestuje aktivacijom toksinogenih mikroorganizama i povećanjem njihovog sadržaja u zemljištu, što izaziva *mikrobnu toksikozu zemljišta* (Durwen, 1983; Guzev i sar., 1984; Stepanov, 1988; Shukla, 1990; Atlas, 1992; Mirčink, 1999; Jemcev i Đukić, 2000; Mandić i sar., 2005; Đukić i sar., 2007).

---

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (lekamg@kg.ac.rs);

<sup>2</sup>MGU Lomonosov, Moskva, Rusija;

<sup>3</sup>Institute za zemljište, Teodora Drajzera 7, 11000 Beograd, Srbija;

## Reakcija zemljišnih mikroorganizama na pesticide

Pesticidi, nesumljivo, imaju veliki značaj za održavanje potrebnog nivoa poljoprivredne proizvodnje. Međutim, imajući u vidu ograničenu kumulativnu sposobnost različitih sredina, nekontrolisana primena, ne samo pesticida, već i drugih hemijskih melioranata, dovodi do znatnog remećenja dinamičke ravnoteže u biogeosferi, pa i u pedosferi (Jemcev i Đukić, 2000; Đukić i sar., 2007).

U radovima koji se bave proučavanjem uticaja pesticida na zemljišne mikroorganizme izdvajaju se tri pravca: ocena uticaja pesticida na osnovne procese koje izazivaju mikroorganizmi u zemljištu (razlaganje organskih materija, ciklusi C, N, S, P, i dr biogenih elemenata); analiza kvantitativnog i kvalitativnog sastava predstavnika različitih taksonomskih grupa mikroorganizama u vezi sa senzibilnošću određenih vrsta na bilo koji pesticid; ekološka analiza promena u sastavu i organizaciji zajednica mikroorganizama i čitavom mikrobnom sistemu, koje se dešavaju pod uticajem pesticida (Сонцова и Максимов, 1985; Jemcev i Đukić, 2000; Ананьева, 2001; Mandić i sar., 2005; Đukić i sar., 2007).

Najčešće se razmatra dejstvo pesticida na procese za koje su razrađene pogodne metode određivanja: procesi mineralizacije organskih materija, amonifikacije, nitrifikacije, denitrifikacije, azotifikacije (nitrogenazna aktivnost), oksidacije i redukcije Fe i Mn itd. Još češće se vrši određivanje enzimске aktivnosti zemljišta (katalaze, dehidrogenaze, polifenoloksidaze, amilaze, proteinaze, fosfataze, invertaze i dr.). Ravnoteža u mikrobnom sistemu zemljišta se znatno menja samo pri unošenju visokih doza pesticida, usled čega dolazi do pregrupisavanja sastava vrsta u mikrobnoj zajednici zemljišta (Ananjeva i dr., 1986; Mandić i Đukić, 2005; Jemcev i Đukić, 2000; Đukić i sar., 2007; Đukić i sar., 2012; Đukić i sar., 2013). Pod uticajem pesticida, dolazi i do preraspodele kompleksa streptomiceta u zemljištu, što se manifestuje promenom spektra vrsta streptomiceta i odnosa dominantnih, retkih i slučajnih vrsta u njihovom kompleksu. Step en sličnosti u kompleksu zemljišnih streptomiceta u kontrolnim i oglednim varijantama je utoliko veći, ukoliko je manja doza unesenog preparata (Đukić i sar., 2007).

## Uticaj teških metala na mikroorganizme u zemljištu

U procesu proučavanja uticaja teških metala na zemljišne mikroorganizme, uspostavljeni su kriterijumi i predloženi načini ocene ove vrste antropogenog uticaja, uz uzimanje u obzir pufernog kapaciteta različitih tipova zemljišta, specifičnog dejstva različitih metala i osobenosti reakcije zemljišnih mikroorganizama na njih (Сонцова и Максимов, 1985.). Veliki doprinos u razradi opštih principa mikrobiološkog normiranja antropogenog opterećenja na zemljište dao je Guzev (1988). Najpre je bila formulisana teza o tome da različiti nivoi antropogenih opterećenja na mikrobni sistem izazivaju različite tipove modifikacione promenljivosti. Svaki tip promenljivosti okarakterisan je određenom adaptivnom reakcijom. To su *zona homeostaze*, kada se održava normalna struktura kompleksa zemljišnih mikroorganizama, *zona stresa*, kada se menja odnos između polaznih (izvornih) grupa mikroorganizama, *zona razvoja rezistentnih oblika* i *zona represije* mikrobnog sistema zemljišta. Otkrivena su kvalitativno različita svojstva adaptivnih zona i razrađeni su načini njihovog

određivanja (Левин и Бабьева, 1985). Razrađeni su načini i predloženi pokazatelji koji se mogu koristiti za mikrobiološku indicaciju zagađenja zemljišta teškim metalima. Ocenom uticaja teških metala na različite grupe zemljišnih mikroorganizama i različite procese bavio se veliki broj naučnika (Левин и Бабьева, 1985; Асеева и сар., 1986; Marfenina, 1991; Умаров и Азиева, 1980; Mandić i Đukić, 2010).

### **Uticaj naftnog zagađenja na mikroorganizme zemljišta**

Ulogu zemljišne mikrobne zajednice u *rekultivaciji zemljišta zagađenih naftom* proučavali su brojni autori (Микроорганизми и охрана почв, 1989; Пиковский, 1993; Жемцев и Букић, 2000; Guzev i Levin., 2001; Букић и сар., 2013а; Букић и сар., 2013b). Pri tome su korišćene različite metode – metoda IMZ, skenirajuće elektronske mikroskopije, tradicionalne metode određivanja brojnosti i taksonomskog sastava kompleksa zemljišnih aktinomiceta, kvasaca i mikromiceta. Najveći indikacioni značaj imala je informacija koja se dobija pri proučavanju sekcionog sastava aktinomiceta, sastava vrsta kvasaca i organizacija amilolizne mikrobne zajednice zemljišta zagađenih naftom. Dokazano je da je zagađenje zemljišta naftom praćeno promenom fizičkih, hemijskih i agrohemijskih svojstava zemljišta. Predložena je strategija rekultivacije zemljišta zagađenih naftom, koja se zasniva na promeni svojstava zemljišta, izazvanih zagađenjem, koja uzima u obzir prirodnu degradaciju same nafte i uključuje četiri naizmenične etape, koje omogućavaju da se optimizuju procesi obnavljanja zemljišta zagađenog naftom.

### **Uticaj otpada i proizvoda mikrobiološke industrije na mikroorganizme zemljišta**

Životnu sredinu zagađuje *otpad i proizvodi mikrobiološke industrije* o čemu svedoče brojni autori (Koževina i сар., 1995; Гузев и Левин, 2001; Полянская и Звягинцев, 2005) koji su proučavali zagađenje zemljišta mikробним populacijama krmnih kvasaca koji su gajeni u industrijskim uslovima na hranljivoj podlozi sa n-parafinima nafte. Određivali su sposobnost preživljavanja populacija u prirodi i analizirali dinamiku brojnosti drugih mikroorganizama, uključujući i metanotrofne bakterije. U ovom slučaju primenjuje se populacioni pristup koji je usmeren na proučavanje konkretnog mikroorganizma neposredno u prirodnoj sredini pomoću mikroskopije na bazi metoda imunofluorescencije. Primenuje se, takođe, zasejavanje na selektivne hranljive podloge. Zaključeno je da nesterilno zemljište za dato mikробно zagađenje ima ulogu biološkog filtra, ne samo pri jednokratnom prispeću inokulata, već i pri periodičnom prispeću ćelija u zemljište. Pretpostavilo se da je smanjenje populacione gustine kvasaca u vezi sa „konzumiranjem“ ćelija kvasaca, tj. mehanizmom „predator-žrtva“. Nakon naglog smanjenja brojnosti populacija krajem oglada brzina izumiranja se smanjuje, a do uginuća dolazi zbog konkurencije za hranom. Osnovni faktori koji utiču na preživljavanje populacije kvasaca unesenih u zemljište su vlažnost zemljišta i početna populaciona gustina. Na analogan način su se ponašale i populacije industrijskih sojeva metanotrofnih bakterija (producerska meprina) unesenih u zemljište. Prema karakteru populacione dinamike (odsustvo svojstava razmnožavanja i stabilizacije) svi proučavani sojevi-producenti mogu se smatrati kao alohtona mikробna zajednica, od kojih se zemljište postepeno samoprečišćava.

### Reakcija mikroorganizama na sabijanje zemljišta

Jedan od veoma zastupljenih oblika antropogenog uticaja je *rekreaciono i pašnjačko iskorišćavanje zemljišta i njeno sabijanje pod uticajem teške poljoprivredne mehanizacije*. Karakteristične posledice ovih tipova uticaja su degradacija bilnog pokrivača i sabijanje zemljišta. Te promene se bitno ispoljavaju na zemljišnu faunu i mikrobno naselje, jer im je poremećena životna sredina. U mikrobnoj biomasi zemljišta dominiraju gljive (mikromicete), koje su osnovni destruktori organske materije i koje su vrlo osetljive na pogoršanje vodno-vazdušnog režima zemljišta, izazvano sabijanjem (Marfenina, 1976; Mirčink, 1988; Marfenina, 2000; Jemcev i Đukić, 2000; Đukić i sar., 2007; Đukić i sar., 2013). Uspostavljen je, takođe, veliki broj kriterijuma koji se mogu koristiti kao pokazatelji kako rekreacione degresije šumskih zemljišta, tako i procesa njihove revitalizacije. Ti pokazatelji su biomasa micelijuma, bogatstvo vrsta, karakter rasporeda vrsta u zajednici, odnos između svetlog i tamnoobojenog micelijuma, indikatorski oblici gljiva. Senzibilnost i otpornost velikog broja gljiva na sabijanje zemljišta potvrđena je u laboratoriji - u ogledima sa čistim kulturama.

Utvrđeno je da je degradacija zemljišnog pokrivača uvek praćena ozbiljnim poremećajima prirodne strukture i funkcionisanja mikrobnih cenoza zemljišta (Микроорганизми и охрана почв, 1989; Кураков и сар., 1989). Međutim, postoji metodološki problem interpretacije zapaženih antropogenih promena: predstavljaju li one stvarnu razgradnju, degradaciju mikrobne zajednice ili ih je pravilnije tumačiti kao nepravilni adaptivni preobražaj.

Jedno od bitnih naučnih dostignuća je izbor i razrada kvantitativnih sinekoloških pokazatelja, koji se mogu koristiti za ocenu istraživanih antropogenih promena u mikrobnom sistemu zemljišta (Marfenina, 1976; Lisak, 1982; Kurakov i dr., 1989; Zenova i dr., 2000; Jemcev i Đukić, 2000; Marfenina, 2000; Đukić i Jemcev, 2007, Đukić i sar., 2007; Đukić i sar., 2013b). Tim pokazateljima pripadaju: indeksi informacione i diferencirajuće raznolikosti, broj vrsta u zajednici, raspodela ranga koja se odnosi na obilje vrsta, frekvencija nalaženja i dominacije vrsta ili većih taksona. Upoređivanjem mikrobnih zajednica prirodnih i poremećenih zemljišta, na osnovu niza sinekoloških pokazatelja, utvrđeno je da se negativne izmene u strukturi mikrobnih kompleksa manifestuju kako remećenjem zonalnog odnosa sadržaja različitih grupa zemljišnih mikroorganizama, tako i smanjenjem raznolikosti njihovih vrsta, izmenom sastava, prostorne i vremenske strukture mikrobnih zajednica.

Postoje podaci i o indirektnom uticaju nafte na mikroorganizme, preko promene vodno-vazdušnog balansa, povećanja hidrofobnosti zemljišta i dopunskog uticaja polutanata koji prate naftu, a koji dovode do suzbijanja životne aktivnosti faune i mikroorganizama. Otuda proizilazi da je u procesu rekultivacije zemljišta zagađenih naftom neophodno ukloniti posledice degradacije zemljišta, koje su u vezi sa remećenjem njegovih bioloških, fizičkih, hemijskih i agrohemijskih svojstava. Guzev je utvrdio da brojnost bakterija koje oksiduju ugljovodonike, a koje su sposobne da razgrađuju naftu, može dostići  $10 \cdot 10^6$  ćelija  $g^{-1}$  čak i u nezagađenim zemljištima, ali je njihova aktivnost u mnogome određena prisustvom i koncentracijom lako pristupačnih monomera u zemljištu. Tako glukoza, kao kosupstrat, stimuliše aktivnost populacija bakterija koje oksiduju ugljovodonike, dok ih buterna kiselina inhibira, prevodeći ih u

stanje mirovanja. Rezultati ovih istraživanja su u mnogome predstavljeni u doktorskoj disertaciji Volde „Ekološki mehanizam dejstva glukoze na aktivnost zemljišnih mikroorganizama koji oksiduju ugljovodonike“ koja je urađena pod rukovodstvom Guzeva (2002).

U oblasti proučavanja uticaja tehnogenih supstanci na mikroorganizme zemljišta utvrđeno je da su najsenzibilnije biohemijske i fiziološke metode. Posebno je efikasno proučavanje funkcionalnih profila mikrobih zajednica pomoću *metoda multisupstratnog testiranja* – MST (Gorlenko i Koževin, 1994) i *inicirane mikrobne zajednice* – IMZ (Guzev i Levin, 1985; Jemcev i Đukić, 2000).

### **Multisupstratno testiranje mikrobih zajednica zagađenog zemljišta**

Bakterijske komplekse različitih tipova zemljišta detaljno je opisao Mišustin (1982) i prvi dokazao da je zakon geografske zonalnosti primenljiv na mikroorganizme. Osim toga, on je detaljno ispitivao taksonomski sastav bakterijskih zajednica različitih tipova zemljišta.

Dostignuća u oblasti biologije iziskuju razrade novih metoda, koje uključuju ne samo tradicionalne pristupe, već i novija znanja iz fiziologije i biohemije mikroorganizama. U poslednjih 15 godina prioritetne su instrumentalne metode koje odlikuje ekspresno vršenje analiza. Jedan od takvih pristupa je multisupstratno testiranje mikrobih zajednica (MST) – Gorlenko i Koževin (1994). Suština metode sastoji se u dobijanju višeprofilne funkcionalne karakteristike mikrobih zajednica, izolovanih iz zemljišta, na osnovu spektra utilizovanih supstrata. Prema svojoj idejnoj osnovi metoda je analogna direktnoj metodi Vinogradskog (1952), tj. omogućava proučavanje funkcije mikrobne zajednice *in situ*, bez izdvajanja u čiste kulture. MCT se naširoko primenjuje za rešavanje mnogobrojnih praktičnih zadataka mikrobne ekologije, a posebno za bioindikaciju zagađenja zemljišta, za kontrolu introdukovanja populacija bakterija u zemljište i za mnoge druge potrebe (Koževina i dr., 1995; Gorlenko i dr., 1996; Gorlenko et al., 1997; Đukić i sar., 2013). Međutim, još uvek nisu izvršena istraživanja koja se tiču taksonomske strukture bakterijskih kompleksa, koji se razvijaju pri inkubaciji zemljišne suspenzije sa različitim supstratima u MCT, što bi omogućilo da se okarakterišu specifičnost bakterijskih zajednica koje se razvijaju u zemljištu na tim supstratima.

Na ovaj način se ukazuje na potrebu otkrivanja taksonomske strukture bakterijskih kompleksa, koji se formiraju na nekim supstratima pri analizi dva veoma različita tipa zemljišta, radi utvrđivanja specifičnosti mikrobiološke transformacije tih supstrata u zemljištu.

Kao objekti za ispitivanje koriste se uzorci iz gornjeg horizonta zemljišta. Kao primer navodimo mrko šumsko zemljište i solonjec. Multisupstratno testiranje proučavanih objekata predviđa inkubaciju zemljišne suspenzije u mikrokivetama za imunološke analize, koje sadrže identifikacionu garnituru (komplet) supstrata. Kivete se inkubiraju u termostatu 72 sata na 28° C. Proučavaju se bakterijski kompleksi iz „fiola“, koje sadrže histidin, glicerol, rafinozu, tvin-80 i natrijum-citrat kao jedine izvore ugljenika.

Taksonomska struktura bakterijskih kompleksa proučavana je metodom zasejavanja na čvrstu agarizovanu glukozo-peptonsko-kvašćevu hranljivu podlogu sa nistatinom. Identifikacija rodova bakterija vrši se na osnovu mikromorfoloških i fiziološko-biohemijskih svojstava (Berdžej, 1997).

Bakterijski kompleksi, izdvojeni iz zemljišta na čvrstoj hranljivoj podlozi, razlikuju se po taksonomskom sastavu i po svojoj strukturnoj organizaciji od kompleksa izdvojenih na čvrstoj hranljivoj podlozi posle inkubacije uzoraka zemljišta u fiolama sa supstratima.

Maksimalno bogatstvo rodova utvrđeno je u fiolama sa rafinozom i dostiže 6–8 rodova, a minimalno – pri inkubaciji u fiolama sa natrijum-citratom – 3 roda. Pri tome se bogatstvo rodova bakterijskih kompleksa, utvrđeno metodom zasejavanja uzoraka zemljišta na glukozo-pentonsko-kvašćevu hranljivu podlogu, odlikuje velikom raznolikošću: izdvaja se 10 rodova bakterija.

Interesantno je da inkubacija uzoraka sa supstratima stimuliše razvoj gramnegativnih bakterija rodova *Spirillum*, *Aquaspirillum*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Cytophaga* i *Myxococcus* koje se nalaze u ulozi potencijalnih dominantata u bakterijskim kompleksima. Razvoj nekih od navedenih taksona, posebno predstavnika rodova *Spirillum* i *Aquaspirillum*, u vezi je, očigledno, sa imitacijom u fiolama lokusa zemljišta sa visokim nivoom vlažnosti i visokom koncentracijom lako pristupačnih organskih supstrata. Pri zasejavanju zemljišnih suspenzija neposredno na čvrstu agarizovanu hranljivu podlogu kao potencijalni dominantni se pojavljuju grampozitivne bakterije rodova *Bacillus* i *Arthrobacter*.

U fiolama se kao minorne komponente nalaze bakterije rodova *Beijerinckia* i *Klebsiella*, koje se ne mogu izdvojiti iz zemljišta metodom zasejavanja. Treba istaći da praktično sve bakterije, izuzev *Flavobacterium* i *Cytophaga*, otkrivene u fiolama MCT, pripadaju proteobakterijama ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -podklase). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa podacima drugih istraživača koji su, uz pomoć analize amplifikovanih fragmenata 16S rRNK, pokazali da su se pri inkubaciji uzoraka rizosfere u fiolama MCT razvijali predstavnici  $\gamma$ -podklase *Proteobacteria* (Smalla et al., 1998).

Bakterijski kompleksi izdvojeni iz zemljišta na hranljivoj podlozi, a koji su se formirali u fiolama, odlikuju se različitom strukturnom organizacijom. Inkubacija zemljišnih suspenzija sa histidinom i natrijum-citratom dovodi do razvoja u fiolama specifičnih bakterijskih kompleksa sa malim bogatstvom rodova, koji se karakterišu niskim vrednostima Šenonovog indeksa (tabela 1). U fiolama sa tvinom i glicerinom raznolikost rodova je bila veća nego u fiolama sa histidinom i citratom. Maksimalna raznolikost rodova utvrđuje se za bakterijske komplekse koji se formiraju u fiolama sa rafinozom. Bakterijski kompleksi solonjeca i mrkog šumskog zemljišta, izdvojeni na čvrstoj hranljivoj podlozi bez inkubacije sa supstratima, odlikuju se visokom raznolikošću rodova (indeksi Šenona za komplekse solonjeca i mrkog šumskog zemljišta iznose 2.59, odnosno, 1.82).

Važan ekološki pokazatelj, koji karakteriše bakterijski kompleks, jeste model rangnog rasporeda brojnosti taksonomskih grupa, koji ilustruje situaciju zauzimanja hiperprostora ekološke niše grupe organizama (Megaran, 1992). U uslovima ravnomernog rasporeda resursa i visoke ujednačenosti taksonomskih grupa u zajednici realizuje se model slomljenog vretena, što se događa u slučaju razvoja bakterijskih

kompleksa, izolovanih iz zemljišta na čvrstoj hranljivoj podlozi. Model slomljene osovine, takođe, dobro aproksimira za bakterijski kompleks solonjeca, koji se formira u fiolama sa rafinozom. Za bakterijske zajednice sa malim brojem taksona (izdvojenih iz fiola sa citratom, tvinom, histidinom, glicerinom) i niskom ujednačenošću karakteristični su modeli brojnosti log-niza i geometrijskog niza, koji odgovaraju hipotezi maksimalnog zauzimanja hiperprostranstva sa malim brojem vrsta.

Tabela 1. Ekološki pokazatelji koji karakterizuju bakterijske komplekse koji se razvijaju u MCT fiolama

Table 1. Ecological indicators whicht characterize bacterial complexes developed in MCT fiols

| Zemljište<br><i>Soil</i>                                             | Supstrat<br><i>Substrat</i> | Indeks Šenona<br><i>Index of Shannon</i> | Dominanti<br><i>Dominate</i> |
|----------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------|------------------------------|
| <b>Solonjec</b><br><i>Solonec</i>                                    | Natrijum-citrat             | 0.16                                     | <i>Spirillum</i>             |
|                                                                      | Histidin                    | 0.87                                     | <i>Spirillum</i>             |
|                                                                      | Tvin 80                     | 1.47                                     | <i>Myxococcus</i>            |
|                                                                      | Glicerin                    | 1.85                                     | <i>Flavobacterium</i>        |
|                                                                      | Rafinoza                    | 2.22                                     | <i>Spirillum</i>             |
| <b>Mrko<br/>šumsko<br/>zemljište</b><br><i>Black forest<br/>soil</i> | Histidin                    | 0.48                                     | <i>Aquaspirillum</i>         |
|                                                                      | Glicerin                    | 0.81                                     | <i>Escherichia</i>           |
|                                                                      | Natrijum-citrat             | 1.22                                     | <i>Aquaspirillum</i>         |
|                                                                      | Tvin 80                     | 1.26                                     | <i>Aquaspirillum</i>         |
|                                                                      | Rafinoza                    | 1.85                                     | <i>Spirillum</i>             |

Utvrđene razmere sličnosti proučavanih bakterijskih kompleksa sa korišćenjem koeficijenata Serensena pokazale su da se najvećom sličnošću odlikuju zajednice izolovane na čvrstoj hranljivoj podlozi iz solonjeca i onih koje su formirane u fioli sa rafinozom, inokulisanom istim zemljištem (koeficijent Serensena 38%). Značajna sličnost (38%) utvrđena je, takođe, između bakterijskih zajednica koje se razvijaju u fiolama sa rafinozom, inokulisanim sa solonjecom i mrkim šumskim zemljištem, bakterijski kompleksi tih zemljišta pri rastu na citratu niske su sličnosti. Ove činjenice su, očigledno, povezane sa razvojem različitih grupa potencijalnih dominantata u različitim zemljištima.

Prema tome, nakon inkubacije zemljišne suspenzije sa supstratima u fiolama MCT razvijaju se bakterijski kompleksi koji se odlikuju malom raznolikošću rodova bakterija i pretežnim razvojem gramnegativnih bakterija koje pripadaju klasi proteobakterija. Specifičnost bakterijskih kompleksa koji se razvijaju u fiolama sa istim supstratima zavisi od tipa ispitivanog zemljišta.

### Proučavanje zagađenosti zemljišta metodom inicirane mikrobne zajednice

Postoje objektivni uzroci poteškoća sa kojima se suočavaju istraživači pri proučavanju uticaja zagađenja na mikrobiološke procese u zemljištu. Prema našem mišljenju, najvažniji među njima je taj što se pri rešavanju navedenog problema naširoko koriste metode zasejavanja na čvrste hranljive podloge, koje su pozajmljene iz medicinske mikrobiologije, koje iz niza razloga sasvim neodređeno karakterišu povratnu reakciju zemljišnih mikroorganizama na tehnogeno zagađenje. Ove metode us

vrlo pogodne za izolovanje čistih kultura mikroorganizama, ali su nepogodne za ekološko-mikrobiološka ispitivanja zemljišta. Zbog toga je još uvek aktuelno iznalaženje novih metodoloških pristupa koji mogu adekvatno odgovoriti na nove zadatke koji se postavljaju pred mikrobiologe koji se bave proučavanjem zemljišta.

Praktično ovaploćenje ovih težnji je metoda inicirane mikrobne zajednice (Guzev et al., 1982; Đukić i sar., 2007), koja se preporučuje za postavljanje laboratorijskih eksperimenata koji imaju za cilj da razjasne modifikujući uticaj različitih faktora na mikrobni sistem zemljišta u uslovima koji su maksimalno slični prirodnim.

### **Zaključak**

Utvrđeno je da stabilnost mikrobnog sistema zagađenog zemljišta zavisi od tipa zemljišta, stepen anjegove kultivisanosti, prisustva organske komponente, vrste i doze tehnogenog agensa. Ravnoteža u mikrobnom sistemu se znatno menja u prisustvu veće doze tehnogene supstance, usled čega dolazi do pregrupisanja vrsta u mikrobnoj zajednici zemljišta i do pojave različitih tipova modifikacione promenljivosti, koji se karakterišu određenom adaptivnom reakcijom (zona homeostaze, zona stresa, zona rezistencije, zona represije) mikrobnog sistema zemljišta.

Posebno je efikasno proučavanje funkcionalnih profila mikrobnih zajednica zemljišta pomoću metoda MST (dobijanje višeprofilne funkcionalne karakteristike mikrobnih zajednica, izolovanih iz zemljišta, na osnovu spektra utilizovanih supstrata) i IMZ (utvrđivanje modifikujućeg uticaja različitih faktora, pa i različitih supstrata na mikrobni sistem zemljišta u uslovima koji su slični prirodnim).

### **Napomena**

Istraživanja u ovom radu deo su projekta “Poboljšanje genetičkog potencijala i tehnologija proizvodnje krmnog bilja u funkciji održivog stočarstva” – TR 31057 koji finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

### **Literatura**

- Асеева И.В., Судницын И.И., Павличук З. (1986). Влияние потенциала почвенной влаги на ферментативную активность почв. Экологическая роль микробных метаболитов. М.:Изд-во МГУ, с. 24-41.
- Atlas R.M., Bartha R.(1992). Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. Adv. Microb. Ecol. Ed. K.C. Marschall, r.12, p.287-338.
- Ананьева Н.Д. (2001). Самоочищение почв от пестицидов. Перспективы развития почвенной биологии Москва, МАКС-пресс, МГУ ии М.В. Ломоносова и РАН. Стр.94-107.
- Durwen K.J. (1983). Bioindikation im Dienste des Umweltschutzes. Beitr. Landespflege Rheinland –Pfalz, V.9, S. 133-160.
- Ђукић Д., Јемцев, В.Т. (2007). Биотехнологија земљишта. Будућност, Нови Сад, 529 стр. . ИСБН 978-86-7780-113-7.

- Ђукић Д., Ђорђевић С., Мандић Л., Трифуновић Б. (2012). Микробиолошка трансформација органских супстрата, цела монографија, Агрономски факултет у Чачку, 232 стр. Одлука Наставно научног већа Агрономског факултета бр. 3103/11-IX од 20. 12. 2011. год., ISBN 978-86-87611-22-1, COBISS.SR-ID 188902924.
- Ђукић Д., Јемцев В.Т., Ђорђевић С., Трифуновић Б., Мандић Л., Пешаковић М. (2013а). Биоремедијација земљишта, Штампарија "Будућност" ДОО, Нови Сад, 207 стр. ИСБН 978-86-7780-113-7.
- Ђукић Д., Мандић Л., Пешаковић Маријана (2007). Техногени утицаји на заједнице земљишних микроорганизама. Унапређење пољопривредне производње на Косову и Метохији (поглавље у монографији). Пољопривредни факултет Приштина-Лешак, 8-70. ISBN 978-86-80737-13-3, COBISS.SR-ID 144875276.
- Ђукић Д., Ђорђевић С., Трифуновић Б., Мандић Л., Марковић Г., Машковић П., Танасковић С., Брковић Д. (2013б): Биоиндикација и биотестирање загађености животне средине, „Будућност“ ДОО, Н. Сад 337. стр, ISBN 978-86-7780-130-4, СР 504.5(075.8).
- Емцев В.Т. (2001), Почвенные микроба и деградация ксенобиотиков. Перспективы развития почвенной биологии. МГУ и РАН, Москва, МАКС-пресс, 2001. с.77-78.
- Гузов В.С., Кураков А.В., Бондаренко Н.Г., Мирчинк Т.Г. (1984). Иницированное микробное сообщество почвы при действии минерального азота. Микология и фитопатология, Но 18.ц.3-8.
- Гузов В.С., Левин.С.В. (2001). Техногенные изменения сообщества почвенных микроорганизмов. Перспективы развития почвенной биологии. МГУ, Российская академия наук, Москва. МАКС-ПРЕСС, с. 178-219.
- Горленко М.В: Кожевин, П.А. (1994). Дифференциация почвенных микробных сообщств с помощью мультисупстратного тестирования. Микробиология, т.63, No.2, с. 289-293.
- Горленко М.В, Рабинович, Н.Л., Градова, Н.Б. Кожевин П.А. (1996). Индикация загрязнения почв синтетическими моющими средствами по функциональной реакции почвенного микробного комплекса. Вестник МГУ, Сер. Почвоведение, No.1.
- Gorlenko M.V., Majorova T.N., Kozhevin P.A. (1997). Disturbances and their influence on substrate utilization patterns in soil microbial communities. Microbial Communities. Functional versus structural approach.Eds. Insam H. Ranger, A. Insbruck, Austria, Springer, p. 84-93.
- Guzev. V.S., Bondarenko N.G. Byzov B.A. Mirchink T.G., Zvyagintsev D.G. (1982) A method for direct study of the microbiological soil state by the structure of the initiated microbial community. Pedobiologia, V.24. N.2, s. 65-79.
- Кожевина Л.С., Кожевин П.А., Кофф Г.Л. (1995). О возможностях микробиологической диагностики почв и грунтов сейсмоопасных территорий для геодинамической и санитарно-эпидемиологической оценки и прогноза. Прикладная геоэкология, чрезвычайные ситуации, земельный кадастр и мониторинг. М. : ГЕИ МАИ, ИЛСАН, РАН, Вып.1.

- Кураков А.В., Гузев В.С., Степанов А.Л., Коновалова О.Е., Умаров М.М., Зенова Г., Мирчинк Т.Г. Шабает В.П. Бернат И., Кромка М. (1989). Минеральные удобрения как фактор антропогенного воздействия на почвенную микрофлору. Микроорганизмы и охрана почв. М.: Изд-во МГУ, с. 205.
- Лысак Л.В., Добровольская Т.Г.(1982). Бактерии в почвах тундры Западного Тамыра Почвоведение, Н.9 с. 74-78.
- Левин Ц.В., Бабьева И.П.(1985). Действие тяжелых металлов на состав и развитие дрожжей в сероземе. Почвоведение, No. 6, с. 97-101.
- Марфенина О.Е. (1991). Микробиологические аспекты охраны почв. М: Изд-во МГУ, 1991, 118 с.
- Марфенина О.Е. (2000). Изменения комплекса грибов рода *Penicillium* в почвах подзолистой зоны при антропогенных воздействиях. Микология и фитопатология, Т.34, No.4. с. 38-42
- Marfenina O.E. (2000). Microbiological properties of urban soil. 1-st International Conference of soil of Urban Industrial, Traffic and Maining Areas. Proceedings, University of Essen, r.3, p.677-681.
- Мирчинк, Т.Г.(1988). Почвенная микология М.: Изд-во, МГУ, 220 с.
- Марфенина О.Е. (1976). Влияние длительного применения минеральных удобрений и извести на микрофлору дерново-подзолистых почв: Автореф. Дисс. на соиск. степ. канд. биол. наук. М. 161 с.
- Мишустин Е.Н. (1982). Развитие учения о ценозах почвенных микроорганизмов. Успехи микробиологии, Вып. 17, М.: Наука, 1982.
- Мегарран Е. (1992). Экологическое разнообразие и его изменения. М.: Мир, 1992.
- Микроорганизмы и охрана почв. Под ред. Д.Г.Звягинцева. М. Изд. МГУ, 1989, 206 с.
- Определитель бактерий Берджи. Ред. Дж. Хоулт и др. М. : Мир, 1997. с. 181.
- Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г. Почвоведение, 2005. No 6, 706-714.
- Пиковский Ю.И. (1993). Природные и техногенные потоки углеводов окружающей среде. М.: Изд-во МГУ, 208 с.
- Smalla K., Wachtendore U., Hever H., Liu W., Forney L. (1998). Analysis of BIOLOG GN supstrate utilization patterns by microbial communities. Appl. Env. Microbiology. Vol.64. No.4. p. 1220-1225.
- Shukla O.P.(1990). Biodegradation for environmental's management. Everymans Sci., V.25, No.2. p. 46-50.
- Сонцова О.Ю., Максимов В.М. (1985). Действие тяжёлых металлов на микрооизмы. Т.20, с. 227-252.
- Степанов А.М.(1988). Методология биоиндикации и фонового мониторинга экосистема суши. Экотоксикология и охрана природы. М.: Наука, с. 28-108.
- Умаров М.М., Азиева Е.Е. (1980). Некоторые биохимические показатели загрязнения почв тяжелыми металлами. Тяжёлые металлы в окружающей среде. М. С. 109-115.
- Виноградский С.Н. (1953). Микробиология почвы. М.: Изд-во, АН СССР, с. 792.
- Зенова Г.М., Михайлова Х.В., Звягинцев Д.Г. (2000). Динамика популяций олигоспоровых актиномицетов в черноземе. Микробиология, Т.69, No. 1, с.127-131.

## STUDYING OF FUNCTIONAL PROFILE OF MICROBIAL COMMUNITIES IN CONTAMINATED SOILS

*Dragutin Đukić<sup>1</sup>, Aleksandar Semjonov<sup>2</sup>, Leka Mandić<sup>1</sup>, Vesna Đurović<sup>1</sup>,  
Milica Zelenika<sup>1</sup>, Aleksandra Stanojković-Sebić<sup>3</sup>*

### Abstract

In this review paper are considerate the different ways of soil microorganism's reaction in a variety of forms of technogenic pollution by methods multi-substrate testing and initiates the microbial community, as well as the modification of variability that is characterized by specific adaptive reactions (homeostasis zone, stress zone, zone of resistance and zone repression) of microbial system lands.

**Key words:** soil, pollution, microorganisms, homeostasis, stress, resistance, repression.

CIP- Каталогизација у публикацији  
Народна библиотека Србије

63(082)

60(082)

**САВЕТОВАЊЕ о биотехнологији са међународним учешћем (23 ; 2018 ; Чачак)**

Zbornik radova / XXIII savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, Čačak, 9-10. mart 2018. godine ; [organizator] Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku = [organized by] University of Kragujevac, Faculty of Agronomy, Čačak. - Čačak : Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet, 2018 (Čačak : Bajić). - 615 str. : ilustr. ; 25 cm

Radovi na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 160. - Napomene i bibliografske reference uz radove. - Bibliografija uz svaki rad. - Abstracts.

ISBN 978-86-87611-55-9

1. Агрономски факултет (Чачак)

a) Пољопривреда - Зборници

b) Биотехнологија - Зборници

COBISS.SR-ID 258772236