

Изобретение относится к санитарно-микробиологическому анализу почвы, загрязненной радионуклидами и может быть использовано для индикации влияния радиоактивного загрязнения в зонах жесткого контроля,

Известны способы биологической индикации радиоактивного загрязнения окружающей среды с использованием генетических методов: по генной мутации у бактерий-тест-торов в виде замещения пар оснований и по типу сдвига рамки считывания [Абилова А.Н. и др. Изучение мутагенной активности воды открытых и закрытых водоемов, прилегающих к Семипалатинскому полигону на микробных тест-системах. II Всес. съезд мед. генетиков, Алма-Ата, 4-6 дек. 1990: Тез. докл. - М., 1990. - С. 4-5]. Кроме того, для биологической индикации малых доз γ -радиации использовали индукцию профага в лизогенных культурах псевдомонад и эшерихий [Торосян М.В. др., Радиобиология, 1990, т. 30. -С. 385-389].

Недостатками известных способов является их сложность и относительная длительность из-за необходимости наличия эталонных штаммов тест-бактерий с определенными биологическими свойствами.

Наиболее близким к заявляемому является способ определения техногенного загрязнения почвы, включающей посев почвы на плотную глюкозоаспарагиновую среду с фосфатом кальция с последующей инкубацией и определением по зонам растворения фосфата кальция численности колоний представителей группы кислотообразующих бактерий с преобладанием последних в местах максимального загрязнения [Попова И.В., Самойлова Т.С. В кн.: Микробиологические методы защиты окружающей среды/Тез. докл. 5-7 апр. 1988, Пушине 1988. - С. 157-158].

К недостаткам этого способа относится то, что он предназначен для определения техногенного загрязнения почвы тяжелыми металлами вблизи автодорог и является непригодным для выявления радиоактивного загрязнения почвы ввиду ингибирующего действия радиации на физиологическую группу кислотообразующих микроорганизмов.

Задачей предлагаемого способа явилось выявление радиоактивного загрязнения почвы по микробиологическому тесту, которое отражает экологические сдвиги в биологических популяциях, что позволяет устанавливать опасность риска для здоровья людей. Используемые инструментальные методы радиоактивного загрязнения почвы не дают возможности это определить.

Характер усовершенствования заявляемого способа состоит в расширении диапазона выявляемых физиологических групп кислото-, щелочеобразующих и нейтральных микроорганизмов с определением наиболее устойчивых к радиации.

Эффективность предлагаемого способа заключается в его демонстративности за счет преобладания колоний щелочеобразующих групп на фоне снижения кислотообразующих и нейтральных групп микроорганизмов, экономичности и доступности использования в практике здравоохранения в зонах жесткого контроля радиоактивного загрязнения вблизи АЭС и других источников радиации.

Поставленная задача решается тем, что в способе микробной индикации радиоактивного загрязнения почвы, включающем посев почвы на плотную глюкозную питательную среду с последующей инкубацией и определением физиологических групп микроорганизмов, согласно изобретению определяют количество представителей колоний кислото-, щелочеобразующих и нейтральных групп микроорганизмов и по преобладанию щелочных групп более 20% от общего количества устанавливают повышение радиоактивного загрязнения почвы в пределах по -излучению 20-60 мкр/час.

Предлагаемый способ легко воспроизводим и экономичен за счет использования небольшого количества стандартных бактериологических чашек с глюкозным питательным агаром и двумя красками, что позволяет легко визуально различать три физиологические группы микроорганизмов, тем самым увеличивая его демонстративность

Пример осуществления предлагаемого способа.

Практически были исследованы ряд проб почвы в зоне жесткого контроля с повышенным уровнем радиации от 20 до 60 мкр/час и пробы в местах с естественным фоном радиации от 15 до 19 мкр/час (контрольные). Отбор и предварительную обработку проб почвы осуществляли традиционными методами. Полученную 10%-ную взвесь почвы в фосфатно-буферном растворе с рН-8,2 засеивали по 0,1 см³ на поверхность чашек с 1 %-ным глюкозным агаром, содержащим на 200 см³ среды по 1 см³ 0,1%-ных готовых растворов метиленовой синьки и нейтрального красного. Внесенные дозы посевов тщательно втирали шпателем в поверхность среды в чашках подсушивали и двое суток инкубировали в термостате ТС-80 при t-37°C затем проводили предварительный визуальный учет посевов -подсчет в выросших на чашке, колоний микроорганизмов. После дополнительного трехсуточного выдерживания посевов при комнатной температуре 18-22°C в затемненном месте подсчитывали отдельно ро-зовокрасные кислотообразователи, голубосиние щелочеобразователи и бесцветные нейтральные колонии. Потом определяли процентное соотношение представителей каждой физиологической группы микроорганизмов по отношению к общему количеству выросших колоний. Результаты исследований наиболее характерных 12-ти проб почвы представлены в табл.1.

Весь массив полученных результатов исследования 140 проб почвы был подвергнут соответствующей математической обработке с целью установления достоверности изменений. На первом этапе обработки результатов в значения повышенных (выше фоновых 20 мкр/час) уровней радиации, независимо от места и даты отбора проб почвы, сведены в один вектор независимой переменной - x , а соответствующие им значения встречаемости групп микроорганизмов - в три вектора зависимых - $Y_1+Y_2+Y_3$ -Кодировка наименований и результаты приведены в табл. 2. В качестве регрессионной модели использовано линейное уравнение вида $Y_1=a_1+v_1x$, где a - процент колоний соответствующих физиологических групп микроорганизмов в контрольных незагрязненных образцах почвы с фоновым уровнем радиации;

v - коэффициент тенденции изменений содержания микроорганизмов при увеличении уровня радиации.

С помощью метода наименьших квадратов рассчитаны значения параметров a и v , их ошибки S_a , S_v и достоверность по критерию Стьюдента t_a, t_v (см. табл. 2).

Из представленных данных видно, что с увеличением радиоактивного загрязнения почвы наиболее четко наблюдается увеличение количества колоний щелочных групп микроорганизмов ($t=3,2$), обусловленное

достоверным уменьшением нейтральных ($t=-2,4$) и менее достоверным, достаточно сильным уменьшением колоний кислотных групп ($t=-1,9$). Таким образом, увеличение количества щелочеобразующих колоний в более 20%, свидетельствует о повышении уровня радиоактивного загрязнения почвы.

Таблица 1

№ п/п	Уровень радиа- ции, мкр/час	Количество колоний физиологических групп микроорганизмов						
		Всего	кислотных		щелочных		нейтральных	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
Конт- роль								
1	15	176	100	56,8	31	17,6	45	25,6
2	16	884	11	1,2	18	2,0	855	96,8
3	16	500	30	6,0	30	6,0	440	88,0
4	17	510	36	7,0	30	5,9	444	87,1
5	18	580	220	37,9	70	12,1	290	50,0
6	19	680	72	10,6	84	12,4	524	77,0
Сред- нее	16,8	555	78	19,9	44	9,3	433	70,4
Опыт								
7	20	620	10	1,6	160	25,8	450	72,6
8	24	1340	50	3,7	400	29,9	890	66,4
9	31	490	100	20,4	190	38,8	1	40,8
10	33	160	40	25,0	120	75,0	0	0
11	39	1040	140	13,4	800	77,0	100	9,6
12	58	1100	200	18,2	900	81,8	0	0
Сред- нее	34,3	792	90	13,7	428	54,7	165	31,6

Таблица 2

Номер и код у	а	S _а	t _а	в	S _в	t _в
1-кислот- ные	23,3	4,2	5,5	- 0,3	0,2	- 1,9
2-щелоч- ные	18,9	8,6	2,4	1,0	0,3	3,2
3-нейтраль- ные	55,7	7,5	7,4	- 0,7	0,3	- 2,4