

С.Т. ИБРАГИМОВА, С.А. АЙТКЕЛЬДИЕВА, Э.Р. ФАЙЗУЛИНА

ВЛИЯНИЕ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ЧИСЛЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВАХ МЕСТОРОЖДЕНИЯ КУМКОЛЬ (КЫЗЫЛ-ОРДИНСКАЯ ОБЛАСТЬ)

(ДГП «Институт микробиологии и вирусологии» РГП «Центр биологических исследований» МОН РК)

Изучено влияние нефтяного загрязнения на численность различных физиологических групп микроорганизмов в почвах месторождения Кумколь (Кызыл-Ординская область).

Наше время характеризуется стремительным расширением и ускорением добычи нефти. Несмотря на меры, принимаемые по ограничению зависимости энергетического баланса от нефти и нефтепродуктов, доля углеводородного топлива составляет 2/3 мирового уровня потребления энергии. На долю нефти приходится более половины потребляемого топливно-энергетического сырья. Существующий спрос на нефть и

нефтепродукты увеличивается в среднем на 8%, а добыча на 5,5% в год [1].

Одним из негативных последствий интенсификации нефтедобычи является загрязнение природной среды нефтью и ее продуктами. В настоящее время нефть и нефтепродукты признаны главными загрязнителями окружающей среды [2]. Даже при современных достижениях по охране окружающей среды загрязнение почвогрунтов

нефтью в процессе ее добычи и транспортировки и хранения остается проблемой нерешенной. Согласно литературным данным при добыче и транспортировке переработке теряется около 50 млн. тонн нефти и нефтепродуктов в год [3].

Поступление нефти в окружающую среду связано с утечкой ее из поврежденных трубопроводов, при фонтанировании из разбуренных и эксплуатационных скважин. Присутствует она также в составе буровых растворов. Из-за высокой степени загрязнения имеет место отчуждение земельных угодий из сельскохозяйственного оборота, которые становятся практически непригодными для земледелия, нарушается экологическое равновесие природных ландшафтов, компонентов агроэкосистем. Так, действие и последствие нефтяного загрязнения на почвенных животных определяется прежде всего степенью и интенсивностью загрязнения.

Плодородие почвы в первую очередь связано с жизнедеятельностью микроорганизмов. Они обуславливают осуществление в почве ряда наиболее важных процессов. Микробиологические процессы являются необходимым звеном в круговороте всех биогенных элементов, участвуя в почвообразовании и поддержании почвенного плодородия [4].

Микроорганизмы быстро реагируют на загрязнение почвы. Если одни микроорганизмы чувствительны к некоторым загрязнителям, то другие, наоборот, принимают участие в их распаде. Свидетельством изменения окружающей среды под влиянием нефти и нефтепродуктов может быть элиминация или увеличение разнообразия видов микробиоценозов. Перемены в сообществе микроорганизмов, обеднение видового состава может быть вызвано присутствием в среде специфических токсических агентов [5]. При этом нарушение микробных сообществ может стать причиной разрушения всей экосистемы, независимо от того, где она находится в водной или наземной среде. В этой связи необходима разработка подходов к рекультивации загрязненных почв, основанных на активации деятельности микробиоценозов.

Губительно влияя на первичную продуктивность и консументы, нефтяное загрязнение нарушает сложившиеся трофические связи зрелой экосистемы, обуславливает упрощение структуры геобиоценоза, сдвиг равновесия. Такая эко-

система, с нарушенными трофическими связями является динамически неустойчивой. Преодоление флуктуации среды обеспечивается системой микроорганизмов, являющихся основными потребителями энергии углеводов. Подтверждением этого является изменение структуры микробных сообществ, способствующих эффективной ассимиляции углеводов, о чем можно судить по повышению численности бактериальной микрофлоры [6].

Цель настоящей работы — изучение численности различных физиологических групп микроорганизмов в почвах Кызыл-Ординской области в зависимости от степени нефтезагрязнения.

Материалы и методы исследований. Для изучения численности микроорганизмов были отобраны два вида почв с месторождения Кумколь (Кызыл-Ординская область): сильнозагрязненная и незагрязненная почвы. Преимущественное распространение в регионе получили аллювиальные и аллювиально-озерные образования средне-верхнего плиоцена, представленные глинами и песками аллювиального озерного и озерно-лагунного происхождения. С поверхности отложения перекрыты комплексом нижне-, средне- и верхнечетвертичных структур, которые представлены глинами, суглинками, супесями и разнотерными песками. Особенностью ландшафтов месторождения является слабая устойчивость к антропогенным нагрузкам.

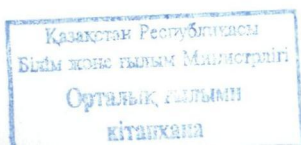
Для определения численности физиологических групп микроорганизмов использовали стандартные микробиологические среды и методы [7].

Общую микробную численность (ОМЧ) определяли высевом почвенной суспензии на поверхность плотной питательной среды РПА. По окончании термостатирования производили подсчет колоний микроорганизмов.

Численность *спорообразующих бактерий* определяли высевом поверхностно на среду РПА. Предварительно матричные пробы почвы в виде суспензии в стерильной воде в разведении 1:10², 1:10³, 1:10⁴ прогревали на водяной бане при температуре 80°C в течение 10 мин.

Для определения численности *актиномицетов* производили посев поверхностно на среду Чапека.

Численность *мицелиальных грибов* определяли путем поверхностного посева почвенной суспензии на среду Ворта.



Численность *углеводородокисляющих микроорганизмов* определяли методом предельных разведений на среде Ворошиловой-Диановой.

Численность *олиготрофов* определяли путем поверхностного посева почвенной суспензии на голодный агар.

Численность аэробных *азотфиксаторов* определяли путем поверхностного посева почвенной суспензии на среду Мишустина. Численность анаэробных азотфиксаторов определяли методом предельных разведений на жидкой среде Виноградского.

Численность *аммонификаторов* определяли методом предельных разведений на среде РПБ.

Численность аэробных *целлюлозолитических микроорганизмов* определяли методом предельных разведений на жидкой среде Гетчинсона, а численность анаэробных целлюлозолитических – на жидкой среде Кувина.

Высевом анализируемой суспензии в элективную минеральную среду Виноградского был выявлен рост *нитрифицирующих бактерий* и определена их численность.

Выявление *денитрификаторов* проводили высевом исследуемого субстрата в среду Гильтая.

Статистическая обработка данных проводилась в программе Excel.

Результаты и обсуждение. Согласно данным исследований Киреевой Н.А. [8] нефть первоначально вызывает достоверное снижение численности и видового разнообразия всех групп микроорганизмов, за исключением микроскопических грибов. Это связано с гибелью неустойчивых групп микроорганизмов, что происходит в результате токсического действия нефти особенно ее легких фракций. Возникают сукцессионные изменения, которые выражаются в изменении доминирования отдельных активно функционирующих в почве микроорганизмов. В дальнейшем различные физиологические группы микроорганизмов по-разному реагируют на присутствие нефти.

Результаты исследования показали, что общее микробное число (ОМЧ) как в сильнозагрязненной почве, так и в незагрязненной находится в пределах одного порядка (табл.).

Таблица. Численность основных групп микроорганизмов в почвах месторождения Кумколь (Жызыл-Ординская область)

Группы микроорганизмов	Численность микроорганизмов, кл/г почвы	
	Сильнозагрязненная	Незагрязненная
ОМЧ	$(1,38 \pm 0,13) \times 10^6$	$(1,42 \pm 0,14) \times 10^6$
Аммонифицирующие бактерии	$1,1 \times 10^6$	$4,5 \times 10^4$
Нитрифицирующие бактерии	$0,3 \times 10$	$1,5 \times 10^3$
Денитрифицирующие бактерии	$4,5 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$
Азотфиксирующие микроорганизмы:		
• аэробные	0	0
• анаэробные	$1,4 \times 10^4$	$0,4 \times 10$
Целлюлозолитические микроорганизмы:		
• аэробные бактерии	$3,0 \times 10$	$1,1 \times 10^3$
• анаэробные бактерии	$2,5 \times 10$	$4,5 \times 10$
Актиномицеты	$(9,67 \pm 0,4) \times 10^3$	$(1,87 \pm 0,5) \times 10^4$
Грибы	$(5,0 \pm 0,3) \times 10^3$	$(6,2 \pm 0,9) \times 10^4$
Углеводородокисляющие микроорганизмы	$2,2 \times 10^5$	$1,1 \times 10^4$
Спорообразующие бактерии	$(3,0 \pm 0,2) \times 10^3$	$(1,1 \pm 0,3) \times 10^4$
Олиготрофы	$(1,99 \pm 0,12) \times 10^5$	$(1,14 \pm 0,23) \times 10^6$

Наиболее чувствительными к действию нефти оказались нитрифицирующие бактерии. Их количество в сильнозагрязненной почве было намного ниже, чем в незагрязненной и составило 30 клеток в 1г почвы. Снижение численности, вероятно, связано с тем, что в почве создается неблагоприятный для них воздушный режим. Однако, в этих же условиях наблюдается повышение численности аммонифицирующих бактерий. Если в незагрязненной почве их количество было 45000 кл/г почвы, то в сильнозагрязненной – 1100000 кл/г.

Численность денитрифицирующих бактерий в загрязненной нефтью почве месторождения Кумколь несколько выше, чем в незагрязненной. По литературным данным развитию в загрязненных почвах денитрификаторов способствует избыток органической массы, слабощелочная реакция среды и низкий окислительно-восстановительный потенциал [8]. Происходит увеличение численности анаэробных азотфиксирующих микроорганизмов на три порядка.

Одними из основных индикаторов плодородия почв являются целлюлозоразрушающие микроорганизмы. Известно, что чем интенсивнее идет в почве нитрификация, тем энергичнее в ней размножаются целлюлозоразрушающие микроорганизмы [9]. Эта закономерность получила подтверждение и в наших исследованиях. Нами отмечено значительное снижение численности аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов в нефтезагрязненной почве до 30 кл/г, тогда как в незагрязненной почве насчитывалось 1100 кл/г. Это связано с неблагоприятным водно-воздушным режимом, низким содержанием подвижных соединений азота и свежих растительных остатков.

Важной ролью углеводородокисляющих микроорганизмов является разложение нефти и нефтепродуктов в почве и водных экосистемах [10]. По нашим данным, в загрязненной нефтью почве численность углеводородокисляющих микроорганизмов увеличилась с 11000 кл/г в незагрязненной почве до 220000 кл/г в сильнозагрязненной.

Численность актиномицетов снизилась в загрязненной почве практически пропорционально загрязнению с 18700 кл/г в незагрязненной почве до 9670 кл/г в сильнозагрязненной почве. Так же несколько подавлен рост мицелиальных грибов.

Было отмечено уменьшение на порядок численности спорообразующих бактерий в нефтезагрязненной почве. Хотя споровые бактерии обладают мощным ферментным аппаратом, что позволяет им приспосабливаться к неблагоприятным условиям среды.

Таким образом, результаты исследования показали, что нефтяное загрязнение стимулировало рост отдельных физиологических групп, осуществляющих окисление углеводов и участвующих в круговороте азота, и привело к снижению численности тех групп микроорганизмов, которые наиболее чувствительны к загрязнению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Терещенко Н.Н., Лушников С.В., Митрофанова Н.А., Пилипенко С.В. Особенности биологической рекультивации нефтезагрязненных и техногенно засоленных почв // Экология и промышленность России. 2005. № 5. С. 33-36.
2. Израэль Ю.А., Ровинский Ф.Я. Комплексный фоновый мониторинг в СССР // Комплексный глобальный мониторинг состояния биосферы: Тр. III Межд. симп. 14 – 19 окт. 1985, Ташкент. Л., 1986. Т.1. С. 89 – 105.
3. Kaplan, C. W., and C. L. Kitts. Bacterial succession in petroleum land treatment unit // Appl. Environ. Microbiol. 2004. 70. P. 1777–1786.
4. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. М., 1987. 256 с.
5. Рябчиков А.М. О загрязнении природной среды нефтью // Вестн. МГУ. Сер. География. 1974. № 2. С. 36 – 41.
6. Пономарева Л.В., Крунчак В.Г., Торгованова В.А. и др. Биоремедиация нефтезагрязненной почвы и сипользованием биопрепарата «БИОСЭТ» и пероксида кальция // Биотехнология. 1998. № 1. С. 79-84.
7. Практикум по микробиологии. Под ред. Егорова Н.С. М., 1976. 308 с.
8. Киреева Н.А. Микробиологические процессы в нефтезагрязненных почвах. Уфа, 1994. 172 с.
9. Исмаилов Н.М. Микробиология и ферментативная активность нефтезагрязненных почв // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М., 1988. С. 42 – 56.
10. MacNaughton, S.J., J.R. Stephen, A.D. Venosa, G.A. Davis, Y. Chang, D.C. White. Microbial population changes during bioremediation of an experimental oil spill // Appl. Environ. Microbiol. 1999. 65. P. 3566–3574.

Резюме

Микроорганизмдердің физиологиялық топтарының Күмкөл жерқойнауындағы топырақтарын мұнай өнімдерімен ластау әсерлері зерттелген.

Summary

Influence of oil pollution on number of various physiological groups of microorganisms in soils of oilfield Kumkol (Kyzyl - Orda) is investigated.