

Ж.К. ЖУБАТОВ¹, Ш.С. БИСАРИЕВА¹, Г.К. КАБУЛОВА¹,

Е.А. БЕКЕШЕВ¹, И.А. РАТНИКОВА²

(¹РГП «НИЦ «Ғарыш-Экология» НКА РК, г. Алматы

²РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, г. Алматы)

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЧВЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УГЛЕВОДОРОДНОГО РАКЕТНОГО ТОПЛИВА – КЕРОСИНА Т-1

Аннотация

Экспериментальные микробиологические исследования почвы при воздействии углеводородного ракетного топлива - керосина Т-1 показали, что керосин, внесенный в почву в различных концентрациях, оказывает влияние на состав почвенной микрофлоры и дыхание почвы. Токсическое действие керосина проявляется при концентрациях от 5 г/кг почвы.

Ключевые слова: углеводородное ракетное топливо, керосин Т-1, почва, микроорганизмы.

Кілт сөздер: көмірсутекті зымыран отыны, Т-1 керосіні, топырақ, микроорганизмдер.

Keywords: hydro carbonic rocket fuel, kerosene Т-1, soil, microorganisms.

Углеводородные горючие стабильны в почвах и сохраняются длительное время. Содержание в почве больших концентрации различных химических соединений - токсикантов пагубно влияют на жизнедеятельность почвенных организмов, при этом теряется способность почвы к самоочищению от болезнетворных и других нежелательных микроорганизмов, что чревато тяжелыми последствиями для человека, растительного и животного мира. Например, в сильно загрязненных почвах возбудители тифа и паратифа могут сохраняться до полутора лет, тогда как в незагрязненных – лишь в течение двух-трех суток.

Большое количество загрязнителя в течение первых лет будет содержаться в поверхностном слое почвы (0-20 см), и через несколько десятилетий он исчезнет. Поступающие в почву химические соединения накапливаются и приводят к постепенному изменению химических и физических свойств почвы, снижают численность живых организмов, ухудшают ее плодородие [1, 2].

Низкие концентрации углеводородных горючих оказывают стимулирующее действие на микробиологические процессы в почве, при концентрации от 0,7 до 50 мл/кг происходит нарушение микробного сообщества, при концентрациях выше 300 мл/кг – гибель микроорганизмов [2].

В связи с тем, что почвенные микроорганизмы чутко реагируют на загрязнение почвы, изменения в их численном и качественном составе могут служить индикатором состояния почв.

Целью данной работы является оценка состояния и степени трансформации микробиоценозов почв при воздействии углеводородного ракетного топлива - керосина Т-1.

Материал и методы исследований. В работе использованы горные бурые пустынные и бурые полупустынные почвы, в которые вносили керосин Т-1 в различных концентрациях.

Для определения количественного и качественного состава микроорганизмов произведен высеv почвенных образцов на мясо-пептонный агар (МПА) и крахмало-аммиачный агар (КАА) [3, 4].

Для выявления спорообразующих микроорганизмов высев почвенного образца производили после предварительного его прогрева на водяной бане в течение 15 мин при температуре 87°C.

Для определения численности актиномицетов использовали среду 2 Гаузе [5].

Для определения численности грибов использовали среду Чапека (г/л). Выращивание микроорганизмов осуществляли в термостате при температуре 28-30°C в течение 3-х суток (бактерии) и 7-и суток (актиномицеты, микромицеты).

Определение численности микроорганизмов проводили путем ряда последовательных разведений почвы в стерильной водопроводной воде и посева их в агаризованную питательную среду с последующим подсчетом выросших колоний [5].

Для определения интенсивности дыхания почвы использовали абсорбционный метод, в котором количество выделившегося из образцов почвы углекислого газа определяли по нейтрализации им раствора щелочи [6].

Фитотоксичность почв оценивали методом проростков, для чего была использована тест-культура редиса *Raphanus sativus L. var. sativus* сорта «Красный с белым кончиком» [7]. Выращивание растений проводили с использованием контейнеров с почвой. Наблюдения за проростками осуществляли в течение двух недель. О фитотоксичности судили по всхожести семян редиса и длине проростков.

Показателями активности почвы являются: общая микробная численность (ОМЧ), численность основных групп почвенных микроорганизмов: почвенных сапрофитных бактерий, актиномицетов, почвенных микромицетов, показатели интенсивности трансформации углерода и азота в почве (дыхание почвы).

Результаты и обсуждение. В образцах почвы выявлены микроорганизмы, усваивающие как органические формы азота (рост на МПА), так и минеральные (рост на КАА). Из экспериментальных данных видно, что в исследуемых двух почвенных образцах присутствуют в той или иной степени определяемые группы микроорганизмов.

В горных бурых пустынных почвах через 30 суток после контакта с керосином Т-1

выявлены изменения в количественном составе изучаемых групп микроорганизмов по сравнению с контролем.

При этом существенных изменений в количестве микроорганизмов, усваивающих органические формы азота при концентрации керосина 0,1 и 1 г/кг, не произошло. Увеличение данной группы микроорганизмов отмечено в варианте с 0,002 г керосина на 1 кг почвы (с 294 до 390 млн. КОЕ/г). В вариантах с концентрацией керосина от 5 до 15 г/кг почвы количество микроорганизмов, выросших на МПА, составило от 25,0 до 17,7 млн. КОЕ/г. Во всех вариантах снизилось в 5-11 раз количество микроорганизмов, усваивающих минеральные формы азота. В обработанных керосином почвах уменьшилось содержание актиномицетов. В образцах с содержанием керосина от 0,002 до 1 г/кг их количество снизилось с 8 до 3 тыс. КОЕ/г, а при концентрациях керосина 5, 10 и 15 г/кг – до 0,04; 0,004 и 0,002 млн. КОЕ/г, соответственно.

Результаты исследований численности микроорганизмов представлены в таблице 1.

Таблица 1- Численность микроорганизмов в почвах (продолжительность контакта 30 сут)

Вариант опыта	ОМЧ на МПА, млн. КОЕ/г	ОМЧ на КАА, млн. КОЕ/г	Актино- мицеты, млн. КОЕ/г	Микроско- пические грибы, тыс. КОЕ/г	Споровые микроорга- низмы на МПА, тыс. КОЕ/г
Горные бурые пустынные почвы					
Контроль (почва без керосина)	294,0	228,0	8,0	60,0	0,02
Почва + 0,002 г/кг керосина	390,0	22,5	3,0	40,0	0,3
Почва+0,1 г/кг керосина	280,0	41,2	3,0	30,0	0,9
Почва +1 г/кг керосина	256,0	40,0	3,0	30,0	0,9
Почва+5 г/кг керосина	25,0	46,0	0,04	35,0	0,9
Почва +10 г/кг керосина	23,0	32,0	0,004	30,0	1,3
Почва+15 г/кг керосина	17,6	20,0	0,002	40,0	1,0
Бурые полупустынные почвы					
Контроль (почва без керосина)	226,0	460,0	7,0	300,0	0,06
Почва + 0,002 г/кг керосина	632,0	308,0	3,0	50,0	0,3
Почва+0,1 г/кг керосина	626,0	300,0	2,0	40,0	0,2
Почва +1 г/кг керосина	574,0	250,0	0,1	40,0	0,1

Почва+5 г/кг керосина	380,0	242,0	0,09	30,0	0,1
Почва +10 г/кг керосина	338,0	240,0	0	30,0	0,1
Почва+15 г/кг керосина	330,0	230,0	0	30,0	0,1

В опытных образцах почв уменьшилось содержание микроскопических грибов в 1,5-2 раза. Количество спорных микроорганизмов увеличилось в десятки раз, причем их больше в более загрязненных почвах [7].

Через 90 суток контакта с керосином в вариантах с содержанием его от 0,002 до 1 г/кг общее количество микроорганизмов, использующих органические формы азота, превосходило или достигало контрольный вариант. При содержании керосина от 5 г/кг и выше их количество не достигало уровня контрольного варианта.

Количество микроорганизмов, усваивающих минеральные формы азота, во всех вариантах оставалось ниже контрольного. Содержание актиномицетов в опытных образцах увеличилось, но не достигло исходного уровня.

В бурых полупустынных почвах через 30 суток после обработки керосином увеличилось содержание микроорганизмов, усваивающих органические формы азота (табл. 1). В большей степени увеличение произошло при концентрации керосина от 0,002 до 1 г/кг (в 2,5 раза) и в меньшей – при концентрации от 5 до 15 г/кг (1,5 раза). Отмечено снижение в 1,5-2 раза количества микроорганизмов, усваивающих минеральные формы азота. Уменьшение содержания актиномицетов происходит, начиная с концентрации керосина 0,002 г/кг почвы, а при его концентрации 10 и 15 г/кг актиномицеты в почве отсутствуют. Количество микромицетов под воздействием керосина снизилось в 6-10 раз и находилось в пределах от 50 до 30 тыс. КОЕ/г по сравнению с 300 тыс. КОЕ/г в контроле. Количество спорных микроорганизмов в опытных образцах увеличилось в 1,6-6 раз.

Через 90 суток после обработки керосином общее количество микроорганизмов, выросших на МПА, превышало контроль в 2-3 раза. Количество микроорганизмов, усваивающих минеральный азот, достигло контрольного уровня при концентрации керосина от 0,002 до 1 г/кг. Продолжился процесс снижения числа актиномицетов. В вариантах с содержанием керосина от 1 г/кг актиномицеты не обнаружены. Отмечено повышение содержания микромицетов, особенно в образцах с более низким содержанием керосина, однако ни в одном из вариантов их количество не достигло исходного уровня. Произошло также некоторое повышение числа спорных микроорганизмов по сравнению с 30-дневным периодом.

В биохимической диагностике почв большое значение имеет определение почвенного дыхания как интегрального показателя работы всей биоты. Интенсивность выделения углекислоты дает достоверную информацию о напряженности микробально-биохимических процессов, о направленности трансформации органического вещества, а также позволяет судить о самоочищающей способности антропогенно нарушенных почв

[6, 7].

Как видно из рисунка 1, в горных бурых пустынных почвах через 30 и 90 суток после обработки ракетным керосином Т-1 интенсивность дыхания находилась в пределах от 365 до 550 мг $\text{CO}_2/\text{м}^2/\text{ч}$. Наибольшее дыхание почвы отмечено в контроле и в варианте с содержанием керосина 0,002 г/кг. Меньшее значение дыхания выявлено в образцах почвы, содержащих керосин в количествах 5-15 г/кг.

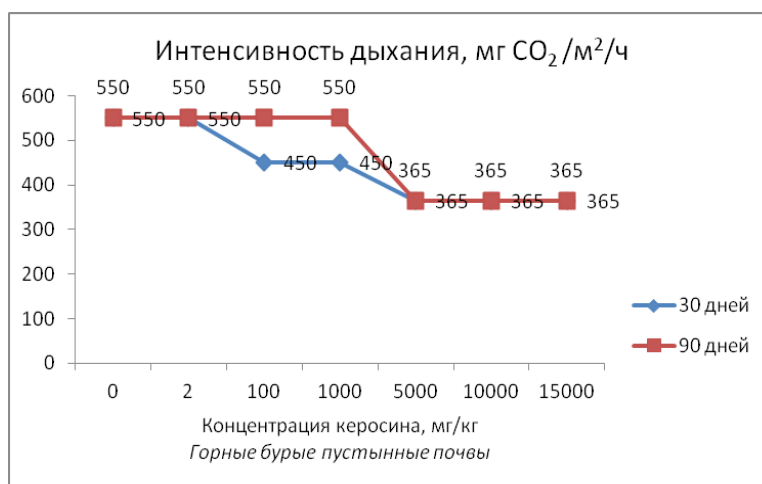


Рисунок 1 - Интенсивность дыхания в горных бурых пустынных почвах

В бурых полупустынных почвах интенсивность дыхания почвы через 30 суток после обработки керосином также находилась в пределах от 365 до 550 мг $\text{CO}_2/\text{м}^2/\text{ч}$ (рис. 2). Наибольшее дыхание почвы отмечено в контроле, минимальное – в образце почвы, содержащем керосин в количестве 15 г/кг [6]. Через 90 суток после обработки керосином наибольшее дыхание почвы отмечено в контроле и в вариантах с содержанием керосина от 0,002 до 1 г/кг, минимальное – в образцах почвы, содержащих керосин в количествах 5-15 г/кг [8].

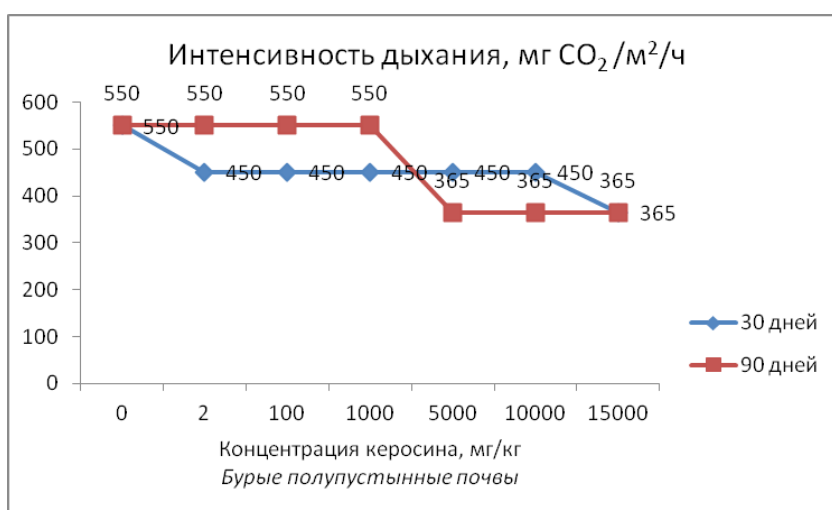


Рисунок 2 - Интенсивность дыхания в бурых полупустынных почвах

Таким образом, керосин, внесенный в почву в различных концентрациях, оказывает влияние на почвенную микрофлору и дыхание почвы. Установлено, что более токсическое действие оказывает керосин в концентрации 5-15 г/кг почвы. Характер изменения количественного и качественного состава микрофлоры почвы зависит также от почвы.

Фитотестирование как метод оценки почв используется издавна для определения качества семян, плодородия почв сельхозугодий, в биомедицинских исследованиях и относительно недавно в природоохранной сфере для оценки экологического качества природных сред (вод, почв) [9].

Нами были изучены фитотоксичность образцов почв. Как видно из таблицы 2, в горной бурой пустынной почве, использованной для посевов семян через 30 суток после обработки керосином, всходы появились в контроле и в вариантах с содержанием керосина от 0,002 до 1 г/кг. При этом наибольшая длина проростка и корня установлена в варианте с концентрацией керосина 0,1 г/кг (16,8 и 6,3 см, соответственно, по сравнению с 13,4 и 1,7 см в контроле) [7].

В этой же почве через 90 суток после контакта с керосином во всех вариантах проросло 60% семян, при этом наибольшая длина проростка установлена в контрольном варианте – 13,4 см, в остальных вариантах она находилась в пределах от 11,2 до 12 см. Длина корня больше в почвах, обработанных более высокими концентрациями керосина.

Таблица 2 - Прораствание семян редиса в горных бурых пустынных почвах

Варианты опыта	Всхожесть, %		Длина проростка, см		Длина корня, см	
	Продолжительность контакта					
	30 сут	90 сут	30 сут	90 сут	30 сут	90 сут
Контроль (почва без керосина)	60	60	13,4	13,4	1,7	1,7
Почва + 0,002 г/кг керосина	60	60	6,0	12,0	2,2	1,8
Почва+0,1 г/кг керосина	60	60	16,8	11,5	6,3	1,9
Почва +1 г/кг керосина	30	60	15,8	11,3	1,0	3,6
Почва+5 г/кг керосина	0	60	0	11,2	0	3,0

Почва +10 г/кг керосина	0	60	0	11,3	0	3,0
Почва+15 г/кг керосина	0	60	0	11,6	0	2,3

В бурой полупустынной почве, использованной для посадки семян редиса через 30 суток после ее обработки керосином, взошло 60% семян в контроле и в варианте, обработанном керосином в концентрации 0,002 г/кг (табл. 3). При этом по длине проростков и корней варианты почти не отличались. В почве, засеянной через 90 суток после обработки керосином, проростки взошли во всех вариантах опыта. Однако по 60% семян взошло в контроле и в варианте с концентрацией керосина 0,002 г/кг. По длине проростков и корней варианты отличались мало (12,5 и 1,5 см, соответственно, в сравнении с 12,4 и 1,4 см).

В варианте со 0,1 г керосина/кг почвы взошло 40% семян, в остальных – по 20%. Все всходы имели длину проростков от 1,1 (вариант с концентрацией керосина 15 г/кг) до 2,3 см; корней – от 0,3 до 0,4 см, что значительно ниже контроля.

Таблица 3 - Проращивание семян редиса в бурых полупустынных почвах

Варианты опыта	Всхожесть, %		Длина проростка, см		Длина корня, см	
	Продолжительность контакта					
	30 сут	90 сут	30 сут	90 сут	30 сут	90 сут
Контроль (почва без керосина)	60	60	12,5	12,5	1,5	1,5
Почва + 0,002 г/кг керосина	60	60	12,1	12,3	1,5	1,4
Почва+0,1 г/кг керосина	0	40	0	2,3	0	0,4
Почва +1 г/кг керосина	0	20	0	2,2	0	0,4
Почва+5 г/кг керосина	0	20	0	2,0	0	0,4
Почва +10 г/кг керосина	0	20	0	1,1	0	0,3
Почва+15 г/кг керосина	0	20	0	1,1	0	0,3

Таким образом, экспериментальные микробиологические исследования почвы под воздействием керосина показали, что керосин, внесенный в почву в различных концентрациях, оказывает влияние на состав почвенной микрофлоры и дыхание почвы. Токсическое действие керосина проявляется при концентрациях от 5 г/кг почвы.

Интенсивность дыхания горных бурых пустынных и бурых полупустынных почв находилась в пределах от 365 до 550 мг СО₂/м² ч. Наименьшее дыхание отмечено в образцах, содержащих керосин от 5 г/кг.

Из исследованных образцов почв наибольшей фитотоксичностью после обработки керосином обладают бурые полупустынные почвы (концентрация керосина от 0,1 г/кг) и горные бурые пустынные почвы (концентрация от 5 г/кг). Модельный почвенный эталон оказался менее фитотоксичным. Через 90 суток после обработки керосином фитотоксичность во всех образцах почв снижается, однако всходы редиса на опытных почвах в большинстве случаев не достигают размеров контрольных вариантов.

ЛИТЕРАТУРА

1 Временные методические рекомендации по контролю загрязнения почв / Под ред. Г.С. Малахова. – М.: Гидрометеиздат, 1984. – Ч.2. – 61 с.

1 Биккина А.Г., Логинов О.Н., Силищев Н.Н. и др. Повышение эффективности процесса биоремедиации отработанной отбеливающей земли, загрязненной углеводородами при совместном использовании биопрепаратов Ленойл и Азолен // Биотехнология. – 2006. – № 5. – С. 57–62.

3 Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

4 Практикум по микробиологии / Под. ред. А.Н. Нетрусова. – М.: Academia, 2005. – 608 с.

5 Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Учеб. пособие / Под ред. Н.С. Егорова. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.

1 Галстян А.Ш. Дыхание почвы как один из показателей ее биологической активности // Сообщения лаборатории агрохимии АН АрмССР. – 1961. – №4. – С. 33–34.

2 Гельцер Ю.Г. Биологическая диагностика почв. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – 79 с.

3 Определитель бактерий Берджи: В 2-х т. / Под ред. Дж.Хоулга, Н. Крига, П.Смита, С.Ульямса. – М.: Мир, 1997. – 432 с.

4 Лисовицкая О.В., Терехова В.А. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения // Доклады по экологическому почвоведению. – 2010. – №1. – Вып.13. – С.1–18.

REFERENCES

1 *Vremennye metodicheskie rekomendacii po kontrolju zagrjaznenija pochv*. Pod red. G.S. Malahova. M.: Gidrometeoizdat, 1984, Ch.2, 61. (in Russ.).

2 Bikkinina A.G., Loginov O.N., Silishhev N.N. i dr. Povyshenie jeffektivnosti processa

bioremediacii otrabotannoj otbelivajushhej zemli, zagrjaznennoj uglevodorodami pri sovmestnom ispol'zovanii biopreparatov Lenojl i Azolen. *Biotehnologija*. **2006**, № 5, 57–62. (in Russ.).

3 Zvjaginev D.G. *Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii*. M.: Izd-vo MGU, **1991**, 304. (in Russ.).

4 *Praktikum po mikrobiologii*. Pod red. A.N. Netrusova. M.: Academia, **2005**, 608. (in Russ.).

5 *Rukovodstvo k prakticheskim zanjatijam po mikrobiologii*: Ucheb. Posobie. Pod red. N.S. Egorova. 3-e izd., pererab. i dop. M.: Izd-vo MGU, **1995**, 224. (in Russ.).

6 Galstjan A.Sh. Dyhanie pochvy kak odin iz pokazatelej ee biologicheskoj aktivnosti. *Soobshhenija laboratorii agrohimii AN ArmSSR*, **1961**, №4, 33–34. (in Russ.).

7 Gel'cer Ju.G. *Biologicheskaja diagnostika pochv*. M.: Izd-vo MGU, 1986, 79. (in Russ.).

8 *Opredelitel' bakterij Berdzhii*: V 2-h t. Pod red. Dzh.Houlga, N.Kriga, P.Smita, S.Ul'jamsa. M.: Mir, **1997**, 432. (in Russ.).

9 Lisovickaja O.V., Terehova V.A. Fitotestirovanie: osnovnye podhody, problemy laboratornogo metoda i sovremennye reshenija. *Doklady po jekologicheskomu pochvovedeniju*, **2010**, №1, Vyp.13, 1–18. (in Russ.).

Резюме

Ж.Қ. Жұбатов¹, Ш.С. Бисариева¹, Г.Қ. Қабылова¹, Е.А. Бекешев¹, И.А. Ратникова²

(¹ ҚР ҰҒА «Ғарыш-Экология» Ғылыми-зерттеу орталығы» РМК, Алматы қ.)

(²ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы қ.)

КӨМІРСУТЕКТІ ЗЫМЫРАН ОТЫНЫ – Т-1 КЕРОСИНІНІҢ ӘСЕРІНЕ ҰШЫРАҒАН ТОПЫРАҚТАРДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛДЫ МИКРОБИОЛОГИЯЛЫҚ ЗЕРТТЕУ

Көмірсутекті зымыран отыны – Т-1 керосинімен жасалған эксперименталды микробиологиялық зерттеудің нәтижесінде, топыраққа әртүрлі концентрацияда енгізілген керосиннің топырақ микрофлорасы мен оның тыныс алуына әсер ететіні анықталды. Керосиннің топыраққа уытты әсері 5 г/кг концентрациясы мөлшерінде енгізілгенде байқалады.

Кілт сөздер: көмірсутекті зымыран отыны, Т-1 керосині, топырақ, микроорганизмдер.

Summary

Zh. K. Zhubatov¹, Sh.S. Bissariyeva¹, G.Kh. Kabulova¹, E.A. Bekeshev¹, I.A. Ratnikova²

¹ «Research center of «Space-Ecology» JSC of the NSA PK, Almaty

²«Institute of microbiology and virology» JSC of the CS MES RK, Almaty)

EXPERIMENTAL MICROBIOLOGICAL RESEARCHES OF SOIL UNDER ACT OF HYDROCARBON

ROCKET FUEL – KEROSENE T-1

Experimental microbiological studies of the soil under the influence of hydro carbonic rocket fuel - T-1 kerosene showed that the kerosene brought in the soil in various concentrations, has impact on structure of soil microflora and soil breath. The toxic effect of kerosene is shown at concentrations from 5 g/kg of the soil.

Keywords: hydro carbonic rocket fuel, kerosene T-1, soil, microorganisms.

Поступила 30.04.2013 г.