

УДК 631.95:631.461:579.841.11

РОЛЬ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ПРИ ОЧИСТКЕ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЛУГОВО-АЛЛЮВИАЛЬНЫХ ПОЧВ

Абдрахманов Т. А. – к. с.-х. н., доцент, проректор

Жаббаров З. А. – аспирант

Вахабов А. Х. – д. б. н., профессор

Национальный университет Узбекистана

Мавлянова М. И. – к. б. н.

Институт микробиологии АНРУз

г. Ташкент

Изучена микрофлора почвы, отобранная на различном расстоянии от нефтяной скважины месторождения "Мингбулак". Выявлено, что численность гетеротрофных бактерий увеличивается по мере удаления от скважины.

The soil microflora, taken from different distance of petroleum deposit Mingbulak has been studied. It is revealed that amount (cfi) of heterotrophic bacteria increases as more as far it is taken from the deposit.

Нефть и нефтепродукты относятся к наиболее распространенным загрязнителям биосферы. Проблема очистки окружающей среды от нефтяных загрязнений приобретает все большую остроту в связи с ограниченностью возможностей (а иногда и экологического вреда) применения для этих целей механических и физико-химических способов очистки.

В связи с этим в последнее время все больше внимание экологов привлекает биологический метод очистки от нефтяных загрязнений. Метод основан на применении микроорганизмов, способных использовать углеводороды нефти в качестве единственного источника углерода. Это дает

возможность удалить нефть до фоновых значений при низких эксплуатационных затратах и простоте решения [1–5].

Среди мер, предпринимаемых с целью очистки окружающей среды от загрязнений, важное место занимает интенсификация микробиологических способов деструкции нефти. При этом предполагается активизация не только аборигенной микрофлоры загрязненных объектов, но и внесение биопрепаратов, содержащих штаммы активных нефтедеструкторов.

Целью исследований является изучение гетеротрофной микрофлоры лугово-аллювиальной почвы вокруг Мингбулакского нефтяного месторождения (Узбекистан), выделение активных углеводородокисляющих бактерий. Для лабораторных анализов пробы почвы отбирали в течение всего сезона года в зоне 200, 1500, 5000, 8000, 12000, 20000 метров от нефтяной скважины. Количество бактерий определяли методом предельных разведений с последующим высевом на мясопептонный агар, для углеводородокисляющих бактерий (УОБ) – на жидкую среду Раймонда с 1 %-ной нефтью [6–8]. При посеве почвы на МПА выявили, что количество гетеротрофных бактерий по сезонам года изменялось мало. Так, в почве, отдаленной от скважины на 200 м, их численность в течение года не превышала 4×10^5 кл/г, в остальных образцах (1500, 5000, 8000, 20000 м) достигала $4 \times 10^6 - 6 \times 10^6$ кл/г. Количество УОБ не превышало 10^3 кл/г, что значительно ниже экологического уровня.

В процессе работы выделили 25 монокультур бактерий, способных расти на средах, содержащих нефть в качестве единственного источника углерода. Культивирование бактерий проводили в 0,5-литровых колбах с жидкой средой Раймонда с 1 %-ной нефтью в начальных условиях (180 об/мин.) при температуре 28–30 °С. Из колб, где наблюдалось активное разрушение нефтяной пленки в течение 3–5 дней, выделили наиболее активные штаммы бактерий, которые были определены до вида, в основном

представители родов *Pseudomonas* и *Bacillus*. В виде ассоциации бактерии вносили в почву, загрязненную нефтью. Опыты с загрязненной почвой проводили в сосудах, куда вносили по 10 кг земли, навоз из расчета 20 кг/га и минеральные удобрения $N_{120-140}$, P_{80-100} , K_{30-40} . Для изучения фитомеридиационных свойств использовали хлопчатник сорта "Наманган-77", пшеницу, кунжут, клевер. Хорошо известно, что ризосферная деградация является одним из механизмов фитомеридиации. При этом микроорганизмы участвуют в непосредственной деградации загрязнителя, происходит снижение фитотоксичности загрязнителя, наблюдается стимуляция роста растений [9].

Все изученные растения оказались устойчивыми к нефтяному загрязнению. Некоторая задержка роста наблюдалась у хлопчатника.

Таблица – Изменение количества углеводородокисляющих бактерий в ризосфере растений, культивируемых в почве, загрязненной нефтью

Отдаленность от скважины, м	Варианты опытов	Количество бактерий кл/г месяц				
		Исходное количество УОБ	Количество внесенных УОБ	Через 2 месяца	Через 4 месяца	Через 6 месяцев
200	Почва+контроль	$1,1 \times 10^3$	-	$1,2 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	6×10^3
	Почва+УОБ	$1,1 \times 10^3$	10^6	$1,2 \times 10^4$	$1,2 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$
	Почва+УОБ+Хлопчатник	$1,1 \times 10^3$	10^6	$1,3 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	2×10^5
	Почва+УОБ+Пшеница	$1,1 \times 10^3$	10^6	$1,4 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$
	Почва+УОБ+Кунжут	$1,1 \times 10^3$	10^6	$1,5 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$
	Почва+УОБ+Клевер	$1,1 \times 10^3$	10^6	$1,5 \times 10^6$	$2,3 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$
1500	Почва+контроль	$1,4 \times 10^3$	-	$1,5 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$
	Почва+УОБ	$1,4 \times 10^3$	10^6	$1,5 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$1,8 \times 10^4$
	Почва+УОБ+Хлопчатник	$1,4 \times 10^3$	10^6	$1,5 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$
	Почва+УОБ+Пшеница	$1,4 \times 10^3$	10^6	$1,6 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5$
	Почва+УОБ+Кунжут	$1,4 \times 10^3$	10^6	$2,3 \times 10^6$	$2,8 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$
	Почва+УОБ+Клевер	$1,4 \times 10^3$	10^6	$2,0 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$

Наилучшее развитие наблюдалось у кунжута, как в сильно загрязненной почве (200 м от скважины), так и в слаботоксичной (1500 м). Вне-

сенные в почву углеводородокисляющие бактерии оказались конкурентоспособными по отношению к аборигенной микрофлоре, они интенсивно заселяли зону ризосферы растений, численность бактерий достигала фоновых значений. Определение общего количества микроорганизмов в почве, проведенное в конце вегетации растений, показало их значительное увеличение по сравнению с исходной численностью, а также снижение в почве концентрации углеводородов нефти с 140 г/кг до 120 г/кг за 6 месяцев.

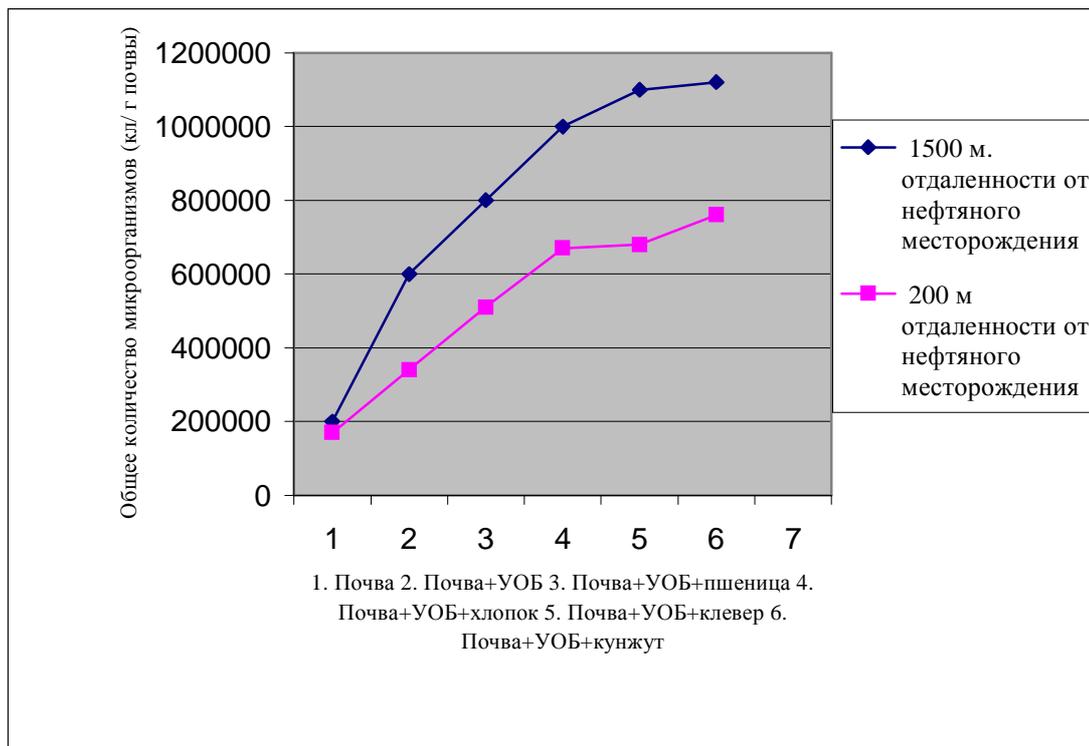


Рисунок – Общее количество микроорганизмов в лугово-аллювиальной почве, загрязненной нефтью

Проведенные исследования положили начало созданию коллекции бактериальных культур – активных деструкторов нефти, перспективных для биомеридиации почв. Цель настоящих исследований заключается в нахождении способа биологической очистки почв, загрязненных углеводородами нефти. В настоящее время выделено несколько штаммов углеводородокисляющих бактерий. Следующий этап наших исследований – выявление растений, обладающих высокими фитомеридиационными свойствами,

а также соответствующих климатическим условиям почвы данного региона; далее применение обоих этих методов для ускорения биологического возрождения почв и улучшения орошаемых плодородных земель.

Список литературы

1. Выбор активного микроорганизма-деструктора углеводов для очистки нефтезагрязненных почв / Е. В. Сжабменов [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – Т. 31. – 1995. – № 5. – С. 534–539.
2. Абдрахмонов, Т. А. Влияние загрязнений почвы нефтью и нефтепродуктами на ее микрофлору / Т. А. Абдрахмонов, З. А. Жаббаров, Э. М. Хушвактов // Материалы IV съезда почвоведов и агрохимиков Узбекистана. – Ташкент, 2005. – С. 208–209.
3. Ботоер, М. Микробные сообщества в мерзлотных почвах Сибири / М. Ботоер // Тез. докл. II межвуз. конф. Сыктывкар, 1997 г. – Сыктывкар, 1997. – С. 54–55.
4. Stewart, R. S. Distribution of multiple oil tolerant and oil degrading bacteria around a site of natural erude oil seepage / R. S. Stewart // *Tex. J. Sei.* – 1997. – 49. – № 4.
5. Селибера, Л. Большой практикум по микробиологии / Л. Селибера. – М., 1962. – С. 490.
6. Соловлев, В. И. Вода и здоровье : сб. науч. ст. / В. И. Соловлев, В. А. Пушкина, Г. Л. Кожанова, Т. В. Гудзенко. – Одесса : ОЦНТЭИ, 2001. – С. 195–200.
7. Коронелли, Т. В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде / Т. В. Коронелли // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – Вып. 32. – № 6. – С. 579–585.
8. Марченко, А. И. Ризосферная ремедиация почв от загрязнения нефтепродуктами / А. И. Марченко [и др.] // II Московский межд. конгресс "Биотехнологии: состояние и перспективы развития". – 2004. – С. 19–20.
9. Логинова, О. Н. Эффективные микроорганизмы-нефтедеструкторы для биологической рекультивации почв / О. Н. Логинова // I межд.