

УДК 631.432.3

ВОДОПРОНИЦАЕМОСТЬ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ГРУНТА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ШТАММОВ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

© 2013 А.И. Фахрутдинов, Т.Д. Ямпольская

Сургутский государственный университет ХМАО-Югры

Поступила в редакцию 17.05.2013

Проведены лабораторные исследования по определению взаимосвязи водопроницаемости загрязненного нефтепродуктами грунта с изменением численности микроорганизмов на фоне внесения штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов. Установлено повышение водопроницаемости на 6 неделе эксперимента вне зависимости от уровня и характера углеводородного загрязнения. Наибольший эффект оптимизации нарушенного микробоценоза достигнута при совместном применении штаммов *Pseudomonas monteilli* №1 BKM B2681D и *Kocoria sp.* BKM Ac-2606D.

Ключевые слова: водопроницаемость, грунт, загрязнение, нефтепродукты, штаммы, углеводородокисляющие микроорганизмы

Водопроницаемость (ВП) почв – способность почв и грунтов впитывать и пропускать через себя воду, поступающую с поверхности. ВП почв находится в тесной зависимости от их гранулометрического состава и химических свойств почв, их структурного состояния, плотности, порозности, влажности и длительности увлажнения [1]. Воздействие нефти приводит к разрушению структуры почвы, к ее уплотнению и изменению водно-воздушного режима. Увеличивается фактор дисперсности, а фактор структурности и степень агрегатности соответственно уменьшаются. Наблюдается значительное снижение коэффициента фильтрации, что свидетельствует об изменении гидростатических условий и нарушении взаимосвязи почва – растение – вода [2].

Цель исследований: выяснение взаимосвязи ВП грунта загрязненного нефтепродуктами с изменением состояния микробоценоза.

Для достижения обозначенной цели был заложен лабораторный эксперимент по определению ВП загрязненной углеводородами почвы при применении углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ). Использованный грунт представляет собой смешанный образец горизонтов А и В, дерново-подзолистого почвенного профиля, отобранной в Сургутском районе. Объем грунта 1 кг загрузился в емкость с двойным дном, из которого в последующем отбиралась проросчившаяся

вода. Вода в объеме 100 мл подавалась сверху через трубку диаметром 3,5 см, и засекалось время полного поглощения грунтом. В качестве углеводородного загрязнителя использовались: сырая товарная нефть (Н), нефтешлам (НШ) и бензин марки АИ-92 (Б). В качестве УОМ использовались выделенные из нефтезагрязненных почв микроорганизмы: *Pseudomonas monteilli* №1 BKM B2681D, *Kocoria sp.* BKM Ac-2606D с титром $3,6-4,1 \times 10^9$ кл/мл.

Эксперимент заложен из шести блоков: Контроль; Н10 (нефть товарная 10 мл/кг); Н30 (нефть товарная 30 мл/кг); НШ20 (нефтешлам 20 мл/кг); НШ40 (нефтешлам 40 мл/кг); Б20 (бензин 10 мл/кг). Каждый блок состоит из следующих вариантов: контроль; внесение *Pseudomonas monteilli* (А); внесение *Kocoria sp.* (Б); внесение А+Б. Продолжительность опыта составила 16 недель при комнатной температуре. Определяли следующие параметры: ВП [3]; в грунте и в сточной воде определялось общее микробное число (ОМЧ) на среде МПА, количество УОМ на среде Кинг [4]. Содержание углеводов в образцах проводился методом ИК-спектроскопии согласно ПНД Ф 16.1:2.2.22 – 98.

ВП универсальным и объективным показателем физиологических и химических свойств почвы. Поступление различных углеводородных загрязнителей в существенной мере изменяет основные режимы почв. На рис. 1 отображается все разнообразие изменения ВП в зависимости от характера внесённого поллютанта. В контрольных вариантах (без использования УОМ) значимые изменения проявились после 4 недели эксперимента. Наблюдался резкий скачок ВП в

Фахрутдинов Айвар Инталович, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии. E-mail: fahrutdinov_a_i@mail.ru

Ямпольская Татьяна Даниловна, кандидат биологических наук, доцент. E-mail: yampolska0105@mail.ru

вариантах с бензином марки АИ 92 на протяжении 2 недель с последующим снижением данного показателя. Причиной этого является разрушение легкими углеводородами бензина почвенно-поглощающих комплексов, увеличение межагрегатного пространства. Снижение ВП на 8 неделе в данном варианте, очевидно, вызвано влиянием углеводородов бензина на минеральную часть почвы. В последующем (9 неделя эксперимента) выявлен рост ВП в вариантах

контроля и бензина, что вызвано стабилизацией физиологических, химических и биологических процессов в образцах. К концу эксперимента (15-16 неделя) наблюдалось увеличение ВП во всех вариантах, наиболее значимое выявлено в варианте Н10. Это свидетельствует о необходимости большего промежутка времени для стабилизации основных параметров почвы при углеводородном загрязнении.

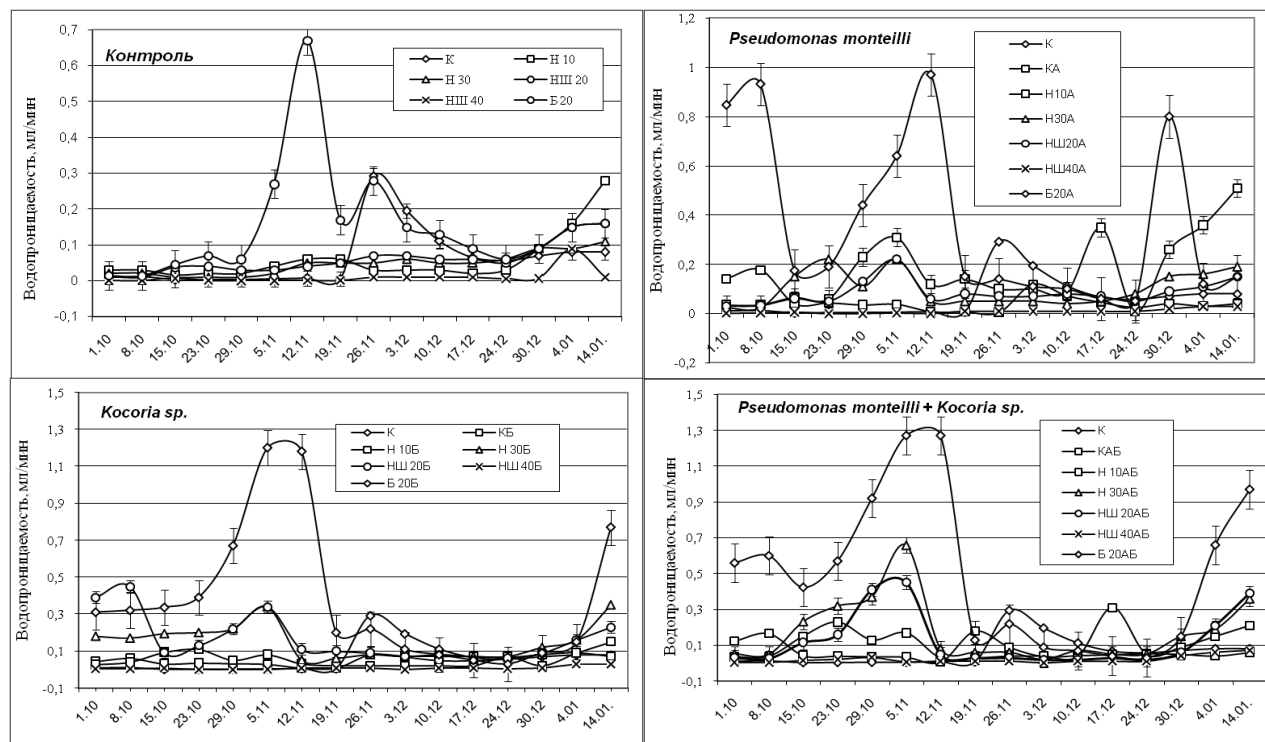


Рис. 1. Динамика изменения ВП в различных вариантах эксперимента

Применение штамма *Pseudomonas montelli* обеспечило высокие стартовые показатели в варианте с бензином с резким его падением. В дальнейшем постоянное поступательное увеличение ВП с резким падением на этапе 7-8 неделя, что обусловлено активной жизнедеятельностью внесенных УОМ, формированием новой коллоидной системы в почве с её последующим разрушением по причине отсутствия доступного энергетического питания. Обращает на себя внимание увеличение ВП во всех вариантах через 6 недель эксперимента. Очевидно, внесенным микроорганизмам необходим 5-6 недельный промежуток времени для адаптации к токсичному действию различных углеводородов. Вероятно, это вызвано скачкообразной оптимизацией аборигенной микрофлоры грунта.

Иная картина складывается при применении *Kocoria sp.* На протяжении первых 4 недель идет адаптация микроорганизмов к измененной углеводородами среде, далее следует активное увеличение ВП. Очевидно, это вызвано выносом из нефтезагрязненного грунта, как почвенных

коллоидов, так и УОМ с дальнейшей стабилизацией режимов почвы, о чем свидетельствует резкое снижение ВП на 8-9 неделе эксперимента. Дальнейшее протекание эксперимента в данном варианте показывает стабильный уровень, схожий с контролем. На завершающем этапе эксперимента наблюдали рост ВП, что также связано с активизацией аборигенной микрофлоры почвы.

Совместное внесение штаммов *Pseudomonas montelli* и *Kocoria sp.* вызвало стабильный рост ВП период 2-6 недели. Это говорит об активной трансформации углеводородов во всех вариантах загрязнения. Последующее снижение ВП обусловлено активизацией внесенной и аборигенной микрофлоры, которая начала активно поглощать поступившую влагу для своего роста и развития. Последующее изменение наблюдалось к окончанию эксперимента. В целом необходимо отметить, что поступление поллютантов изменяет все режимы почвы. При этом выявлена более быстрая стабилизация ВП при испытании разных углеводородокисляющих микроорганизмов (*Pseudomonas montelli* и *Kocoria sp.*).

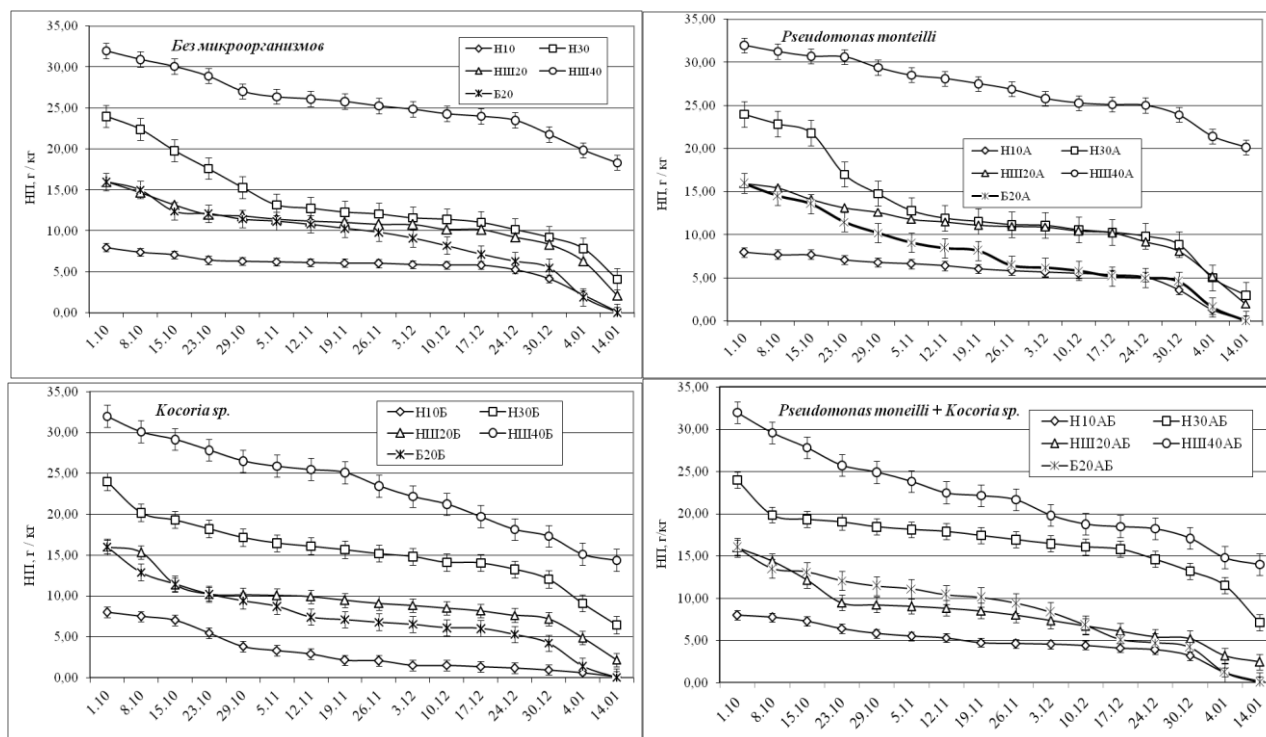


Рис. 2. Изменение содержания остаточных углеводов

Изменения содержания остаточных углеводов в разных вариантах протекают по-разному с общей тенденцией снижения в конце эксперимента (рис. 2). Вариант с нефтешламом показал самое низкое снижение из-за наличия тяжелых углеводов типа битум, асфальтен, парафин и др. В вариантах с остальными загрязнителями существенное изменение обнаружива-

ется в конце эксперимента (14-16 неделя), что обеспечивается стабилизацией основных параметров физиологических химических свойств загрязненного грунта. В других вариантах значимой динамики не выявлено. В вариантах с использованием *Pseudomonas monteilli* и *Kocoria sp.* наблюдаем плавное снижение содержания поллютантов.

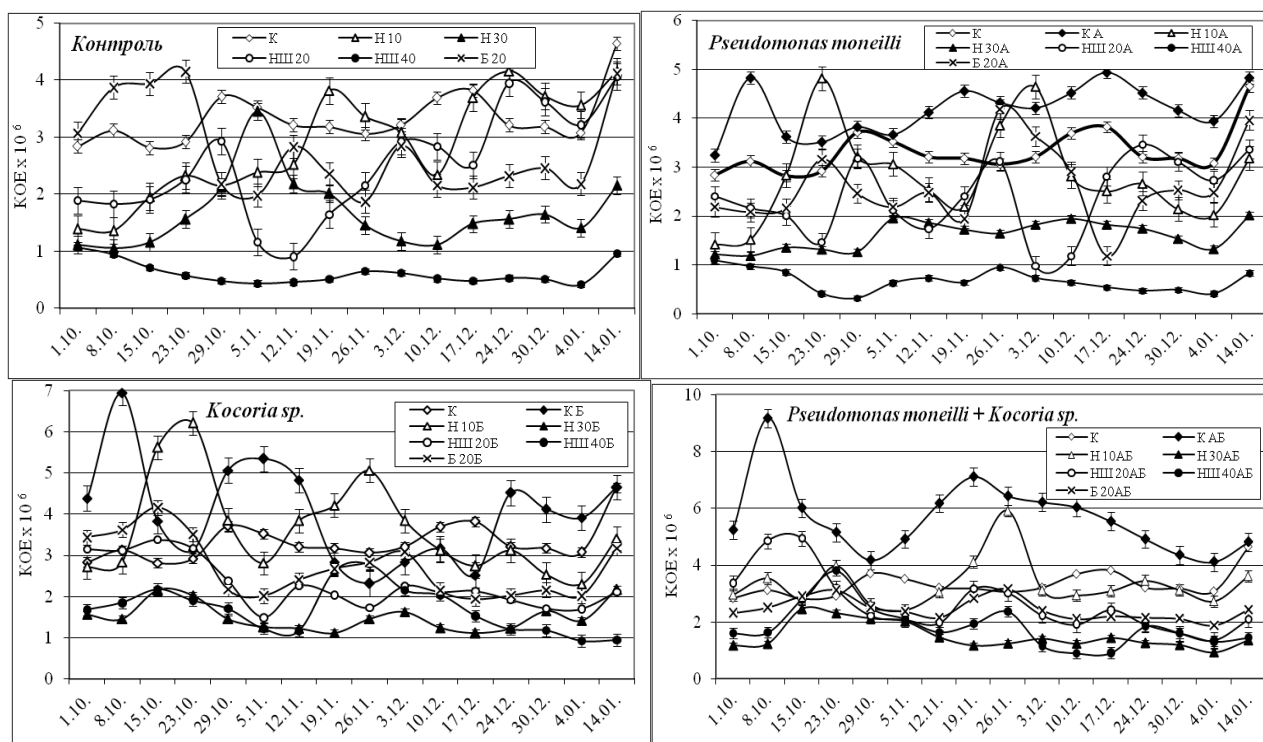


Рис. 3. Общее микробное число в грунте различных вариантах эксперимента

Реакция микрофлоры на поступление различных углеводов в грунт характеризуется повышением численности первые 2-5 недель, что вызвано включением в энергетические и пластические процессы доступных углеводов (рис. 3). Через 5 недель наблюдается спад численности его стабилизация и подъем к окончанию эксперимента. Во всех случаях ОМЧ на несколько порядков выше, чем в контроле. Внесение *Pseudomonas monteilli* вызвало разнохарактерную реакцию всего разнообразия микроорганизмов почвы. Это обусловлено, как изменением токсичного действия поллютантов, внесенных в различных концентрациях, так и ответной реакцией всего пула микроорганизмов. Влияние *Kocoria sp.* на общую численность определило более стабильную реакцию микробоценоза, за исключением вариантов контроля и 10% загрязнения нефтью. Это определено поступлением поверхностно активных веществ, выделяемых

данным штаммом, которое в сочетании с углеводородами нефтепродуктов благоприятно сказалось на условиях жизнедеятельности всего микробного сообщества в данных вариантах.

Совместное внесение представленных УОМ определило картину, противоположную с предыдущей, где наибольшая численность микроорганизмов выявлена в варианте контроля и 10% внесения нефти. Общая численность микроорганизмов в вымытой воде определена характером и уровнем внесенных углеводов, что наблюдается на рис. 4. Увеличение численности во всех вариантах наблюдается на 5-6 неделе, за которым следует незначительное снижение и последовательный активный рост. Наибольшая численность отмечена в варианте с Н10. Это свидетельствует, что подобный уровень загрязнения для используемой слабо плодородной почвы выступает как активатор пула микроорганизмов.

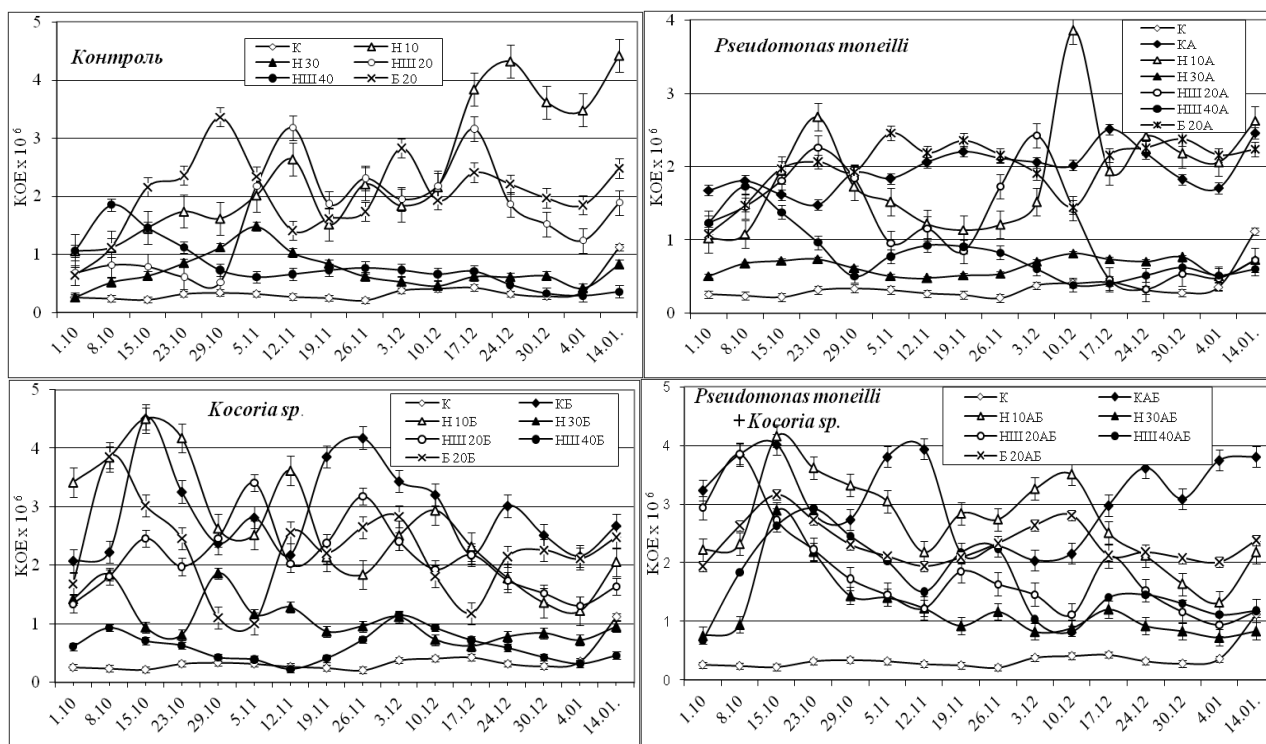


Рис. 4. Общее микробное число в вымытой воде в вариантах опыта

Внесение *Pseudomonas monteilli* активизировало общую численность микроорганизмов на начальном этапе эксперимента. Исключения составляют варианты с высоким уровнем или тяжелыми углеводородами, а именно Н30 и НШ40, в которых численность практически не изменялась на протяжении всего эксперимента, причиной этого является токсическое действие поллютантов. Внесение штамма *Kocoria sp.* так же вызвало рост численности в первые несколько недель эксперимента за исключением вариантов с

тяжелыми углеводородами с дальнейшей колебательной динамикой численности. Совместное внесение УОМ показало резкий рост численности в первые 3-4 недели с последующей положительной динамикой вне зависимости от уровня и характера загрязнения. Это объясняется одновременным совместным действием *Pseudomonas monteilli* как активного деструктора углеводов с параллельной оптимизацией жизнедеятельности микробоценоза за счет поверхностно активных веществ, выделяемых *Kocoria sp.*

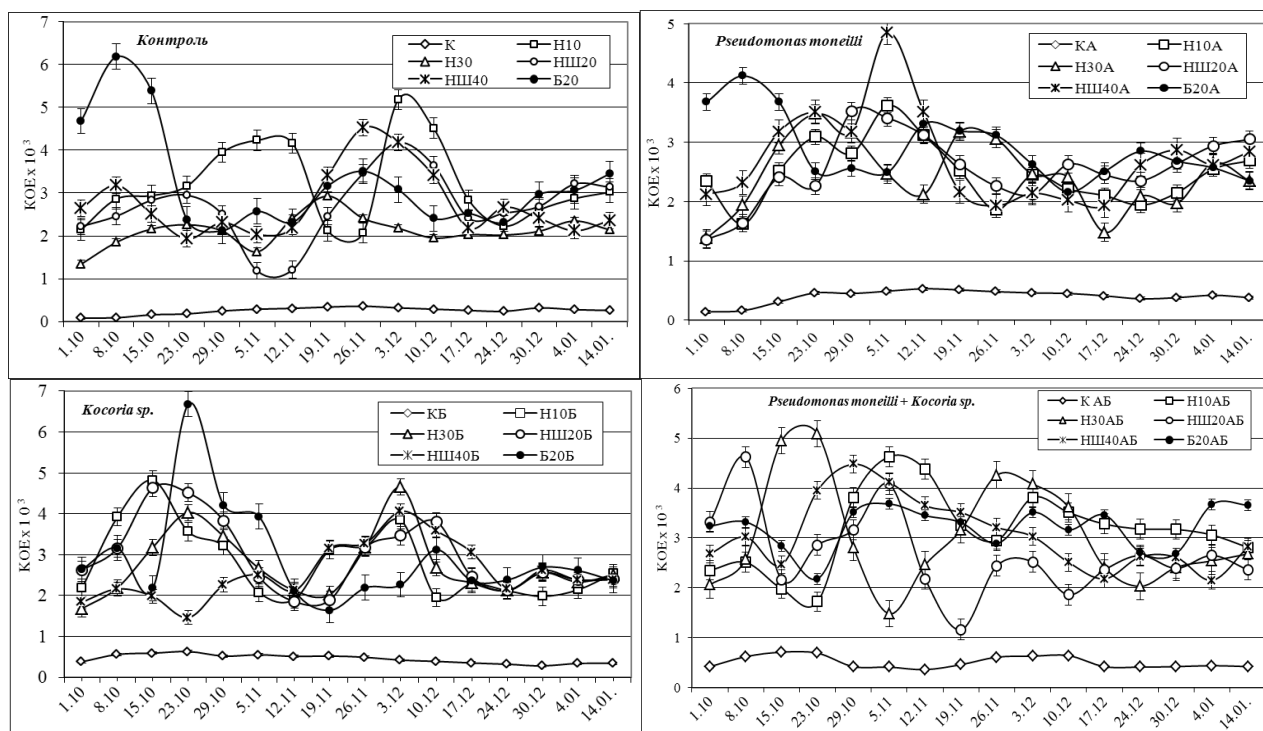


Рис. 5. Изменение численности УОМ в грунте вариантов эксперимента

Поступление различных по характеру и роду углеводов определило динамику численности углеводородокисляющих микроорганизмов (рис. 5). Выявлено последовательное увеличение численности данной группы на протяжении всего эксперимента. Это свидетельствует о постепенной деструкции и включении в процессы жизнедеятельности сначала легких углеводов, затем тяжелых аналогов. Наиболее яркая динамика представлена с бензином и Н10, что говорит о высокой деструктивной активности легких углеводов аборигенной микрофлоры. Внесение *Pseudomonas montelli* определило высокую стартовую динамику роста численности данной группы микроорганизмов с последующими стабильными значениями. Наибольшая численность выявлена в варианте Н1140, что свидетельствует о образовании наиболее благоприятных временных физиологических условий для жизнедеятельности УОМ. Рост численности УОМ при использовании *Kocoria sp.* представлен двумя зонами роста на протяжении эксперимента: 3-5 неделя и 8-10 неделя. Это говорит о последовательном формировании благоприятных условий жизнедеятельности на фоне токсического действия поллютантов. Наибольшие значения выявлены в варианте с бензиновым загрязнением, что свидетельствует об активном формировании пула УОМ на месте ранее вымытых компонентов микробоценоза легкими углеводородами бензина. Сложна динамическая картина изменения УОМ при совместном применении штаммов *Pseudomonas montelli* и *Kocoria sp.*, которая стабилизируется к окончанию эксперимента. Это в очередной раз демонстрирует

синергетическое действие двух различных штаммов УОМ.

Численность УОМ в выдавленной воде имеет яркую и четкую выраженность в зависимости от загрязнения. Характерным является рост на 8-9 неделе, с последующей стабилизацией на уровне 2 тыс. кл/мл. Обращает на себя внимание высокая численность данной группы по отношению к контролю в 2-3 раза. Процессы изменения численности УОМ *Pseudomonas montelli* характеризуется стабильными значениями $2-3 \times 10^3$ кл/мл. При 30% нефтяном загрязнении наблюдаются два ярко выраженных пика на 3 и 8 неделе эксперимента, что свидетельствует об активной последовательной трансформации углеводов и их использования в жизнедеятельности данной группы микроорганизмов. Подобная картина, но с одним пиком наблюдается в варианте с Н1120.

Применение *Kocoria sp.* определило стабильную и положительную динамику на протяжении всего эксперимента с численностью от 1,5 до 4 кл/мл. На стартовом этапе эксперимента (1-2 недели) выявлен рост численности в варианте с бензином, что определено поступлением УОМ из разрушенного почвенного комплекса грунта. Совместное применение УОМ определило разнообразное изменение численности во всех вариантах эксперимента с четкой видимой стабилизацией на последней неделе. На наш взгляд это свидетельствует о активном течении биологических, физиологических и химических процессов в нарушенных грунтах при воздействии различных углеводов.

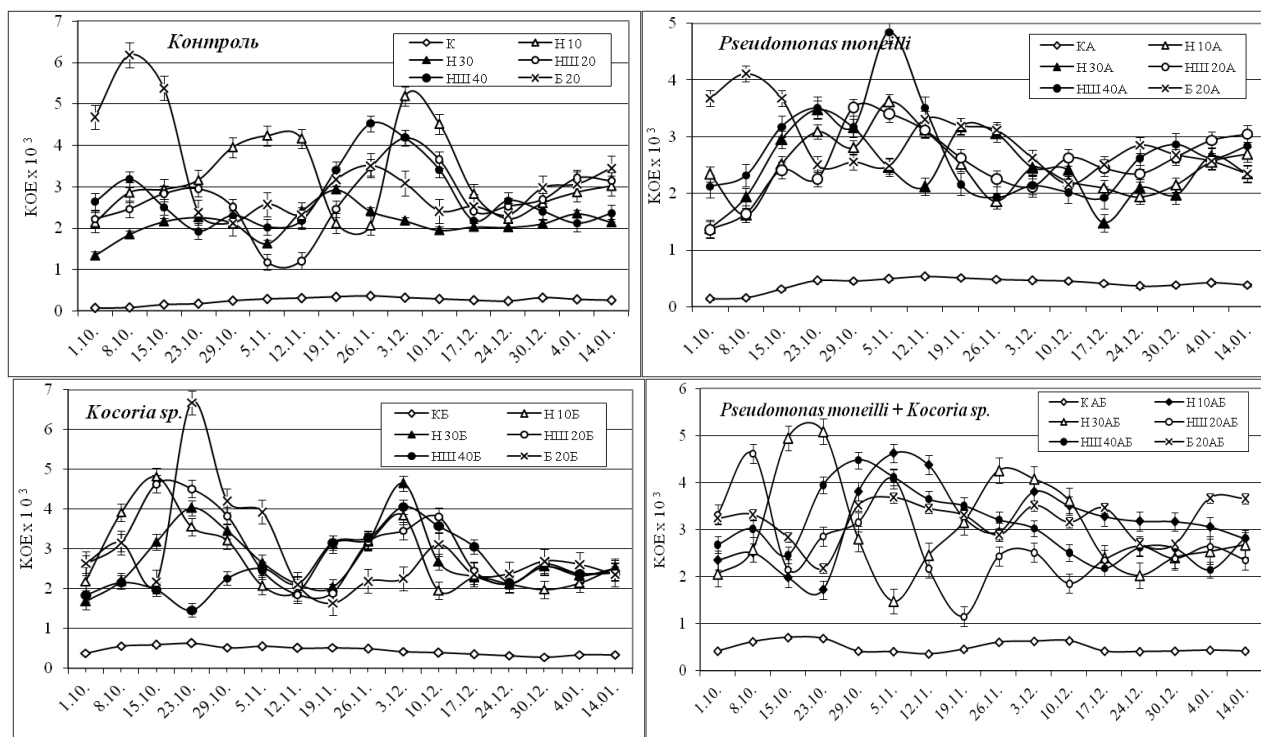


Рис. 6. Динамика численности УОМ в вымытой воде в вариантах эксперимента

Выводы: представленный материал позволяет говорить об активной взаимосвязи биологических, экологических и физических почвенных процессов. Одиночное, равно как и совместное внесение штаммов УОМ изменяет ВП на фоне снижения уровня и характера загрязнителя. Увеличение уровня загрязнения приводит к неоднократной активизации роста численности микроорганизмов разных эколого-трофических групп.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Теории и методы физики почв / под ред. Е.В. Шейна и Л.О. Карпачевского. – М.: Гриф и Ко, 2007. 616 с.
2. Илларионов, С.А. Экологические аспекты восстановления нефтезагрязненных почв. – Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 194 с.
3. Полевые и лабораторные методы исследования физических свойств почв / под ред. Е.В. Шейна. – М.: Изд-во МГУ, 2001. 200 с.
4. Звягинцев, Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учебное пособие. – М., 1991. 304 с.

WATER PENETRATION OF PETROPOLLUTED SOIL AT USING STRAINS OF HYDROCARBON OXIDIZING MICROORGANISMS

© 2013 A.I. Fakhrutdinov, T.D. Yampolskaya

Surgut State University of Khanty-Mansi autonomous okrug-Yugra

Laboratory researches on definition the interrelation of water penetration of petropolluted soil with change the number of microorganisms at the phone of introduction of strains of hydrocarbon oxidizing microorganisms are conducted. Water penetration increase on the 6-th week of experiment regardless to level and nature of hydrocarbonic pollution is established. The maximum effect of optimization the broken microbocenosis is reached at common application the strains of *Pseudomonas monteilli* №. 1 BKM B2681D and *kocoria sp.* VKM AS-2606D.

Key words: water penetration, soil, pollution, oil products, strains, hydrocarbon oxidizing microorganisms

Ayvar Fakhrutdinov, Candidate of Biology, Associate Professor at the Microbiology Department. E-mail: fakhrutdinov_a_i@mail.ru
Tatiana Yampolskaya, Candidate of Biology, Associate Professor. E-mail: yampolska0105@mail.ru