

ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА (ТОЛУОЛ) НА ПОЧВЕННУЮ МИКРОФЛОРУ

© 2015 Н.А. Ильина, Т.В.Фуфаева, Н.А. Казакова

Ульяновский государственный педагогический университет имени И.Н.Ульянова

Статья поступила в редакцию 12.05.2015

В данной статье рассматривается влияние толуола на почвенные микроорганизмы.

Ключевые слова: толуол, почвенные микроорганизмы, почвенная микрофлора.

Почвенные микроорганизмы составляют значительную часть любой экологической системы, включающей почву, и активно участвуют в ее жизнедеятельности. Почва обладает высокой буферной способностью (т.е. долгое время может не изменять своих свойств под воздействием загрязнителей). Микроорганизмы почв обладают высокой чувствительностью к антропогенному воздействию. Поэтому они являются хорошими индикаторами загрязненности окружающей среды [6].

Почвенные микроорганизмы, обладая широкой экологической приспособляемостью, выполняют громадную работу по деструкции попадающих в почву веществ, регулируя состав воздушного потока почв, содержание и доступность биогенных веществ, необходимых для роста и развития растений [3].

В настоящее время необходим серьезный контроль (мониторинг) за состоянием окружающей среды и охраной её компонентов.

Несмотря на большое количество работ, посвященных вопросу оценки воздействия химических веществ на почвы, остается неясной. Вследствие этого в ходе работы изучается действие веществ (на примере толуола) на почву.

Целью работы является изучение влияния толуола на почвенные микроорганизмы.

Практически сразу после получения толуола (выделяется в процессе перегонки древесной смолы) ученые установили, что это химическое вещество обладает не только полезными свойствами, что позволяет его использовать в различных сферах науки и химического производства, но и является сильнодействующим ядом (класс опасности – третий, т.е. токсичен для человека и пагубно влияет на организм) [2]. Загрязнение толуолом характерно для мест слива промышленных отходов и зон промышленных свалок.

Для проведения эксперимента был проведен отбор, подготовка и анализ почвы (чернозем

выщелоченный), взятых с пробных площадок паспортизированного поля.

Отбор почвы проводили в соответствии с ГОСТ 28168-89[1]. С каждых 40 га паспортизированного поля методом маршрутных ходов были отобраны на глубину пахотного слоя (до 35 см) смешанные пробы (каждая из 40 индивидуальных проб). Смешанные пробы помещали в чистые полипропиленовые мешки по 25-30 кг; мешки маркировались.

Испытания проводили в весенне-летний период в статических условиях. Почву просеивали, увлажняли, затем вносили суспензию загрязнителя, проводили объемное рыхление. После этапа «старения» почвы вносили сорбент в необходимом количестве. Сорбент вводили в почву в сухом виде, затем проводили объемное рыхление на всю глубину контейнера. После операции рыхления на поверхность почвы вносили суспензии деструктора. Загрязнитель (толуол) вносили в почву в виде суспензии.

Для изучения влияния толуола на почвенную микрофлору в почву вносили 3, 30 и 300 мг/кг толуола, что соответствовало 10, 100 и 1000 доз ПДК.

Микробиологическими исследованиями проб почвы в различные интервалы времени установлено, что внесение в почву толуола стимулировало рост и размножение гетеротрофных бактерий. Как видно из рисунка 1 на пятые сутки численность бактерий в пробах почвы с ксенобиотиком увеличивалась в 3-5 раз по сравнению с контролем, при этом выявлена зависимость размножения бактерий от дозы препарата. Особенно высокое содержание микробов (480%) отмечено в почве, содержащей максимальную концентрацию (1000 ПДК). Количественные показатели бактерий в пробах почвы, содержащей 10 и 100 ПДК толуола, численно совпадали и составляли 345% от контроля. К 30 дню содержание микробов в почве несколько снижалось, но, тем не менее, оставалось довольно высоким. Это дает основание полагать, что толуол способствовал активному размножению гетеротрофных бактерий.

Совершенно иная динамика изменения численности наблюдалась у актиномицетов. В первые дни контакта с химикатом их количество оставалось на исходном уровне, но к 30 дню про-

Ильина Наталья Анатольевна, доктор биологических наук, профессор, проректор по научной работе.

E-mail: n-ilina@mail.ru

Фуфаева Татьяна Валентиновна, аспирант кафедры зоологии. E-mail: tanya-fufaeva@yandex.ru

Казакова Наталья Анатольевна, ассистент кафедры географии. E-mail: nakaz17@mail.ru

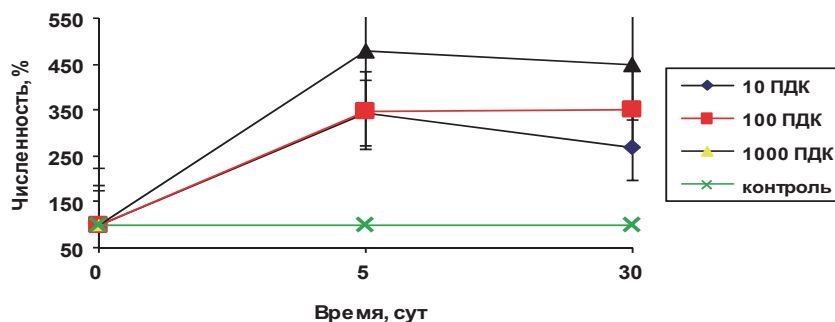


Рис. 1. Влияние различных доз толуола на численность гетеротрофных бактерий

изошло нарастание численности в условиях внесения всех трех доз ПДК. При этом интенсивное накопление актиномицетов наблюдалось при внесении повышенных доз ПДК. Влияние различных доз толуола на численность актиномицетов представлена на рис. 2.

Еще большее токсическое действие в первые дни контакта толуол оказывал на плесневые грибы, поскольку их содержание в пробах почвы снизилось на 30 – 80 %. Однако при дальнейших наблюдениях численность грибов не только восстанавливалась, но даже превысила контрольные показатели. При этом восстановление численности происходило в основном родов *Mucori Penicillium*. В пробе, содержащей 1000 ПДК, численность восстанавливалась с меньшей интенсивностью. Влияние различных доз толуола на численность плесневых грибов представлена на рис. 3.

После 8 пассажей в новую питательную среду из культуральной жидкости с накопительной

культурой производили высев на чашки Петри с элективной твердой агаризованной средой М9 + толуол и отбирали изолированные колонии. Таким образом удалось получить 6 изолятов, устойчивых к ксилону в концентрации 150 мг/л, которые были исследованы на способность к деструкции в условиях непрерывного культивирования в аэробных условиях на минеральной среде М9. Выделенные 6 штаммов бактерий были обозначены под шифрами Тл 1, Тл 2, Тл 3, Тл 4, Тл 5 и Тл 6. При микроскопическом изучении видов бактерий установлено, что это мелкие грамотрицательные палочки бактерий, образующие на агаре мелкие, блестящие, гладкие, с однородной структурой, мягкой консистенцией, светлые выпуклые колонии с ровным краем. Результаты микроскопического изучения выделенных штаммов деструкторов толуола представлены на рис. 4. Определение систематического положения отобранных штаммов проводится в соответствии с определителем бактерий Берги [4] по настоящее время.

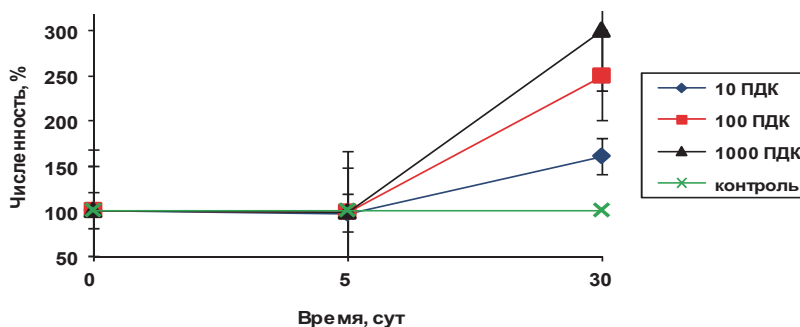


Рис. 2. Влияние различных доз толуола на численность актиномицетов

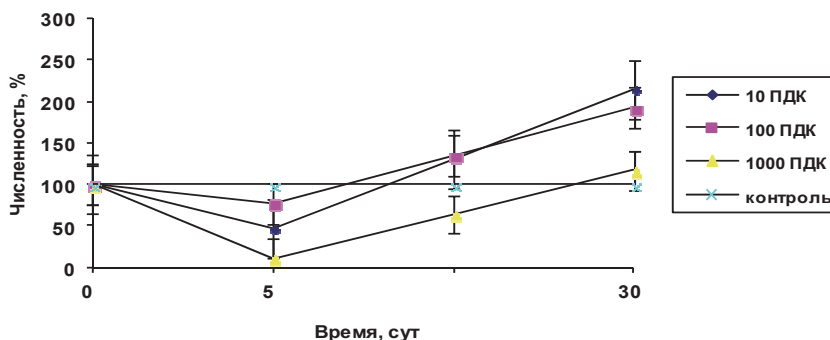


Рис. 3. Влияние различных доз толуола на численность плесневых грибов

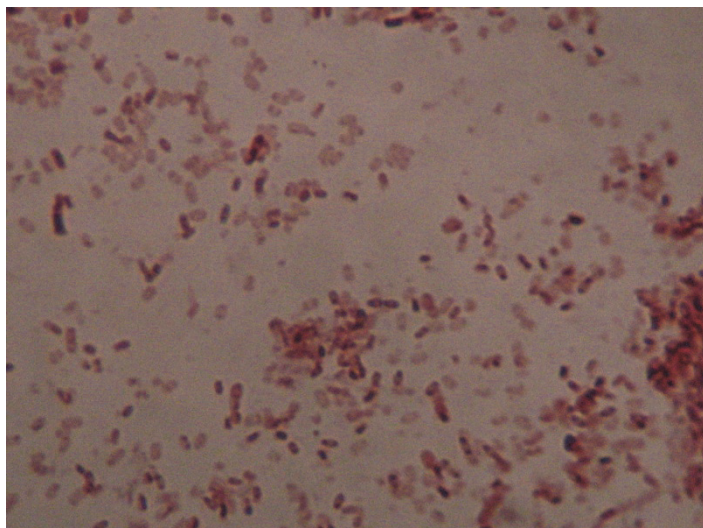


Рис. 4. Результаты микроскопического изучения выделенных штаммов деструкторов толуола (шифр Тл 1, Тл 2, Тл 3, Тл 4, Тл 5 и Тл 6)

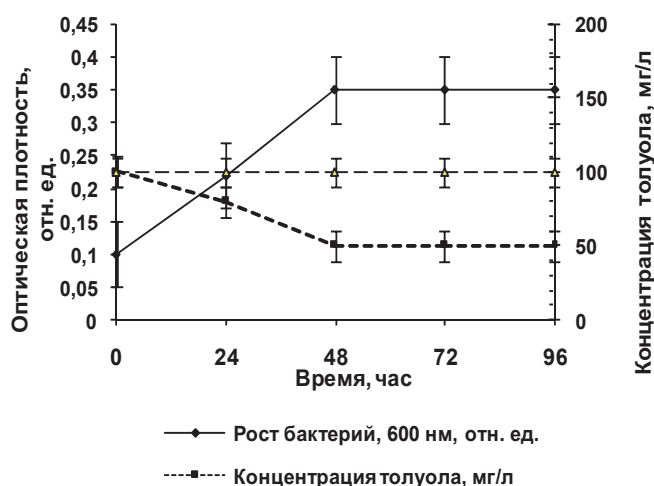


Рис. 5. Деградация толуол при концентрации 100 мг/л штаммами Тл 1, Тл 2, Тл 3, Тл 4, Тл 5, Тл 6

В связи с тем, что толуол как ксилол и фенол достаточно сложно поддается трансформации и не способен подвергаться полной минерализации только одним штаммом, мы использовали весь консорциум устойчивых штаммов при анализе деструкции.

Деструкцию наблюдали в условиях непрерывного культивирования штаммов в колбах Эрленмейера со 100 мл жидкой среды М9, в которую вносили толуол в качестве единственного источника углерода и энергии в концентрациях 150 мг/л. Инкубацию культуры проводили при +28 °С в течение 4 суток в условиях аэрации в шейкер-инкубаторе при частоте вращения платформы 50-70 оборотов/минуту. Определение толуола проводили в соответствии с методическими указаниями (определение массовых долей бензола и толуола в пробах почвы) [5].

Анализ результатов, приведенных на рисунке 5, показал, в течение 4 суток произошло снижение концентрации толуола на 50 %, затем рост культуры прекращался, в связи, с чем для эффективной

работы консорциума необходимо проведение оптимизации условий биодегradации толуола.

Таким образом, полученные результаты показывают характер влияния различных доз толуола на состав и функционирование комплекса почвенных микроорганизмов, а также вскрывают механизм воздействия толуола на почвенную микробиоту, связанный с ее устойчивостью и проявлением токсикоза почвы. Предлагаемые микробиально-биологические и биохимические показатели можно использовать при диагностике техногенно-нарушенных почв.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ГОСТ 28168-89. Отбор проб.
2. Ильина Н.А., Фуфаева Т.В., Казакова Н.А. Влияние формальдегида на микрофлору почвы // Сборник научных трудов XIX Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием. Иркутск: Изд-во гос. технич. университет, 2014. С.197-198.
3. Казакова Н.А., Ильина Н.А. Микробный ценоз почв

- как индикатор трансформации почвенного покрова // Международный научно-исследовательский журнал. 2013. №6 (13). Часть 1. С. 30-31.
4. Хоулт Дж., Криг Н. Определитель бактерий Берги: в 2 т. Т.1 [под ред. акад. РАН Г.А.Заварзина]. М.: Мир, 1997. 430 с.
 5. РД 52.18.608-99 Методические указания. Определение массовых долей бензола и толуола в пробах почвы. Методика выполнения измерений методом газовой хроматографии.
 6. Химическое загрязнение почв и их охрана: учеб. пособие/ Д.С. Орлов, М.С. Малинина, Г.В. Мотузова, Л.К. Садовникова, Т.Д. Соколова. М.: Агропромиздат, 1991. 303 с.

THE INFLUENCE OF THE CHEMICAL SUBSTANCE (TOLUENE) ON SOIL MICRO FLORA

© 2015 N.A. Ilyina, T.V. Fufaeva, N.A. Kazakova

Ulyanovsk State Pedagogical University named after I.N. Ulyanov

The article deals with the influence of toluene on soil microorganisms.

Keywords: toluene, soil microorganisms, soil micro flora.

Natalya Ilyina, Doctor of Biological Sciences, Professor, Vice-Rector on Scientific Work. E-mail: n-ilina@mail.ru
Tatyana Fufaeva, Postgraduate Student at the Zoology Department. E-mail: tanya-fufaeva@yandex.ru
Natalya Kazakova, Assistant Lecturer at the Geography Department. E-mail: nakaz17@mail.ru