

**Водопьянов В.В., Киреева Н.А., Григориади А.С., Якупова А.Б.**  
Уфимский государственный авиационный технический университет, Уфа  
Башкирский государственный университет, Уфа

## **ВЛИЯНИЕ НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВЫ НА РИЗОСФЕРНУЮ МИКРОБИОТУ И МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ БИОДЕГРАДАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ**

**Изучено влияние нефтяного загрязнения почвы на численность различных физиологических групп микроорганизмов в ризосфере пшеницы, ячменя и дягиля. Показано стимулирующее влияние нефти на развитие углеводородокисляющих микроорганизмов, и построена математическая модель их развития. Приведены результаты моделирования биodeградации нефти в ризосфере растений.**

**Ключевые слова:** нефтезагрязненная почва, ризосфера, пшеница, ячмень, дягиль, углеводородокисляющие микроорганизмы (УОМ), математическая модель, биodeградация

В условиях активной антропогенной деятельности человечества нефть и нефтепродукты являются основным загрязнителем окружающей среды в мире. В результате аварийных ситуаций при добыче, перевозке и хранении, а также неправильной эксплуатации оборудования происходят утечки нефти, которая наносит значительный урон всей почвенной экосистеме. Это поднимает вопрос о разработке методов восстановления загрязненных участков. В настоящее время на заключительных этапах рекультивации активно используют фиторемедиацию. Положительная роль растений в очищении почв связана с их способностью поглощать и трансформировать токсиканты, активизировать деятельность микробного сообщества, и, как следствие, интенсифицировать биохимические и химические процессы трансформации чужеродных соединений в почве (Турковская, Муратова, 2005). Таким образом, важную роль в детоксикации поллютантов может сыграть ризосфера растений, которая является областью активного развития микроорганизмов. Под воздействием небольших концентраций происходит стимуляция жизнедеятельности ризосферных микроорганизмов и соответственно процессов деградации поллютанта (Banks et al, 2003). Таким образом, изучение влияния нефти на ризосферные микроорганизмы необходимо в первую очередь для выявления наиболее эффективных растений – фиторемедиантов, способных обеспечить быстрые темпы разрушения поллютантов, а также для оценки качества сельскохозяйственных культур.

В данной работе представлены результаты исследований по влиянию нефтяного загрязнения на динамику численности физиологических групп микроорганизмов в ризосфере рас-

тений пшеницы, ячменя и дягиля и построение модели ризодеградации нефти.

Модельный эксперимент был проведен на образцах темно-серой лесной почвы. Опытные растения вместе с комом почвы пересаживали в отдельные вегетационные сосуды, заливали нефтью в концентрациях 1, 2 и 6% от массы почвы и в дальнейшем исследовали влияние концентрации нефти на развития некоторых физиологических групп ризосферных микроорганизмов растений. В качестве контрольных использовали растения, произрастающие на незагрязненной фоновой почве. В качестве тест-объекта исследования выступали яровая пшеница (*Triticum aestivum* L.), ячмень (*Hordeum distichon* L.) и дикорастущий дягиль лекарственный (*Archangelica officinalis* L.). Влияние нефтяного загрязнения оценивали по показателям микробиологической активности. Учет численности микроорганизмов проводили по общепринятой методике посева почвенной суспензии на соответствующие агаризованные питательные среды (Методика, 1991). Для анализа микроорганизмов ризосферы проводили отмывание корней от грунта. Корни растений с прилипшей к ним почвой помещали в 100 мл стерильной воды и встряхивали на качалке при 180 об/мин в течение 3 мин. Отмытая почва представляла образец ризосферы. Определение культур бактерий производили, руководствуясь определителем Берджи (Определитель, 1997) и пособием для идентификации бактерий (Добровольская и др., 1989).

Одной из наиболее важных характеристик почвенной микробиоты является численность и соотношение основных физиологических групп микроорганизмов. При нефтяном загрязнении почвы в первые 10 суток в ризосфере пшеницы и дягиля общая численность

Таблица. Влияние нефтяного загрязнения почвы на численность физиологических групп микроорганизмов в ризосфере 10-и и 20-и суточных растений

Растение	Концентрация нефти, %	Гетеротрофы, 10 <sup>6</sup> КОЕ/г почвы		УОМ, 10 <sup>3</sup> КОЕ/г почвы		Целлюлозолитики, 10 <sup>4</sup> КОЕ/г почвы	
		10 сут	20 сут	10 сут	20 сут	10 сут	20 сут
Пшеница	0	3,1±0,1	88±4,0	1,3±0,05	2,8±0,1	0,5±0,02	1,2±0,06
	1	3,6±0,1	75±4,0	13±0,5	520±21	0,2±0,01	1,0±0,05
	2	2,1±0,1	81±4,1	65±2,4	18000±80	0,4±0,02	0,5±0,02
	6	0,6±0,03	32±1,5	130±5,5	65±0,3	0,05±0,02	0,1±0,03
Ячмень	0	2,9±0,14	10,0±0,5	6±0,3	9,5±0,45	0,4±0,02	1,6±0,08
	1	3,2±0,15	6,0±0,3	22±1,1	610±30,3	0,2±0,01	0,8±0,04
	2	3,6±0,18	7,5±0,4	90±4,5	1800±90	0,2±0,01	0,8±0,04
	6	0,3±0,02	1,5±0,08	180±9,1	71000±360	0,07±0,004	0,1±0,05
Дягиль	0	7,7±0,6	14,6±1,3	3,0±0,2	11,0±0,6	4,51±0,2	13,8±1,3
	1	3,0±0,2	18,1±0,9	16,5±0,8	70,0±3,5	2,8±0,2	5,6±0,3
	2	3,2±0,3	45,1±2,0	20,0±1,0	140,0±7,1	2,2±0,1	1,9±0,07
	6	16,5±1,7	11,2±1,8	30,0±1,5	160,0±8,0	0,9±0,08	1,4±0,07

гетеротрофных микроорганизмов значительно снизилась при всех дозах загрязнителя, вероятно, за счет токсического влияния поллютанта (табл.). Низкие концентрации поллютанта (1-2%) не оказывали достоверного влияния на значения этого показателя у ячменя). Через 20 суток общая численность их возросла в несколько раз (2-5) в ризосфере всех видов растений, однако, высокие (6%) концентрации нефти ингибировали значение этого показателя. Очевидно, к этому времени началось улетучивание легких фракции углеводородов, за счет чего токсический эффект начинал снижаться, или же продукты расщепления нефти могли быть использованы гетеротрофами в качестве источника питания и энергии. Можно так же предположить о благоприятном действии экссудатов, способствующих частичной детоксикации нефти и служащих источником питания для микроорганизмов. Вероятно, к этому времени произошло и увеличение количества погибших растительных остатков в почве за счет токсичности нефти, что способствовало пополнению соединений органических форм азота в почве – субстрата для гетеротрофов.

В целом, в отношении гетеротрофов наблюдалась сходная картина в вариантах опыта со всеми исследуемыми растениями. Доминирующими видами в ризосфере были представители родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Xanthomonas* и отдельные представители семейств *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*. Среди представителей перечисленных выше родов встречались и углеводо-

родокисляющие микроорганизмы, прежде всего *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, являющиеся основой при создании биопрепаратов для очистки почв и грунтов от нефтяных углеводородов. Можно предположить, что они вносят определенный вклад в процесс биодegradации нефти в почве.

Загрязнение почвы нефтью вызывало снижение численности аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов в ризосфере исследуемых растений в течение всего эксперимента. Это свидетельствует о том, что нефтяные углеводороды, подавляющие развитие растений и увеличивающие содержание корневого опада, в свою очередь, приводят к нарушению круговорота углеродсодержащих веществ в корневой системе.

Динамика поведения углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) в почвенной экосистеме имеет совершенно другой вид в сравнении с общей численностью других групп микроорганизмов. Загрязнение почвы нефтью стимулировало развитие популяции микроорганизмов – деструкторов нефти. Численность УОМ в ризосфере растений увеличивалась на один-два порядка уже в первые 10 суток. Через 20 суток эта величина превышала предыдущие значения показателя на 1-2 порядка. В дальнейшем, наблюдалось не только возрастание количества этих микроорганизмов, но и наблюдался «ризосферный эффект». Это связано, во-первых, с присутствием поллютанта в почве – основного субстрата для этой группы микроорганизмов, и, во-вторых, с жизнедеятельностью самого растения.

Нами была предложена новая математическая модель, описывающая поведение УОМ и процессов деградации углеводов. Так как в ризосфере растений происходит выделение

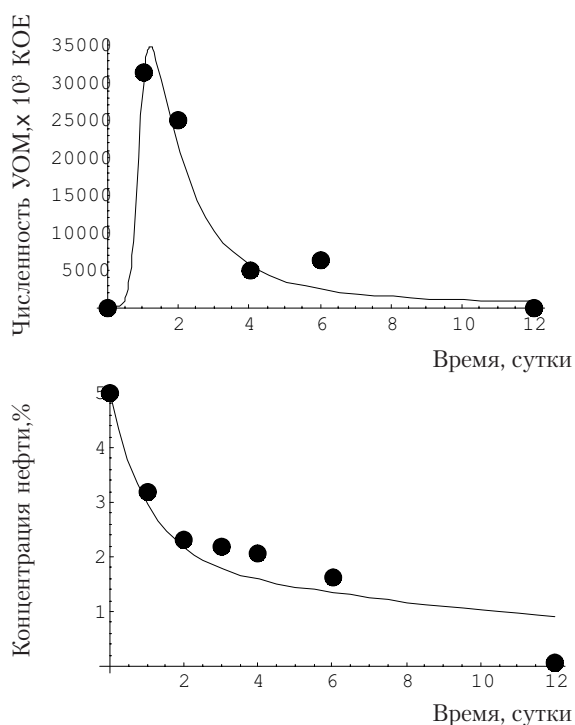


Рисунок 1. Динамика изменения численности УОМ и биодegradации нефти в ризосфере растений при 5% загрязнении

питательных веществ, была рассмотрена точечная модель с учетом нового параметра – плотности питательных веществ, выделяемых растениями в ризосфере. Это слагаемое учитывало рост численности микроорганизмов за счет увеличения питательных веществ в ризосфере растений. Уравнение, описывающее разложение составляющих нефти, содержало еще одно слагаемое: разложение за счет поглощения прикорневой системой, представленное в виде зависимости. Модель хорошо описывала динамику разложения нефти в течение 180 сут. эксперимента, где за начальную точку принято время появления всходов растения (рис). Введение данных изменений в систему уравнений, полученную нашими исследованиями ранее (Киреева, Водопьянов, 2007), позволило максимально приблизить к описанию процесса, происходящего в природе.

Построенная математическая модель адекватно описывала динамику изменения численности микроорганизмов в природно-технической системе почвы и процессы биодegradации нефти. Для ее проверки были проведены численные эксперименты, данные которых полностью подтвердили адекватность полученных численных расчетов реальным лабораторным опытам.

#### Список использованной литературы:

1. Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н., Лысак Л.В. Методы выделения и идентификации бактерий. – М: Изд-во МГУ, 1989. – 72 с.
2. Киреева Н.А., Водопьянов В.В. Мониторинг растений, используемых для фиторемедиации нефтезагрязненных почв // Экология и промышленность России. – 2007. – сентябрь. – С. 46-47.
3. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 304 с.
4. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т./ Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – Т. 1.– 432 с., Т. 2 368 с.
5. Banks M. K., Kulakow P., Schwab A. P.; Chen Z., Rathbone K. Degradation of Crude Oil in the Rhizosphere of Sorghum bicolor // International Journal of Phytoremediation. – 2003 – Vol. 5, №3. – P. 225–234.
6. Турковская О.В., Муратова А.Ю. Биодegradация органических поллютантов в корневой зоне растений // Молекулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. – М: Наука, 2005. – С. 180-208.