

УДК 579.2

Керимов З.М.¹, Абилова А.А.²,

Юсифова А.А.¹, Мурадов П.З.¹, Султанова Н.Г.³

¹Институт микробиологии Национальной академии наук Азербайджана (г. Баку)

²Институт почвоведения и агрохимии Национальной академии наук
Азербайджана (г. Баку)

³Сумгаитский государственный университет (Азербайджан)

ВЫБОР МЕТОДА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБНОГО СОСТАВА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ АПШЕРОНА

Z. Kerimov¹, A. Abilova², A. Yusifova¹, P. Muradov¹, N. Sultanova³

¹Institute of Microbiology of Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan

²Institute of Soil Science and Agrochemistry of Azerbaijan National
Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan

³Sumqayit State University, Sumqayit, Azerbaijan

CHOICE OF THE METHOD FOR STUDYING THE MICROBIAL STRUCTURE OF OIL-CONTAMINATED SOILS OF ABSHERON

Аннотация. В работе исследован выбор метода для более точного определения численного состава микробного разнообразия нефтезагрязненных почв, а также домашней пыли и растительных материалов. В результате проведенных исследований показано, что предварительная обработка взятых образцов ультразвуком в течение 30 минут позволяет более точно определить численный состав микробного разнообразия. В тоже время этот подход наиболее приемлем при изучении микроразнообразия нефтезагрязненных почв.

Ключевые слова: микробное разнообразие, нефтезагрязненные почвы, численный состав, ультразвук.

Abstract. We have investigated the choice of the method for more exact determination of the numerical structure of a microbial variety of oil-contaminated soils as well as of house dust and plant materials. It is shown that the preliminary processing of the taken samples by ultrasound for 30 minutes allows one to determine the numerical structure of the microbial variety more precisely. At the same time, this approach is more comprehensible at studying a microvariety of the oil-contaminated soils.

Key words: microbial diversity, oil-contaminated soils, numerical structure, ultrasound.

Как известно, почвенные микроорганизмы формируются за счет бактерий и грибов, которые уже на протяжении многих лет являются объектом исследований разного характера [2]. В результате проведенных исследований идентифицированы десятки тысяч видов микроорганизмов, установлены закономерности их распространения по различным биотопам и субстратам, изучены их биологические активности, подобраны разные штаммы-продуценты биологически активных веществ, разработаны научные и практические основы микробиологического синтеза многих веществ, которые ранее производили синтетическим (химическим) способом. Несмотря на огромное число уже известных микроорганизмов, специалисты полагают, что изучена лишь малая часть всех практически существующих сегодня видов микроорганизмов [3]. Одной из проблем для их выделения и определения является невозможность культивирования некоторых микроорганизмов, используя традиционные методы, что способствует поиску новых методов, которые позволяли бы более эффективно и точно определить видовой и численный состав микробиоты различных биотопов. Так, при изучении любой экосистемы знание их микробного состава является необходимым для познания

процессов [10], происходящих под действием антропогенного фактора.

Как известно, на территории Азербайджана уже на протяжении более 150 лет добывают нефть и производят нефтяные продукты. Вся эта деятельность сосредоточена в основном на Апшеронском полуострове, территория которого составляет 222 тыс. га [6]. Апшерон является проблемным ареалом, с критической остротой комплекса геоэкологических проблем [1]. Это связано, с одной стороны, с техногенным воздействием (загрязнение нефтью и нефтепродуктами, токсическими отходами химической промышленности, нецелесообразным природопользованием и др.), а с другой стороны, с природными деградационными процессами (ветровая эрозия, засоление почв, опустынивание). Если учесть, что часть территории Апшерона используется для сельхозугодий, нефтепромыслов и занята населенными пунктами, водоемами и озерами, то можно уверенно сказать, что в Апшероне в настоящее время ощущается огромный дефицит земли. Поэтому рациональному и эффективному использованию каждого гектара земли должно быть уделено особое внимание. В этой связи надо обратить внимание на нефтезагрязненные почвы, территория которых в Апшероне составляет тысячи гектаров. Очистка их экологически обоснованными методами является в настоящее время очень актуальным вопросом. Начиная с 80-х гг. прошлого века [4] проводятся исследования в этом направлении. В проведенных исследованиях получены некоторые обнадеживающие результаты [5] и даже некоторые из них уже внедрены

в практику. Однако в микробиологических исследованиях, проведенных на Апшероне и в целом в Азербайджане, в основном используются классические методы, которые уже не в силах точно охарактеризовать микробное разнообразие конкретного биотопа.

Учитывая вышесказанное, целью представленной работы было изучение микробного разнообразия антропогенно нарушенных биотопов Апшеронского полуострова и выбор метода для более точного ее определения. Образцы были взяты из отобранных 10 участков нефтезагрязненных почв Апшерона, отличающихся по степени загрязнения нефтью (табл 1.). Как видно, 3 участка характеризуются как слабо-, 3 – средне- и 3 – сильнозагрязненные. Кроме того, в ходе работы для анализа микробиоты мы использовали еще различные материалы (лекарственные растения, строительные материалы, домашняя пыль и др.). Взятие всех проб, подготовка суспензий и выделение микроорганизмов проводили согласно методу, который в настоящее время используется в аналогичных исследованиях [8; 9]. Для выделения микроорганизмов в чистую культуру использовали различные среды (минеральный агар, сусло-агар, овсяной агар, картофельный агар, органический агар, почвенный агар, МПБ, среда Эшби, Чапека, Гаузе и др.), отличающиеся по составу.

Для характеристики численного состава (по КОЕ) микроорганизмов мы использовали формулу:

$$N(\text{КОЕ}/\text{г почв}) = \text{авс}/\text{д},$$

Таблица 1

Общая характеристика нефтезагрязненных почв, используемых для взятия образцов

№	Влажность (%)	Кислотность	Количество нефти(г/кг почв)	Степень загрязненности
1-3	59-61	7,2-7,3	≥10	Слабая
4-6	61-63	7,4-7,5	10-40	Средняя
7-9	62-64	7,5-7,6	≤50	Сильная
10 (контроль)	57-58	7,0 -7,1	0	Чисто

где: N – число микроорганизмов (КОЕ/г почв), a – число колоний образующихся в чашке Петри, v – количество разведения, c – число капель в 1 мл суспензии, d – количество почв (в г), взятых для анализа.

Все опыты в ходе исследований поставлены в 4-6-ти повторах и полученные данные статистически обработаны [7]. Из взятых по-

чвенных образцов подготовили водную суспензию (30-минутную) и, прежде чем делать посев, обработали ее ультразвуком (УЗ) на 15, 30 и 60 минут, для которого использовали дезинтегратор, имеющий мощность 400-500 кВт и частоту не более чем 30 кГц. При выращивании микроорганизмов на стандартных средах полученные результаты показали,

Таблица 2

Влияние обработки УЗ на общую численность ($\times 10^5$ КОЕ/г почв) микроорганизмов

Степень загрязненности почв		Время обработки почвенных суспензий(мин)			
		0	15	30	60
Слабая	Б	8,7	9,0	9,4	9,3
	Г	3,9	4,1	4,3	4,3
Средняя	Б	5,8	6,4	6,4	6,4
	Г	2,0	2,2	2,3	2,1
Сильная	Б	4,1	4,2	4,4	4,3
	Г	0,023	0,025	0,026	0,026
Контроль	Б	10,2	10,5	10,9	10,8
	Г	4,4	4,6	4,8	4,7

Примечание: Б – бактерии($\times 10^6$) и Г – грибы ($\times 10^5$)

Таблица 3

Сравнение эффективности методов выделения микроорганизмов

Степень загрязненности		Гетеротрофные бактерии(10^5 КОЕ/г почв)	Актиномицеты (10^3 КОЕ/г почв)	Грибы (10^4 КОЕ/г почв)
Слабая НЗП	С	45,2	0,72	3,8
	К	32,3	0,61	3,4
Средняя НЗП	С	27,2	0,36	2,0
	К	20,1	0,30	1,8
Сильная НЗП	С	0,39	0,036	0,027
	К	0,28	0,031	0,024
Чистая почва	С	47,5	1,12	4,3
	К	35,2	0,94	3,9
Домашняя пыль	С	50,3	1,02	4,6
	К	43,2	0,86	4,4
Лекарственные растения, строительные материалы и др.	С	41,2	0,76	3,5
	К	37,7	0,70	3,42

Примечание: УЗ – обработка образцов ультразвуком
К – классические методы.

Таблица 3

Сравнение эффективности методов выделения микроорганизмов

Степень загрязненности		Гетеротрофные бактерии (10^5 КОЕ/г почв)	Актиномицеты (10^3 КОЕ/г почв)	Грибы (10^4 КОЕ/г почв)
Слабая НЗП	С	45,2	0,72	3,8
	К	32,3	0,61	3,4
Средняя НЗП	С	27,2	0,36	2,0
	К	20,1	0,30	1,8
Сильная НЗП	С	0,39	0,036	0,027
	К	0,28	0,031	0,024
Чистая почва	С	47,5	1,12	4,3
	К	35,2	0,94	3,9
Домашняя пыль	С	50,3	1,02	4,6
	К	43,2	0,86	4,4
Лекарственные растения, строительные материалы и др.	С	41,2	0,76	3,5
	К	37,7	0,70	3,42

Примечание: УЗ – обработка образцов ультразвуком
К – классические методы.

что между численным составом и временем обработки УЗ не наблюдается прямая зависимость, хотя обработка УЗ всегда сопровождается увеличением общего числа как бактерий, так и грибов (табл. 2). Как видно, более или менее 30-минутную обработку образцов можно считать оптимальным, поскольку все время численность микроорганизмов повышается на 7-15%. В вариантах, где обработка длилась 15 и 60 минут, аналогичные данные составляли 2,9-10,3% и 4,9-10,2%, соответственно. Как результат этого этапа, для дальнейших исследований предпочли 30-минутную предобработку образцов УЗ.

Сравнение полученных результатов в оптимальных вариантах с теми данными, которые мы получили в ходе работы (табл. 3), используя традиционные методы выделения микроорганизмов, показало, что в зависимости от степени загрязнения и микроорганизмов разница методов показателей составляет от 9,3 до 28,5%. Для домашней пыли этот показатель составляет 4,3-15,7%, а для растительных материалов – 2,9-8,5%. Следовательно, обработка ультразвуком при изучении микробного разнообразия нефтезагрязненных почв является наиболее эффективной.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Алекперов А. Б. Апшерон: проблемы гидрогеологии и геоэкологии. – Баку: Аз. гос. Книжная палата, 2000. – 484 с.
2. Ананьева Н.Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв. – М.: Наука, 2003. – 223 с.
3. Биологи оценили общее количество видов на Земле [24 августа 2011 г.] / Membrana: люди, идеи, технологии [сайт]. URL: <http://www.membrana.ru/particle/16627> (дата обращения: 01.11.2012 г.)
4. Исмаилов Н.М., Пиковский Ю.И. Современное состояние методов рекультивации нефтезагрязненных земель // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. – М.: Наука, 1988. – С. 222-230.
5. Исмаилов Н.М. Обоснование принципов и методов рекультивации и восстановления плодородия нефтезагрязненных почв Апшеронского полуострова // Материалы междунар. конф. «Физиолого-биохимические и экологические особенности микроорганизмов». – Баку: Элм, 2005. – С. 125-130.
6. Кахраманова Ш.Ш. Техногенное загрязнение почв Апшерона // Академический вестник УралНИИПроект РААСН. – 2012. – № 1. – С. 25-30.
7. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2006. – 816 с.

8. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: МГУ, 1991. – 302 с.
9. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И. Билай. – Киев: Наукова думка, 1982. – 500 с.
10. Свирскене А. Микробиологические и биохимические показатели при оценке антропогенного воздействия на почвы // Почвоведение. – 2003. – № 2. – С. 202-210.

УДК 579.

Колотилова Н.Н.

*Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова*

**ВЫДАЮЩИЙСЯ МИКРОБИОЛОГ И ПОЧВОВЕД
АЛЕКСАНДР ФЕДОРОВИЧ ЛЕБЕДЕВ
(К 130-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)**

N. Kolotilova

M.V. Lomonosov Moscow State University

**THE EMINENT MICROBIOLOGIST AND PEDOLOGIST
ALEXANDRE FEDOROVICH LEBEDEV (ON THE 130TH ANNIVERSARY)**

Аннотация. Выдающийся русский естествоиспытатель А.Ф. Лебедев (1882-1936) – человек с удивительной и трагической судьбой – внес большой вклад в развитие микробиологии и почвоведения. Он вошел в историю микробиологии открытием у бактерий хемосинтеза за счет использования водорода и открытием гетеротрофной фиксации углекислоты, далеко опередившим развитие науки. Его основополагающий вклад в развитие почвоведения связан с созданием теории происхождения почвенных и грунтовых вод. Особое место занимают труды, посвященные инженерным свойствам грунтов и пльвунов, написанные репрессированным ученым на строительстве Беломорканала.

Ключевые слова: хемосинтез, фиксация CO₂, почвенные воды.

Abstract. The eminent Russian scientist A.F. Lebedev (1882-1936) is a man of extraordinary and tragic fate, who made a great contribution in the development of both microbiology and soil science. In microbiology he discovered the bacterial chemosynthesis, based on the oxidation of H₂, and the heterotrophic fixation of CO₂. His fundamental contribution in soil science is linked with the famous theory of the origin of ground waters. His works on the engineering properties of subsoils and quicksands, written by the repressed scientist during the building of Belomorcanal, present a special interest.

Key words: chemosynthesis, fixation of CO₂, ground and subsoil waters.

Александр Федорович Лебедев – человек с необычной жизненной и научной судьбой. Немногим известно, что микробиолог, продолживший великолепную череду работ С.Н. Виноградского, открывший в начале XX в. хемосинтез на водороде, и почвовед, создавший основополагающую теорию о происхождении почвенных и грунтовых вод, – одно и то же лицо. В год юбилея выдающегося естествоиспытателя представляется важным рассказать о его жизни и научной деятельности.

А.Ф. Лебедев родился 25 мая 1882 г. в небольшом городке Красном Смоленской губернии, в бедной семье [1]. С раннего детства он привык много трудиться. Получив среднее образо-