

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКОБАКТЕРИЙ В НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ АПШЕРОНА\*

*Аннотация.* Работа посвящена изучению микобактерий нефтезагрязненных почв Апшерона. В результате исследований был изолирован 31 вид, относящийся к роду *Mycobacterium*. Среди них наиболее активными деструкторами оказались 7 видов – *M. luteum*, *M. flavum*, *M. ceriformans*, *M. paraffinicum*, *M. rubrum*, *M. pergugosum* и *M. sineatum*, интенсивно окисляющие нефтяные углеводороды. Было установлено, что при применении биопрепарата в виде комплекса, состоящего из 7 видов, ускоряется развитие зерен пшеницы по сравнению с контрольным вариантом, и его применение направлено для осуществления процесса рекультивации нефтезагрязненных почв.

*Ключевые слова:* микобактерии, нефтезагрязненные почвы, виды микобактерий, углеводороды, биопрепарат.

Из бактериальных форм в почве 40-50% составляют микобактерии, являющиеся, в основном, сапрофитами. Благодаря своей активной ферментативной системе они принимают активное участие в разложении самых трудноразлагаемых нефтяных углеводородов, жиров, битума, асфальта и многих сложносоставных токсических соединений [1;2;3;4]. Среди них имеются также виды, обогащающие почву азотными соединениями за счет фиксации атмосферного азота [5;6;7].

В жизни почвы эти микроорганизмы играют активную роль в разложении растительных и животных остатков, в круговороте таких элементов, как азот, углерод, фосфор и других, имеющих важное значение. Микобактерии особенно чувствительны к нефтяным углеводородам. Учитывая это, особое значение придается изучению микобактерий, выделенных из нефтезагрязненных почв на протяжении многих лет в связи с производством и транспортировкой нефти и непригодных для посева почв Апшеронского полуострова [10;11].

*Объект исследований.* Используемые почвенные образцы как объекты исследования были взяты из нефтезагрязненных почв Бинагадинского района Апшеронского полуострова с глубины 0-20; 20-40 см. вокруг скважин.

*Методика работы.* Для выделения микобактерий из почвенных образцов были взяты разбавления в отношении 1:1000 и 1:10000, МПА (мясо-пептонный агар), КА (картофельный агар), и синтетические питательные среды. Посев был произведен в термостате при температуре 26-28°C [8].

Во время инкубации наряду с микобактериями наблюдался рост и других микроорганизмов. Учитывая отсутствие антибиотической активности микобактерий, в питательную среду добавляем антибиотики – стрептомицин или мицетин. Для определения усвоения углеводородов микобактериями была использована синтетическая питательная среда [9].

Среди выделенных микобактерий были отобраны виды, активно деструктурирующие нефтяные углеводороды, и наряду с изучением их морфо-культуральных признаков были изучены физиологические и биохимические свойства.

В результате исследований был изолирован 31 вид, относящийся к роду *Mycobacterium*. Среди них наиболее активными деструкторами оказались 7 видов – *M. luteum*,

\* © Бабаева И.Т.

*M. flavum*, *M. ceroformans*, *M. paraffinicum*, *M. rubrum*, *M. perrugosum* и *M. cineatum*, интенсивно окисляющие нефтяные углеводороды.

Исследования показали, что самые трудноразлагаемые микобактериями углеводороды – это бензин, нафталин и бензол, но даже они, хоть и слабо, но разлагались активными видами. Отношение активных видов микобактерий к нефтяным углеводородам показаны в табл. 1 и на рис. 1-3.

Таблица 1

Отношение активных видов микобактерий к некоторым нефтяным углеводородам

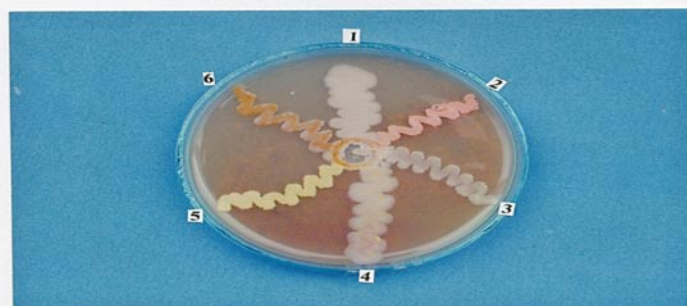
№	Название видов	додекан	тридекан	тетрадекан	пентадекан	гексадекан	бензол	нафталин	парафин	сырая нефть	толуол	бензин	машинное масло
1	<i>M. luteum</i> 12	++	++	+	-	+	±	±	+	+	+	±	++
2	<i>M. flavum</i> 71	+	+	+	+	+	+	-	+	++	++	-	++
3	<i>M. ceroformans</i> 33	+	+	+	++	+	±	-	±	+	+	±	+
4	<i>M. paraffinicum</i> 68	+	+	++	+	-	±	±	++	+	+	-	+
5	<i>M. rubrum</i> 92	+	++	++	+	+	±	-	+	+	+	+	+
6	<i>M. perrugosum</i> 141	++	+	+	+	±	+	-	±	±	+	±	+
7	<i>M. cineatum</i> 64	+	+	±	+	+	±	±	±	+	+	±	+

Примечание: (++) - хорошо усваивает, (+) - усваивает, (±) -слабо усваивает, (-) не усваивает

Изображение отношения видов микобактерий к некоторым углеводородам

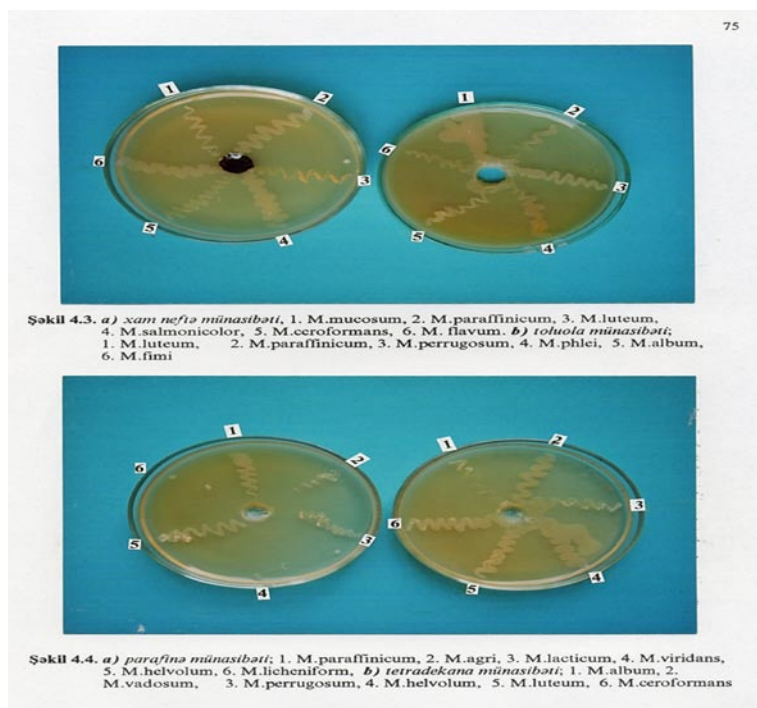


Şəkil 4.5. *a)* benzina münasibəti; 1. *M. ceroformans*, 2. *M. brevicale*, 3. *M. filamentosum*, 4. *M. album*, 5. *M. cuneatum*, 6. *M. luteum*. *b)* benzola münasibəti; 1. *M. flavum*, 2. *M. paraffinicum*, 3. *M. luteum*, 4. *M. helvolum*, 5. *M. ceroformans*, 6. *M. fimi*

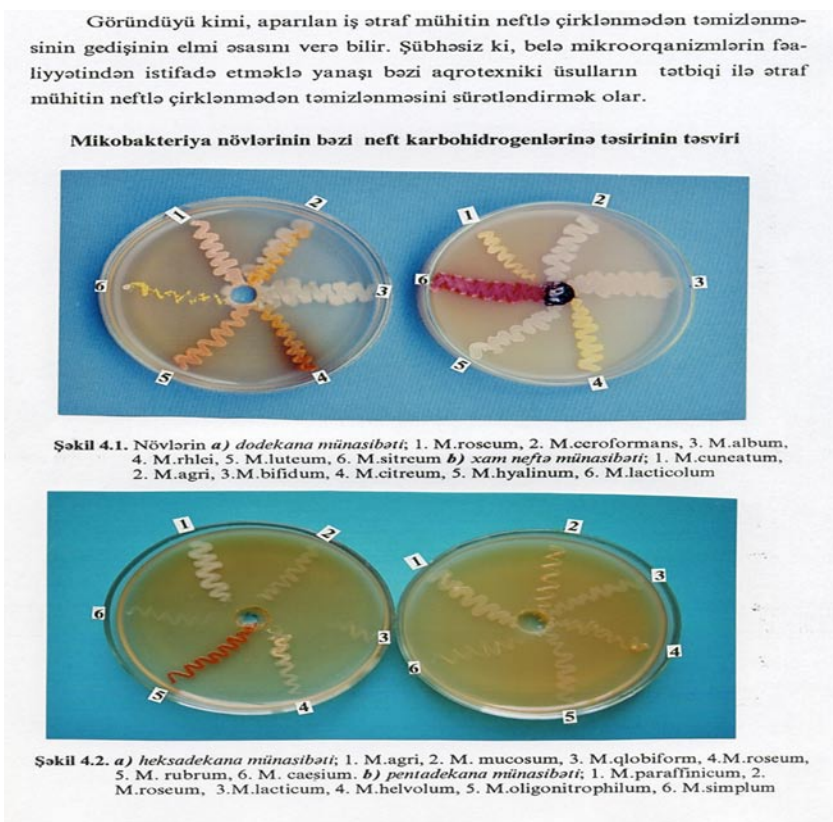


Şəkil 4.6. *Məşin yağına münasibəti*; 1. *M. album*, 2. *M. roseum*, 3. *M. agri*, 4. *M. hyalinum*, 5. *M. fimi*, 6. *M. phlei*

Рис. 1 *а)* отношение к бензину; 1. *M. ceroformans*, 2. *M. brevicale*, 3. *M. filamentosum*, 4. *M. album*, 5. *M. cuneatum*, 6. *M. luteum*. *б)* отношение к бензолу; 1. *M. flavum*, 2. *M. paraffinicum*, 3. *M. luteum*, 4. *M. helvolum*, 5. *M. ceroformans*, 6. *M. fimi*



**Рис. 2** *a) отношение к парафину*; 1. *M. paraffinicum*, 2. *M. agri*, 3. *M. lacticum*, 4. *M. viridans*, 5. *M. helvolum*, 6. *M. licheniform*, *б) отношение к тетрадекану*; 1. *M. album*, 2. *M. vadosum*, 3. *M. perrugosum*, 4. *M. helvolum*, 5. *M. luteum*, 6. *M. ceroformans*



**Рис. 3** *a) отношение к гексадекану*; 1. *M. agri*, 2. *M. mucosum*, 3. *M. globiform*, 4. *M. roseum*, 5. *M. rubrum*, 6. *M. caesium*. *б) отношение к пентадекану*; 1. *M. paraffinicum*, 2. *M. roseum*, 3. *M. lacticum*, 4. *M. helvolum*, 5. *M. oligonitrophilum*, 6. *M. simplum*

В питательной среде с гексадеканом была определена оптическая плотность в фотоэлектрическом калориметре и установлена биомасса активных видов в целях рекультивации загрязненных почв.

При определении биомассы видов микобактерий видна разница между видами, так как биомасса *M. flavum* -а по 1 литру составляет 0,45 г, *M. luteum* -а – 0,42 г, *M. ceteroformans* -а – 0,30 г, *M. paraffinicum* -а – 0,35 г, *M. rubrum* -а – 0,14 г, *M. perrugosum* -а – 0,06 г, *M. cineatum* -а – 0,20 г, -а смещение 7 видов составляет 0,78 г. Все данные показаны в табл. 2.

Таблица 2

Биомасса некоторых активных видов микобактерий  
на жидких питательных средах (на 3-7 сутки)

№	Активные виды микобактерий	Оптическая плотность культуральной жидкости в аппарате ФЭК		Вес (мг) мембранного фильтра с бактериальным осадком	Вес (мг) мембранного фильтра без бактериального осадка	Вес (мг) сухой биомассы (в 10мл культуральной жидкости)	1 литра эюра г-ла миглары
		В питательной среде с гексадеканом	В питательной среде с глюкозой				
1	<i>M. luteum</i> 12	0,70	0,46	0,0425	0,0383	0,0042	0,42
2	<i>M. flavum</i> 71	0,35	0,50	0,0409	0,0364	0,0045	0,45
3	<i>M. ceteroformans</i> 33	0,25	0,13	0,0388	0,0350	0,0030	0,30
4	<i>M. paraffinicum</i> 68	0,40	0,22	0,0381	0,0346	0,0035	0,35
5	<i>M. rubrum</i> 92	0,15	0,04	0,0319	0,0305	0,0014	0,14
6	<i>M. perrugosum</i> 141	0,6	0,02	0,0316	0,0310	0,0006	0,06
7	<i>M. cineatum</i> 64	0,12	0,07	0,0323	0,0303	0,0020	0,20
8	Смещение 7 видов	0,83	0,65	0,0501	0,0423	0,0078	0,78

В целях изучения возможности применения активных видов микобактерий для рекультивации в 5%-загрязненную нефтью почву в лабораторных условиях была использована биомасса на фоне начального воздействия  $N_{90}P_{90}K_{60}$  (применяемого на Апшероне). В течение 60-ти суток, после каждых 15-ти суток в аппарате Сокслета путем экстракции было определено количество нефти в почве. В результате исследований было установлено, что после 15-ти суток количество нефти в почве составляло 4,8 г, после 30-ти суток – 3,9 г, после 45-ти суток – 2,8 г, после 60-ти суток – 2,4 г. (рис. 4.)

Проводимые исследования еще раз подтвердили, что если активные виды микобактерий использовать в комплексном виде, то можно постепенно достичь цели очистки нефтезагрязненных почв и сделать их пригодными для посева.

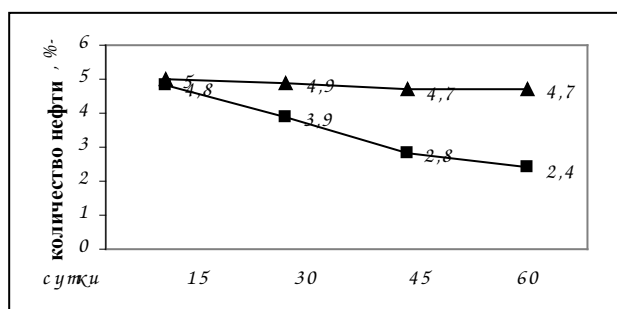


Рис. 4 Измерение количества нефти в почве в аппарате Сокслета в разные сутки (в процентах)

Таким образом, результаты проведенных нами научно-исследовательских работ подтвердили, что активные виды микобактерий, использованные в комплексе, оказались наиболее эффективными для очистки нефтезагрязненных почв. И что очень важно, постоянное использование комплекса активных видов микобактерий с целью очистки нефтезагрязненных почв сделает почву пригодной для посева.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Звягинцев Д.Г. Микроорганизмы и охрана почв. – М.: Изд. МГУ, 1989. – 204 с.
2. Исмаилов Н.М. Экологическая биотехнология в решении проблемы рекультивации нефтезагрязненных почв Апшеронского полуострова. Авт. дис. д.б.н. – Баку, 1996. – 41 с.
3. Исмаилов Н.М., Мамедьяров М.А. Проблемы нефтяной микробиологии // Нефт. пром. Азербайджана. – 1996. – № 12. – С. 1-9.
4. Исмаилов М.А., Мамедьяров М.А. Роль нефтеокисляющих микроорганизмов в разложении углеводородных соединений в нефтезагрязненной почве // II Бакинская Международная нефтехимическая конференция. – Баку, 1996. – С. 113.
5. Касимова Г.С. Об азотофиксирующих микобактериях выделенных из серо-бурых почв Апшерона //Сб. Изучение ресурсов макро и микрофлоры различных растений Большого Кавказа. – Баку: Изд. БГУ, 1988. – С. 3-6.
6. Красильников Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. – М.: Изд. АН СССР, 1958. – 460 с.
7. Федоров М.В., Калининская Т.А. Новый вид азотфиксирующих бактерий //Микробиология. – М.: ХХХ, 1961. – Вып. 1. – С. 9.
8. Додзин М.Е., Кожевин П.А., Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г. Способ выделения из почвы микроорганизмов. – М., 1987. – 190 с.
9. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М.: Изд. МГУ, 1983. – 220 с.
10. Нестеренко О.А., Квасников Е.И., Ногина Т.М. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии. – Киев: Наукова Думка, 1985. – 331 с.
11. Водопьянов В.В., Киреева Н.А., Онегова Т.С., Жданова Н.В. Моделирование биodeградации нефти в почве микроорганизмами // Экологическая и промышленная безопасность. – М., 2002. – С. 128-130.
12. Гириг И.Е. Поиск штаммов микроорганизмов – активных деструкторов нефтепродуктов. V Международная научно-практическая конференция Современные проблемы биологических повреждений материалов (Биоповреждения - 2002), Пенза, 19-20 ноября, 2002. Сб. ст. – Пенза: Изд-во Приват, 2002. – С. 3-5.

I. Babayeva

DISTRIBUTION MYCOBACTERIUM IN OIL-POLLUTED SOILS OF ABSHERON

*Abstract.* This investigation is devoted of mycobacterium of oil-polluted soils of Absheron.

Was isolated 31 species, belonging to Mycobacterium. 7 species – *M.luteum*, *M.flavum*, *M.paraffinicum*, *M.ceroformans*, *M.rubrum*, *M.perrugosum* and *M.cineatum* – of them are most active destructors, intensively oxidizing of oil carbohydrates. The biomass was prepared from these species. Was established that the application of a biological product in the form of a complex consisting of 7 species development the growth of wheat's grains and this application is directed to process of recultivation of oil-polluted soils.

*Key words:* mycobacterium, oil-polluted soils, species of mycobacterium, carbohydrates, biological product.