

Токпаева Ж.К., Акжигит уулу А., Тотубаева Н.Э.

**КУМТӨР КЕНИНДЕГИ КОРКУНУЧТУУ КАЛДЫКТАР ЖАТАГЫНЫН
ТОПУРАГЫНЫН МИКРОБИОЛОГИЯЛЫК АР ТҮРДҮҮЛҮГҮ**

Токпаева Ж.К., Акжигит уулу А., Тотубаева Н.Э.

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОЧВЫ ПОЛИГОНА
ОПАСНЫХ ОТХОДОВ РУДНИКА КУМТОР**

Zh.K. Tokpaeva, Akzhigit uulu A., N.E. Totubaeva

**MICROBIOLOGICAL DIVERSITY OF THE SOIL OF THE KUMTOR
MINE HAZARDOUS WASTE LANDFILL**

УДК: 579.69(575.2) (04)

Бул макалада 3600 м бийиктикте жайгашкан коркунучтуу калдыктар жатагынын топурагынын микроорганизмдерин изилденди жана алардын негизги түрлөрү аныкталды. Актиномицеттердин жана азоттун минералдык кошулмаларын сиңирүүчү микроорганизмдердин тобу аз санда кармалгандыгы изилденди; негизинен козу карындардын жана бактериялардын топтору байкалды. Мунайзат өнүмдөрү менен булганган топуракты микроорганизмдердин жардамы менен арылтуу мүмкүнчүлүгү көрсөтүлдү. Микроорганизмдердин культураларын удаа жана бир эле учурда киргизгенде мунайзат өнүмдөрүнүн кармалышы 50,1% жана 70,3% төмөндөдү.

Негизги сөздөр: топурак, микробиологиялык ар түрдүүлүк, мунайзат өнүмдөрү, консорциум, Кумтөр, бактериялар, микроскопиялык козу карындар.

В данной работе изучено микробиологическое разнообразие почвы полигона опасных отходов, расположенного на высоте более 3600 м н.у.м и определены ее представительные виды. Исследовано низкое содержание актиномицетов в сообществе с микроорганизмами, ассимилирующими минеральные соединения азота; доминирование бактериальных и грибных сообществ. Показана целесообразность использования микроорганизмов при загрязнении почвы нефтепродуктами. Эффективность снижения нефтепродуктов при последовательном и одновременном внесении культур микроорганизмов составило 50,1% и 70,3% соответственно.

Ключевые слова: почва, микробиологическое разнообразие, нефтепродукты, консорциум, Кумтөр, бактерии, микроскопические грибы.

In this paper, the microbiological diversity of the soil of a hazardous waste landfill located at an altitude 3600 m above sea level has been studied and its representative species have been identified. Low content of actinomycetes in the community with microorganisms assimilating mineral nitrogen compounds was studied; dominance of bacterial and fungal communities. The expediency of using microorganisms for soil contamination with oil products is shown. The effectiveness of reducing oil products with consistent and simultaneous introduction cultures of microorganisms was 50.1% and 70.3%, respectively.

Key words: soil, microbiological diversity, oil products, consortium, Kumtor, bacteria, microscopic fungi.

Почва – одна из наиболее сложных сред обитания на Земле, которая является совокупностью множества микросред существования разных организмов, в первую очередь микробов. За счет гетерогенности

почв и способности микроорганизмов дублировать функции друг друга почва сохраняет свою функциональность, однако в результате активной деятельности человечества утратой почвой лишь одного звена скажется на геохимических связях природной среды [1]. Поэтому, приоритетным направлением рационального природопользования является изучение почвенного разнообразия микроорганизмов; ведь отклики биоты дают представление не только о состоянии биоты, но и позволяют во многих случаях прогнозировать ее развитие, как экосистемы в целом [2].

С увеличением интенсивности деятельности золоторудного комбината Кумтөр на почвенную микрофлору возрастает нагрузка, связанная с разливами и утечками нефтепродуктов, которые в свою очередь являются одним из наиболее серьезных и трудно устранимых загрязнений. На руднике в 2015 году был введен в эксплуатацию полигон опасных отходов и только за год количество опасных отходов возросло с 110 тонн до 697,9 тонн из которых 162,9 тонны приходится на промасленную ветошь, а также грунта загрязненного нефтепродуктами [3]. Поскольку загрязнение почвы обусловлено производственной необходимостью, то полностью остановить этот процесс невозможно, но можно регулировать площадь техногенно нарушенных земель -полигонов, и тем самым сводить к минимуму негативные последствия путем биологического восстановления почвы.

В настоящее время наиболее перспективным методом для очистки нефтезагрязненных почв как в экономическом так и в экологическом плане является биотехнологический подход, основанный на использовании различных групп микроорганизмов, обладающих повышенной способностью к биодegradации нефти и продуктов её переработки. В процессах самоочищения почв от нефтяного загрязнения микроорганизмы играют определяющую роль [4]. В следствии этого особый интерес вызывает микробиологическое разнообразие высокогорных экосистем, почвенная микрофлора полигона опасных отходов и поиск потенциально активных штаммов-деструкторов углеводородов в суровых климатических условиях Кумтөра.

Объекты и методы исследования. Отбор почвенных проб был произведен из полигона опасных отходов рудника Кумтор, расположенного на высоте 3665 м н.у.м. Почвенные образцы отбирались из верхнего слоя (0-15 см) горизонта методом «конверта» с пробной площадки размером 1x1 м путем составления объединенной, пробы массой 400-500 г. Фоновый образец почвы был взят на расстоянии 2000м от полигона. Определение нефтепродуктов проводили гравиметрическим методом химического анализа в аккредитованной лаборатории ГАООСЛХ КР. рН почвы измеряли калибровочным HoriBa portable pH meter, В-213, в соотношении почвы и дистиллированной воды 1:2,5.

Микробиологический анализ включал в себя определение следующих систематических и физиологических групп микроорганизмов: аммонификаторов - на мясо-пептонном агаре (МПА); микроорганизмов,

усваивающих минеральный азот – на крахмалло-аммиачном агаре (КАА); актиномицетов – на КАА; микромицетов – на среде Чапека с рН=5,6. Идентификацию микроорганизмов проводили по культуральным, морфологическим и физиолого-биохимическим признакам [5, 6, 7, 8].

Изучение способности выделенных активных штаммов бактерий деградировать нефтепродукты проводили в лабораторных условиях. Опыт проводили в течение 30 суток, при комнатной температуре плюс 24-28°C, влажность почвы поддерживали на уровне 60%.

Результаты и обсуждения. Площадь полигона опасных отходов составляет 600 км из которых 50% площади по данным 2015 года не функционирует, промасленные пустые горные породы и почва составляют 20% отходов (рис. 1).

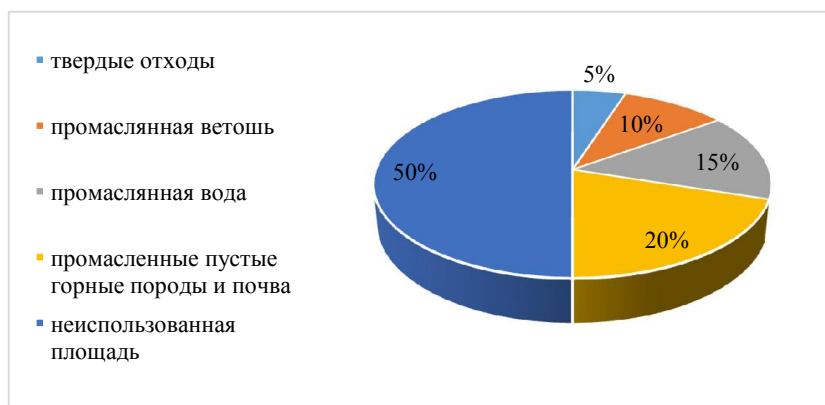


Рис. 1. Состав полигона опасных отходов, %.

По данным химического анализа содержания нефтепродуктов в образце почвы полигона составило 4760,5 мг/кг, а в образце фоновой почвы 320 мг/кг (рис. 2). Реакция почвенного раствора, влияющего на особенности функционирования микроорганизмов по аналитическим данным была нейтральной рН= 6,9.

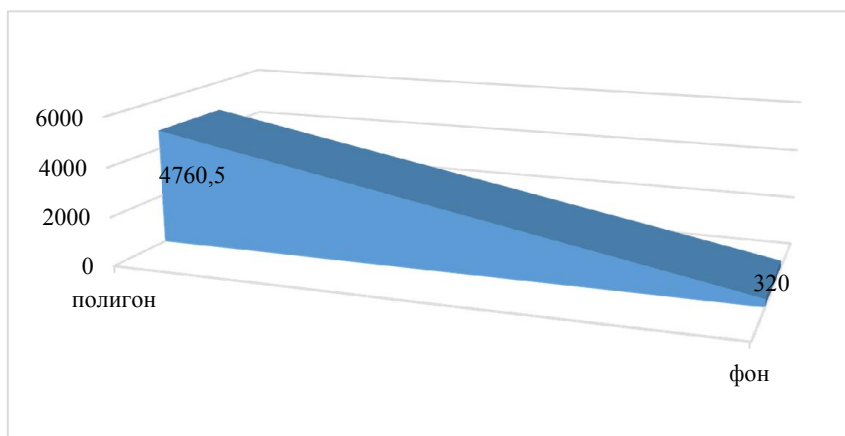


Рис. 2. Содержание нефтепродуктов в исследуемых образцах, мг/кг.

Особенность функционирования почвенной экосистемы полигона опасных отходов – низкое содержание актиномицетов в сообществе с микроорганизмами, ассимилирующими минеральные соединения азота; доминирование бактериальных и грибных сообществ (рис. 3). Результаты исследования сообществ актиномицетов показало, что эта группа не содержала большого видового разнообразия, и в основном была представлена секцией *Cinereus* рода *Streptomyces*, в незначительном количестве.

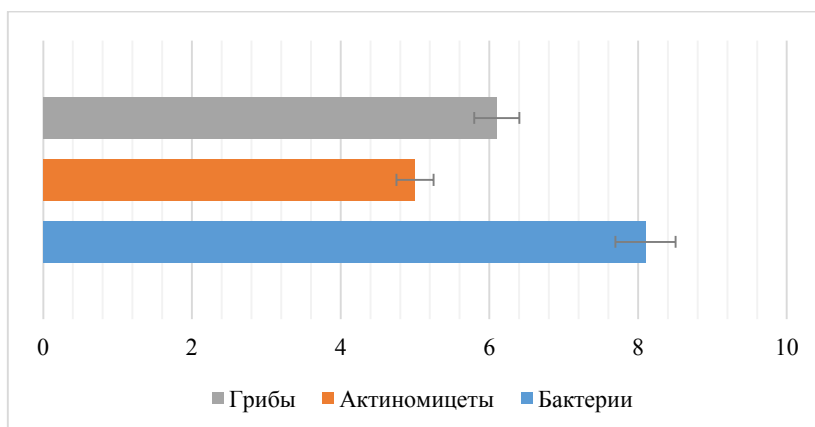


Рис. 3. Общая численность микроорганизмов, КОЕ/г почвы.

Анализ исследования динамики количества КОЕ к концентрации нефтепродуктов показал, что наибольшее количество КОЕ микроскопических грибов содержалось в пробе почвы полигона ($6,1 \cdot 10^5$ КОЕ/г почвы), в котором содержание нефтепродуктов составило 4760,5 мг/кг, в то время как в пробе фонового образца количество КОЕ составило ($2,1 \cdot 10^5$ КОЕ/г почвы), а содержание нефтепродуктов 320 мг/кг (рис. 4). Эти показатели свидетельствуют о высокой активности и потенциальной способности микромицетов к удалению нефтепродуктов из загрязненных сред. Анализ структурных изменений в сообществах грибов показал, что в почве образца полигона доминантными были грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*, в фоновой наряду с видами *Aspergillus*, *Penicillium* выделялись виды родов *Acremonium*, *Fusarium* и *Trichoderma*.

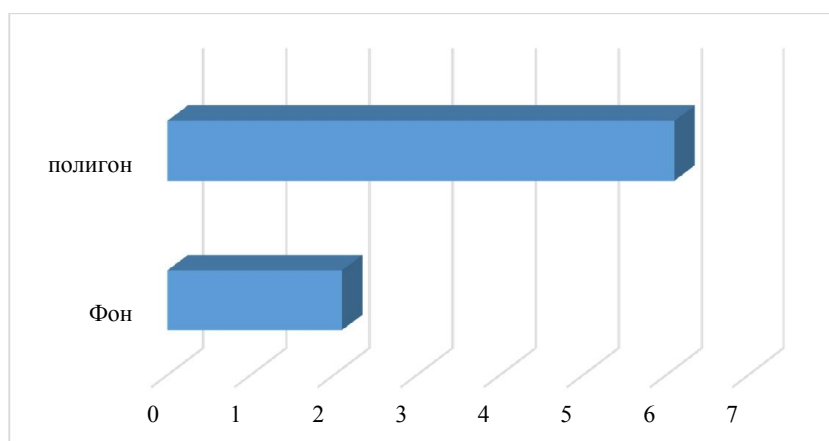


Рис. 4. Динамика количества КОЕ/г почвы.

Повышенное количество бактериальных форм микроорганизмов обнаруженных в нефтезагрязненных почвах полигона свидетельствует об устойчивости данной эколого-трофической группы к техногенным воздействиям. Таксономическая структура бактерий была незначительной и в основном представлена видами рода *Pseudomonas*, *Phodococcus*, *Flavobacterium*, *Bacillus* и *Nocardia*. Многими исследователями отмечено высокая способность бактерий рода *Pseudomonas*, *Phodococcus* и *Flavobacterium* к деструкции нефтепродуктов [9, 10].

При исследовании способности штаммов бактерий вида *Pseudomonas*, *Phodococcus* и *Flavobacterium* деградировать нефтепродукты использовали нативную почву полигона опасных отходов с месторождения Кумтор, в котором содержание нефтепродуктов составило 10440 мг/кг. Многими учеными была

доказана целесообразность применения бактериальных консорциумов по сравнению с использованием монокультур [11,12], поэтому нами было решено использовать консорциума аборигенных бактерий. Для обоснования использования консорциума, состоящего из трех культур был поставлен эксперимент по последовательному т.е через каждые 7 дней вносили по одной культуре микроорганизмов и одновременно внесению культур. Концентрацию нефтепродуктов измеряли в течение 30 дней. Наиболее эффективным оказалось одновременное внесение трех культур – степень деструкции нефтепродуктов составила 70%, тогда как при последовательном внесении культур – 50,1% (табл. 1). Одновременное внесение культур, возможно, способствует проявлению синергизма у трех штампов в отношении деструкции нефтепродуктов.

Динамика снижения нефтепродуктов, %

Опыт	Содержание нефтепродуктов до обработки, мг/кг	Содержание нефтепродуктов после 30 дней обработки, мг/кг	Эффективность снижения, %
Одновременное внесение культур	10440	3097	70,3
Последовательное внесение культур	10440	5110	50,1

Заключение. Наши исследования показали, что несмотря на климатические условия данного региона микроорганизмы вполне успешно справляются с ролью редуцентов, в частности, нефтепродуктов. Однако важно отметить, что микробиологическое разнообразие почв полигона скудно и в основном представлены лишь доминирующими представителями микроорганизмов, что свидетельствует о слабоустойчивости почвенной экосистемы по отношению к антропогенному прессингу.

Литература:

1. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. - М.: Изд-во МГУ, 1987. - С. 256.
2. Попутников Т.О., Терехова В.А., Яковлев А.С. Оценка негативного воздействия полигона ТБО на почвы по биотическим показателям. // Экология и промышленность России. - М., 2010.
3. Годовой отчет компании «Кумтор» об охране Окружающей среды и Устойчивом развитии за 2016 год. - Бишкек, 2016. - С. 60-62.
4. Гусев М.В., Коронелли Т.В. Изучение ассоциации цианобактерий и нефтеокисляющих бактерий в условиях нефтяного загрязнения. Журнал «Микробиология», №50(6). - М., 1981. - С. 1092-1097.
5. Красильников Н.А. Определитель бактерий и актиномицетов. - М., 1949.
6. Краткий определитель бактерий Берги / Под редакцией Хоуст Дж. - М.: Мир, 1980. - С. 495.
7. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П. и др. Определитель актиномицетов. Роды Streptomyces. - М: Наука, 1983.
8. Пидопличко Н.М. Грибы-паразиты культурных растений / Определитель. - Киев, 1972.
9. Barathi S., & Vasudevan N. Utilization of petroleum hydrocarbons by Pseudomonas fluorescens isolated from a petroleum-contaminated soil. Environmental International. - 2001. - 26(5-6). - С. 413-416.
10. Varjani S.J. Remediation processes for petroleum oil polluted soil. Indian J Biotechnology. - 2017. - 16. 0 С. 157-163.
11. Храмова Е.А., Мельникова А.А., Кадничанская В.А., Жардецкий С.С. Создание консорциума штаммов ризосферных бактерий pseudomonas mendocina/pacd и pseudomonas putida/pacd, продуцентов ацк-дезаминазы, для повышения устойчивости растений к абиотическим и биотическим стрессам. - Труды БГУ, 2015. - 10(1). - С. 98-103.
12. Чукпарова А.У. Итенсификация деградации нефтяных углеводородов с использованием монокультур и консорциумов микроорганизмов-нефтедеструкторов. Вестник КазНУ, №1(47), Серия биологическая. - Алматы, 2011. - С. 100-104.

Рецензент к.геогр.н., доцент Карамолдоев Ж.Ж.