

УДК 631.46:632.122.2:631.445(479.24)

СКРИНИНГ АКТИВНЫХ НЕФТЕДЕСТРУКТОРОВ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЗОН ГОРОДСКИХ ПОЧВ (НА ПРИМЕРЕ Г. БАКУ)

© 2024 г. С. И. Наджаfoва^{1,*}, Н. М. Исмайлoв¹¹Институт микробиологии министерства науки и образования Азербайджана
AZ 1004 Баку, ул. М. Мушвига, 103, Азербайджан

*E-mail: nadjafovas@yahoo.com

Провели скрининг активных культур углеводородразлагающих микроорганизмов из почв различных функциональных зон г. Баку. Показано, что выделенные в результате непрерывного скрининга 15 культур углеводородразлагающих микроорганизмов относились к родам *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Micrococcus* и были способны использовать различные углеводороды (сырую нефть, парафиновые и ароматические углеводороды и нефтепродукты) в качестве единственного источника углерода и энергии. По степени разлагаемости нефтяные углеводороды ранжировали в ряду: смесь парафинов > нефтепродукты > ароматические углеводороды > сырая нефть, при этом наиболее активными были штаммы микроорганизмов, выделенные из почв промышленной и транспортной зон г. Баку, по сравнению с почвами рекреационной зоны. Выделенные активные штаммы можно считать перспективными для создания биопрепаратов для увеличения устойчивости почв к загрязнителям и активизации процессов самоочищения уже загрязненных почв.

Ключевые слова: деструктивная активность, нефтезагрязнения, штаммы-деструкторы нефтепродуктов.

DOI: 10.31857/S0002188124060098, **EDN:** CXDFEM

ВВЕДЕНИЕ

Баку – столица Республики Азербайджан, крупный промышленный центр, занимающий весь Апшеронский п-ов и примыкающие участки морских и наземных нефтепромыслов и включающий острова Бакинского и Апшеронского архипелагов.

На Апшеронском полуострове эксплуатируются >150 месторождений полезных ископаемых, вблизи расположения которых сильно нарушены природная структура почв, условия развития растительности и животного мира. Например, на Апшеронском п-ве площадь техногенно загрязненных земель составляет: битуминизированных – 7475, замазученных – 5525, загрязненных кислотнo-щелочными отходами – 750, свалок – 800, песков, пропитанных нефтью, – 650, песков, загрязненных отработанным маслом, – 375 га, площадь водоемов, загрязненных отходами нефти, – >1325 га [1].

Самоочищающую способность природных ландшафтов, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, определяет, в первую очередь, ассимиляционный потенциал почв [2–4], от которого зависит потенциал их восстановления в случае загрязнения [5]. Хотя в процессе ассимилирования углеводородов участвуют не только

микроорганизмы, однако по сравнению с растениями и животными в этом процессе несомненно ведущая роль принадлежит почвенным микроорганизмам [6, 7], т.к. высокая активность их обменных процессов и способность быстро адаптироваться к новым условиям существования позволяет им использовать самые разнообразные органические вещества в качестве источника углерода. Загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами вносит дополнительный источник углерода в экосистему, что является стимулом для развития углеводородокисляющих бактерий, поэтому в загрязненных экосистемах численность этой группы бактерий бывает всегда больше по сравнению с чистыми. Эта группа микроорганизмов способна потреблять различные углеводороды в качестве субстрата для своего роста как непосредственно, так и в процессе соокисления, способствуя углублению процесса самоочищения почвы. Принимая во внимание значимость углеводородокисляющих микроорганизмов в самоочищении почв от загрязнения нефтью и нефтепродуктами (НП), цель работы заключалась в выделении углеводородокисляющих микроорганизмов из почв и определение их активности по отношению к загрязнению нефтяными углеводородами почв г. Баку.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования – серо-бурые почвы (согласно классификации WRB – Gypsisols) из различных функциональных зон г. Баку. Образцы почв отбирали методом конверта в различных зонах г. Баку: на территориях нефтепромыслов (Баил, Сураханы, Балаханы, Бинагади, Лок-Батан, Биби-Эйбат), в транспортной зоне (просп. Метбуат, Тбилиси, Азадлыг, ул. 28 Мая, просп. Нефтяников, Бабека, Г. Алиева, Н. Нариманова, Зыхское шоссе) и в рекреационной зоне (Ботанический сад, Приморский и Ясамальский парки) [8].

Углекислородоокисляющие бактерии выделяли высевом на твердую минеральную среду Раймонда с внесением *n*-гексадекана в качестве источника углерода и энергии [9].

Определение способности штаммов потреблять различные углеводороды (сырую нефть, парафиновые и ароматические углеводороды) и нефтепродукты (керосин, бензин) проводили в модельных экспериментах в колбах на качалках с 50 мл жидкой минеральной среды Раймонда. В колбы вносили соответствующие углеводороды и НП в количестве 2 мл/100 мл среды. Колбы располагали на круговых качалках и культивировали бактерии в течение 72 ч. Через определенные промежутки времени из колб отбирали пробы для определения роста микроорганизмов. По показателю оптической плотности среды (оптическую плотность определяли на нефелометре) судили о степени использования углеводородов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования было выделено 187 культуры микроорганизмов: из нефтезагрязненных почв – 86, из придорожных почв автомагистралей с интенсивным движением автотранспорта – 57, из чистых почв парков и скверов – 44, из которых путем первичного скрининга по интенсивности роста на среде Раймонда отобрали 27 активных

штаммов: из нефтезагрязненных почв – 15, из придорожных почв – 7, из чистых почв – 5 (табл. 1).

Далее из 27-ми штаммов микроорганизмов отобрали наиболее активные штаммы: из нефтезагрязненных почв – 8, из придорожных – 5, из чистых – 2. Выделенные в результате непрерывного скрининга микроорганизмы относились к родам *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*.

У всех штаммов исследована способность к потреблению сырой нефти, парафиновых и ароматических углеводородов, а также нефтепродуктов – бензина и керосина.

На рис. 1 показана интенсивность потребления *n*-гексадекана штаммами микроорганизмов, выделенных из почв различных зон (нефтезагрязненных, транспортных, парковых) в качестве источников углерода и энергии.

Показано, что наиболее активными были штаммы микроорганизмов, выделенные из почв промышленной и транспортной зон г. Баку, по сравнению с почвами рекреационной зоны.

Установлено, что все выделенные 15 культур углеводородразлагающих микроорганизмов были способны расти на смеси *n*-парафинов C₁₂–C₁₈, потребление же остальных определялось природой субстрата: например, разложение ароматических фракций углеводородов наблюдали реже (42% штаммов), чем разложение парафинов и нефтепродуктов (40–100% штаммов).

На рис. 2 показана способность одного из активных штаммов – *Pseudomonas* sp.11 на жидкой среде Раймонда при непрерывном культивировании потреблять парафиновые углеводороды, сырую нефть и нефтепродукты.

Показано, что выделенный штамм потреблял все исследованные источники углеводородов. Наилучший рост был на смеси *n*-парафинов C₁₀–C₁₈, наиболее слабый – на сырой нефти. Известно, что в составе сырой нефти имеются

Таблица 1. Культуры углекислородоокисляющих бактерий, выделенные из почв различных районов г. Баку

| Почвы | Количество штаммов, растущих на <i>n</i> -C ₁₆ |
|--|---|
| Нефтезагрязненные (районы нефтепромыслов Баил, Сураханы, Балаханы, Бинагади, Лок-Батан, Биби-Эйбат) | 86 |
| Придорожные около автомагистралей (просп. Метбуат, Тбилиси, Азадлыг, ул. 28 Мая, просп. Нефтяников, Бабека, Г. Алиева, Н. Нариманова, Зыхское шоссе) | 57 |
| Чистые (Центральный ботанический сад, Приморский парк, парки Деде Коркуд, им. Низами, им. Г. Алиева, им. Шахрияра, парк около озера, Ясамальская долина) | 44 |
| Всего | 187 |

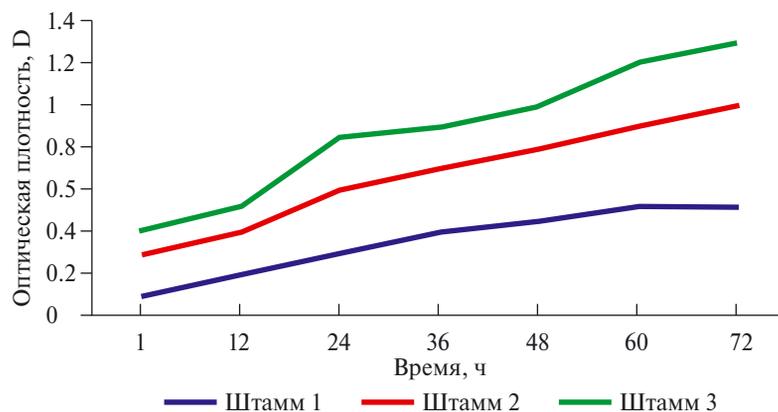


Рис. 1. Потребление *n*-гексадекана микроорганизмами, выделенными из почв различных зон г. Баку. Штаммы 1, 2, 3 выделены соответственно из парковой, транспортной и промышленной зон г. Баку.

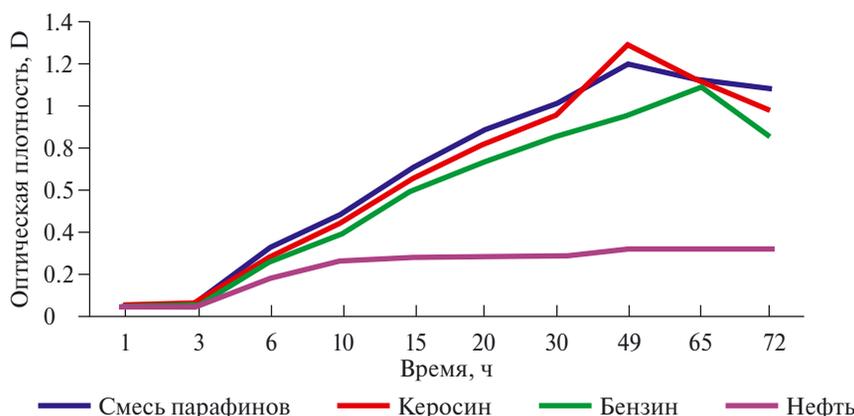


Рис. 2. Потребление штаммом *Pseudomonas* sp.11 сырой нефти, парафиновых углеводородов и нефтепродуктов.

парафиновые, циклопарафиновые и ароматические углеводороды. Все эти углеводороды различной химической структуры присутствуют и в нефтепродуктах в тех или иных количествах. В этой связи представляло интерес изучение закономерности разложения данным штаммом индивидуальных углеводородов различной химической структуры.

Биодеградация парафинов и ароматических углеводородов различной структуры и длины цепи штаммом *Pseudomonas* sp.11 представлены на рис. 3а.

Показано, что все испытанные *n*-парафиновые углеводороды потреблялись штаммом *Pseudomonas* sp.11 в качестве источников углерода и энергии. Интенсивность потребления однозначно коррелировала с длиной углеводородной цепи: с удлинением цепи интенсивность потребления парафиновых углеводородов микроорганизмами нефтезагрязненных почв повышалась вплоть

до *n*-гексадекана, который деградировал наиболее интенсивно по сравнению с другими исследованными парафинами. Октадекан утилизировали несколько слабее *n*-гексадекана, однако лучше, чем углеводороды C_8-C_{10} .

Показано (рис. 3б), что все испытанные индивидуальные ароматические углеводороды потреблялись активной культурой, за исключением *o*-ксилола, т.е. интенсивность использования углеводородов зависела от структуры ароматического субстрата. Однозамещенные бензольного ядра — бензол и толуол использовались слабее, чем двухзамещенные бензола — *meta*- и *para*-ксилолы, мезитилен, этилбензол.

Наличие в почвах таких групп микроорганизмов, способных разлагать углеводороды нефти, объясняется тем, что в г. Баку почвенный покров непрерывно загрязняется углеводородами и нефтепродуктами.

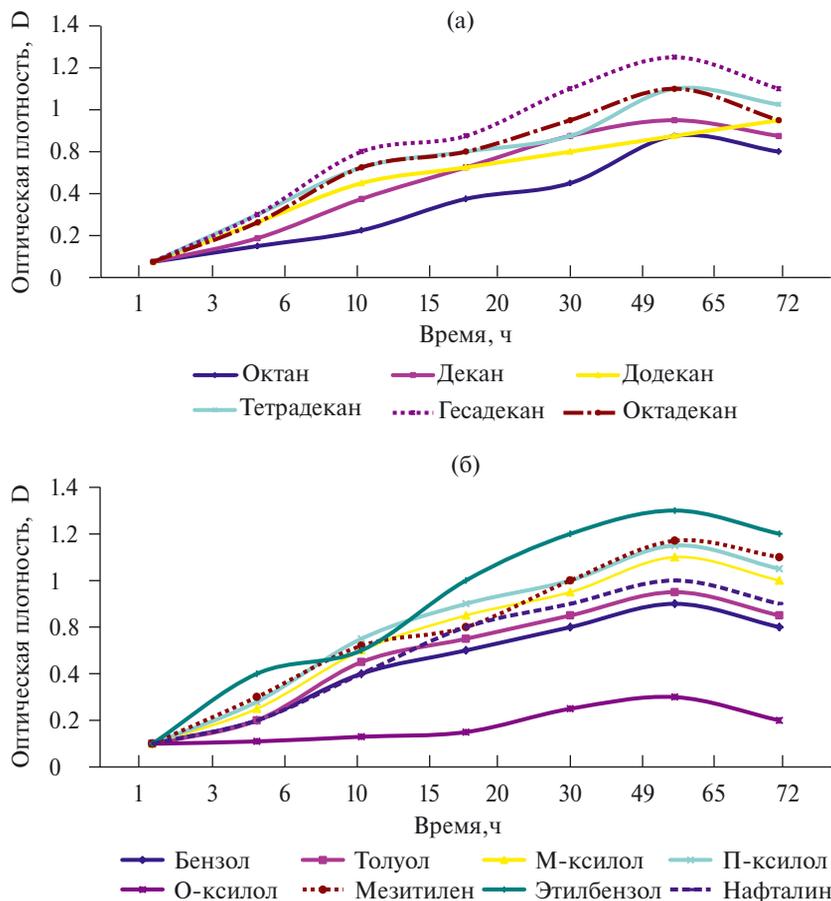


Рис. 3. Потребление штаммом *Pseudomonas* sp.11: (а) – *n*-парафинов различной длины цепи, (б) – моно- и бициклических ароматических углеводов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате скрининга микроорганизмов-деструкторов нефтепродуктов было отобрано 15 наиболее активных штаммов из 187 культур, 8 из которых были выделены из нефтезагрязненных почв, 5 – из придорожных почв и 2 – из чистых почв.

У всех штаммов исследовали способность к потреблению сырой нефти, парафиновых и ароматических углеводов, а также нефтепродуктов – бензина и керосина. Показано, что все выделенные микроорганизмы были способны расти на смеси *n*-парафинов C_{12} – C_{18} , потребление же остальных определялось природой субстрата: например, разложение ароматических фракций углеводов наблюдало реже (42% штаммов), чем разложение парафинов и нефтепродуктов (40–100% штаммов), при этом наиболее активными были штаммы микроорганизмов, выделенные из почв промышленной и транспортной зон г. Баку, по сравнению с почвами рекреационной зоны. Исследованные углеводороды по степени разлагаемости ранжировали в ряду: смесь парафинов > нефтепродукты > ароматические углеводороды > сырая нефть.

Таким образом, полученные данные свидетельствовали, что в составе микробиоценоза изученных городских почв г. Баку имеются микроорганизмы различных физиологических групп, способные использовать нефтяные углеводороды, а также о том, что в почвах города происходят процессы самоочищения почв, однако их интенсивность недостаточно высока, т.к. в условиях сухих субтропиков г. Баку формируются наихудшие гидротермические условия для процессов микробиологической минерализации компонентов нефти.

С научной и практической точек зрения вопрос о вероятности управления данными процессами с целью повышения устойчивости городских почв Баку и усиления степени актуальной самоочищающей способности почв от нефти и нефтепродуктов, загрязняющих почвенный покров города, сохраняет свою актуальность. Выделенные активные штаммы можно считать перспективными для создания биопрепаратов для увеличения устойчивости почв к загрязнителям и активизации процессов самоочищения уже загрязненных почв, в том числе и Апшеронского полуострова.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Исмаилов Н.М., Наджафова С.И., Гасымова А.* Апшеронский промышленный регион – факторы экологической напряженности // *Аридн. экосист.* 2015. Т. 21. № 3(64). С. 92–100.
2. *Исмаилов Н.М., Наджафова С.И., Кейсерухская Ф., Гасымова А.С.* К вопросу о показателе ассимиляционного потенциала почв как составной части паспорта почв и ассимиляционного потенциала ландшафтов // *Аридн. экосист.* 2020. Т. 26. № 1(82). С. 69–75.
DOI: 10.24411/1993-3916-2020-10085
3. *Исмаилов Н.М., Наджафова С.И.* Оценка экологических рисков эксплуатации магистральных нефтепроводов на территории Азербайджана с точки зрения биогеоустойчивости почв к загрязнению сырой нефтью // *Вестн. МГУ. Сер. 17: Почвовед.* 2022. № 3. С. 93–100.
4. *Коршунова Т.Ю., Четвериков С.П., Бакаева М.Д.* Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор) // *Прикл. биохим. и микробиол.* 2019. Т. 55. № 4. С. 338–349.
DOI: 10.1134/S0555109919040093
5. *Babaev M.P., Ismailov N.M., Nadzhafova S.I., Keiserukhskaya F.Sh., Orudzheva N.I.* Approaches to determining maximum permissible concentrations of oil and oil products for different soil types on the basis of the assimilation potential (by the example of Azerbaijan soils) // *Euras. Soil Sci.* 2020. V. 53. № 11. P. 1629–1634. DOI: 10.1134/S1064229320110046
6. *Поляк Ю.М., Сухаревич В.И.* Почвенные ферменты и загрязнение почв: биodeградация, биоремедиация, биоиндикация // *Агрохимия.* 2020. № 3. С. 83–93. DOI: 10.31857/S0002188120010123
7. *Наджафова С.И., Кейсерухская Ф.Ш., Исмаилов Н.М.* Оценка биогенных ресурсов ассимиляционного потенциала основных типов почв Азербайджана в отношении органических загрязнений // *Агрохимия.* 2022. № 5. С. 85–93.
DOI: 10.31857/S0002188122050064
8. ГОСТ 28168-89. Почвы. Отбор проб. М.: Изд-во стандартов, 2008. 7 с.
9. *Звягинцев Д.Г.* Практикум по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусова. М.: Издательский центр “Академия”, 2005. 267 с.

Screening of Active Oil Destructors from Various Zones of Urban Soils (on the Example of Baku)

S. I. Nadjafova^{a, #}, N. M. Ismaylov^a

^a*Institute of Microbiology of the Ministry of Science and Education of Azerbaijan,
M. Mushviq str. 103, Baku AZ 1004, Azerbaijan*

[#]*E-mail: nadjafovas@yahoo.com*

Active cultures of hydrocarbon-decomposing microorganisms from soils of various functional zones of Baku were screened. It was shown that 15 cultures of hydrocarbon-decomposing microorganisms isolated as a result of continuous screening belonged to the genera *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Arthrobacter*, *Micrococcus* and were able to use various hydrocarbons (crude oil, paraffin and aromatic hydrocarbons and petroleum products) as the only source of carbon and energy. According to the degree of decomposition, petroleum hydrocarbons were ranked in the series: a mixture of paraffins > petroleum products > aromatic hydrocarbons > crude oil, while the most active strains of microorganisms were isolated from the soils of the industrial and transport zones of Baku, compared with the soils of the recreational zone. The isolated active strains can be considered promising for the creation of biological products to increase soil resistance to pollutants and activate the processes of self-purification of already contaminated soils.

Keywords: destructive activity, oil pollution, strains-destructors of petroleum products.