

А. А. ХАЧАТУРЯՆ

РАСПРОСТРАНЕНИЕ УГЛЕВОДОРОДУСВАИВАЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВАХ АРМЕНИИ

Микроорганизмы, усваивающие углеводороды, явились в последние годы предметом исключительного практического значения.

Благодаря тесному содружеству микробиологов с химиками и инженерами-технологами, были выполнены весьма ценные работы, и ныне углеводородусваивающие микроорганизмы используются в производстве белково-витаминных концентратов из нефтепродуктов и природного газа. В этом отношении известны работы немецких и французских авторов, связанные с использованием дрожжевых организмов, усваивающих углеводороды и накапливающих в биомассе существенно важные аминокислоты и витамины [14, 16].

Весьма перспективными оказались углеводородусваивающие микроорганизмы и при очистке промывных вод в производстве бурых углей. В ряде стран существуют производственные установки, на которых успешно осуществляется этот процесс, причем получаемая биомасса микроорганизмов используется как органическое удобрение, а также и как ценная кормовая добавка.

Очень перспективным представляется использование углеводородусваивающих микроорганизмов для целей денарафинирования нефти, называемого также часто процессом «облагораживания» нефти [13]. Следует отметить и весьма важную в практическом отношении работу Рейно с сотрудниками [18], которые использовали культуру неспороносной бактерии, усваивающей ароматические углеводороды, для микробиологической дефенолизации сточных вод газоложного производства Франции.

В настоящее время в ряде стран интенсивно изучаются как многие вопросы механизма усваивания углеводородов различными видами микроорганизмов [15, 17], так и разнообразные пути их практического использования. Заслуживают особого внимания интенсивные исследования многих авторов по выявлению возможностей использования углеводородов для замены углеводородистого сырья в микробиологическом производстве аминокислот, жирных кислот, антибиотиков и других физиологически активных соединений [12, 19].

В течение многих лет изучение углеводородусваивающих микроорганизмов привлекает большое внимание в целях разработки методов микробиологической индикации для выявления месторождений нефти и газа [8, 9, 10]. В свете изложенного особый интерес представляет изучение экологии микроорганизмов, усваивающих углеводороды и выявление

ние таксономической принадлежности организмов, обладающих этими свойствами.

Указанные вопросы изучаются нами с 1963 г., причем в работе использовались образцы разных типов почвы Армении с различной растительностью. В данной работе мы попытались изучить в условиях чрезвычайно богатого разнообразия почвенно-климатических зон Армении особенности экологии углеводородусваивающих микроорганизмов. Особое внимание нами было уделено выявлению таксономической приуроченности этих микроорганизмов, а также специфики отношения их к отдельным группам углеводов.

Работа выполнена в лаборатории бактериальных метаболитов Института микробиологии АН АрмССР, под руководством канд. биол. наук Э. К. Африкяна.

Материал и методы исследований. Всего нами был обследован 171 образец разных типов почв из 17 районов АрмССР. Почвенные образцы были получены от кафедры агрохимии и почвоведения Ереванского гос. университета, а также из Института почвоведения и агрохимии МСХ АрмССР. Эти образцы отражали все основные эколого-почвенные зоны, причем были анализированы образцы, занятые разным растительным покровом, окультуренные и неокультуренные почвы.

Сравнительная оценка разных типов почв на содержание углеводородусваивающих микроорганизмов проводилась анализом образцов, взятых с активного пахотного слоя почвы на глубине 0—20 см. Одновременно у наиболее типичных почв был проведен анализ по различным глубинам, отражающим характерные слои для обследуемого типа почвы.

Обследованные образцы представляли следующие основные типы почв: бурные, каштановые, черноземные, горно-луговые, лесные и торфянисто-болотистые. Описание обследованных нами почв АрмССР достаточно полно дано в работах Б. А. Клопотовского, Х. П. Миримаяна и других авторов [2, 4].

Качественный и количественный анализ на содержание углеводородусваивающих микроорганизмов в обследованных образцах почв осуществлялся следующим образом. Посев почвенной навески производился из ее разводки, с пастеризацией при 80°, в течение 10 минут (для выделения спорообразующих бактерий), и без пастеризации в синтетическую питательную среду следующего состава: K_2HPO_4 —7,0, KH_2PO_4 —3,0, $(NH_4)_2SO_4$ —1,0, $MgSO_4$ —0,1, $NaCl$ —0,5, вода водопроводная—1 л, pH среды—7,0.

В качестве единственного источника углерода добавлялась смесь алифатических углеводородов (гексан, гептан, гексадекан, гептадекан) с конечной концентрацией около 1%. В работе применялись почвенные разводки 1 : 50, откуда в каждую пробирку с 5 мл среды вносилось по 0,5 мл суспензии почвенного образца. Пробирки размещались на круговую качалку и инкубировались 3—6 суток при 27°C. Результаты опыта учитывались ежедневно.

Далее, работа велась по типу накопительной культуры. На первом

этапе, как правило, имелся обильный рост смешанной популяции культур, вызванный наличием питательных веществ, вносимых с почвой. Это может служить источником ошибочного заключения о наличии большого числа культур, усваивающих алифатические углеводороды. Поэтому в процессе наших исследований производились последовательные пассажы выросших микроорганизмов, рассевы на МПА в чашках Петри, выделение их в чистую культуру и окончательная проверка углеводородусваивающей способности в чистой культуре.

Обсуждение результатов. Изучение вопросов эколого-географического распространения углеводородусваивающих микроорганизмов нельзя вести в отрыве от работ по разработке общих проблем экологии микроорганизмов и учения о микробных ассоциациях почвы. Фундаментальными работами Е. Н. Мишустина [5, 7], Н. А. Красильникова [3] и других советских авторов было развито учение о микробных ассоциациях почвы в различных почвенно-климатических условиях. Закон зональности почв В. В. Докучаева нашел в работах по экологии почвенных микроорганизмов весьма убедительное подтверждение.

К сожалению, мы не располагаем данными, касающимися систематического изучения вопросов экологии углеводородусваивающих микроорганизмов. В этом отношении нам представляется ценным материал исследований почв Армении с их выраженной вертикальной зональностью почвенно-климатических факторов.

В результате проведенных анализов углеводородусваивающие микроорганизмы были выделены из всех обследованных районов республики. В целом из 128 почвенных образцов нами выделено всего 221 культура. В остальных 48 образцах интересующие нас микроорганизмы обнаружены не были.

По систематическому распределению материал выделенных культур характеризуется следующим образом: бактерии—90 (в том числе *Pseudomonas*—35), микобактерии—103, проактиномицеты—6, актиномицеты—15, грибы—7. Как видно из приведенных данных, на первом месте по количеству выделенных штаммов стоят микобактерии и бактерии группы *Pseudomonas*, реже встречаются актиномицеты, проактиномицеты и грибы. Здесь следует оговориться, что фактическое распространение в обследованных почвах углеводородусваивающих микроорганизмов вероятно больше, ибо условия их выявления были одинаковыми для физиологически разных групп, что не могло не отразиться на количественных показателях.

Важно отметить, что несмотря на примененную специальную методику, ни в одном образце не выделилось ни одного штамма спорообразующих бактерий. Эти данные не противоречат утверждению Н. Д. Перусалимского и Г. К. Скрыбина о том, что среди многочисленных культур грамположительных бактерий не нашлось ни одной, усваивающей парафиновые углеводороды [1]. Единственное упоминание о способности усваивать углеводороды одним штаммом спорообразующей бактерии, сходной с *Bac. lentus*, мы нашли в работе японских исследователей [20].

При рассмотрении распространения углеводородусваивающих микроорганизмов в разных типах почв Армении результаты анализов всех почвенных образцов мы сгруппировали по шести основным почвенным типам.

Таблица
Распространение углеводородусваивающих микроорганизмов
в разных типах почв Армянской ССР

Типы почв	Всего почвен. образцов	Из них		Всего культур/среднее на 1 образец	Всего культур по разным группам						
		выделено углев. усв. микроорг.	не выделено углев. усв. микроорг.		Bacterium	Pseudomonas	Bacillus	Mycobacterium	Proactinomyces	Actinomyces	Fungi
Бурые	45	28	17	61/1,4	14	13	0	19	2	9	4
Каштановые	27	24	3	40/1,5	13	3	0	20	1	2	1
Черноземные	24	18	6	39/1,7	15	5	0	16	2	1	0
Горно-луговые	24	21	3	37/1,6	7	8	0	18	1	2	1
Лесные	43	29	14	36/0,9	6	6	0	23	0	1	0
Торфянисто-болотистых	8	8	0	8/1	0	0	0	7	0	0	1

Как показывают данные таблицы, наибольшее количество углеводородусваивающих микроорганизмов выделяется из черноземных и горно-луговых почв, несколько меньше — из бурых и каштановых и еще меньше — из лесных и торфянисто-болотистых. Такое распределение закономерно, ибо общий количественный состав почвенной микрофлоры также должен быть богаче в черноземных и горно-луговых почвах, как более структурных, мощных и богатых гумусом, и беднее в бурых, каштановых и других типах почв [6]. По таксономическим группам углеводородусваивающих микроорганизмов во всех типах почв преобладают микробактерии; бактерии чаще всего встречаются в черноземных, несколько реже — в бурых, каштановых и горно-луговых, меньше — в лесных почвах и отсутствуют в торфянисто-болотистых; актиномицетов больше всего в бурых почвах, в остальных типах они встречаются редко, а в торфянисто-болотистых — отсутствуют.

Рассматривая число углеводородусваивающих микроорганизмов, выделенных из почвенных образцов разных глубин, следует отметить, что по отдельным типам почв мы получаем различную картину. Так, в бурых и каштановых почвах (рис. 2) максимальное количество штаммов всех групп углеводородусваивающих микроорганизмов выделяется из поверхностных слоев (0—20 см). Количество этих организмов значительно уменьшается на глубине до 50—100 см. Преобладание числа штаммов в поверхностном слое может быть объяснено тем, что бурые и каштановые почвы являются маломощными, и в их более глубоких слоях создаются недостаточно аэробные условия.

Как известно, обогащение почвы микробным населением в глубинных слоях тем сильнее, чем больше мощность гумусового горизонта почвы.

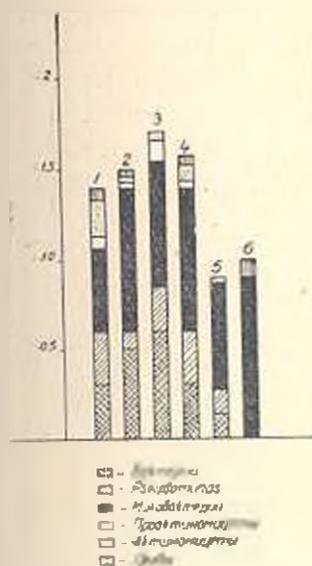


Рис. 1. Распространение углеводородуснаивающих микроорганизмов в различных типах почв Армении (по вертикали отложено среднее количество выделенных штаммов углеводородуснаивающих микроорганизмов из одного почвенного образца).
1—бурые почвы; 2—каштановые; 3—черноземные; 4—горно-луговые; 5—лесные; 6—торфянисто-болотистые.

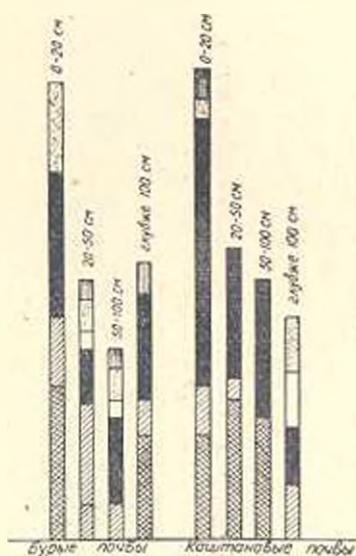


Рис. 2. Распространение углеводородуснаивающих микроорганизмов в разных почвенных горизонтах бурых и каштановых почв (масштаб и обозначения те же, что и на рис. 1).

В черноземных и горно-луговых почвах (рис. 3) количество выделенных штаммов почти одинаково до глубины 100 см, а глубже микроорганизмы почти не встречаются. Здесь характерно преобладание числа штаммов бактерий на глубине 20—30 см, а микобактерий — на глубине 50—100 см.

В лесных почвах (рис. 4) углеводородуснаивающие штаммы встречаются по сравнению с другими типами почв реже, и число обнаруживаемых штаммов постепенно уменьшается по мере углубления взятия почвенного образца. В нашей работе не производилось специального выделения грибов, и поэтому их место в общем составе микрофлоры лесных почв не отражено.

В торфянисто-болотистых почвах (рис. 4) во всех слоях выделено одинаковое количество штаммов, относящихся почти исключительно к микобактериям. Из слоев почвы глубже 100 см углеводородуснаивающих штаммов не выделено. Бросается в глаза однородность состава микрофлоры и малое количество выделенных штаммов.

Нет сомнения, что глубинное распределение углеводородусваивающих культур обуславливается режимом аэрации отдельных типов почв, так как усваивание углеводов связано с окислительными процессами и требует наличия достаточного количества кислорода в среде.

В отношении влияния окультуренности почвы и разных типов растительности на встречаемость углеводородусваивающих микроорганиз-

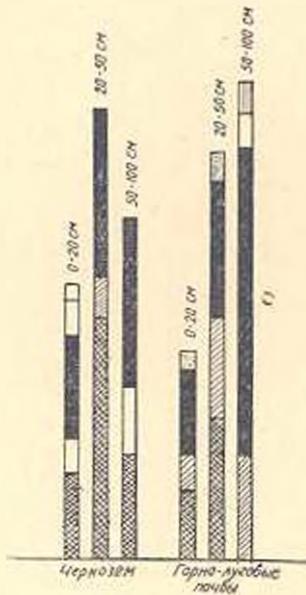


Рис. 3. Распространение углеводородусваивающих микроорганизмов в разных почвенных горизонтах черноземных и горно-луговых почв (масштаб и обозначения те же, что и на рис. 1).

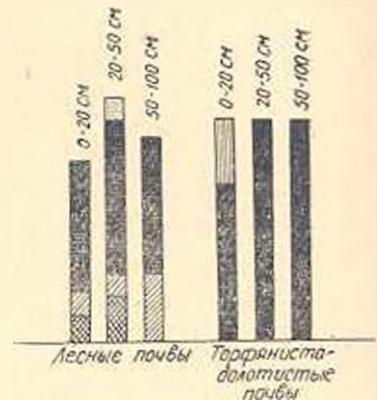


Рис. 4. Распространение углеводородусваивающих микроорганизмов в разных почвенных горизонтах лесных и торфянисто-болотистых почв (масштаб и обозначения те же, что и на рис. 1).

мов из наших данных намечаются следующие закономерности (рис. 5, 6, 7, 8). Число выделенных штаммов в окультуренных почвах почти всех типов вдвое или более превышает таковое из неокультуренных почв. Исключение составляет чернозем, в котором, — в варианте под луговой степью с довольно богатой травянистой растительностью, — число выделенных штаммов фактически равняется количеству их в почве, занятой посевами пшеницы. Особенно много штаммов выделено из окультуренных почв под хлопчатником, виноградниками, пшеницей и кукурузой. Эти данные находятся в соответствии с заключениями многих авторов о большом влиянии степени окультуренности почв на численность микрофлоры и ее видовой состав.

Интересен характер встречаемости углеводородусваивающих штаммов в неокультуренных лесных почвах под разными типами естественной растительности. Больше всего штаммов выделено из почвенных образцов, взятых в буковом лесу, несколько меньше — в дубовом, сосновом лесах и в почвах разнотравной ассоциации. Намного меньше штаммов выделено из почвы грабового леса и в целинной почве лесного типа. В наших данных обращает на себя внимание также повышенная встречаемость штаммов углеводородусваивающих микроорганизмов в почвах бу-

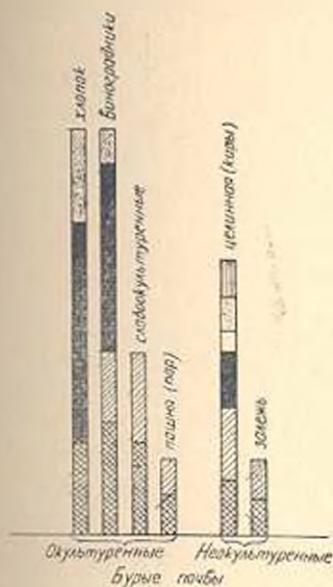


Рис. 5. Распространение углеводородсвязывающих микроорганизмов в бурьх почвах разной степени окультуренности и под различной растительностью (масштаб и обозначения см. рис. 1).

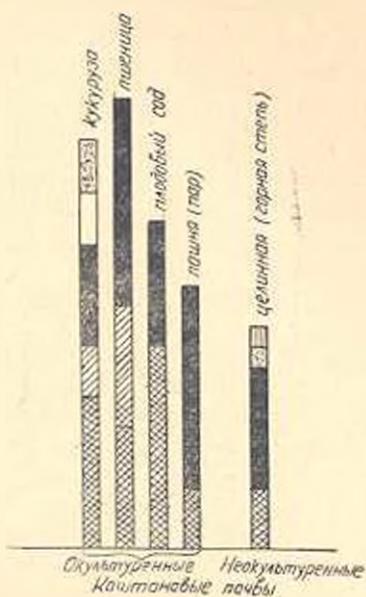


Рис. 6. Распространение углеводородсвязывающих микроорганизмов в каштановых почвах разной степени окультуренности и под различной растительностью (масштаб и обозначения см. рис. 1).

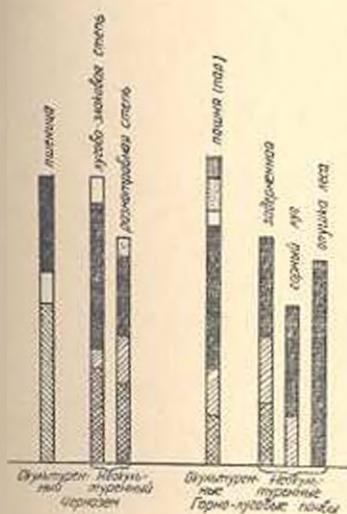


Рис. 7. Распространение углеводородсвязывающих микроорганизмов в черноземных и горно-луговых почвах разной степени окультуренности и под различной растительностью (масштаб и обозначения см. рис. 1).

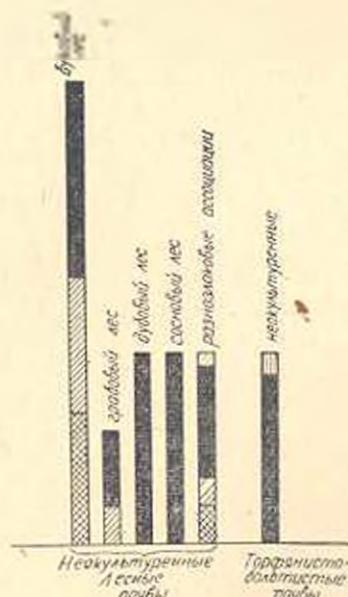


Рис. 8. Распространение углеводородсвязывающих микроорганизмов в лесных и горно-болотистых почвах разной степени окультуренности и под различной растительностью (масштаб, и обозначения см. рис. 1).

кового леса. По-видимому, характер корневых выделений бука способствует развитию именно этих микробов.

Приведенные выше данные наводят на мысль о том, что распространение углеводородсвоявающих микроорганизмов коррелирует с распределением отдельных таксономических групп и видов микроорганизмов почв в разных эколого-географических условиях.

В ы в о д ы

1. Обследован 171 образец всех основных типов почв из разных эколого-географических условий Армянской ССР и изучена экология углеводородсвоявающих микроорганизмов в зависимости от характера растительного покрова почвы и глубины залегания почвенного слоя.

2. Выделенные и изученные штаммы углеводородсвоявающих микроорганизмов таксономически распределяются следующим образом: бактерий—90 (в том числе *Pseudomonas*—35), микобактерий—103, проактиномицетов—6, актиномицетов—15, грибов—7. Несмотря на примененную специальную методику, ни в одном из обследованных образцов не выделилось ни одного штамма спорообразующих бактерий.

3. Наибольшее количество углеводородсвоявающих микроорганизмов выделяется из черноземных и горно-луговых почв, несколько меньше—из бурых и каштановых и еще меньше—из лесных и торфянисто-болотистых. Из таксономических групп этих микроорганизмов во всех типах почв преобладают микобактерии; бактерии чаще всего встречаются в черноземных почвах, несколько реже—в бурых, каштановых и горно-луговых, меньше—в лесных и отсутствуют в торфянисто-болотистых. Актиномицеты сравнительно больше обнаруживаются в бурых почвах, в остальных типах они встречаются редко, а в торфянисто-болотистых отсутствуют.

4. В бурых и каштановых почвах встречаемость углеводородсвоявающих организмов уменьшается по мере углубления почвенного горизонта, в черноземных, горно-луговых и лесных почвах максимальное количество штаммов выделено из горизонтов 20—50 см и 50—100 см, в торфянисто-болотистых—особой разницы во встречаемости этих штаммов в различных глубинах почв не обнаружено.

5. В окультуренных почвах всех типов число и разнообразие выделенных штаммов значительно больше, чем в неокультуренных или слабоокультуренных. Сравнительно много штаммов выделяется из почв, находящихся под хлопчатником, виноградниками, пшеницей и кукурузой. В лесных типах преобладающее количество штаммов выделено из почв под буковым лесом и значительно меньше—под дубовым, сосновым и грабовым лесами.

6. Основными группами углеводородусованяющих микроорганизмов в составе микрофлоры обследованных типов почв следует признать неспороносные бактерии и микобактерии.

Биологический факультет
Ереванского гос. университета,
Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 25.V 1966 г.

Ա. Ա. ԿԱԶԱՏՅԱՆ

ԱՄԵԱԶՐԱՄՈՒՆՆԵՐ ՀՈՒՐԱՅՆՈՂ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆՈՎՄԱՆԵՐԻ
ՏԱՐԱԾՎԱԾՈՒԹՅՈՒՆԸ ԶԱՅԱՍՏԱՆԻ ՏԱՐԲԵՐ ԶՈՂԱՏԵՄԱԿՆԵՐՈՒՄԸ

Ո. մ փ ո փ ո լ մ

Հետազոտվել են Հայաստանի տարբեր հողակլիմայական շրջաններից բերված 171 հողանմուշներ, որոնցից մեկուսացվել և ուսումնասիրվել են ածխաջրամոխներ յուրացնող բազմապիսի միկրոօրգանիզմներ՝ կախված բուսածածկոցի բնույթից, հողի տարբեր խորությունից և այլն:

Ածխաջրամոխներ յուրացնող միկրոօրգանիզմների մեկուսացված և ուսումնասիրված շտամները բաշխվում են նեակալ կերպ. բակտերիաներ՝ 90 (այդ թվում Pseudomonas—35), միկոբակտերիաներ՝ 103, պրոակտինոմիցետաներ՝ 6, ակտինոմիցետաներ՝ 15, սնկեր՝ 7: Զնայած ուսումնասիրությունների ընթացքում կիրառված առանձնառատակ մեթոդիկային, նաազոտված հողանմուշներից և ոչ մեկում չեն հայտնաբերվել սպորաառաջացնող բակտերիաների շտամներ:

Այսպիսով, ուսումնասիրված հողանմուշների միկրոֆլորայի մեջ մշտնոջ ածխաջրամոխ յուրացնող միկրոօրգանիզմների հիմնական խմբերը հաղմված են ոչսպորափոք բակտերիաներից և միկոբակտերիաներից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Иерусалимский И. Д. и Скрябин Г. К. Изв. АН СССР, серия биол., 1, 53—57, 1965.
2. Клопотовский Б. А. Изв. АН АрмССР, 7, 3—26, 1947.
3. Красильников И. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. Изд. АН СССР, М., 1958.
4. Мирмяян Х. П. Краткий очерк о почвах Армении. Ереван, 1953 (на арм. языке).
5. Мишустин Е. Н. Труды юбилейной сессии, посвященной столетию со дня рождения В. В. Докучаева, 102—109, 1949.
6. Мишустин Е. Н. Микробиология, 19, 1, 11—24, 1950.
7. Мишустин Е. Н. Успехи современной биологии, 37, 1, 1—21, 1954.
8. Мотилевский Г. А. и Анлаер Б. И. Применение химии и микробиологии при поисках, добыче и предварительной обработке нефти и газа. ГосИИТН. М., 1959.
9. Славина Г. П. О возможности использования микроорганизмов при поисках рудных месторождений СССР, Госгеолтехиздат, 1957.
10. Смирнова З. С. Микробиология, 30, 4, 684—688, 1961.

11. Финногенова Т. В., Беликов В. М., Ермакова И. Т., Мунтян Л. П., Лидеман Л. Ф., Корчемная Ц. Б., Лозкинов А. Б. Прикладная биохимия и микробиология, 2, 2, 156—163, 1966.
12. Корчемная Ц. Б., Беликов В. М., Федосова А. В. Прикладная биохимия и микробиология. 2, 2, 213—215, 1966.
13. Champagnat A. et Laine B. Bulletin de l'AFTP, 163, 1964.
14. Champagnat A. Impact, 14, 2, 133, 1964.
15. Chouveau J., Azoulay E., Senez J. Bulletin de la Societe de Chimie biologique, 44, 7—8, 1962.
16. Just F., Schuabel W. und Ullman S. Die Brauerei, Wissenschaftliche Beilage, 4 Jahrgang, № 8—9, Berlin, 1951.
17. Kester A., Foster J. J. of bacteriology, 85, 859, 1963.
18. Raynaud M. et Vincent R. Etude du dephenolage bacterien des eaux residuelles de cokeries et d'usines à gaz. Association technique de l'industrie du gaz en France. Congres, 1958.
19. Shitoh, Otsuka S., Ischii R. and Katsuya N. J. Gen. Appl. Microbiol., 9, 1, 1963.
20. Yamada K., Takahashi J. and Kobayashi K. Agr. and Biol. Chem., 27, 11—12, 1963.