



ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ К ДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Г. Г. Ягафарова, А. Х. Сафаров, И. Г. Мигранова, Л. Р. Акчурина, Д. И. Микულიк

Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа, Россия

Research on resistance of oil-oxidizing microorganisms to the action of ionizing radiation

G. G. Yagafarova, A. Kh. Safarov, I. G. Migranova, L. R. Akchurina, D. I. Mikulik

Ufa State Petroleum Technological University, Ufa, Russia

ABSTRACT

The article presents the results of a study of the resistance of certain types of soil microorganisms to the combined effects of chemical and radiation pollution. In particular, data on the resistance to gamma radiation of a consortium of indigenous oil-oxidizing microorganisms isolated from oil-contaminated soil are presented. The studies were carried out according to two changing parameters: the distance from the radiation source, as well as the exposure time. Additionally, researches were conducted to study the effect of radiation on the enzymatic activity of the test media. During the work, it was found that ionizing radiation has a depressing effect on the enzymatic activity of soils. At the same time, studies allowed us to conclude, that certain types of soil microorganisms, that are part of the microbiocenosis of oil-contaminated soils (in particular *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas putida* and micromycete *Aspergillus* species) are resistant to gamma radiation at an irradiation dose of up to 1.55 mSv/h and an exposure time of up to 60 minutes

KEYWORDS

Radiation;
Oil-contaminated soils;
Native oil-oxidizing microorganisms;
Resistance;
Enzymatic activity.

© 2022 «OilGasScientificResearchProject» Institute. All rights reserved.

В результате хозяйственной деятельности человека широкое развитие получило использование радионуклидов и источников ионизирующего излучения, что в свою очередь привело к повышению естественного радиационного фона в отдельных регионах по всему миру.

В настоящее время накоплен значительный объем данных о влиянии ионизирующего излучения на фауну и флору на всех уровнях их организации [1-7].

Так биологическое воздействие ионизирующего излучения на организмы обусловлено взаимодействием свободных радикалов, образующихся в процессе ионизации воды, с молекулами белков, нуклеиновых кислот и липидов с образованием органических пероксидов. В результате перекисного окисления в организме накапливается множество измененных молекул, что приводит к многократному увеличению начального радиационного эффекта. В первую очередь, все это отражается на структуре биологических мембран, приводя к изменению их сорбционных свойств, а также повышению проницаемости (в том числе мембран лизосом и митохондрий). Изменения в мембранах лизосом приводят к освобождению и активации ДНК-азы, РНК-азы, катепсинов, фосфа-

тазы, ферментов гидролиза мукополисахаридов и ряда других ферментов [5].

Известно, что из всех компонентов биоты почвенная микрофлора наиболее устойчива к радиоактивному загрязнению: как правило, почвенные микроорганизмы не страдают при дозах, губительных для высших растений и животных [4]. Так, было установлено, что численность микроорганизмов и содержание их метаболитов не находится в тесной прямой зависимости от уровня радиоактивного загрязнения почв [1].

В то же время, наряду с этим, в ряде публикаций приведены экспериментальные доказательства негативных экологических последствий ионизирующего излучения на почвенные микроорганизмы [2, 3]. Так, широко исследовано влияние радиации на биоту в результате катастрофы в 1986 г. на Чернобыльской АЭС в этом регионе. Данные, полученные в ходе проведенных исследований, показали значительное снижение видового разнообразия прокариотных сообществ в зоне бедствия [6, 7].

Немалый интерес вызывают исследования по изучению устойчивости микроорганизмов в условиях комбинированного химического и радиационного загрязнения [8, 9], в частности изучение влияния ионизирующего излучения на сообщество почвенных микроорганизмов, формирующееся в нефтезагрязненных средах.

*E-mail: akchurina_lr@mail.ru

<http://dx.doi.org/10.5510/OGP2022SI100652>

Целью проведенной работы являлось изучение воздействия гамма-излучения на консорциум аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов, выделенных из нефтезагрязненных почв.

В качестве источника ионизирующего излучения использовали радиационный материал, состоящий из нефтезагрязненных отходов, отложений и окарины насосно-компрессорных труб (НКТ) со степенью радиации по гамма-излучению – 1.5 мкЗв/ч. Измерение интенсивности излучения проводили с использованием сертифицированного прибора (дозиметр-радиометр МКС-03СА).

В качестве объекта исследований был выбран консорциум аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов, выделенных с места нефтяного разлива на территории Нижне-Кармальского месторождения (Республика Татарстан).

Предварительная идентификация присутствующих в образцах микроорганизмов по культурально-морфологическим и физиолого-биохимическим признакам, проведенная по стандартным методикам [8], показала наличие в нефтезагрязненной почве следующих видов: *Rhodococcus erythropolis*, *Bacillus subtilis*, *Artrobacter species*, *Pseudomonas putida*, *Aspergillus species* и др.

Наработку необходимого объема культуральной суспензии аборигенной микрофлоры проводили в полной минеральной среде, следующего состава, г/л дистиллированной воды: KNO_3 – 2.0, K_2HPO_4 – 1.0, MnSO_4 – 0.013, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.5, ZnSO_4 – 0.002, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ – 0.001. В качестве источника углерода и энергии в среды вносили гексадекан, из расчета 1% масс.

Для проведения эксперимента готовили две чашки Петри. В первую помещали радиационный материал (чашка №1), во вторую – почву (чернозем) с инокулированными нефтеокисляющими микроорганизмами (чашка №2).

Исследования по изучению влияния радиации на микроорганизмы проводили по двум изменяющимся параметрам: расстояние от источника излучения, а также время экспозиции.

Для установления влияния радиации на микроорганизмы в зависимости от времени выдержки, чашку с микроорганизмами размещали над радиационным материалом (рис. 1) и выдерживали в течение 1, 5, 60 минут. Оценку активности микроорганизмов через указанные промежутки времени проводили путем высева исследуемых сред на мясо-пептонный агар (МПА) с учетом разведения в 10^5 по стандартной методике [10].

Результаты исследования на модельных образцах с использованием радиационного материала свидетельствуют о том, что аборигенные нефтеокисляющие микроорганизмы устойчивы к гамма-излучению в исследуемой дозе. Численность микроорганизмов после облучения во временном интервале 1 и 5 минут практически не изменилось по сравнению с контролем, тогда как после 60 минут облучения наблюдалось некоторое подавление роста микроорганизмов (рис. 2), при этом в колониях преобладали штаммы *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas putida* и микровицет *Aspergillus species* (рис. 3).

В ходе эксперимента также было отмечено, что после облучения в течении 60 минут «дикие» штаммы *Aspergillus species* формировали нетипичные, морфологически измененные колонии. Что согласуется с фундаментальными



Рис.1. Оценка радиационного влияния на нефтеокисляющие микроорганизмы

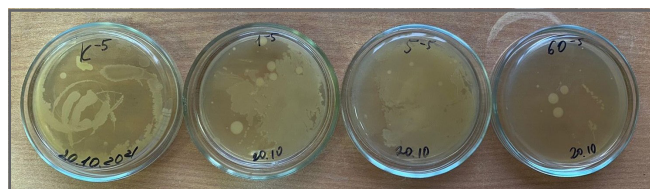


Рис.2. Рост АНМ после облучения радиационным материалом в зависимости от времени
а) контроль; опыты после облучения радиационным материалом:
b) 1 минута, c) 5 минут, d) 60 минут



Рис.3. Штаммы *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas putida* и микровицет *Aspergillus species* (400x)

исследованиями М.Н. Мейселя о влиянии ионизирующего излучения на морфологию микроорганизмов. Согласно которым, первоначально при облучении поражаются не только ядерные структуры клетки, но также и различные биологические структуры и биохимические субстраты, происходят нарушения в белках, фосфорных соединениях и в ферментных системах микробов [5].

Для оценки влияния радиационного материала на нефтеокисляющие микроорганизмы в зависимости от дальности от источника излучения, чашку с микроорганизмами (чашка №2) размещали над радиационным материалом (чашка №1) на расстоянии 1, 25 и 50 см (рис. 4). Время выдержки для всех трех опытов составляло 60 мин.

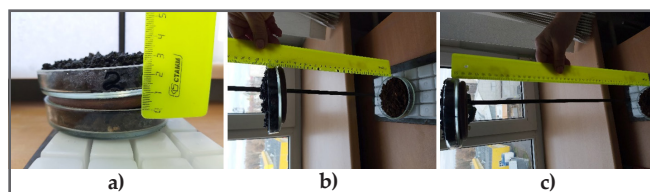


Рис.4. Размещение чашки Петри с почвой и АНМ (чашка №2) над радиационным материалом (чашка №1) на расстоянии
а) 1, b) 25, c) 50

Оценку активности микроорганизмов после выдержки на указанном расстоянии проводили также путем посева исследуемых сред на мясо-пептонный агар (МПА) с учетом разведения в 106.

Дополнительно проводили исследования по влиянию радиации на ферментативную активность исследуемых сред. В качестве исследуемого показателя было выбрано содержание дегидрогеназы. Ферментативную активность оценивали по известной методике А.Ш.Галстяна [11] в миллиграммах формазана на 10 г почвы за 24 часа.

В результате исследования установлено, что с увеличением расстояния наблюдается снижение уровня облучения (табл. 1) и соответственно отмечается активный рост исследуемых микроорганизмов (рис. 5).

Также установлено, что ионизирующее излучение

оказывает угнетающее влияние на ферментативную активность. Так при расстоянии 1 см от источника радиационного излучения активность дегидрогеназы составила 0.09 мг формазана/10 г почвы за 24 часа, при 25 и 50 см – 0.17 и 0.20 мг формазана/10 г почвы за 24 часа соответственно. Активность дегидрогеназы в контрольном образце почвы без радиации составила 0.23 мг формазана/10 г почвы за 24 часа.

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать вывод об определенной устойчивости отдельных видов почвенных микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза нефтезагрязненных почв, в частности *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas putida* и микромицета *Aspergillus species*, к гамма-излучению при дозе облучения до 1.55 мкЗв/ч и времени экспозиции до 60 минут.

Наименование опыта	Расстояние, см	Мощность дозы, мкЗв/ч через слой почвы
Опыт №1	1	0.40
Опыт №2	25	0.14
Опыт №3	50	0.11

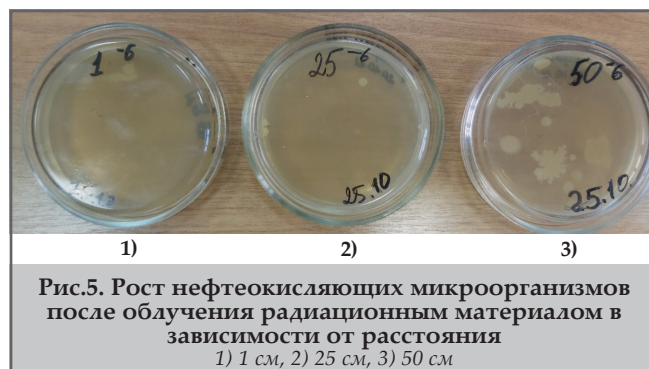


Рис.5. Рост нефтеокисляющих микроорганизмов после облучения радиационным материалом в зависимости от расстояния
1) 1 см, 2) 25 см, 3) 50 см

Литература

- Ефремов, А. Л. (2006). Динамика почвенной микрофлоры и микробных метаболитов в условиях радиоактивного загрязнения. Тезисы докладов международной конференции «Радиоактивность при ядерных взрывах и авариях». Санкт-Петербург: Гидрометеиздат.
- Жданова, Н. Н. (1991). Комплексы почвенных микромицетов в зоне влияния Чернобыльской АЭС. *Микробиологический журнал*, 53(4), 3-9.
- Карбышева, Е. А., Родина, Н. Е. (1985). Летальное и мутагенное действие длинноволнового УФ-излучения на представителей разных групп микроорганизмов. Тезисы VII съезда ВМО. Алма-Ата.
- Криволицкий, Д. А., Тихомиров, Ф. А. (1988). Действие ионизирующей радиации на биогеоценоз. Москва: Наука.
- Мейсель М. Н. (1955). О биологическом действии ионизирующих излучений на микроорганизмы. Доклады советской делегации международной конференции по мирному использованию атомной энергии. Действие облучения на организм. Москва: Издательство Академии наук СССР.
- Романовская В. А., Столяр С. М., Малашенко Ю. Р., Шатохина Э. С. (1996). Влияние длительного действия радиации на разнообразие гетеротрофных бактерий в почвах 10-км зоны ЧАЭС. *Микробиологический журнал*, 58(5), 3-11.
- Романовская В. А., Соколов И. Г., Рокитко П. В., Черная Н. А. (1998). Экологические последствия радиоактивного загрязнения для почвенных бактерий в 10-км зоне ЧАЭС. *Микробиология*, 67(2), 274-280.
- Doyi, I., Essumang, D. K., Dampare, S., Glover, E. T. (2009). Technologically enhanced naturally occurring radioactive materials (TENORM) in the oil and gas industry: A review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(1), 3-9.
- Zakaria, Kh. M. (2018). Radiological impacts of NORM and poly aromatic hydrocarbon in petroleum industry process on marine ecosystem at the Red sea, Egypt. *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*, 9(1), 4-12.
- Герхард, Ф. (1983). Методы общей бактериологии. Москва: Мир.
- Хазиев, Ф. Х. (2005). Методы почвенной энзимологии. Москва: Наука.

References

1. Efremov, A. L. (2006). Dynamics of soil microflora and microbial metabolites under conditions of radioactive contamination. In: Abstract of reports at the International Conference «Radioactivity upon Nuclear Explosions and Accidents». St. Petersburg: *Gidrometeoizdat*.
2. Zhdanova, N. N. (1991). Kompleksy pochvennykh mikromicetov v zone vliyaniya Chernobyl'skoj AES. *Mikrobiologicheskij zhurnal*, 53(4), 3-9.
3. Karbysheva, E. A., Rodina, N. E. (1985). Letal'noe i mutagennoe dejstvie dlinnovolnovogo UF-izlucheniya na predstavitelej raznykh grupp mikroorganizmov. Tezisy VII s'ezda VMO. *Alma-Ata*.
4. Krivoluckij, D. A., Tihomirov, F. A. (1988). Dejstvie ioniziruyushchej radiacii na biogeocenozy. Moskva: Nauka.
5. Mejsel' M. N. (1955). O biologicheskom dejstvii ioniziruyushchih izluchenij na mikroorganizmy. Doklady sovetskoj delegacii mezhdunarodnoj konferencii po mirnomu ispol'zovaniyu atomnoj energii. Dejstvie oblucheniya na organizm. Moskva: *Izdatel'stvo Akademii nauk SSSR*.
6. Romanovskaya V. A., Stolyar S. M., Malashenko YU. R., SHatohina E. S. (1996). Vliyanie dlitel'nogo dejstviya radiacii na raznoobrazie geterotrofnih bakterij v pochvah 10-km zony CHAES. *Mikrobiologicheskij zhurnal*, 58(5), 3-11.
7. Romanovskaya, V. A., Sokolov, I. G., Rokitko, P. V., Chernaya, N. A. (1998). Effect of radioactive contamination on soil bacteria in the 10-km zone around the Chernobyl Nuclear Power Plant. *Microbiology*, 67(2), 274-280.
8. Doyi, I., Essumang, D. K., Dampare, S., Glover, E. T. (2009). Technologically enhanced naturally occurring radioactive materials (TENORM) in the oil and gas industry: A review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(1), 3-9.
9. Zakaria, Kh. M. (2018). Radiological impacts of NORM and poly aromatic hydrocarbon in petroleum industry process on marine ecosystem at the Red sea, Egypt. *International Journal of Environmental Sciences & Natural Resources*, 9(1), 4-12.
10. Gerhard, F. (1983). Metody obshchej bakteriologii. Moskva: *Mir*.
11. Haziev, F. H. (2005). Metody pochvennoj enzimologii. Moskva: *Nauka*.

Исследование устойчивости нефтеокисляющих микроорганизмов к действию ионизирующего излучения

Г. Г. Ягафарова, А. Х. Сафаров., И. Г. Мигранова, Л. Р. Акчурина, Д. И. Микулик
Уфимский государственный нефтяной
технический университет, Уфа, Россия

Реферат

В статье приведены результаты исследования устойчивости отдельных видов почвенных микроорганизмов к комбинированному воздействию химического и радиационного загрязнения. В частности приведены данные по устойчивости к гамма-излучению консорциума аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов, выделенного из нефтезагрязненного грунта. Исследования проводили по двум изменяющимся параметрам: расстояние от источника излучения, а также время экспозиции. Дополнительно проводили исследования по изучению влияния радиации на ферментативную активность исследуемых сред. В ходе проделанной работы было установлено, что ионизирующее излучение оказывает угнетающее влияние на ферментативную активность почв. В то же время проведенные исследования позволили сделать вывод об определенной устойчивости отдельных видов почвенных микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза нефтезагрязненных почв, в частности *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas putida* и микромицета *Aspergillus species*, к гамма-излучению при дозе облучения до 1.55 мкЗв/ч и времени экспозиции до 60 минут.

Ключевые слова: радиация; нефтезагрязненные почвы; аборигенные нефтеокисляющие микроорганизмы; устойчивость; ферментативная активность.

Neft oksidləşdirici mikroorqanizmlərin ionlaşdırıcı şüaların təsirinə dayanıqlılığının tədqiqi

Q. Q. Yağafarova, A. X. Safarov, İ. Q. Miqranova, L. R. Akçurina, D. İ. Mikulik
Ufa Dövlət Neft Texniki Universiteti, Ufa, Rusiya

Xülasə

Məqalədə müəyyən növ torpaq mikroorqanizmlərinin kombinə olunmuş kimyəvi və radiasiya çirklənməsinin təsirinə qarşı dayanıqlılığının tədqiqinin nəticələri təqdim olunmuşdur. Xüsusilə, neftlə çirklənmiş torpaqdan ayrılan aborigen neft oksidləşdirici mikroorqanizmlər konsorsiumunun qamma şüalanmaya qarşı dayanıqlılığı haqqında məlumatlar verilmişdir. Tədqiqatlar iki dəyişən parametərə görə aparılmışdır: şüalanma mənbəyindən məsafəyə və ekspozisiya vaxtına görə. Əlavə olaraq, radiasiyanın tədqiq olunan mühitin fermentativ aktivliyinə təsirinin öyrənilməsi üzrə də tədqiqatlar aparılmışdır. Görülən işlərin gedişatında müəyyən edilmişdir ki, ionlaşdırıcı şüalanma torpaqların fermentativ aktivliyinə depressiv təsir göstərir. Eyni zamanda, aparılan tədqiqatlar neftlə çirklənmiş torpaqların mikrobiosenoz tərkibinə daxil olan müəyyən növ torpaq mikroorqanizmlərinin, xüsusən *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas putida* və *Aspergillus species* mikromisetinin 1.55 mk3v/s şüalanma dozası və 60 dəqiqəyə qədər ekspozisiya zamanı qamma şüalanmasına qarşı müəyyən dayanıqlılığı qənaitinə gəlməyə imkan vermişdir.

Açar sözlər: radiasiya; neftlə çirklənmiş torpaqlar; aborigen neft oksidləşdirici mikroorqanizmlər; dayanıqlılıq; fermentativ aktivlik.