

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ФИТОТОКСИЧНОСТЬ ЗАГРЯЗНЕННОГО МАЗУТОМ ГРУНТА В ПОСЕЛКЕ КЕДРОВЫЙ

Изучена связь между остаточной фитотоксичностью грунта и его микробиологическими характеристиками после рекультивации. Опытами установлено, что механическая рекультивация загрязнённой мазутом территории в посёлке Кедровый не привела к снятию фитотоксичности грунта. Множественный регрессионный анализ на основе логарифмов численности микроорганизмов продемонстрировал высокую корреляцию между фитотоксичностью и комплексом микробиологических характеристик загрязнённого грунта.

Ключевые слова: мазут, фитотоксичность, микроорганизмы, грунт, регрессионный анализ.

S.V. Khizhnyak, G.A. Demidenko,
T.V. Eliseeva, A.G. Kuchkin, M.E. Baranov

THE MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND PHYTOTOXICITY OF MAZUT CONTAMINATED SOIL IN KEDROVIY VILLAGE

The relationship between the soil residual phytotoxicity and its microbiological characteristics after recultivation is studied. It is experimentally established that the mechanical recultivation of mazut contaminated territory of the Kedrovyy village did not lead to the soil phytotoxicity removal. Multiple regression analysis based on the logarithms of microorganism number showed high correlation between the phytotoxicity and the contaminated soil microbiological characteristics complex.

Key words: mazut, phytotoxicity, microorganisms, soil, regression analysis.

Введение. Посёлок Кедровый Емельяновского района Красноярского края является бывшим местом дислокации воинской части, расформированной в 2002 году в рамках межправительственной Программы совместного уменьшения угрозы между Российской Федерацией и Соединёнными Штатами Америки, а также в соответствии с Договором о сокращении и ограничении стратегических наступательных вооружений. В 2007 году на прилегающей к посёлку территории произошёл разлив мазута из мазутных хранилищ, ранее принадлежавших воинской части. В 2011 году под руководством администрации п. Кедровый проведена механическая рекультивация загрязнённых мазутом земель.

Целью настоящей работы является изучение связей между остаточной фитотоксичностью грунта и его микробиологическими характеристиками после рекультивации.

Объекты и методы. Отбор образцов проводили в сентябре 2011 года, через месяц после завершения рекультивации с горизонта 0-20 см в девяти точках, равномерно расположенных на территории участка (рис. 1). В каждой точке отбирали по 5 образцов грунта с площади 1 м² методом конверта, из которых формировали объединённую пробу. Фитотоксичность определяли по снижению энергии прорастания и всхожести кресс-салата (*Lepidium sativum*) в сравнении с контролем согласно ГОСТ 12038-84 [1]. Контролем служил грунт, отобранный из незагрязнённого участка. Численность бактерий определяли высевом на следующие питательные среды: для учёта бактерий, использующих органические формы азота, – ПД-агар (пептон – 9,0 г/л, гидролизат казеина – 8,0 г/л, дрожжевой экстракт – 3,0 г/л, NaCl – 5,0 г/л, Na₂HPO₄ – 2,0 г/л, агар – 20 г/л); для учёта бактерий, использующих минеральные формы азота, – модифицированную среду Чапека (глюкоза – 20,0 г/л, NH₄NO₃ – 2,0 г/л, KH₂PO₄ – 1,0 г/л, MgSO₄*7H₂O – 0,5 г/л, KCl – 0,5 г/л, FeSO₄ – следы, агар – 20 г/л); для учёта олиготрофных бактерий – олиготрофную среду (по 25 мл ПД-агара и модифицированной среды Чапека на 1 л среды, агар – 20 г/л).

Численность микроскопических грибов учитывали на тех же средах с добавлением антибактериально-го антибиотика ципрофлоксацина в количестве 2 мг/л. Численность микроорганизмов выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на 1 г сухого грунта. Математическую обработку результатов проводили методами корреляционного и регрессионного анализа с использованием пакета анализа MS Excel [2, 3].

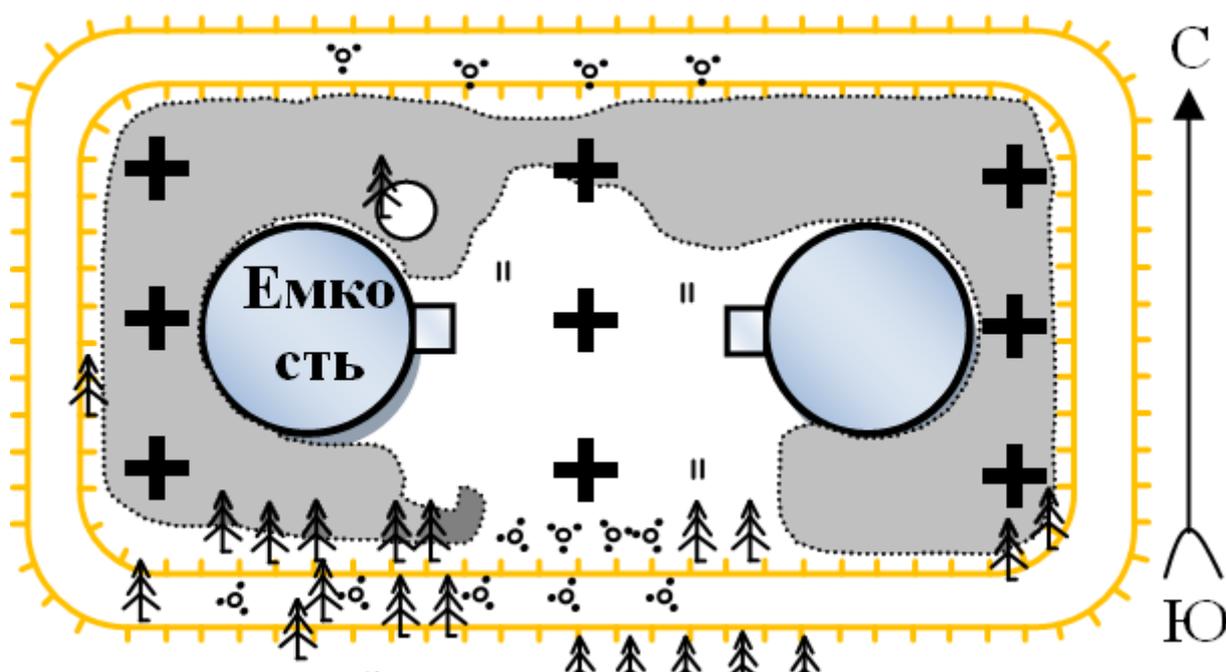


Рис. 1. Схема изучаемого участка до проведения механической рекультивации; серым цветом показаны места расположения мазутных озер, знаком "+" – точки отбора проб после рекультивации

Результаты и их обсуждение. Несмотря на проведенную механическую рекультивацию, на изучаемом участке сохранилась достаточно высокая фитотоксичность грунта. Во всех образцах грунта отмечено статистически значимое (от $p=0,05$ до $p<0,001$) снижение всхожести и энергии прорастания тест-культуры относительно контроля. Отмечена статистически значимая ($p<0,001$) географическая неравномерность в распределении фитотоксичности. Максимальный уровень фитотоксичности (снижение всхожести и энергии прорастания тест-культуры на 40–50% в сравнении с контролем) отмечен на восточной оконечности участка, минимальный (снижение всхожести и энергии прорастания на 6–12%) – на западной оконечности участка.

Между образцами отмечены статистически значимые ($p<0,001$) различия по численности и соотношению различных групп микроорганизмов. Численность бактерий, учитываемых на ПД-агаре, варьирует от 4×10^6 до 77×10^6 КОЕ/г. Численность бактерий, учитываемых на модифицированной среде Чапека, варьирует от 1×10^6 до 90×10^6 КОЕ/г, численность бактерий, учитываемых на олиготрофной среде, варьирует от 25×10^6 до 143×10^6 КОЕ/г. Численность микроскопических грибов варьирует от менее чем 1×10^6 до 16×10^6 КОЕ/г.

В целом, можно отметить увеличение числа олиготрофных бактерий и снижение числа микроскопических грибов по мере увеличения фитотоксичности пробы. Отмечены статистически значимые ($p<0,05$) положительные корреляции между фитотоксичностью и долей олиготрофных бактерий в сообществе ($r = 0,878$), фитотоксичностью и общей численностью олиготрофных бактерий ($r = 0,713$). Кроме этого, в пробах с высокой и средней фитотоксичностью отмечена пониженная численность бактерий, учитываемых на ПД-агаре (табл. 1).

Таблица 1

Матрица корреляций между изучаемыми показателями (подчеркиванием выделены коэффициенты корреляции, статистически значимые на уровне $p<0,05$)*

Показатель	Фитотоксичность	Чап	ПД	Олг	Грибы	ПД: Олг	Сумма
1	2	3	4	5	6	7	8
Чап	-0,294	1,000	–	–	–	–	–
ПД	-0,453	-0,204	1,000	–	–	–	–
Олг	<u>0,713</u>	0,098	-0,347	1,000	–	–	–

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8
Грибы	-0,721	0,164	0,641	-0,486	1,000	–	–
ПД:Олг	-0,546	-0,173	0,972	-0,482	0,759	1,000	
Сумма	0,154	0,593	0,129	0,689	0,052	0,022	1,000
Доля Олг	0,878	-0,437	-0,639	0,580	-0,838	-0,723	-0,143

*Фитотоксичность – снижение энергии прорастания в сравнении с контролем (%); Чап – численность бактерий, учитываемых на среде Чапека; ПД – численность бактерий, учитываемых на ПД-агаре; Олг – численность бактерий, учитываемых на олиготрофной среде; сумма – суммарная численность бактерий, учитываемых на среде Чапека, ПД-агаре и олиготрофной среде; ПД:Олг – отношение численности бактерий, учитываемых на ПД-агаре, к численности бактерий, учитываемых на олиготрофной среде; доля Олг – отношение численности олиготрофов к суммарной численности бактерий, учитываемых на всех использованных средах.

Несмотря на достаточно высокие коэффициенты корреляции между отдельными микробными показателями и фитотоксичностью, использование абсолютных значений численностей микроорганизмов в пробах не позволило построить уравнения регрессии, которые адекватно описывали бы связь между фитотоксичностью изучаемого грунта и комплексом его микробиологических характеристик. При построении парных уравнений регрессии наблюдались значительные расхождения между теоретическими и реальными значениями (рис. 2). При этом коэффициенты детерминации при использовании в уравнениях наиболее коррелирующих с фитотоксичностью микробных показателей (численность олиготрофов, численность микроскопических грибов и доля олиготрофов в сообществе) были относительно невелики и составили 0,508; 0,520 и 0,771 соответственно.

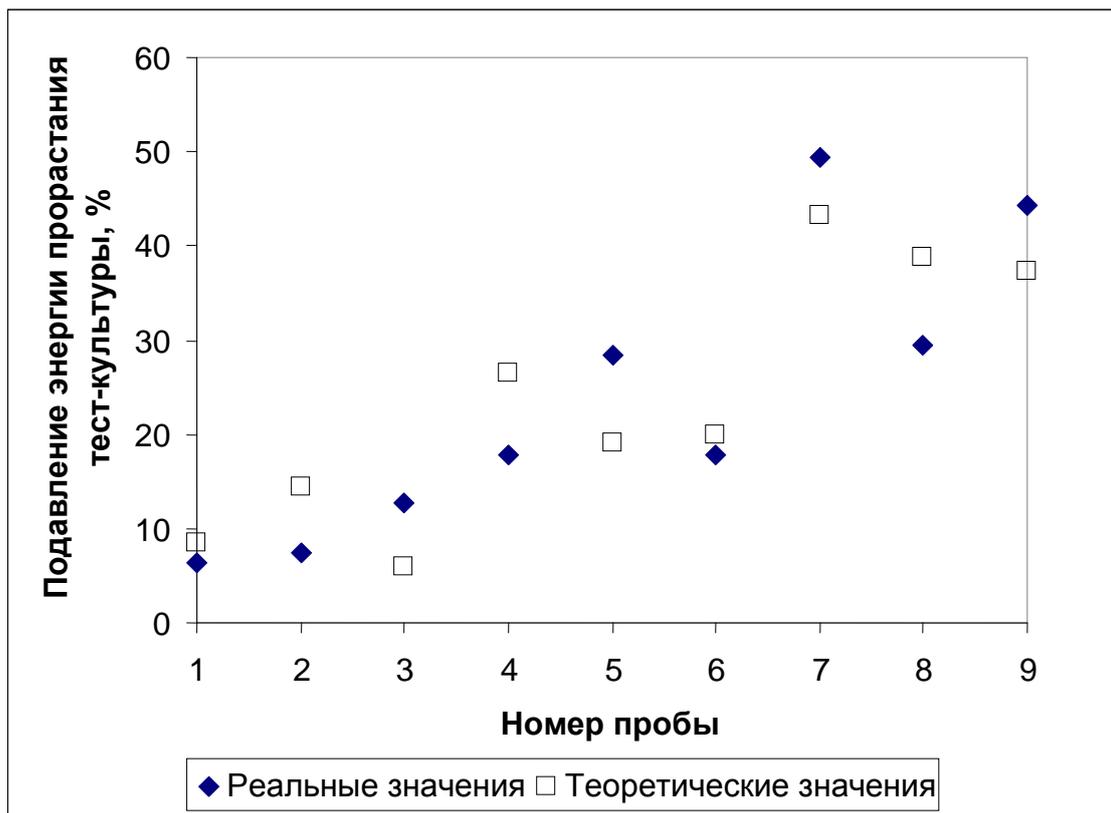


Рис. 2. Реальные и теоретические значения фитотоксичности при использовании уравнения регрессии, связывающего фитотоксичность и долю олиготрофов в сообществе

При построении уравнений множественной регрессии коэффициенты в уравнениях оказывались статистически незначимыми.

В этой связи вместо абсолютных показателей численностей микроорганизмов были использованы логарифмы этих численностей по основанию 2. Поскольку рассматриваемое микробное сообщество является молодым, использование логарифмов позволяет оперировать числом клеточных поколений, прошедшим в сообществе с момента начала его формирования. Этот показатель, на наш взгляд, более адекватно отражает текущее состояние микробного сообщества, чем абсолютные значения численностей микроорганизмов.

Коэффициенты результирующего уравнения, полученного пошаговым исключением незначимых коэффициентов, представлены в таблице 2.

Таблица 2

Регрессионный анализ связи между фитотоксичностью и комплексом микробных показателей при использовании двоичных логарифмов численностей после исключения незначимых коэффициентов

Показатель	Коэффициенты в уравнении	Beta-коэффициенты	t-статистика	Значимость коэффициентов (P)
Y-пересечение	174,9852		1,705	-
Log ₂ (Чап)	-9,87648	-1,47421	4,706	<0,01
Log ₂ (ПД)	-8,9654	-0,89131	3,588	<0,05
Log ₂ (Олг)	13,08149	0,62214	5,135	<0,01
Доля Олг	-75,5423	-1,11124	2,644	0,05

* обозначения см. табл. 1.

Полученное уравнение регрессии является статистически значимым на уровне $P < 0,01$ и адекватно описывает связь между комплексом микробных показателей и фитотоксичностью изучаемого грунта (коэффициент множественной корреляции $R = 0,988$, коэффициент детерминации $R^2 = 0,976$). Значения фитотоксичности, рассчитанные по уравнению, хорошо согласуются с экспериментальными данными (рис. 2).

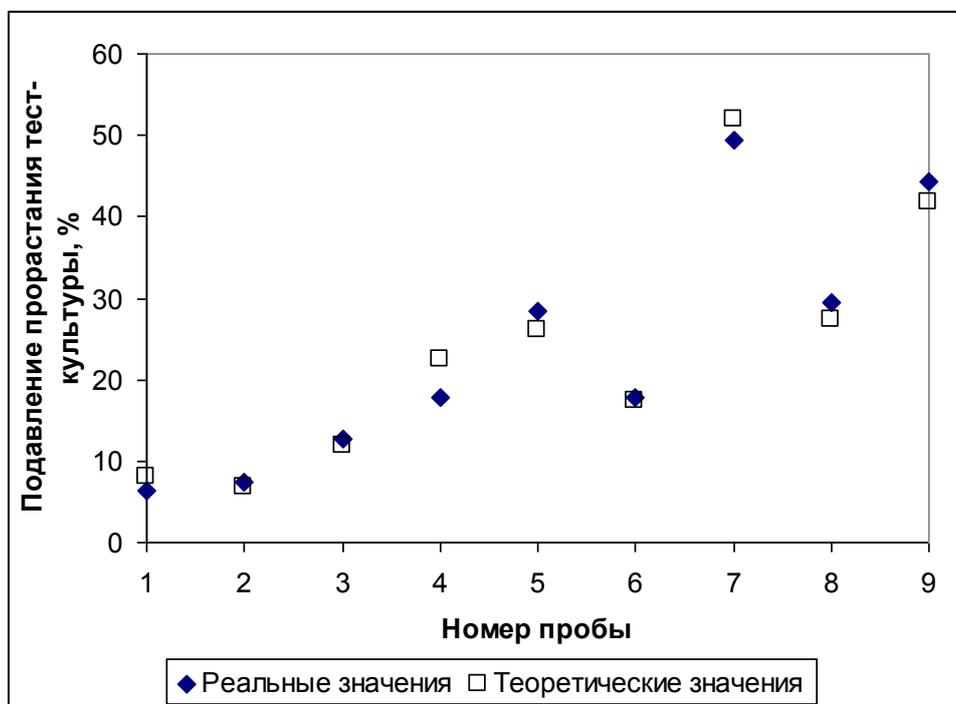


Рис. 3. Реальные и теоретические значения фитотоксичности при использовании уравнения множественной регрессии, построенного по логарифмированным данным после исключения незначимых коэффициентов

Таким образом, связь уровня мазутного загрязнения грунта с комплексом почвенной микробиоты на исследуемом участке в пос. Кедровый адекватно описывается уравнением

$$Y=174,99-9,88\log_2(X_1)-8,97\log_2(X_2)+13,08\log_2(X_3)-75,54X_4,$$

где X_1 – численность бактерий, учитываемых на среде Чапека; X_2 – численность бактерий, учитываемых на ПД-агаре; X_3 – численность бактерий, учитываемых на олиготрофной среде; X_4 – доля олиготрофов в сообществе; Y – уровень мазутного загрязнения, оцениваемый по фитотоксичности.

Анализ распределения остатков также подтверждает адекватность построенной регрессионной модели, поскольку распределение отклонений теоретических значений фитотоксичности от экспериментальных данных носит равномерный характер (рис. 4).

Анализ beta-коэффициентов (см. табл. 2), получаемых при использовании нормированных данных, позволяет сделать вывод, что вклад отдельных микробиологических показателей в уравнение достаточно близок – максимальное различие между коэффициентами составляет 2,37 раза (beta-коэффициенты при $\log_2(\text{Чап})$ и $\log_2(\text{Олг})$).

Таким образом, можно констатировать тенденцию к олиготрофизации рассматриваемого сообщества по мере увеличения уровня остаточной фитотоксичности. В качестве возможной причины этого феномена можно предположить нарушение процессов биологической деструкции органических веществ в сообществе.

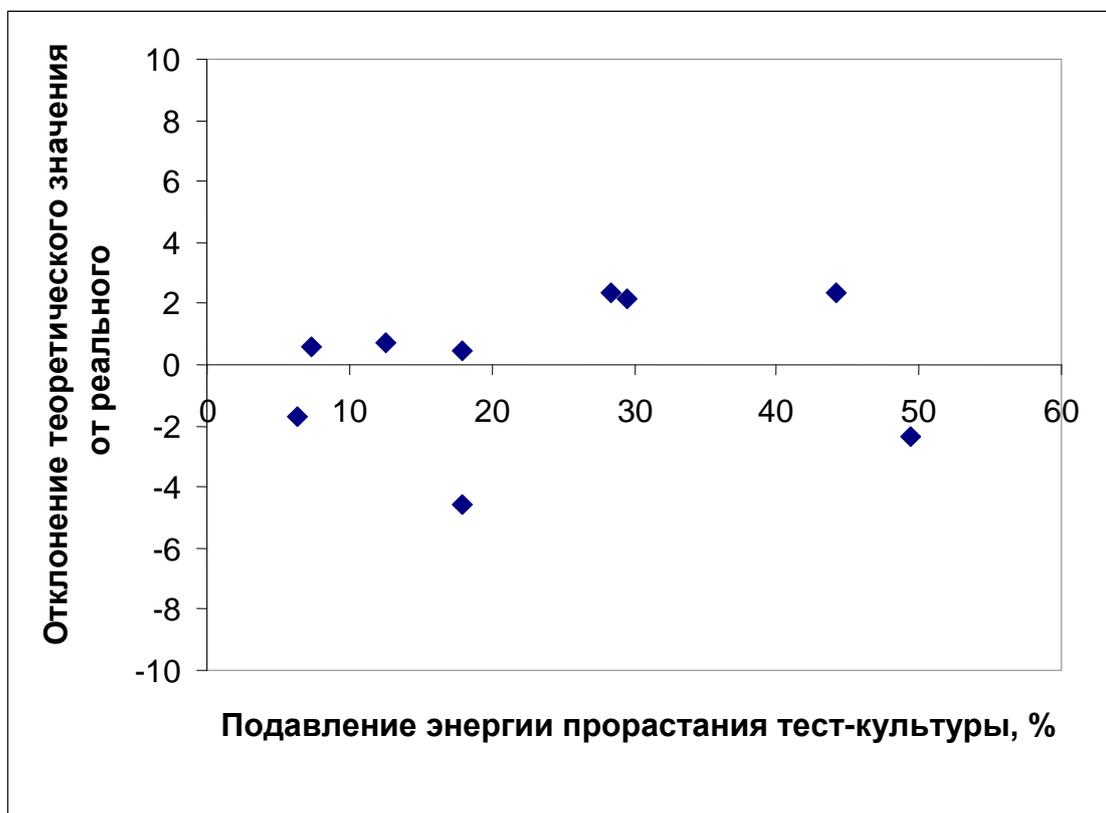


Рис. 4. Отклонения теоретических значений фитотоксичности от реальных в зависимости от общего уровня фитотоксичности образца

Выводы

1. Механическая рекультивация не привела к полному устранению фитотоксичности грунта на загрязненном мазутом участке в пос. Кедровый Емельяновского района.
2. Наблюдается статистически значимая положительная корреляция между фитотоксичностью грунта и численностью олиготрофных бактерий, и отрицательная – между фитотоксичностью грунта и численностью микроскопических грибов.

3. При изучении регрессионных связей между фитотоксичностью грунта и численностью различных групп микроорганизмов для подобных объектов можно рекомендовать использование не абсолютных значений, а логарифмов численностей.

Литература

1. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М.: Изд-во стандартов, 1984.
2. *Плохинский Н.А.* Биометрия. – М.: Изд-во МГУ, 1970. – 360 с.
3. *Поллард Д.* Справочник по вычислительным методам статистики. – М.: Финансы и статистика, 1982. – 344 с.

