

**Romadanova N.V., Seraj N.A., Nurmanov M.M., Karasholakova L.N.**

#### INTRODUCTION OF WILD *MALUS SIEVERSII* APPLE INTO *IN VITRO* CULTURE

##### **Abstract**

The article presents the results of introduction of wild *Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem apple forms into *in vitro* culture. Methods of seed germination, sterilization of obtained seedlings, testing for the presence of endophytic infection on a specialized 523 nutrient medium, biotechnology for mass micropropagation have been worked out. A proven method allows to get super-elite class seedlings all year round regardless of the season. As a result, the selection process is shortened by selecting the forms according to the required characteristics directly *in vitro* culture. The use of *in vitro* aseptic, healthy plants from viral, bacterial and mycoplasmal infection facilitates the procedure for quarantine control in the international exchange of germplasm.

**Keywords:** apple seeds, wild forms, *in vitro* culture.

**УДК 504.05:62/69 (574.53)**

**Сапарбекова А.А., Мамаева Л.А., Байшанова А.Е., Кедельбаев Б.Ш.**

*Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова, Шымкент  
Казахский национальный аграрный университет, Алматы*

#### РЕКУЛЬТИВАЦИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ УГЛЕВОДОРОДАМИ ТЯЖЕЛЫХ НЕФТЕПРОДУКТОВ

##### **Аннотация**

Использование термофильной культуры микроорганизмов, идентифицированной как *Bacillus mesentericus fuscus* М 314-А8 -3, обладающей высокой углеводородокисляющей способностью приводит к ускорению процесса биodeградации углеводородов мазута. В наших исследованиях произошло снижение нефтепродуктов в замазученных почвах за 60 дней с 1,6 г/100 г почвы до 0,6 г/100 г почвы, то есть на 62,5%. При этом, общее количество аренов снизилось с 8,5% до 3,2%. Из идентифицированных ароматических углеводородов, остался пирен и бензокарбазол, но количество их снизилось. Использование герметичных чехлов не только повышает степень деструкции на 8%, но и экономит поливную воду.

**Ключевые слова:** почва, мазут, биodeградация, рекультивация, микроорганизмы.

##### **Введение**

Проблема антропогенного воздействия человек на землю из года в год становится острой, тяжело решаемой задачей для всех стран нашего континента. В связи с чем, в рамках программы Erasmus + Program была организовано партнерское взаимоотношение «International University Cooperation on Land Protection in European-Asiatic Countries – IUCLAND» между следующими странами Европы и Азии: Италия, Хорватия, Словакия, Китай, Кыргызстан и Казахстан. Основной задачей которой является привлечь общественное внимание к проблеме охраны земель во всем мире, и в частности в Казахстане. Известно, что предприятия нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности являются одним из основных источников загрязнения окружающей

среды. Неблагоприятное воздействие тяжелых нефтепродуктов на окружающую природную среду и невозобновляемость углеводородного сырья делают вопрос переработки отходов весьма актуальным.

В настоящее время все большее применение находят биологические методы очистки почвы и воды от нефтяных загрязнений, основанные на применении активных микробных штаммов, проявляющих способность использовать в качестве источника углерода и энергии углеводороды нефти и нефтепродуктов. Разрушение стойких органических соединений в природе происходит, как правило, в результате совместного действия микроорганизмов и абиотических факторов. Микробиологическая минерализация является наиболее эффективным и экологически приемлемым способом удаления органических ксенобиотиков из окружающей среды [1].

Тяжелые фракция нефти и тяжелые нефтепродукты, содержащие высокотоксичные элементы и входящие в состав мазута затрудняют газо - и водообмен в почвах. Эти компоненты очень устойчивы и могут сохраняться в почвах в течение длительного времени (годы, десятки лет). Вредное экологическое влияние смолисто-асфальтеновых соединений на почву заключается не, сколько в химической токсичности, а в изменении водно-физических свойств почв. Обычно смолисто-асфальтеновые компоненты сорбируются в верхнем горизонте почв [2].

Ароматические соединения - наиболее токсичные соединения нефти. В концентрации всего 1% они убивают все водные растения. Нефть, содержащая 20-38 % ароматических углеводородов, значительно угнетает рост высших растений [3]. Моноядерные углеводороды оказывают более быстрое токсичное действие на организмы, чем полимерные ароматические углеводороды, которые медленнее проникают через мембраны, но действуют более длительное время, являясь хроническими токсикантами [4, 5].

Ускорить процесс разложения нефтяных углеводородов в почвах, до ее полной минерализации можно, используя катаболическую активность углеводородоокисляющих микроорганизмов. Выделенные в результате селекции или методами геной инженерии штаммы углеводородоокисляющих микроорганизмов, входящие в состав биопрепаратов, при внесении в нефтезагрязненные участки не всегда выдерживают конкуренции с местной микрофлорой, в результате чего последняя быстро подавляет искусственно созданные штаммы, и интенсивность биодеструкции оказывается ниже ожидаемой. Специалистами-микробиологами повсеместно проводится выделение специализированных бактерий из нефтезагрязненных почв. Применение микроорганизмов, хорошо адаптированных к местным условиям обитания, обладающих высокой биодеструктивной способностью, весьма эффективно [6, 7].

Целью нашей работы было исследовать воздействие термофильных микроорганизмов на углеводороды мазута с длительным сроком залегания в почве.

#### **Материалы и методы**

Объектом наших исследований служили: фракция нефти > 350<sup>0</sup>С и загрязненные мазутом почвы.

Загрязненные нефтепродуктами почвы экстрагировали хлороформом, после отгонки растворителя и его полного испарения, полученный нефтепродукт, растворенный в гексане пропускали через хроматографическую колонку, заполненную оксидом алюминия для извлечения полярных соединений. Кроме того, гексан не растворяет асфальтены и высокомолекулярные смолы, извлечение которых из нефтепродуктов облегчает дальнейшие исследования.

Из нефтепродуктов, извлеченных из почв, загрязненных мазутом, адсорбционным методом извлекали арены с показателем преломления  $n_D^{20} > 1,53$ , содержащие как бициклические, так и полициклические ароматические углеводороды. Распределение углеводородов исследовали методом газожидкостной хроматографии ГЖХ, анализ выполняли на хроматографе "Хром-4" при ступенчатом программировании температуры (от 70<sup>0</sup>С до 400<sup>0</sup>С с использованием колонки, заполненной полиэтиленгликоль адипинатом и аргоном, в качестве газа-носителя). В качестве образца для сравнения использовали топочный мазут ГОСТ 10585-99.

Идентификацию хроматографических пиков проводили с помощью индивидуальных арен: фенантрен, антрацен, пирен, бензокарбазол. Нефтяные остатки (>360<sup>0</sup>С), обычно называемые мазутом представляет собой смесь полимерных углеводородов нефти, поэтому при комнатной температуры эта фракция нефти имеет твердую или вязкую консистенцию. Углеводороды мазута мало доступны микроорганизмам, и чтобы увеличить их биодеструктивность надо повысить температуру до 40<sup>0</sup>С, при которой мазут приобретет жидкую консистенцию и его углеводороды будут доступны для микроорганизмов. При высокой температуры растут термофильные микроорганизмы, поэтому мы выделили последовательной адаптацией к повышенным концентрациям мазута микроорганизмы, разлагающие при 40<sup>0</sup>С углеводороды мазута. Для этого на агаризованную среду с мазутом, в качестве источника углеводорода высевали суспензию нефтезагрязненных почв, редкие выросшие колонии отсеивались на агаризованную среду с мазутом.

Для отбора микроорганизмов, способных усваивал, углеводороды мазута, к 10 г почвы, загрязненной мазутом (1,03 и 1,67 г/100 г почвы), добавляли минеральную среду (90мл) и мазут (0,5мл). Для изучения влияния температуры, накопительную культуру культивировали в течение 10 дней при разной температуре: 20, 30, 35, 40, 45, 50, 55 и 60<sup>0</sup>С. По результатам микробиологического анализа определили, что наибольшая деградация углеводородов мазута происходит при температуре 40-45<sup>0</sup>С. Дальнейшее выделение высокоактивных культур, разлагающих мазут, проводили только при 40-45<sup>0</sup>С. Для чего к 10 г нефтезагрязненной почвы добавляли 90 мл минеральной среды и мазут - 0,5 мл. Культивировали на качалках при температуре 42<sup>0</sup>С в течение 10 суток. После чего, отобран 10 мл почвенного инокулята со средой (для микробиологических анализов), колбу с почвой отстаивали. В осевшую почву доливали, свежую минеральную среду, содержащую 0.75 мл мазута на весь объем, и вновь ставили на качалку. Последовательно концентрацию мазута довели до 1,5 мл. Почвенные суспензии высевали на агаризованную среду с 0,3 % мазута.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

В процессе выделения и идентификации исследованы 12 активных к деструкции углеводородов нефти микроорганизмов. Наибольшую активность проявил штамм идентифицированный как М 314-А8 -3. Выделенный штамм имел следующие культурально-морфологические характеристики: клетки имеют палочковидную форму, подвижны, размером 0.4-0,6 x 0,7-2.0 мкм и образуют споры. Спора эллипсоидная, расположение центральное, по одной в каждой клетке. Окраска пи Граму положительная. Является факультативным аэробом. Бактерии хорошо утилизируют источники углерода (углеводороды, глюкозу, сахарозу, мальтозу, манит, арабинозу), растут в диапазоне 30-55<sup>0</sup>С, оптимальная температура составляет 40-45<sup>0</sup>С идентифицированы как *Bacillus mesentericus fuscus*.

В итоге для дальнейшей работы была выбрана культура идентифицированная как *Bacillus mesentericus fuscus* М 314-А8 -3. Очистку загрязненных мазутом почв проводили в лабораторных условиях. Для чего 2 кг почв, содержащий 1,6% мазута помещали в

эксикатор. В почву внесли биомассу термофильного штамма М 314-А8-3 в количестве 1,2 г в 100 мл. В качестве сорбента использовали древесные опилки (10% от массы почвы), а также внесли раствор аммофоса (3г на 100 мл). Для создания наиболее оптимальных условий, температуру поддерживали в интервале 40-42°C. Использование термофильных культур микроорганизмов, обладающих высокой углеводородокисляющей способностью приводит к ускорению процесса биодegradации углеводородов мазута.

В наших исследованиях произошло снижение углеводородов в замазученных почвах за 60 дней с 1,6 г/100 г почвы до 0,6 г/100 г почвы, то есть на 62,5%. При этом, общее количество аренов снизилось с 8,5% до 3,2%. Из идентифицированных ароматических углеводородов, остался пирен и бензокарбазол, но количество их снизилось.

Для выбора оптимальных условий рекультивации почв, загрязненных мазутом, провели ряд опытов. Из почвенных образцов, не содержащих нефть тщательно удаляют камни, корешки и различные органические остатки (насекомые, семена и т.д.). Почвенные комки раздавливают деревянным пестиком с резиновым наконечником, пропускают через сито d=2 мм. В подготовленную почву внесли мазут 10 г, 20 г и 50 г на 1000 г почвы. Затем в почву внесли биомассу штамма М 314-А8-3, иммобилизованную на древесных опилках, в качестве биоподпитки использовали раствор аммофоса. Подготовленные образцы почв помещали в эксикатор и ставили р. термостат при температуре 40°C.

Опыты проводили в двух вариантах:

- 1) Покрывающая поверхность почвы полиэтиленовым чехлом.
- 2) Без чехла.

Степень деструкции определяли без удаления адсорбента, так как при загрязнении мазутом 20 и 50 г мазута, почвенные частицы обволакивались мазутом, и это препятствовало просеиванию. Результаты опытов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Зависимость степени биодеструкции углеводородов мазута от условий проведения опытов

Количество вносимого мазута, г	Степень биодеструкции, %									
	Без чехла					С чехлом				
	сутки									
	7	14	28	42	60	7	14	28	42	60
10	12	30	48	64	77	15	35	54	67	86
20	9	22	44	56	65	12	28	48	59	77
30	6	11	31	43	43	10	14	33	46	55
40	4	9	18	22	18	9	12	29	33	36
50	2	4	8	11	14	6	7	11	12	14

Анализируя табличные данные можно сделать следующие выводы: использование штаммов, иммобилизованных на древесных опилках, с добавлением источника азота и фосфора однозначно снижает концентрацию мазута при первоначальной концентрации 1-2%. При концентрации 5% происходит обволакивание почвенных частиц мазутом, то есть создаются анаэробные условия, что отрицательно влияет на процесс биодеструкции.

## Выводы

Для рекультивации нефтезагрязненных земель был использован биологический метод, основанный на использовании штамма микроорганизма, выделенного непосредственно из загрязненных мазутом земель. В процессе выделения и идентификации определили, что наибольшую активность проявил штамм идентифицированный как *Bacillus mesentericus fuscus* М 314-А8 -3. Данный штамм может быть использован при промышленном загрязнении. Использование герметичных чехлов не только повышает степень деструкции на 8%. Но и экономит поливную воду и труд. Так полив осуществляется через 3 дня, а в опытах без чехлов ежедневно.

## Литература

1. Прутенская Е.А. Основы биотехнологии / Прутенская Е.А., Ожимкова Е.В.- Тверь: ТГТУ. -2009.- 115с.
2. Головцов М.В. Переработка нефтешламов с последующей доочисткой до экологически безопасного уровня: автореферат дис. [Электронный ресурс] /М.В.Головцов.- Электрон.дан.-[Б.м.], 2008.-Режим доступа: [http://www.disert.info/golovcov\\_3442167.html](http://www.disert.info/golovcov_3442167.html)
3. Абдрахманов Т.А. Роль нефтеокисляющих бактерий при очистке нефтезагрязнённых лугово-аллювиальных почв. [Электронный ресурс]// Абдрахманов Т.А., Жаббаров З.А., Вахабов А.Х.- Электрон. дан.- [Б.м.], 2006.-Режим доступа: <http://ej.kybagro.ru/2006/01/pdf/14.pdf>
4. Волченко Т.И. Скрининг углеводородокисляющих бактерий - продуцентов поверхностно-активных веществ биологической природы и их применение в опыте по ремедиации нефтезагрязненной почвы и нефтешлама/ Н.Н. Волченко, Э.В. Карасёва // Биотехнология.- 2015.-№6.-С.
5. Назаров А.В. Потенциал использования микробно-растительного взаимодействия для биоремедиации// А.В. Назаров, С.А. Иларионов // Биотехнология, -2007.- № 3.-С.56-64
6. Шкидченко Л.Н. Влияние длительности хранения суспензии микроорганизмов-нефтедеструкторов на их физиологическую активность// Л.Н. Шкидченко // Биотехнология, -2006, -№ 2,-С.51-55
7. Гафаров А.Б. Деградация нефтешламов аборигенными и продуцированными микроорганизмами // А.Б. Гафаров // Биотехнология, -2008, -№ 6, С. 80-85

**Сапарбекова А.А., Мамаева Л.А., Байшанова А.Е., Кедельбаев Б.Ш.**

*М.Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университеті,  
Қазақ ұлттық аграрлық университеті*

## АУЫР МҰНАЙ ӨНІМДЕРІ КӨМІРСУТЕГІЛЕРІМЕН ЛАСТАНҒАН ТОПЫРАҚТЫ РЕКУЛЬТИВАЦИЯЛАУ

### Аңдатпа

Біздің зерттеулерімізде жоғарғы көмірсутегілерді тотықтыру қабілеттіне ие *Bacillus mesentericus fuscus* М 314-А8 -3 термофильді культураларын қолдану арқылы 60 күнде мазутталған топырақта мұнай өнімдерін 1,6 г/100 г топырақтан 0,6 г/100 г топыраққа дейін 62,5% төмендету қарастырылады. Анықталған ароматты көмірсутегілер ішінен пирен және бензокарбазол қалады, бірақ олардың мөлшері төмендейді. Герметикалық қаптарды қолдану деструкция дәрежесін 8% жоғарлатады, сонымен қатар, құйылатын судың мөлшерін төмендетеді.

**Кілт сөздер:** топырақ, мазут, биодеградация, рекультивация, микроағзалар.

**Saparbekova A.A., Mamayeva L.A., Bayshanova A.E., Kedelbaev B.Sh.**

*M. Auezov South Kazakhstan state university,  
Kazakh national agrarian university*

## RECUITIVATION OF POLLUTED SOIL BY HYDROCARBON OF HEAVY OIL PRODUCTS

### **Abstract**

In our research termophilic cultures *Bacillus mesentericus fuscus* M 314-A8 -3 with high hydrocarbon oxidation ability was used, it has occurred the reduction an oil products in polluted soil from 1,6 g/100 g to 0,6 g/100 g soil for 60 days, that is to say on 62,5%.

From identified aromatic hydrocarbon piren and benzocarbozol remained, but amount their reduced. Use of hermetic covers not only raises the degree a destruction on 8% but also economizes watering.

**Keywords:** soil, fuel oil, biodegradation, recultivation, microorganisms.

УДК 577472

**Сармолдаева Г.Р., Кожижанова Б.А., Мажибаева Ж.О.**

*ТОО «Казахский научно – исследовательский институт рыбного хозяйства»*

## ХАРАКТЕРИСТИКА МАКРОЗООБЕНТОСА РЕЗЕРВНЫХ ВОДОЕМОВ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННОГО ФОНДА АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ, 2016 г.

### **Аннотация**

В статье представлены результаты исследования 10 малых водоемов Алматинской области. Для выявления обеспеченности рационов бентосоядных видов рыб кормовыми беспозвоночными было исследовано биоразнообразие и количественное развитие гидробионтов. В результате были определены видовой состав бентоса в следующих водоемах: Аксенгир, Книжевский, Аккайнар, Крестьянский, Унгиртас, Мынбай, Достык Улгили и Таргап, Сасыкбай. Среди исследованных водоемов самый богатый по видовому составу был водоем Аксенгир – 23 видов, а по количественным показателям гидробионтов водоём Унгиртас содержал - 6040 экз./м<sup>2</sup> и 11,05 г/м<sup>2</sup>.

В бентоценозе исследованных водоемов по численности и массе доминировали малощетинковые черви и личинки двукрылых, также в некоторых - брюхоногие моллюски. В данной работе оценивается кормовая база бентосоядных рыб водоемов местного значения.

**Ключевые слова:** зообентос, численность, биомасса, водоем, Алматинская область.

### **Введение**

Алматинская область обладает значительным фондом резервных водоемов. Их исследование и оценка состояния рыбных ресурсов и других водных животных имеет большое значение, как в плане сохранения рыбных запасов на оптимальном уровне, так и в сохранении биоразнообразия кормовых беспозвоночных малых водоемов.

Зообентосные животные являются кормом для бентосоядных рыб во всех водоемах. В связи с этим, необходимость изучения биоразнообразия и количественного развития зообентоса водоемов Алматинской области, с целью выяснения обеспеченности пищей