



MICROBIOLOGICAL INDICATION OF SOILS IN ZONE OF INFLUENCE OF PERECHIN TIMBER AND CHEMICAL PLANT

Kryvtsova Maryna*, Bobrik Nadija, Sabov Marjan, Sabov Mark

Uzhhorod National University, Uzhhorod, Ukraine

МІКРОБІОЛОГІЧНА ІНДИКАЦІЯ ҐРУНТІВ У ЗОНІ ВПЛИВУ ПЕРЕЧИНСЬКОГО ЛІСОХІМКОМБІНАТУ

Кривцова Марина, Бобрик Надія, Сабов Мар'ян, Сабов Марк

Received 22. 6. 2017

Revised 26. 6. 2017

Published 27. 11. 2017

The soil is the most sensitive indicator of the environmental and geochemical state of the ecosystems, for it is there that all migration ways of chemical elements, including toxic ones, intersect. It is important to consider the reaction and role of soil microbial associations that on the one hand sensitively react to a technogeneus impact and on the other hand take part in soil formation processes and determine to a considerable extent the plants' soil growth conditions. The purpose of the paper is to study the factory impact (Perechin timber and chemical plant) upon the soil microbiota, to identify the level of heavy metals and nitrates in the soil covered with lawn herbage, and to evaluate the air pollution by microbiological indicators. A complex study of the state of the microbiota, contents of heavy metals and nitrates in the soils near the factory is conducted. The soils located in the factory influence's zone are shown to be characterized by a heightened content of Pb and Zn as compared with the maximum permissible concentrations (MPC) for these metals. Excess of the background values of the heavy metals under review proved presence of a significant technogeneus pollution. The study recorded the reconstruction of the microbial soil coenosis as compared with the control. The soil microbiocoenosis is established to have undergone a reconstruction characterized by an increased number of oligotrophs, ammonifiers and a decreased content of *Azotobacter*. It has been ascertained that the highest level of nitrates was recorded in the soil of Spot 30 m from factory.

Keywords: soil; heavy metals; nitrates; microbial coenosis

Вступ

Відомо, що ксенобіотики техногенного походження суттєво впливають на всі ланки екосистем, в тому числі мікробіоценози, які є чутливими індикативними компонентами будь-якої екосистеми. Зокрема, важкі метали, потрапляючи в ґрунт з газопиловими викидами промислових підприємств, автотранспорту, з домішками добрив, пестицидів та ін., накопичуються в ньому до концентрацій, що перевищують ГДК і можуть вплинути на ґрунтову мікрофлору. Основними джерелами забруднення ґрунтів навколо великих промислових центрів є підприємства чорної та кольорової металургії, хімічної, нафтохімічної та енергетичної промисловості. Під впливом атмосферних опадів та розтавання снігу ці забруднення

*Corresponding author: Maryna Kryvtsova, Uzhhorod National University, Uzhhorod, Ukraine,
✉ maryna.krivcova@gmail.com

проникають в глибину ґрунтів на 20 – 30 см і більше залежно від їхньої розчинності у воді та сорбційної здатності.

Одним із найкрупніших промислових підприємств Закарпаття є «Перечинський лісохімічний комбінат». Комбінат розташований на відстані 600 – 800 м від центру населеного пункту смт. Перечин (в північно-східній частині). Побудований ще в 1893 р. австро-угорською компанією, завод спеціалізується на виробленні деревного вугілля, карбамідо-формальдегідних смол, метилового спирту та оцтової кислоти. Продукція експортується до Німеччини, Бельгії, Іспанії, Польщі, Нідерландів, Італії, Австрії та інших країн Європи.

Внаслідок запровадження активних технічних оновлень на початку 2000-х років виробництво на заводі зросло в багато разів. З 2010 р. виробнича потужність етилацетату збільшена до 25 тис. тонн на рік, карбамідо-формальдегідних смол – до 50 тис. тонн на рік, деревного вугілля і брикетів – до 25 тис. тонн на рік. Проте відкритим залишається питання екологічно безпечної утилізації відходів виробництва. Для виготовлення карбамідо-формальдегідних смол використовують формалін, карбамід і карбамід формальдегідний концентрат, залишки яких потрапляють у ґрунт. Скид відходів у потік Старий Домарадж (зараз Новий Домарадж) створює небезпечну ситуацію забруднення підземних вод та р. Уж. Вченими встановлено підвищений вміст у стічних водах заводу сульфат-йонів, йонів амонію, ацетат-йонів, фенолів та перевищення колі-титру допустимих норм на кілька порядків (Воуко and Chonka, 2001).

Закарпатським обласним центром з гідрометеорології було проаналізовано вплив діяльності Перечинського лісохімікомбінату на якість атмосферного повітря в м. Ужгороді. За приблизними підрахунками згідно ОНД-86 (без врахування коефіцієнта рельєфу місцевості), якщо підприємство викидає в повітря в нічний час близько 2,7 т формальдегіду, то його максимальна приземна концентрація в м. Ужгороді (відстань – 19 км) може складати за несприятливих погодних умов майже 10 ГДК; концентрація в селищі Перечин може перевищити ГДК в багато разів (Доповідь..., 2010).

Завданням наших досліджень було провести хімічний аналіз ґрунтів на різній відстані від заводу; дослідити порушення ґрунтового мікробоценозу в зоні впливу лісохімікомбінату; з використанням статистичних методів виявити вплив хімічних чинників на перебудову асоціацій ґрунтових мікроорганізмів.

Матеріали та методи

Проби ґрунту відбирались на відстані 30 м, 50 м, 100 м і 150 м від місця викидів. Відбір, підготовка та зберігання зразків ґрунту для дослідження аеробної мікробіоти проводили відповідно до ДСТУ ISO 10381-6-2001.

Кислотність ґрунтового розчину проводили потенціометрично (Зырини Орлов, 1980). Визначення актуальної кислотності (водна витяжка) проводили з використанням мультиметра WTW Multi 350i (set 5). Визначення нітратів в ґрунті проводили з використанням приладу Нітратаналізатор РХ-150.1 (Зуй, 2003). Визначення гумусу проводили за методом І.В. Тюріна (1965). Визначення масової частки рухомих форм важких металів (Cu, Pb, Zn) проводили за допомогою атомно-абсорбційного аналізу (Студеняк та ін., 2014).

Основні еколого-трофічні групи мікроорганізмів ґрунту визначали методом серійних розведень ґрунтової суспензії з використанням диференційно-діагностичних поживних середовищ (Методы ..., 1991). Амоніфікатори враховували на м'ясопептонному агарі (МПА), мікроміцети – на середовищі Сабуро, актиноміцети та мікобактерії – на крохмаль-аміачному агарі (КАА), бактерії групи кишкової палички – на Ендо, олігонітрофіли – на середовищі Ешбі, оліготрофи – на голодному агарі (ГА), споріві – на МПА (шляхом висіву пропастеризованої ґрунтової суспензії), педотрофи – на ґрунтовому агарі, целюлозолітичні мікроорганізми – на середовищі Гетчинсона, *Azotobacter* – за методом обростання грудочок ґрунту на середовищі

Ешбі. Результати виражали числом КУО на 1 г абсолютно сухого ґрунту. Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми Microsoft Excel.

Результати та їх обговорення

Нами проведено визначення деяких хімічних показників ґрунтів у зоні впливу Перечинського лісохімікомбінату. Вміст гумусу коливався в межах від 8,21 (100 м) до 14,41 % (30 м від заводу) (табл. 1).

Таблиця 1 Значення актуальної кислотності, гумусу та нітратів ґрунту, що знаходиться в зоні впливу заводу

Table 1 The value of actual acidity, humus and nitrate of the soil located in the factory influence zone

| Проба | Вміст гумусу, % | Вміст нітратів, мг/кг | pH |
|-------|-----------------|-----------------------|------|
| 30 м | 14,41 | 854,0 | 5,67 |
| 50 м | 9,92 | 274,0 | 5,30 |
| 100 м | 8,21 | 95,9 | 6,95 |
| 150 м | 10,37 | 89,8 | 6,93 |

Підвищений вміст гумусу у ґрунтах, наближених до заводу, можна пояснити розповсюдженням відходів деревини за територію заводу.

При визначенні вмісту нітратів виявлено пряму залежність зниження їх вмісту з віддаленням від заводу. При цьому на відстані 30 м їх кількість суттєво зростала. У ґрунті, відібраному на відстані 30 м від заводу, їх вміст становив 854 мг/кг, на відстані 50 м знижується втричі, а на відстані 100 та 150 м – ще втричі. При визначенні pH ґрунтового розчину встановлено, що ґрунти, наближені до заводу, мають сильно кислу реакцію, а при віддаленні від заводу (100 та 150 м) виявлено нейтральні ґрунти.

Вміст важких металів (ВМ) у ґрунтах вказує на загальний геохімічний стан ґрунту. Проте важливішим показником виступає не валовий вміст ВМ, а вміст рухомих форм, які можуть засвоюватись біотою та мігрувати по трофічних ланцюгах. У монографії (Забруднювачі..., 2008) проаналізовано наслідки забруднення території р. Тиса важкими металами внаслідок паводків та серії аварій на румунських гірничодобувних підприємствах. Встановлено, що у ґрунтах притисянських заплав Закарпаття вміст цинку перевищував ГДК у 5 разів, плюмбуму – у 7, купруму – у 1,3, мангану – до 3,4 разів. За період 2000–2002 р. спостерігали тенденцію до зменшення вмісту ВМ. На думку дослідників, у ґрунтах Закарпаття контроль за вмістом Zn та Pb потребує додаткової уваги.

Встановлено, що вміст ВМ у ґрунтах в зоні впливу лісохімічного комбінату перевищують гранично-допустимі концентрації (ГДК), а тому виникає необхідність детального фізико-хімічного та мікробіологічного обстеження даних територій.

Встановлено, що вміст Купруму (Cu) коливався в межах 0,16 – 0,25 мг/кг, що не перевищувало ГДК (3 мг/кг). Найбільше перевищення ГДК вставлено для цинку (Zn). У ґрунті на відстані 30 м вміст даного металу перевищував ГДК у 3,5 разів і становив 82,50 мг/кг. Аналогічно вміст Плюмбуму (Pb) сягав рівня ГДК також на відстані 30 м. Отже, забрудненою вважається точка «30 м від заводу, оскільки тут реєстрували вміст рухомих форм ВМ, що перевищує ГДК (рис. 1).

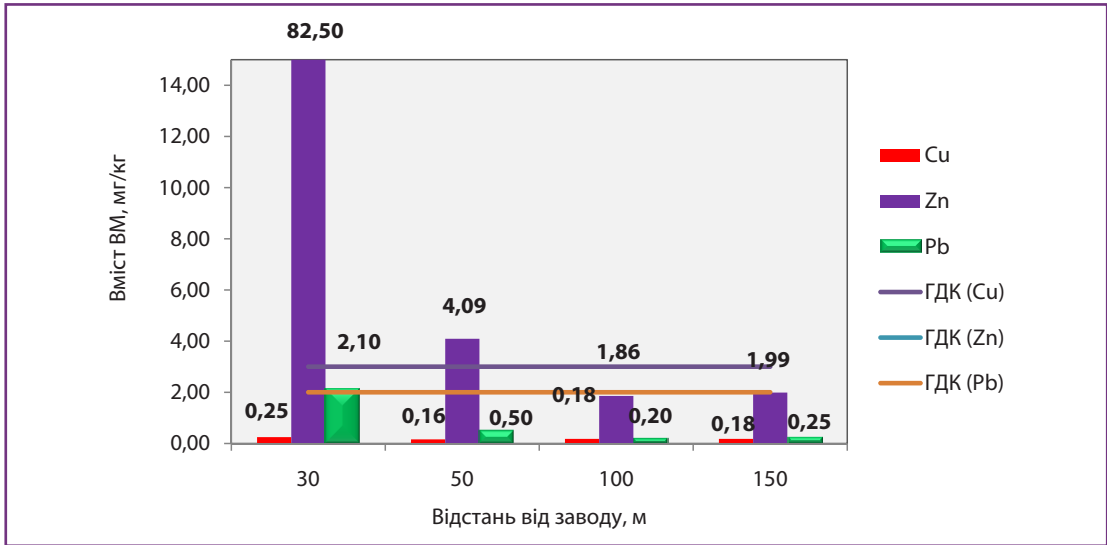


Рисунок 1 Вміст важких металів у ґрунтах, що знаходяться у зоні впливу заводу
Figure 1 Contents of heavy metals in the soils of factory influence zone

При проведенні мікробіологічних досліджень встановлено порушення кількісного складу мікробних угруповань ґрунту у зоні впливу лісохімічного комбінату. Кількість амоніфікаторів закономірно підвищувалась при віддаленні від заводу (табл. 2). На відстані 30 м від заводу їх кількість становила 5,08 млн. КУО/1 г сух. ґр. На відстанях 50 м і 100 м їх кількість суттєво не відрізнялась. Шляхом застосування кореляційного аналізу виявлено негативну кореляцію між кількістю амоніфікаторів та вмістом Zn ($r = -0,52$) та Pb ($r = -0,56$).

Таблиця 2 Мікробіота ґрунту у зоні впливу заводу, $M \pm m \times 10^6$ КУО/1 г сухого ґрунту, $n = 6$
Table 2 Soil microbiota in the factory influence zone, $M \pm m \times 10^6$ CFU/g of dry soil, $n = 6$

| Група мікроорганізмів | Точка відбору проб, м від заводу | | | |
|-----------------------|----------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | 30 | 50 | 100 | 150 |
| Амоніфікатори | 5,08 ±0,61a | 7,67 ±0,56b | 10,33 ±1,12b | 26,17 ±2,82c |
| Мікроміцети | 0,43 ±0,08a | 0,63 ±0,06a | 0,52 ±0,10a | 2,08 ±0,30b |
| Актиноміцети | 6,63 ±0,42 | 6,90 ±0,61 | 9,43 ±1,24 | 8,65 ±0,85 |
| Олігонітрофіли | 0,88 ±0,99a | 3,43 ±0,94b | 4,72 ±0,46b | 3,20 ±0,83b |
| Міксобактерії | 0,18 ±0,03a | 4,33 ±0,67c | 2,13 ±0,05b | 1,78 ±0,17b |
| Спорові | 1,23 ±0,10a | 1,17 ±0,08a | 1,73 ±0,24ab | 2,45 ±0,11c |
| Оліготрофи | 9,00 ±0,26c | 3,35 ±0,21a | 2,78 ±0,28a | 4,13 ±0,14ab |
| Педотрофи | 12,65 ±0,30b | 21,27 ±0,14c | 23,17 ±0,60c | 5,70 ±0,18a |
| Целюлозолітичні | 0,20 ±0,04a | 0,63 ±0,06c | 3,38 ±0,46d | 0,37 ±0,06b |
| БКГП | 0,63 ±0,10a | 2,90 ±0,26b | 2,42 ±0,15b | 0,45 ±0,08a |
| Азотфіксатори, % | 13,33 ±1,42a | 22,22 ±1,41b | 24,45 ±1,11b | 25,56 ±0,70b |

літерами а – d позначено статистично достовірні відмінності кількості мікроорганізмів ($P < 0,05$)

Кількість мікроміцетів на відстані 30 – 100 м від заводу істотно не відрізнялась між собою і коливалась в межах 0,43 – 0,63 млн. КУО/1 г сух. гр. Вже на відстані 150 м їх кількість зростає вдвічі. Встановлено середній негативний кореляційний зв'язок між кількістю мікроміцетів та ВМ ($r = -0,31 - -0,45$).

Кількість актиноміцетів та мікроорганізмів, що засвоюють мінеральні форми азоту, суттєво не відрізнялась між собою на всіх варіантах досліду.

Найменшу кількість олігонітрофілів виявлено на відстані 30 м від заводу (0,88 млн. КУО/1 г сух. гр). При віддаленні від заводу їх кількість зростає у 2 – 3 рази. Такі ж тенденції виявлено і для азотфіксаторів, які здатні чутливо реагувати на зміни фізико-хімічних властивостей ґрунтів та внесення політантів. Їх вміст зростає з 13,33 % на відстані 30 м від заводу до 22,22 – 25,56 % на віддалених ділянках. Встановлено, що зниження кількості олігонітрофілів та азотфіксаторів співпадає з високим вмістом рухомих форм ВМ та нітратів, про що свідчать високі коефіцієнти кореляції ($r = -0,64 - -0,78$ – для олігонітрофілів та $r = -0,88 - -0,99$ для азотфіксаторів). Вченими також встановлено високу чутливість азотфіксаторів до хімічних забруднювачів (Мынбаева, Курманбаев, 2011).

Вміст спорових мікроорганізмів поступово підвищується при віддаленні від заводу. Кореляційний аналіз показав, що їх зниження спричинене більшою мірою підвищеним вмістом нітратів ($r = -0,63$), ніж вмістом ВМ ($r = -0,28 - -0,56$).

На відстані 30 м встановлено найвищу кількість оліготрофілів, які розвиваються на збіднених середовищах і потребують для росту малу кількість поживних речовин. Це єдина група мікроорганізмів, для якої виявлено позитивну кореляцію з вмістом ВМ та нітратами.

Висновки

У результаті досліджень встановлено хімічне забруднення ґрунтів, наближених до заводу, що зумовлено підвищеним вмістом нітратів та ВМ, що перевищує ГДК. Також у зоні забруднення відбувається сильне закислення ґрунтів. Встановлено порушення кількісного складу мікробних ценозів. Шляхом застосування кореляційного аналізу встановлено, що найчутливішими групами до вмісту політантів у ґрунті є азотфіксатори та олігонітрофіли. Кількість актиноміцетів суттєво не змінювалась, а динаміка вмісту оліготрофілів співпадала з підвищеним вмістом ВМ. Проведені дослідження показали наявність хімічного забруднення прилеглих до заводу територій (30 м) та як наслідок перебудову мікробних ценозів.

Література

- Бойко, Н., Чонка, І., Николаічук, В., Ковалчук, А., Дзіамко, В., 2001. Bacteriological Assessment of Prospects of the use of Zeolites for Treatment of Industrial Effluents. *Науковий Вісник УжНУ, серія Біологія*, № 10, с. 165–170.
- Доповідь про стан навколишнього природного середовища в Закарпатській області за 2009 рік. Державне управління охорони навколишнього природного середовища в Закарпатській області. Ужгород, 2010. 159 с.
- ДСТУ ISO 10381-6-2001 Якість ґрунту. Відбір проб. 2006. К.: Держспоживстандарт України. 181 с.
- Забруднювачі та їх впливи на екологічно вразливі екосистеми Верхнього Потисся*. 2008. Н. Бойко, Ш. Балажі, Ю. Галас, Г. Коваль, та ін. Під ред. Н. Бойко, Ш. Балажі. Ужгород – Ніредьгаза. 380 с.
- Зуй, М.Ф. 2003. *Хімічний склад та аналіз основних компонентів ґрунту*. К: Урожай. 86 с.
- Зырин, Н.Г., Орлов, Д.С., 1980. *Физико-химические методы исследования почв*. И-во МГУ, Москва. 382 с.

- Методы почвенной микробиологии и биохимии.* 1991. И.В. Асеева, И.П. Бабьева, Б.А. Бызов и др. под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: МГУ. 304 с.
- Мынбаева, Б.Н., Курманбаев, А.А., Воронова, Н.В. 2011. Микробная биоиндикация почв Алматы с помощью культуры *Azotobacter*. *Фундаментальные исследования*, № 6, с. 206–209.
- Студеняк, Я.І., Воронич, О.Г., Сухарева, О.Ю., Фершал, М.В., Базель, Я.Р. 2014. *Практикум з аналітичної хімії. Інструментальні методи аналізу.* Ужгород. 129 с.
- Тюрин, И.В. 1965. *Органическое вещество почвы и его роль в плодородии.* М.: Наука. 320 с.