
БИОЛОГИЯ

УДК 579.63; 628.4.08

Г. А. Джамалова

БИОТЕСТИРОВАНИЕ КАЧЕСТВА НАРУШЕННЫХ ГЕОТЕХНОГЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ ПОЛИГОНА ТКО

Приводятся результаты экспериментального исследования по биотестированию качества нарушенных геотехногенных экосистем полигона ТКО: изучена реакция микромицетов на некоторые физические (температура) и химические (рН, тяжелые металлы) виды воздействия в стандартных условиях.

Ключевые слова: твердые коммунальные отходы (ТКО), геотехногенная экосистема полигона ТКО, биоиндикация, биотестирование.

G. Jamalova

BIOTESTING OF VIOLATIONS OF GEOTECHNOGENIC ECOSYSTEMS SITES OF SOLID WASTE

The results of experimental biotesting investigation of the quality of violations of geotechnogenic ecosystems MSW have been presented, and the reaction to some physical (t) and chemical (pH, heavy metals) impacts in standard conditions have been discussed.

Keywords. municipal solid waste (MSW), geotechnogenic ecosystem of the landfill, bioassay.

Биотестирование качества нарушенных геотехногенных экосистем полигона твердых коммунальных отходов (ТКО) проводилось с использованием микромицетов, полученных из двух разновозрастных полигонов двух крупных городов Казахстана — г. Алматы (Карасайский полигон, эксплуатация с 1989 г., площадь 65 га) и г. Астана (пострекультивационный полигон, эксплуатация с 1974 по 2006 год, площадь 65,6 га).

Объектом данного исследования послужили микромицеты, выделенные из почвы, свалочной массы ТКО и фильтрационного накопителя. При изучении сорбционной активности исследовались представители из родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* и *Mucor*.

Задача исследований — изучение реакции микромицетов на некоторые физические (температура) и химические (рН, тяжелые металлы) виды воздействия в стандартных условиях путем регистрации их физиологических показателей.

При изучении пространственно-временной динамики микробиоты на исследуемых полигонах [5; 6] было определено, что экологически информативным показателем для геотехногенной экосистемы полигона служит трансформация микробиологической структуры биомассы под влиянием ТКО, представляющей собой довольно четкий диагностический признак, по которому можно характеризовать условия обитания микроорганизмов.

Изучение структуры комплекса микромицетов на основе частоты встречаемости видов в геозкотехногенной системе исследуемых полигонов ТКО показало, что в образцах почв, водного режима полигона и свалочного тела преобладали микромицеты рода *Aspergillus*, *Fusarium* и *Penicillium*.

Данное исследование по биотестированию было направлено на изучение экологической токсичности исследуемой антропогенной экологической ниши методом оценки легко регистрируемых признаков (рост, выживаемость, размножение) отдельных тест-культур. Этот этап исследований предполагает разработку подхода, которая может быть использована как для оценки качества, так и для самоочищающей способности геозкотехногенной среды полигона ТКО.

Из проведенных ранее работ нами показано [1], что температурный режим свалочного тела и грунтовых вод полигона находится в широких пределах. Так, температурный режим свалочного тела в зависимости от места и глубины замера варьировал в пределах от 23°C на глубине до 2 м (Карасайский полигон ТКО г. Алматы, Пострекультивационный полигон ТКО г. Астана) до 378°C и выше в местах пожара на глубине более 10–15 м (Карасайский полигон ТКО г. Алматы). Температурный режим грунтовых вод полигона в зависимости от глубины скважины в теплый период варьировался от 12°C (более 5 м) до 21°C (до 5 м). В связи с этим представляет интерес изучение реакции роста микромицетов в зависимости от температурного режима.

Динамика роста микромицетов, выделенных из почвы полигона (опыт; КОЕ/г) при разных режимах культивирования (табл. 1) показала, что обсемененность почв (глубина отбора проб 0–20; 20–40; 40–60 см) полигона ТКО микромицетами по сравнению с обсемененностью почвенных образцов, полученных на расстоянии более 1000 м от полигона (контроль), различалась в зависимости от температурного режима (12, 29 и 60°C) существенно.

Таблица 1

Динамика роста микромицетов (КОЕ/г), выделенных из почв и свалочного тела полигона при разных режимах культивирования

Температурный режим культивирования, t, °C	Глубина отбора проб почвы, см		
	0–20	20–40	40–60
Опыт: почва полигона ТКО			
12	$2,0 \times 10^3$	$2,7 \times 10^3$	Менее 10
29	$2,4 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$	$3,7 \times 10^3$
60	$1,6 \times 10^2$	Менее 10	Менее 10
Контроль: почва на расстоянии более 1000 м от полигона ТКО			
12	—	—	—
29	$2,5 \times 10^3$	$1,8 \times 10^3$	$2,1 \times 10^4$
60	—	—	—

Так, для покрывающей свалочное тело почвы полигона ТКО относительно хороший рост микромицетов наблюдается при всех режимах культивирования. Для контрольной почвы рост микромицетов при низкой (12°C) и высокой (60°C) температуре не происходит. При этом колебания по количественным показателям роста микромицетов в зависимости от глубины отбора проб почвы не значительны. Полученные данные свидетельствуют о том, что в покрывающей почве полигона ТКО вне зависимости от глубины отбора проб обитают сообщества микромицетов, которые способны расти как при низких, так и при высоких температурах.

Очень важным аспектом в исследовании является скорость роста микромицетов. Изучая реакцию микромицетов на температуру, мы обнаружили, что быстрый рост микромицетов характерен для температуры 60°C: уже через 48 часов культивирования на плотном агаре Чапека был отмечен их рост. Более продолжительный рост микромицетов был отмечен при температуре 12°C. При данном температурном режиме рост микромицетов проявился только на 22–24-й день культивирования. При температуре 29°C рост микромицетов на плотном агаре был обнаружен на 10–11-й день культивирования. Из полученных данных можно сделать следующий вывод: с ростом температуры до определенного предела в покрывающей почве полигона ТКО активизируются быстрорастущие микромицеты.

В таблице 2 показана динамика роста микромицетов, выделенных из водного режима полигонов ТКО, т. е. из образцов воды фильтрационного накопителя и грунтовых вод.

Таблица 2

Динамика роста микромицетов (КОЕ/мл) водного режима полигона

Температурный режим культивирования, t, °C	Проба воды из фильтрационного накопителя	Вода грунтовая		
		Опыт, на глубине, м		Контроль
		до 30	более 200	
12	$1,7 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	Менее 10
29	$2,3 \times 10^4$	$1,5 \times 10^2$	Менее 10	—
60	$2,2 \times 10^1$	Менее 10	—	—

Изучение влияния температуры на микромицеты, выделенные из фильтрационного накопителя, показало определенную закономерность: более активный рост отмечен при температуре 12°, далее, при повышении температуры, как мы видим из таблицы 2, активность роста снижается. При сравнении роста микромицетов, полученных из грунтовых вод полигона, в зависимости от глубины отбора проб воды мы обнаружили, что активность микромицетов проявляется при всех трех режимах культивирования для воды, отобранной на глубине до 30 м, а на глубине более 200 м активность отмечена для температуры 12 и 29°C, тогда как для контрольной группы активность отмечается только при температуре 12°C. Фиксирование скорости роста в зависимости от температурного режима культивирования показало, что при 29°C темп роста в виде КОЕ проявляется на 9–11-е сутки культивирования (умеренный темп роста), при 12°C — на 16–17-й день культивирования (медленный темп роста).

Из вышеизложенного следует, что радиальная скорость роста микромицетных колоний в зависимости от температурных колебаний может быть использована как косвенная

характеристика функциональной активности данного комплекса. Так, при температуре 29°C (для проб воды) или 60°C (для проб почв) в комплексе микромицетов преобладают быстрорастущие виды, тогда как при 12°C доминируют формы с невысоким коэффициентом скорости роста.

На следующем этапе исследования были направлены на изучение реакции микромицетов на воздействие такого химического фактора, как рН. Величина рН является важнейшим условием среды, в которой протекает жизнь микроорганизмов. Если она оптимальна, то решающее значение для роста и характера метаболизма приобретают другие факторы. Концентрация водородных ионов в среде — один из регулирующих и лимитирующих факторов при культивировании микромицетов. Неблагоприятное значение рН может оказать ингибирующее действие на их развитие при различных температурах [3, с. 108].

По проведенным исследованиям выяснено, что в зависимости от сроков захоронения рН почвы и свалочного тела полигона находится в пределах 5,8...7,2, воды — 6,5...8,5. В связи с этим было интересно проследить, какова активность микромицетов при различных уровнях рН, а именно при 5, 6 и 7 (табл. 3 и 4).

Таблица 3

Динамика роста микромицетов почв в зависимости от глубины отбора проб при разных уровнях рН и температуры (КОЕ/г)

<i>t, °C</i>	<i>pH</i>	<i>Глубина отбора проб почвы, см</i>		
		<i>0–20</i>	<i>20–40</i>	<i>40–60</i>
12	5	$1,2 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$
	6	$0,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$
	7	—	—	—
29	5	$1,0 \times 10^5$	$3,5 \times 10^7$	$0,5 \times 10^5$
	6	$2,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^2$
	7	Менее 10	—	—
60	5	$4,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^8$	$2,5 \times 10^5$
	6	$2,0 \times 10^4$	$0,5 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$
	7	—	—	—

Таблица 4

Динамика роста микромицетов воды при разных уровнях рН (КОЕ/мл)

<i>pH</i>	<i>Проба воды из фильтрационного накопителя</i>	<i>Вода грунтовая</i>		
		<i>Опыт, глубина, м</i>		<i>Контроль</i>
		<i>до 30</i>	<i>более 200</i>	
5	$1,6 \times 10^4$	$3,4 \times 10^2$	Менее 10	Менее 10
6	$1,0 \times 10^2$	Менее 10	—	—
7	Менее 10	—	—	—

Исследования показали, что микромицеты, выделенные из техногенных почв полигона, более активны при рН, равном 5. Данная активность характерна для всех трех режимов культивирования. При температуре 29 и 60 °С относительно быстрый рост наблюдался при рН, равном 5 и 6, тогда как при рН, равном 7, рост отсутствовал для всех исследуемых проб.

Рост микромицетов, рассредоточенных в воде при 12°С, по сравнению с почвой происходит менее активно. Для воды, отобранной из фильтрационного накопителя, обсемененность проявляется при всех исследуемых уровнях рН, тогда как для грунтовой воды полигона ТКО обсемененность отмечается при рН, равном 5 и 6, для грунтовых контрольных вод — только при рН, равном 5. Полученные данные позволяют констатировать активный рост микромицетов при температуре культивирования 12°С и при кислых условиях среды с рН, равном 5 и 6, чем при нейтральных (рН = 7), где рост культур практически не наблюдается.

Таким образом, анализ природных сообществ микромицетов почв в техногенно нарушенной экосистеме полигона ТКО свидетельствует о том, что структурно-функциональные особенности микробиоты специфичны для определенных условий местобитаний. Дифференциальное поведение микромицетов в зависимости от техногенных, сезонных, географических различий в биотопах и различий, обусловленных физическими (t) и химическими (рН) факторами полигона. Эффективность микологических параметров в экологической оценке разных вариантов пространственной и временной изменчивости условий обитания не одинакова. В одних случаях более заметны различия по общей численности микромицетов, в других — по скорости роста, в третьих — по составу видов.

В условиях техногенной нагрузки выявляются группы видов микромицетов, устойчивых к определенным антропогенным факторам, в нашем случае — температурные колебания. Это, как правило, виды с широким ареалом распространения и с высоким уровнем спорообразования.

Далее в исследовании ставились задачи, направленные на изучение физиологических свойств термофильных грибов, выделенные из свалочной массы ТКО. Исследовались представители из родов: *Aspergillus* (*Asp. fumigatus*), *Fusarium* (*Fusarium dimerum*), *Penicillium* (*Penicillium duponti*) и *Mucor* (*Mucor pusillus*). В таблице 5 приведены основные биологические особенности грибов, выделенные из массы ТКО.

Таблица 5

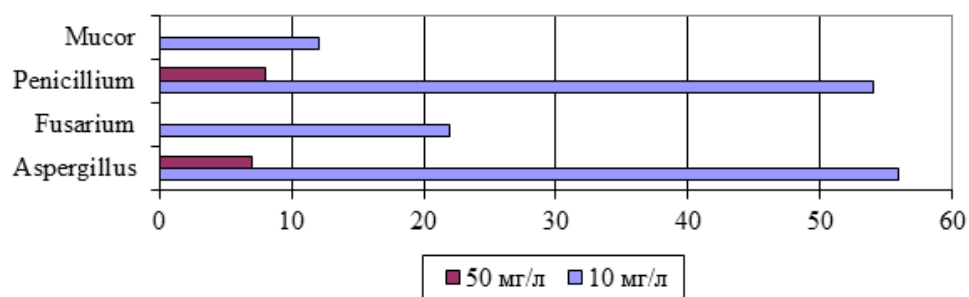
Биологические признаки изучаемых микромицетов [5, с. 49]

<i>Вид</i>	<i>Краткая макробиологическая характеристика</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Термоустойчив. Быстрорастущие дымчатые шерстистоватные колонии. Активен при рН = 6, температуре 60°С.
<i>Fusarium dimerum</i>	Медленнорастущие белые воздушные колонии. Активен при рН = 6,8, температуре 48°С.
<i>Penicillium duponti</i>	Термоустойчив. Колонии по цвету темно-кремовые. Активен при рН = 6,4, температуре 60°С.
<i>Mucor pusillus</i>	Быстрорастущие серые пушистые мицелии. Активен при рН = 6,8, температуре 50°С.

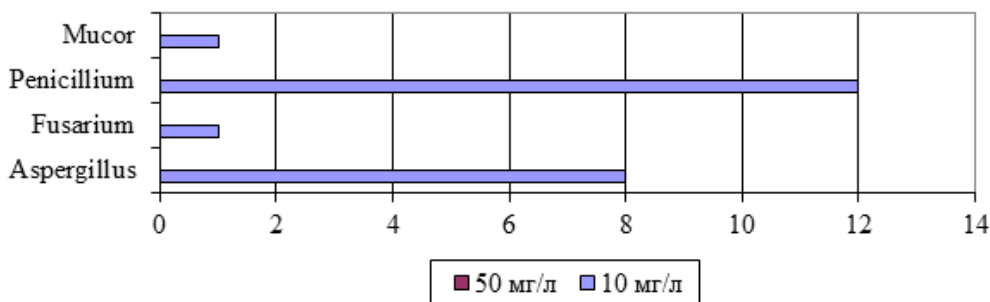
Зависимость прорастания спор микромицетов от присутствия в среде солей тяжелых металлов проводили по методике, описанной в работе [4, с. 231]. В качестве токсикантов были использованы соли таких тяжелых металлов, как Zn, Cu, при этом время воздействия токсикантов не превышало 12–18 часов.

Выбор этих тяжелых элементов объясняется их экотоксикологическим действием [2, с. 85] на биоту в результате превышения ПДК по цинку (первый класс опасности) — в 1,1–8,8 (Карасайский полигон Алматы) и в 1,4–2,3 (полигон Астаны) раза, а по меди (второй класс опасности) — в 1,4–214 и в 7 раз соответственно. При этом следует отметить, что концентрация рассматриваемых элементов локально на территории полигона ТКО изменяется во времени с кумулятивным эффектом (на 1,2–128 раз за период с 1990 по 2012 г.) [1].

Чувствительность к тяжелым металлам у микромицетов различна. Экспериментально в работе с чистыми культурами зафиксирована высокая устойчивость к воздействию солей тяжелых металлов у микромицета из рода *Aspergillus*, *Penicillium*, в то время как конидии светлоокрашенного *Fusarium* и *Mucor* были на порядок чувствительнее (см. рис.).



к содержанию цинка в среде



к содержанию меди в среде

Зависимость прорастания спор микромицетов от присутствия в среде солей тяжелых металлов

К питательной среде Чапека в качестве селективных агентов добавляли высокие концентрации солей цинка и меди (10 и 50 мг/л; табл. 6). В опытах с солями цинка испытывались представители из рода *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* и *Mucor*. К содержанию цинка в среде все культуры *Aspergillus*, *Penicillium*, *Stemphylium* достаточно толерантны: уровень прорастания спор при содержании Zn в интервале от 1 до 10 для всех штаммов изменялся незначительно. Резкое снижение количества проросших спор, характерное для рода *Fusarium* и *Mucor*, наблюдалось при 10 мг/л Zn, а при очень высокой концентрации — 50 мг/л Zn проросших спор практически не было. При добавлении меди различия были

выражены более отчетливо. Заметное подавление медью прорастания спор у исследуемых видов наблюдалось уже при 10 мг/л. Методу регистрации процента прорастания спор следует отдать предпочтение, так как методика достаточно проста.

Методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии показано, что развитие микромицетов в фильтрате полигона ТКО сопровождается извлечением значительных количеств ионов тяжелых металлов. Наилучший сорбционный эффект был отмечен при развитии в воде *Penicillium* и *Aspergillus* (табл. 6).

Таблица 6

Извлечение металлов из сточных вод ТКО Карасайского полигона при развитии *Stemphylium* и *Fusarium*

Под	Аккумулированные мицелием из сточной воды металлы, %				
	Цинк	Медь	Железо	Марганец	Свинец
<i>Aspergillus</i>	19	9	8	29	30
<i>Fusarium</i>	10	8	7	8	12
<i>Penicillium</i>	20	10	6	30	36
<i>Mucor</i>	1	—	12	—	—

До и после роста микромицетов провели анализ содержания ионов цинка и меди в фильтрате. Уже через 15 суток роста исходные концентрации некоторых металлов снижались на 5,5–35,7%. Практический интерес способности микромицетов развиваться в фильтрационном накопителе и аккумулировать токсические компоненты может быть реализован в процессе получения компоста из органической фракции ТКО, обладающей хорошими сорбционными свойствами. Таким образом, в исследованиях показано, что развитие микромицетов в фильтрате полигона ТКО сопровождается извлечением значительных количеств ионов металлов, при этом наилучший сорбционный эффект наблюдался при совместном развитии *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*. Эти результаты имеют практическое значение, так как их устойчивость к высоким концентрациям металлов и хорошая сорбционная способность удовлетворяют основным производственным требованиям при самоочистке геотехногенной системы полигона ТКО: развиваясь в фильтрационном накопителе они осуществляют очистку фильтрата от металлов, содержание которых многократно превышает ПДК.

Таким образом, изучение реакции микромицетов на некоторые физические (температура) и химические (рН, тяжелые металлы) виды воздействия в стандартных условиях путем регистрации их физиологических показателей показало:

1) радиальная скорость роста микромицетных колоний в зависимости от температурных колебаний может быть использована как косвенная характеристика функциональной активности данного комплекса, происходящей в почвогрунте, в свалочном теле и в водном режиме полигона ТКО; так, при температуре 29°C (для проб воды) или 60 °C (для проб почв) в комплексе микромицетов преобладают быстрорастущие виды, тогда как при 12°C — доминируют формы с невысоким коэффициентом скорости роста;

2) микромицеты, выделенные из техногенных почв полигона, более активны при рН, равном 5 (активность характерна для всех трех температурных режимов культивирования); при температуре 29 и 60°C относительно быстрый рост наблюдался при рН, равном 5 и 6, тогда как при рН, равном 7, рост отсутствовал для всех исследуемых проб;

3) микромицеты, выделенные из воды, отобранной из фильтрационного накопителя, активны при всех исследуемых уровнях рН, тогда как для грунтовой воды полигона ТКО активность отмечается при рН, равном 5 и 6, для грунтовых контрольных вод — только при рН, равном 5;

4) чувствительность к тяжелым металлам у микромицетов различна, при этом наилучший сорбционный эффект был отмечен при развитии в воде *Penicillium* и *Aspergillus*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Заключительный отчет по проекту 04.01.05.N20 «Эколого-экономическое обоснование и разработка биотехнологического процесса обезвреживания нарушенных экосистем на полигонах твердых бытовых отходов», выполненному в рамках НТП Ц.0382 «Разработка современных технологий для формирования кластера по биотехнологии в Республике Казахстан на 2006–2008 годы». Астана: НЦБ РК, 2008. 70 с. URL: <http://nauka.kz/databases/nir/detail.php?ID=575859> (дата обращения: 20.01.2013).

2. *Исидоров В. А.* Введение в химическую экотоксикологию. СПб.: Химиздат, 1999. 144 с.

3. *Мирчинк Т. Г.* Почвенная микология: Учебник. М.: МГУ, 1988. 220 с.

4. *Нетрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М.* Практикум по микробиологии. М.: Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.

5. *Нуркеев С. С., Жубанова А. А., Джамалова Г. А., Баубекова А. С., Курбанова Г. В., Битимшина Г. М.* Биоиндикаторные виды микроорганизмов при оценке состояния Карасайского полигона ТБО, захороненных в период 2000–2006 гг. // Труды IX Международной научно-технической конференции «Новое в безопасности жизнедеятельности» (охрана труда, экология, валеология, защита человека в ЧС, токсикология, экономические, правовые и психологические аспекты БЖД, логистика). Ч. II. Алматы: КазНТУ, 2007. С. 23–27.

6. *Nurkeev S. S., Jamalova G. A., Bitimshina G. M., Musabekova K.* Biodisplay kinds of microorganisms at an estimation of a condition of the closed range of landfill of Astana/ The international youth science environmental forum, «Ecobaltica-2008» St.-Peterburg, Russia, June 26–28, 2008. P. 314–316.

REFERENCES

1. Zakljuchitel'nyj otchet po proektu 04.01.05. N20 «Ekologo-ekonomicheskoe obosnovanie i razrabotka biotehnologicheskogo processa obezvrezhivaniya narushennyh ekosistem na poligonah tverdyh bytovyh othodov», vpolnennomu v ramkah NTP C. 0382 «Razrabotka sovremennyh tehnologij dlja formirovaniya klastera po biotehnologii v Respublike Kazahstan na 2006–2008 gody». Astana: NTsB RK. 2008. 70 s. URL: <http://nauka.kz/databases/nir/detail.php?ID=575859> (data obravenija: 20.01.2013).

2. *Isidorov V. A.* Vvedenie v himicheskiju ekotoksikologiju. SPb.: Himizdat, 1999. 144 s.

3. *Mirchink T. G.* Pochvennaja mikologija: Uchebnik. M.: MGU, 1988. 220 s.

4. *Netrusov A. I., Egorova M. A., Zaharchuk L. M.* Praktikum po mikrobiologii. M.: Izdatel'skij tsentr «Akademija», 2005. 608 s.

5. *Nurkeev S. S., Zhubanova A. A., Dzhamalova G. A., Baubekova A. S., Kurbanova G. V., Bitimshina G. M.* Bioindikatornye vidy mikroorganizmov pri otsenke sostojaniya Karasajskogo poligona TBO, zahoronennyh v period 2000–2006 gody // Trudy IX Mezhdunarodnoj nauchno-tehnicheskoy konferentsii «Novoe v bezopasnosti zhiznedejatel'nosti» (ohrana truda, ekologija, valeologija, zashchita cheloveka v ChS, toksikologija, ekonomicheskie, pravovye i psihologicheskie aspekty BZhD, logistika). Chast' II. Almaty: KazNTU, 2007. S. 23–27.

6. *Nurkeev S. S., Jamalova G. A., Bitimshina G. M., Musabekova K.* Biodisplay kinds of microorganisms at an estimation of a condition of the closed range of landfill of Astana/ The international youth science environmental forum, «Ecobaltica-2008» St.-Peterburg, Russia, June 26–28, 2008. P. 314–316.