

УДК 579.8.017.7

А.У. Чукпарова

## ИЗУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ ПРИ ВНЕСЕНИИ СВОБОДНЫХ И ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *RHODOCOCCLUS*

В процессе добычи и транспортировки углеводородного сырья, а также при аварийных ситуациях происходит загрязнение компонентов окружающей среды нефтью и нефтепродуктами. Углеводороды являются одним из опаснейших, быстро распространяющихся и медленно деградирующих в естественных условиях загрязнителей. Исследованиями установлено, что загрязнение нефтью и нефтепродуктами оказывает существенное влияние на физические, химические и биологические свойства почвы /1, 2, 3/. Биологические свойства почвы реагируют на нефтяное загрязнение первыми: изменяется общая численность микроорганизмов, их качественный состав, структура микробиоценозов, интенсивность микробиологических процессов и активность почвенных ферментов, продуктивность почв и т.д., нарушаются экологические и сельскохозяйственные функции почв. Последствия зависят от параметров загрязнения: состава и свойств нефти и нефтепродуктов, концентрации их в почве, продолжительности загрязнения, а также от эколого-географического положения почвы, определяющего скорость трансформации нефти в почве, и эколого-генетических свойств почвы, определяющих ее устойчивость к химическому загрязнению /4, 5/. Интенсивность процессов естественного самоочищения почв от нефтяного загрязнения зависит от природных условий региона, наличия влаги, тепла и активности жизнедеятельности почвенного биоценоза. Ведущая роль в биодegrадации нефти в почвах принадлежит микроорганизмам, однако их активная жизнедеятельность возможна лишь в условиях созданной им оптимальной экологической ниши /6/. Одним из подходов к длительному сохранению интродуцированных нефтеокисляющих микроорганизмов и ускорению биодegrадации нефти в почве может быть применение иммобилизованных на носители специфических микроорганизмов-деструкторов нефти /7, 8/. Правильно подобранный носитель, способный к сорбции микробных клеток, сохраняет и поддерживает их в жизнеспособном состоянии, особенно на начальном этапе интродукции, от неблагоприятных условий внешней среды (перепадов температуры, засоленности почвы, высоких концентраций загрязнителей), исключает проблемы вымывания и вытеснения клеток местной микрофлорой /9/. В связи с этим целью настоящей работы

являлось изучение в условиях модельного эксперимента изменения микробиологической и ферментативной активности нефтезагрязненной почвы при внесении свободных и иммобилизованных на цеолит и керамзит клеток микроорганизмов-нефтедеструкторов рода *Rhodococcus*.

### Материалы и методы исследований

В работе использовали 2 аборигенных штамма углеводородокисляющих микроорганизмов: *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4, которые выделены из сильнозагрязненной нефтью почвы месторождения Каражанбас Мангистауской области.

В качестве носителей углеводородокисляющих микроорганизмов использовали:

- природный цеолит Чанканайского месторождения, который на 50-84% состоит из клиноптилолита (алюмосиликатное минеральное сырье) и содержит магний, натрий, железо, алюминий, кремний и кислород, обладает пористой структурой;

- керамзит с месторождения Мукры – 2, который представляет собой легкий пористый материал ячеистого строения, получаемый при ускоренном обжиге легкоплавких глин.

Биомассу углеводородокисляющих микроорганизмов получали путем культивирования штаммов микроорганизмов в колбах с питательным бульоном при +28°C в течение 2 суток на качалке PSU MultiShaker 20 с 220 об/мин (Россия, Англия, 2004 г.). После культивирования полученную биомассу микроорганизмов центрифугировали при 5 тыс. об/мин в течение 10 мин на центрифуге «Beckman» (США, 1985). Затем биомассу углеводородокисляющих микроорганизмов тщательно перемешивали с носителем. Титр клеток при этом составлял  $\times 10^9$  кл/мл.

Для постановки модельного эксперимента была взята нативная нефтезагрязненная почва с месторождения Жанаталап Атырауской области в количестве 5,5 кг. Почву, просеянную через сито с диаметром отверстий 1 мм, помещали в контейнеры по 250 г. Затем в почву вносили биомассу двух штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4.

В модельном эксперименте заложены следующие варианты опыта:

- загрязненная нефтью почва с внесением

суспензии со свободными клетками углеводородоокисляющих микроорганизмов;

- загрязненная нефтью почва с внесением суспензии клеток углеводородоокисляющих микроорганизмов, иммобилизованными на цеолит;

- загрязненная нефтью почва с внесением суспензии клеток углеводородоокисляющих микроорганизмов, иммобилизованными на керамзит.

В качестве контроля использовали нефтезагрязненную почву без внесения микроорганизмов и минеральных сорбентов, а также с внесением только цеолита или только керамзита без внесения микроорганизмов.

Длительность модельного эксперимента составила 60 суток при комнатной температуре +26°C и влажности почвы 60%, в течение этого периода контролировали степень деструкции нефти в почве. Отбор проб почвы для определения содержания нефти в почве проводили согласно установленным методам отбора и подготовки проб почвы /10, 11/.

Активность каталазы в почве определяли газометрическим методом по Галстяну А.Ш. /12/. Активность каталазы выражали в мл O<sub>2</sub> на 1 г почвы за 1 мин, количество которого равно разнице отсчетов по измерительной бюретке опытного и контрольного определений.

Активность уреазы в почве определяли колориметрическим методом, предложенным Щербаковой Т.А. /12/. Активность уреазы выражали в мг NH<sub>3</sub> на 1 г почвы за 1 час.

Активности дегидрогеназы в почве определяли по методу Ленарда Г. /12/. Количественное определение трифенилтетразолия хлористого производили на приборе КФК-56 в стандартных кюветах, при длине волны 540 нм и чувствительности 2.

### Результаты исследований и обсуждение

Реализовать принципы создания оптимальных условий роста и развития нефтеокисляющих микроорганизмов в ряде случаев проще в модельном эксперименте в лабораторных условиях. Чаще всего в модельном эксперименте изучается не сам объект, а его образец. Модельный эксперимент позволяет доброкачественно, с требуемой повторностью изучить влияние одних характеристик при варьировании других, получить презентативные данные с минимальными затратами времени и ресурсов.

Для постановки модельного эксперимента в лабораторных условиях нами была использована нативная нефтезагрязненная почва, отобранная на месторождении Жанаталап Атырауской области. Модельный эксперимент заложен в 9 вариантах в 3-х повторностях. Контролем служила нефтезагрязненная почва без внесения микроорганизмов и с внесением минеральных сорбентов (цеолита или

керамзита). Длительность модельного эксперимента составила 60 суток, в течение которых почву перемешивали для улучшения аэрации и увлажняли. На 30 и 60 сутки отбирали пробы почвы для определения изменения содержания нефти в почве, определения активности почвенных ферментов (каталазы, уреазы и дегидрогеназы) и изменения численности углеводородоокисляющих микроорганизмов.

Определение содержания нефти в почве модельного эксперимента показало ее содержание 52 г/кг почвы. По данным литературы /6/, содержание нефти в почве более 25 г/кг позволяет отнести их к очень сильнозагрязненным почвам.

Результаты исследований показали, что внесение иммобилизованных на носитель микроорганизмов-нефтедеструкторов *Rhodococcus erythropolis* Кл4 и *Rhodococcus ruber* Кл1 способствовало активному окислению углеводородов нефти в почве. Анализ содержания нефти через 30 суток показал, что содержание нефти в почве контрольного варианта снизилось на 7,4%, а в варианте с внесением только сорбентов содержание нефти снизилось в 1,1 раз и составило 9,4% при внесении цеолита и 11,5% при внесении керамзита. Вероятно, это связано с активизацией естественной углеводородоокисляющей микрофлоры в почве модельного эксперимента. Деструкция нефти при внесении свободных клеток вышеуказанных микроорганизмов составила 46,6% и 48,3%, соответственно. В вариантах с внесением этих штаммов, иммобилизованных на цеолит утилизация нефти, составила 53,8% и 61,5%, иммобилизованных на керамзит - 61,5% и 66,2%, соответственно. Через 60 суток эксперимента содержание нефти в почве модельного эксперимента при внесении в почву свободных клеток изучаемых штаммов углеводородоокисляющих микроорганизмов деструкция нефти составила от 62,8% до 64,9%, соответственно. Тогда как в вариантах с внесением их иммобилизованных на цеолит от 77,5% до 86,8%, иммобилизованных на керамзит от 88,5% до 92,8%, соответственно. В контрольном варианте деструкция нефти в течение 60 суток культивирования составила 12,5%, при внесении в почву модельного эксперимента природных сорбентов снижение содержания нефти отмечено примерно в 1,2 раза и составило 12,7% при внесении цеолита, и 15,6% при внесении керамзита.

Наилучший результат деструкции нефти по истечении 60 суток отмечен в варианте с внесением иммобилизованных на керамзит клеток штамма микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1, снижение содержания нефти отмечено в 13,8 раз по сравнению с исходным

содержанием нефти в почве модельного эксперимента.

Исходная численность углеводородокисляющих микроорганизмов в нефтезагрязненной почве составила  $4,59 \times 10^4$  КОЕ/г почвы. После инокуляции почвы суспензией свободных и иммобилизованных клеток штаммов микроорганизмов нами определена численность углеводородокисляющих микроорганизмов в почве модельного эксперимента. При этом в контроле численность углеводородокисляющих микроорганизмов не изменялась (таблица 1).

При внесении суспензии со свободными и иммобилизованными на керамзит или цеолит клетками штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 в почву модельного эксперимента численность углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) через 1 сутки увеличилась на 2 порядка. Через 30 и 60 суток численность углеводородокисляющих микроор-

ганизмов в контрольном варианте не изменялась, в варианте с внесением в почву минеральных сорбентов (цеолита или керамзита) наблюдалось увеличение численности углеводородокисляющих микроорганизмов по сравнению с контролем на 1 порядок.

При определении численности углеводородокисляющих микроорганизмов в вариантах с внесением свободных клеток микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 выявлено, что через 30 и 60 суток численность углеводородокисляющих микроорганизмов увеличивалась на 3 порядка, а в вариантах с внесением штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4, иммобилизованных на минеральные сорбенты, увеличилась на 4 порядка по сравнению с исходным показателем. Увеличение численности УОМ в опытных образцах свидетельствует об ускорении процесса деградации нефти в почве.

Таблица 1

Динамика численности углеводородокисляющих микроорганизмов в почве модельного эксперимента, КОЕ/г почвы

Варианты опыта	Сутки		
	1	30	60
Контроль (загряз. почва)	$(5,12 \pm 0,20) \times 10^4$	$(5,87 \pm 0,23) \times 10^4$	$(5,01 \pm 0,18) \times 10^4$
Контроль + цеолит	$(5,10 \pm 0,15) \times 10^4$	$(2,43 \pm 0,63) \times 10^5$	$(6,25 \pm 0,35) \times 10^5$
Контроль + керамзит	$(6,50 \pm 0,73) \times 10^4$	$(4,24 \pm 0,76) \times 10^5$	$(7,62 \pm 0,68) \times 10^5$
Свободные клетки			
<i>Rhodococcus erythropolis</i> Кл1	$(8,47 \pm 1,34) \times 10^6$	$(9,53 \pm 1,31) \times 10^7$	$(8,81 \pm 1,54) \times 10^7$
<i>Rhodococcus ruber</i> Кл4	$(5,93 \pm 0,56) \times 10^6$	$(8,76 \pm 1,47) \times 10^7$	$(7,98 \pm 0,15) \times 10^7$
Иммобилизованные на цеолит			
<i>Rhodococcus erythropolis</i> Кл1	$(5,48 \pm 0,19) \times 10^6$	$(4,71 \pm 1,33) \times 10^8$	$(4,16 \pm 0,52) \times 10^8$
<i>Rhodococcus ruber</i> Кл4	$(2,68 \pm 0,47) \times 10^6$	$(3,42 \pm 0,45) \times 10^8$	$(3,67 \pm 0,68) \times 10^8$
Иммобилизованные на керамзит			
<i>Rhodococcus erythropolis</i> Кл1	$(4,41 \pm 0,43) \times 10^6$	$(6,88 \pm 1,27) \times 10^8$	$(7,58 \pm 1,97) \times 10^8$
<i>Rhodococcus ruber</i> Кл4	$(6,21 \pm 0,43) \times 10^6$	$(4,15 \pm 0,37) \times 10^8$	$(3,02 \pm 0,25) \times 10^8$

Микроорганизмы – основной источник продуцирования ферментов в почву. Поэтому изменения, происходящие при загрязнении нефтью, в составе их численности накладывают отпечаток и на активность почвенных ферментов /6/.

Все биологические процессы, связанные с превращением веществ и энергии в почве, осуществляются с помощью ферментов, играющих важную роль в мобилизации элементов питания растений, а также обуславливающих интенсивность и направленность наиболее важных биохимических процессов, связанных с синтезом и распадом гумуса, гидролизом органических соединений и окислительно-восстановительным режимом почвы /13/.

Ферментативная активность почв – это один из показателей биологической активности почвы, характеризующий потенциальную способность экосистемы сохранять гомеостаз.

Уровень активности окислительно-восстановительных ферментов (каталазы, уреазы, дегидрогеназы) – один из критериев самоочищающейся способности почвы от нефтяных углеводородов. Причем показатель активности каталазы ряд авторов /14, 15, 16/ рекомендуют использовать в качестве диагностического показателя функционально-экологического состояния почв при нефтяном загрязнении, так как нефть существенно ингибирует каталазную активность. Фермент каталаза участвует в реакции разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород /15/.

Активность каталазы в почве модельного эксперимента вначале составила 2,2 мл O<sub>2</sub>/г почвы за мин. В контроле без внесения микроорганизмов через 30 суток активность каталазы по сравнению с исходным показателем возросла в

1,2 раза и составила 2,8 мл  $O_2$ /г почвы за мин, через 60 суток возросла в 1,4 раза и составила 3,2 мл  $O_2$ /г почвы за мин (рисунок 1).

Через 30 и 60 суток в варианте с внесением только цеолита активность каталазы в почве модельного эксперимента по сравнению с исходным показателем увеличилась в 1,3 и 1,5 раз, в варианте с внесением только керамзита - в 2 и 2,3 раза, соответственно.

При инокуляции почвы модельного эксперимента свободными клетками углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 через 30 суток отмечено увеличение активности ката-

лазы почвы в 3,3 и 3 раза по сравнению с исходным показателем. После 60 суток эксперимента активность каталазы в этих вариантах увеличилась в 4,2 и 3,5 раз и составила 9,2 и 7,8 мл  $O_2$ /г почвы за мин, соответственно. Через 30 суток оценка активности каталазы в почве вариантов с внесением иммобилизованных на цеолит клетками углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 показала увеличение ее активности в 4 и 3,5 раза и составила 8,6 и 7,8 мл  $O_2$ /г почвы за мин, соответственно. После 60 суток ее активность возрастала в 5,2 и 4,6 раза и составила 11,4 и 10,2 мл  $O_2$ /г почвы за мин, соответственно.

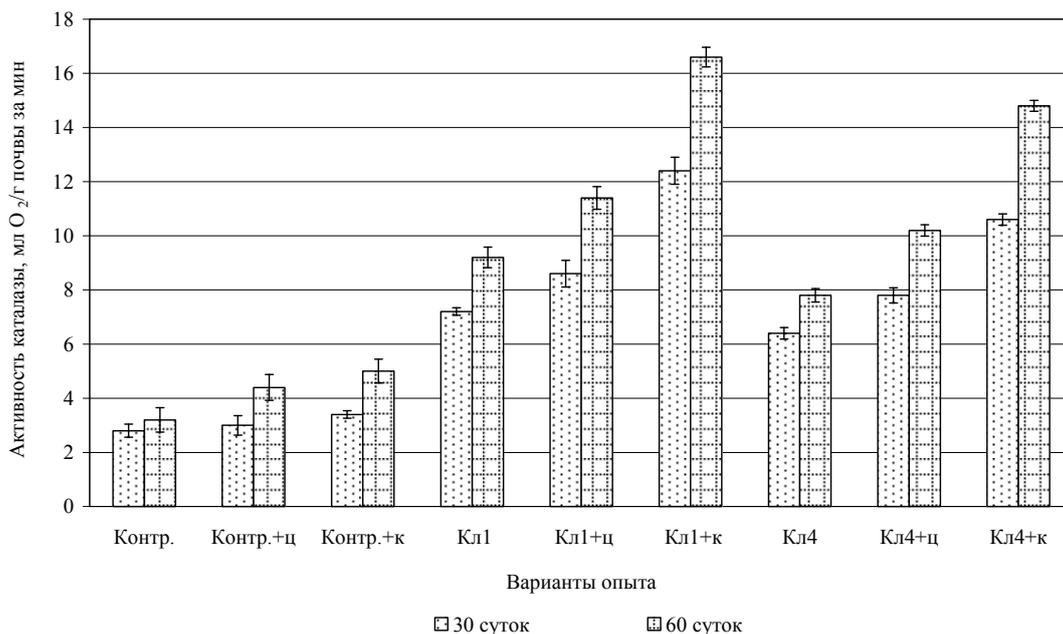


Рис. 1. Изменение активности каталазы в почве модельного эксперимента

Активность каталазы почвы по сравнению с исходным показателем через 30 суток в вариантах при внесении иммобилизованных на керамзит клеток углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 увеличилась в 5,6 и 4,8 раз и составила 12,4 и 10,6 мл  $O_2$ /г почвы за мин, соответственно, тогда как после 60 суток ее активность возросла в 7,5 и 6,7 раз и составила 16,6 и 14,8 мл  $O_2$ /г почвы за мин, соответственно.

Активность уреазы является одним из важных показателей биологической активности почв и, как правило, в нефтезагрязненных почвах наблюдается ее снижение вследствие увеличения содержания органического углерода, установления восстановительных условий, наличия парафиновых углеводородов. Уреаза – фермент азотного обмена, осуществляющий гидролиз мочевины до углекислого газа и аммиака и обладающий высокой устойчивостью против ингибирующих агентов [15, 16].

В почве модельного эксперимента исходный

показатель активности уреазы составил 0,06 ед. ОП. После 30 и 60 суток эксперимента в контрольном варианте уреазная активность увеличилась в 1,3 и 2 раза, соответственно, по сравнению с исходным показателем и составила 0,08 и 0,12 ед. ОП, соответственно (рис. 2).

В контрольных вариантах с внесением только цеолита или керамзита через 30 суток активность уреазы по сравнению с исходным показателем увеличилась в 2 и 2,7 раз и составила 0,12 и 0,16 ед. ОП, соответственно, тогда как после 60 суток в 2,8 и 3,7 раз и составила 0,17 и 0,22 ед. ОП, соответственно. Установлено, что активность уреазы через 30 суток в вариантах при внесении свободных клеток углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 увеличилась в 4,7 и 4,2 раза по сравнению с исходным показателем и составила 0,28 и 0,25 ед. ОП, соответственно, а после 60 суток - в 5,5 и 4,8 раза и составила 0,33 и 0,29 ед. ОП, соответственно.

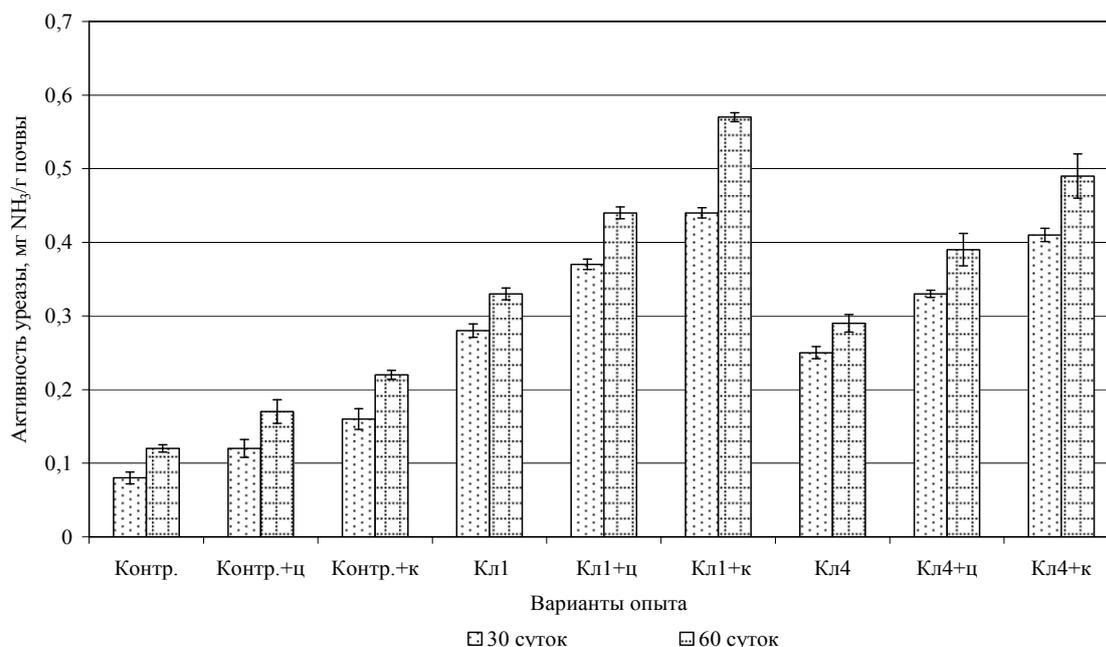


Рис. 2. Изменение активности уреазы в почве модельного эксперимента

При внесении иммобилизованных на цеолит штаммов микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 уреазная активность почвы через 30 суток эксперимента увеличилась по сравнению с исходным показателем в 6,2 и 5,5 раз и составила 0,37 и 0,33 ед. ОП, соответственно, а после 60 суток - в 7,3 и 6,5 раз и составила 0,44 и 0,39 ед. ОП, соответственно. В почве вариантов с внесением иммобилизованных на керамзит клеток штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 через 30 суток наблюдали увеличение активности уреазы по сравнению с исходным показателем в 7,3 и 6,8 раз, что соответствовало 0,44 и 0,41 ед. ОП, тогда как через 60 суток она увеличивалась в 9,5 и 8,2 раза и составила 0,57 и 0,49 ед. ОП соответственно.

При определении уреазной активности почвы выявлено, что в вариантах при внесении в почву иммобилизованных на керамзит клеток изучаемых микроорганизмов ее активность значительно увеличивалась.

Активность почвенного фермента дегидрогеназы указывает на интенсивность процессов разложения углеводов /15/. Дегидрогеназа принимает непосредственное участие в разложении насыщенных ациклических углеводов. Повышение дегидрогеназной активности обозначает начало восстановительных процессов почвы, повышение активности почвенной микрофлоры и интенсивности процессов ее биоразложения /16/.

Активность дегидрогеназы в почве модель-

ного эксперимента вначале составила 0,05 ед. ОП. Через 30 и 60 суток в контрольном варианте активность дегидрогеназы не изменилась (рис. 3).

В вариантах при внесении цеолита или керамзита через 30 суток дегидрогеназная активность по сравнению с исходным показателем увеличилась в 3 и 4,2 раза и составила 0,15 и 0,21 ед. ОП, соответственно, через 60 суток - в 3,6 и 4,8 раз и составила 0,18 и 0,24 ед. ОП, соответственно. В вариантах при внесении в почву свободных клеток микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 активность дегидрогеназы через 30 суток по сравнению с исходным показателем увеличилась в 6,2 и 3,8 раз и составила 0,31 и 0,19 ед. ОП, а после 60 суток 7,4 и 5,6 раз и составила 0,37 и 0,28 ед. ОП, соответственно. В вариантах с внесением иммобилизованных на цеолит клеток микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 активность дегидрогеназы по сравнению с исходным показателем увеличилась в 13,4 и 5,8 раз и составила 0,67 и 0,29 ед. ОП, после 60 суток - в 15,6 и 7,4 раза и составила 0,78 и 0,37 ед. ОП, соответственно. При определении дегидрогеназной активности в вариантах с внесением иммобилизованных на керамзит клеток углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 через 30 суток выявлено, что активность дегидрогеназы по сравнению с исходным показателем увеличивалась в 15,6 и 7,2 раз и составила 0,78 и 0,36 ед. ОП, соответственно, после 60 суток в 19 и 8,8 раз и составила 0,95 и 0,44 ед. ОП, соответственно.

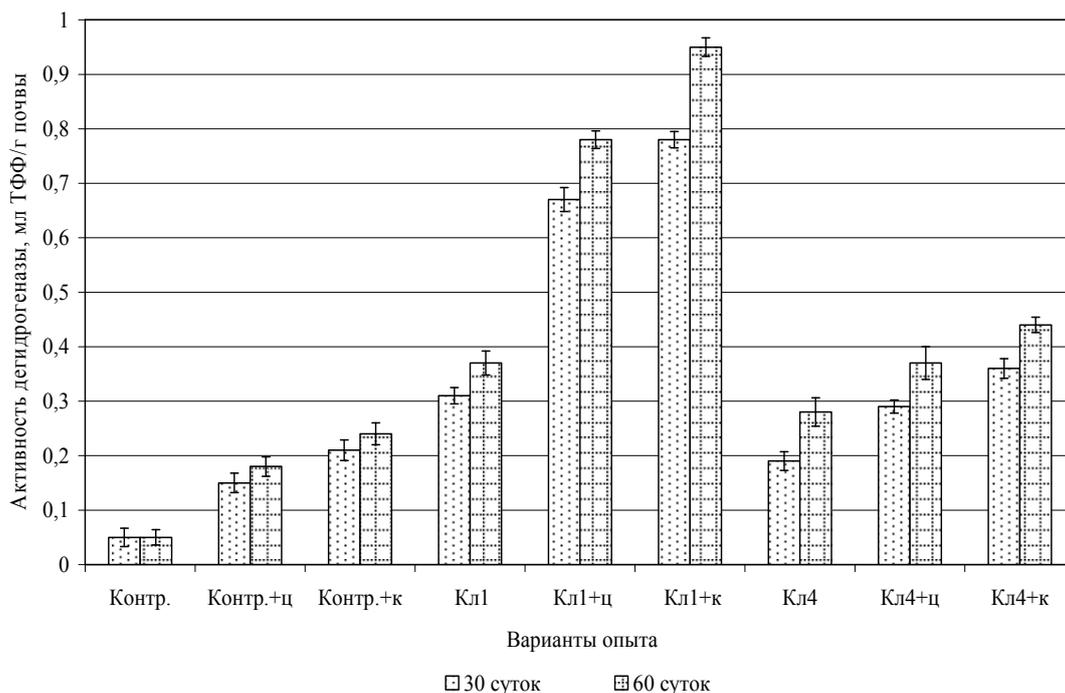


Рис. 3. Изменение активности дегидрогеназы в почве модельного эксперимента

Наибольший показатель активности почвенных ферментов (каталазы, уреазы, дегидрогеназы) в модельном эксперименте через 60 суток отмечен в вариантах с внесением в почву иммобилизованных на керамзит клеток штаммов микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4.

Таким образом, в результате проведенного модельного эксперимента нами выявлено, что внесение иммобилизованных на керамзит клеток штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов *Rhodococcus erythropolis* Кл1 и *Rhodococcus ruber* Кл4 способствует ускорению ферментативной активности в почве по сравнению со свободными клетками в 2 раза, увеличение численности УОМ по сравнению с исходным показателем на 4 порядка и увеличение активности каталазы в 7,5 и 6,7 раз, уреазы в 9,5 и 8,2 раз, дегидрогеназы в 19 и 8,8 раз, соответственно.

1. Солнцева Н.П. Общие закономерности трансформации почв в районах добычи нефти (формы проявления, основные процессы, модели) // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. - М., 1988.

2. Славина Т.П., Кахаткина М.И., Середина В.П., Изерская Л.А. Загрязнение нефтью и нефтепродуктами // Основы использования и охраны почв Западной Сибири. - Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1989. - С. 186-207.

3. Исмаилов Н.М. Микробиология и ферментативная активность нефтезагрязненных почв // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. - М.: Наука. 1988. - С. 42-56.

4. Илларионов А. Экологические аспекты восстановления нефтезагрязненных почв. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 194 с.

5. Хазиев Ф.Х., Фатхиев Ф.Ф. Изменение биохимических процессов в почвах при нефтяном загрязнении и активация разложения нефти // Агрохимия. - 1981. - № 10. - С. 102-111.

6. Киреева Н.А. Микробиологические процессы в нефтезагрязненных почвах. - Уфа: Башк. гос. ун-т, 1994. 172 с.

7. Демидова Ю.Е. Иммобилизация клеток микроорганизмов // Тез. докл. научно-технической конференции. - Москва, 2001. - С. 112-115.

8. Сеницын А.П., Райнина Е.И., Лозинский В.И. Иммобилизованные клетки микроорганизмов. - Москва: МГУ, 1994. - 288 с.

9. Федорова О.С. Получение комбинированного биопрепарата для борьбы с нефтяными загрязнениями на основе иммобилизованной аборигенной микрофлоры: автореф. ... докт. биол. наук: 03.00.23. - Красноярск, 2005. - 28 с.

10. Омирбаева С.М., Намазбаева З.И., Мукашева М.А., Крашановская Т.Р. Методические указания по контролю загрязнения почвы, растений и снега тяжелыми металлами за № 1.05.074.02 от 19.09.02. - Караганда, 2002. - 22 с.

11. Практикум по микробиологии // под ред. Егорова Н.С. - М.: Изд-во Московского университета, 1976. - 307 с.

12. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии // Институт биологии Уфимского НЦ. - М.: Наука, 2005. - 252 с.

13. Девятова Т.А. Биоэкологические принципы мониторинга и диагностики загрязнения почв // Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. - 2005. - № 1. - С. 105-106.

14. Новоселова Е.И. Использование ферментативной активности для мониторинга биоремедиации нефтезагрязненных почв // Вестник Оренбургского государственного университета. - 2007. - № 75. - С. 246-247.

15. Киреева А.Н., Водопьянов В.В., Мифтахова А.М. Биологическая активность нефтезагрязненных почв. - М.: Гилем, 2001. - 377 с.

16. Сулейманов Р.Р., Абдрахманов Т.А., Жаббаров З.А., Турсунов Л.Т. Ферментативная активность и агрохимические свойства лугово-аллювиальной почвы в условиях нефтяного загрязнения // Известия РАН. - 2008. - № 2. - С. 294-298.

\*\*\*

*The studies of the change of enzymatic activity of oil mudded soil before and after inoculation of free and immobilized cells of expanded clay and zeolite hydrocarbon micro-organisms were studied. It was established that the introduction of immobilized microbial cells increases the number of hydrocarbon-oxidizing microorganisms and increase the activity of catalases, urea's and dehydrogenases*

\*\*\*

*Мұнаймен ластаған топыраққа бос және керамзит пен цеолитке иммобилизденген көмірсутегі тотықтырғыш микроорганизмдерді енгізу алдыңғы және кейінгі микробиологиялық жағдайы мен ферменттік белсенділігінің өзгеруі меңгерілді. Иммобилизденген микроорганизмдерді енгізгенде топырақ микроорганизмдер санының артуы мен каталаза, уреаз және дегидрогеназа белсенділігіне әсер ететіні анықталды.*

ОӘЖ 575.633.11

**Ж.Ж. ЧУНЕТОВА**

## **ЖҰМСАҚ БИДАЙ СОРТТАРЫНАН ИНДУКЦИЯЛАНҒАН НҮКТЕЛІК МУТАЦИЯҒА ГЕНЕТИКАЛЫҚ ТАЛДАУЛАР ЖҮРГІЗУ**

Бір сортта белгілі бір өндірістік, технологиялық және тұтынушылық қасиеттердің қабысуы жұмсақ бидай селекциясының негізгі және шешімі қиын міндеттерінің бірі. Сондықтан шаруашылықта құнды белгілері бар формалар алу әдістерін жасауда, бидайдың өсуі мен дамуына әртүрлі мутагендердің әсерін зерттеу белгілі бір қызығушылық тудырады. Сонымен қатар генетикалық әсерлерді зерттеу мәселесі, әсіресе химиялық қосылыстардың әсерінен туындайтын мутациялар спецификасы үлкен маңызға ие. Ұзақ уақыт бойы жасанды мутагенезбен жұмыс жасаған зерттеушілердің күш жігері селекцияда негізінен нақты фенотиптік сипатқа ие әртүрлі мутациялар алуға бағытталған болатын. Бірақ көптеген макромутанттардың тіршілік қабілеті төмен, ал керісінше кіші мутациялар жиі кездеседі және олардың өміршеңдігі жоғары болады /1-3/.

Сондықтан ауыр металл тұзының әлсіз концентрациясы өсімдіктің өсіп-дамуына әсері туралы мәліметтер морфологиялық жағынан жеткілікті кездескенімен /4/ өзгерген белгілердің ұрпақта тұқым қуалауы жан-жақты терең зерттелмеген.

Зерттеу жұмысымыздың мақсаты: хлорлы кадмий әсерінен алынған мутантты формаларға аллельділік тест жүргізу және шаруашылыққа құнды белгілері бар гендерді локализациялау.

### **Зерттеу материалдары мен әдістері**

Тәжірибені жүргізу үшін материал ретінде жергілікті селекцияда кең қолданылатын, аудандастырылған жұмсақ бидай сорттары: Шағала, Жеңіс, Лютесценс 32, Казахстанская 3 қолданылды. Зерттеуге алынған материалдар кадмийдің ауыр металл тұзымен ( $CdCl_2$ ) өңделді. Зерттеу әдістері ретінде мутациялық, гибридологиялық, генетикалық талдаулар қолданылды.

Жұмсақ бидай сорттарының дәндерін 5 сағат  $CdCl_2$ -дың 0,1, 0,01, 0,001 % ерітіндісімен өңдеп, оның митоздық индексі және бидай дәні өсе алатын жеткілікті концентрациясы таңдап алынды.

$CdCl_2$ -дың 0,01% концентрациясымен бидай дәндерін 5 сағат өңдеп егістікке егілді. Нәтижесінде шыққан өсімдіктерге фенологиялық, гибридологиялық және генетикалық талдаулар жүргізілді. Тәжірибе өсімдіктерінің ішінен мутантты өсімдіктер бөлініп алынды /5-6/. Осы мутантты өсімдіктердің белгілерінің тұқым қуалаушылық қасиеттері зерттелді.

### **Зерттеу нәтижелері және талқылау**

#### **Жұмсақ бидай сорттарынан индукцияланған нүктелік мутацияға аллельдік тест**

Экспериментальды мутагенезде әртүрлі мутагендік фактормен әсер ету көбінесе бір типті мутацияны тудырады. Әдебиет шолуында масақтың спельтоидты, скверхедты, компактоидты болуын 5А хромосоманың Q локусының өзгеруімен, яғни тұтас 5А хромосоманың немесе оның сегментінің жойылуымен байланыстырады. Кейбір спельтоидтардың шығуы q аллелінің бәсеңсуімен байланысты. Q факторының дозасы 2-4 рет өскен сайын масақтың скверхедті, субкамптоидты типтерінің дамуына әкеледі /5/. Мұндай формалардың фенотиптік ұқсастықтары генетикалық біртектілікке жатады. Мутантты формаларды алғашқы сортпен будандастыру нәтижесінде мутация доминантты немесе рецессивті, кейде ажырау спектрі шегінен шығып кететін көрінеді. Кадмий тұзының 0,01 пайызды концентрациясымен бидай дәндерін өңдеу арқылы бірқатар мутантты формалар алынды. Бір типті мутантты формаларға генетикалық талдау жүргізу нәтижесінде, мутацияның әртүрлі сипаты табылды. Мутантты белгілерге аллельдік тест жүргізу үшін, Казахстанская 3 сортынан индукцияланған M15, M18, M20 спельтоидтар, M17 компактоид, M16 скверхед, Лютесценс 32 сортынан - M23, M24 көпгүлді өзгерген өсімдіктер алынды.

Мутацияның гомолокты хромосомаларының бірдей немесе әртүрлі локусын қамтып өтетіндігін анықтау үшін, аллельділікке тест жүргі-