



УДК 579.262.2

## РОЗПОВСЮДЖЕННЯ КОРОЗІЙНО-АГРЕСИВНИХ БАКТЕРІЙ У ҐРУНТАХ РІЗНИХ БІОТОПІВ

**Д. Р. Абдуліна, Л. Г. Асауленко, Л. М. Пуріш**

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. М. Заболотного НАНУ  
вул. Заболотного, 154, Київ МСП03680, Україна  
e-mail: adara@ukr.net*

Досліджено розповсюдження корозійно-агресивних бактерій у ґрунтах біотопів із різним техногенним навантаженням. У техногенних біотопах виявлено на 2–3 порядки більше сульфатвідновлювальних бактерій, вміст азотофіксувальних бактерій менший на 1–2 порядки, а денітрифікувальних – на 2–3 порядки, порівняно з природними. За кількістю залізовідновлювальних, тіонових і амоніфікувальних бактерій досліджувані ґрунти різняться несуттєво. Мікробні угруповання ґрунтів техногенних біотопів продукували сірководню у 1,5–2,5 рази більше, ніж такі, що виділені з природних біотопів. Техногенне втручання у ґрунти є стресовою ситуацією для мікробних угруповань, за якої відбувається зміна співвідношення кількості різних еколого-трофічних груп бактерій, при цьому активність корозійно-агресивних бактерій зростає.

**Ключові слова:** техногенно-навантажені ґрунти, мікробне угруповання, корозійно-агресивні бактерії, сульфатвідновлювальні бактерії.

### ВСТУП

Великомасштабне будівництво в підземному середовищі, коли у ґрунт вносять великі об'єми неприродних для даної екологічної системи матеріалів (сталеві та залізобетонні конструкції), є потужним техногенним фактором [2]. Таке втручання в екологічну систему здатне активізувати складні специфічні механізми взаємодії та взаємовпливу ґрунтових мікроорганізмів і технічних матеріалів, а також може стимулювати процес формування корозійно-небезпечних мікробних угруповань.

Дослідження вітчизняних і зарубіжних науковців показали, що в агресивних ґрунтах, де відбуваються значні корозійні пошкодження таких металевих конструкцій, як газо-, водо- і нафтопроводи, формується мікробне угруповання, в якому домінують сульфатвідновлювальні бактерії [2]. Пусковим механізмом перетворення природного мікробного угруповання на агресивне є надлишок  $Fe(II)$  – іонів, що накопичуються у процесі корозії [2, 7, 8].

Питання прогнозування віддалених результатів експлуатації підземних споруд на сьогодні майже не вивчається. Це значною мірою пов'язане з відсутністю загальної концепції запобігання наслідкам техногенного втручання у природне середовище. Спостереження за корозійною ситуацією на підземних спорудах і використання антикорозійних заходів проводиться без урахування мікробіологічного фактора.

Метою роботи було дослідити розповсюдження та різноманіття корозійно-агресивних бактерій у ґрунтах за різних еколого-техногенних умов.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження були ґрунти, що перебували в умовах різного техногенного навантаження. Місця відбору ґрунтів були розподілені на техногенні та природні непорушені. У техногенних біотопах відібрані зразки ґрунтів, прилеглі до трубопроводу „Союз”, прокладеного в Карпатах (зразки №№ 1, 2); ґрунти із зони прокладення Куренівсько-Червоноармійської лінії Київського метрополітену, м. Київ: з місця прокладення прогону тунелю станції „Голосіївська” (№№ 3, 4) та зі станції „Васильківська” (зразки №№ 5, 6); природні лучні ґрунти, які не підлягали сільськогосподарському використанню, були відібрані у Васильківському та Вишгородському районах Київської області (зразки №№ 7, 8, 9).

Відбір зразків проводили у весняно-літній період, температура ґрунту під час відбору становила +14...+20°C. Зразки ґрунтів відбирали у стерильні пакети і зберігали до аналізу при +4°C. Вологість ґрунту визначали гравіметрично за втратою маси при висушуванні ґрунту за температури +105°C протягом 5 годин у сушильній шафі, рН ґрунтової витяжки визначали потенціометрично [1].

Кількісне визначення вмісту бактерій проводили методом граничних розведень на рідких елективних поживних середовищах. Чисельність сульфатвідновлювальних бактерій визначали на середовищі Постгейта „В”, залізовідновлювальних – на середовищі Каліненка, денітрифікувальних – на середовищі Гільтая, ацидофобних тіонових – на середовищі Бейєрінка, амоніфікувальних – на м'ясопептонному бульйоні, вільноіснуючих азотофіксувальних – на середовищі Виноградського [3, 6]. Посіви інкубували протягом 5–15 діб при +28°C.

Накопичення сірководню культурами сульфатвідновлювальних бактерій визначали йодометричним методом [5].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХНЕ ОБГОВОРЕННЯ

Проведено порівняльне дослідження зразків ґрунту. Усі відібрані зразки ґрунтів були глинистими. Зразки ґрунтів у Карпатах, відібрані при шурфуванні газопроводу „Союз” із поверхні труби на глибині 0,8 та 1,0 м від поверхні ґрунту, мали нейтральне рН 6,8-7,2, вологість сягала 23% (табл. 1).

У зоні прокладення Київського метрополітену зразки ґрунтів були відібрані на місцях будівництва прогонів тунелів двох різних станцій: „Голосіївська” та „Васильківська”, на глибинах 0,5 та 1,5 м від поверхні ґрунту. Незалежно від глибини рН ґрунтів було слабколужним і становило 7,5–7,8. Вологість ґрунтів була нижчою, ніж у зоні пролягання газопроводу „Союз” – від 9,56 до 11,24%. Можливо, менша вологість цих ґрунтів була обумовлена порушенням ґрунтового покриву і підсушуванням поверхневих шарів ґрунту у місці будівництва метрополітену.

У природних чистих зонах Київської області непорушені ґрунти, які відбирали на глибинах 0,5 та 1,5 м від поверхні, мали нейтральне рН у межах 7,20–7,35, вологість становила 20,50–26,67%. Ґрунти були більш зволоженими порівняно зі зразками ґрунтів, відібраних із зони прокладення метрополітену.

Мікробіологічні дослідження показали у ґрунтах техногенних та природних непорушених біотопів наявність мікробних угруповань, до складу яких входили сульфатвідновлювальні, залізовідновлювальні, тіонові, денітрифікувальні, амоніфікувальні й азотофіксувальні бактерії (табл. 2).

Таблиця 1. Характеристика ґрунтів, відібраних із різних біотопів

Table 1. Characteristics of soil samples collected in different biotopes

Екологічна зона	Місце відбору ґрунту	№ зразка	Глибина відбору, м	pH ґрунту	Вологість ґрунту, %
Техногенна зона	Газопровід «Союз», Карпати	1	0,8	6,8	20
		2	1,0	7,2	23
	Зона прокладення метрополітену, м.Київ	3	0,5	7,65	9,57
		4	1,5	7,6	9,87
		5	0,5	7,8	9,56
		6	1,5	7,5	11,24
Природна зона	Васильківський р-н, Київська обл.	7	0,5	7,35	20,88
		8	1,5	7,25	26,67
	Вишгородський р-н, Київська обл.	9	1,5	7,2	20,5

Таблиця 2. Кількісний склад мікробних угруповань, виділених із ґрунтів різних біотопів

Table 2. Quantitative composition of microbial communities isolated from soils of different biotopes

Екологічна зона	Місце відбору ґрунту	№ зразка	Кількість клітин бактерій у ґрунтах, кл/г ґрунту					
			сульфатвідновлювальні	залізовідновлювальні	тіонові	азотофіксувальні	амоніфікувальні	денітрифікувальні
Техногенна зона	Газопровід «Союз», Карпати	1	10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup>	10	-	10 <sup>4</sup>	10
		2	10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	-	10 <sup>7</sup>	10
	Зона прокладання метрополітену, Київ	3	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>
		4	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>
		5	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup>
		6	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>4</sup>
Природна зона	Васильківський р-н, Київська обл.	7	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	0	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>
		8	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>	0	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>
	Вишгородський р-н, Київська обл.	9	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	-	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>

Примітки: “-” не визначали, 0 – не виявлено.

Notes: “-” not determined, 0 – not observed.

Слід зазначити, що у ґрунтах техногенних біотопів виявлена найбільша кількість сульфатвідновлювальних бактерій: у ґрунті, прилеглому до газопроводу, – до 10<sup>7</sup> кл/г ґрунту, в зоні прокладення метрополітену – 10<sup>4</sup>–10<sup>6</sup> кл/г ґрунту. Кількість бактерій зростала зі збільшенням глибини відбору. Це можна пояснити меншою

досяжністю кисню у глибші шари ґрунту, що сприяло створенню анаеробних умов. У природних біотопах кількість сульфатвідновлювальних бактерій була на 1–3 порядки меншою і становила  $10^3$ – $10^4$  кл/г ґрунту. Кількість залізовідновлювальних бактерій майже не відрізнялась у ґрунтах із різних зон відбору та варіювала в межах  $10^3$ – $10^5$  кл/г ґрунту.

У техногенних ґрунтах в незначній кількості розвивалися тіонові бактерії до  $10^2$  кл/г ґрунту в зоні газопроводу та до  $10^3$  кл/г ґрунту в зоні прокладення метрополітену. У природних біотопах тіонові бактерії виявлені в незначній кількості лише у ґрунті, відібраному у Вишгородському районі. Можливо, у досліджених шарах природних ґрунтів не було достатньої кількості сполук сірки, які необхідні для розвитку цієї фізіологічної групи бактерій.

Техногенне втручання впливало на кількість таких бактерій циклу Нітрогену, як денітрифікувальні й азотофіксувальні. Присутність вільноіснуючих азотофіксувальних бактерій свідчить про вірогідність процесу фіксування азоту у ґрунтах, проте їх на 1–2 порядки менша кількість у техногенно-навантажених ґрунтах ( $10^2$ – $10^3$  кл/г ґрунту), порівняно з природними ( $10^4$ – $10^5$  кл/г ґрунту), може свідчити про погіршення умов існування діазотрофних бактерій.

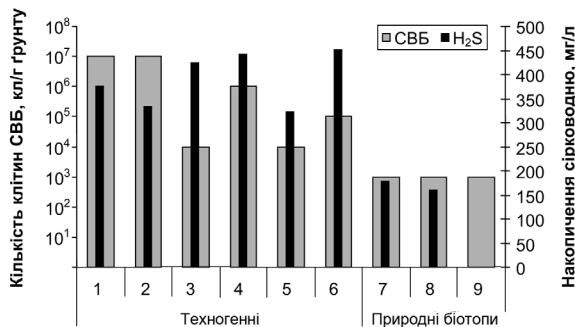
Чисельність амоніфікувальних бактерій майже не залежала від зони відбору і становила  $10^4$ – $10^7$  кл/г ґрунту, проте їхня загальна чисельність може свідчити про забезпеченість ґрунту поживними речовинами, оскільки ця фізіологічна група бактерій залучена до циклу Нітрогену і Карбону. Така висока кількість амоніфікувальних бактерій у техногенних та природних біотопах вказує на значну кількість доступних джерел Карбону і Нітрогену в досліджуваних зразках ґрунту. Відомо, що захисні покриття, які використовуються для запобігання пошкодженню підземних споруд, також можуть бути додатковими джерелами живлення мікроорганізмів [4].

У техногенних біотопах, а саме у ґрунтах навколо газопроводу чисельність денітрифікувальних бактерій становила 10 кл/г ґрунту. Така чисельність менша на 2–3 порядки порівняно з ґрунтами прокладення метрополітену та ґрунтами екологічно чистої зони, де їх вміст становив у межах одного порядку  $10^3$ – $10^4$  та  $10^2$ – $10^3$  кл/г ґрунту, відповідно.

Попередньо було встановлено, що найбільш інтенсивні процеси мікробної корозії спостерігаються у глинистих ґрунтах із нейтральним рН, низьким окисно-відновним потенціалом і наявністю сульфатвідновлювальних бактерій [2]. Наявні у ґрунтах такого типу сульфатвідновлювальні бактерії за техногенного навантаження можуть змінювати свої властивості з потенційно небезпечних на корозійно-агресивні. Наслідком такої зміни є зростання їхньої метаболічної активності, збільшення продукування сірководню [2]. Сірководень є одним із факторів, що прискорює процеси корозії. Тому ми вважали за доцільне визначити продукування сірководню накопичувальними культурами сульфатвідновлювальних бактерій, виділених із досліджуваних ґрунтів (див. рисунок).

Отримані дані свідчать, що сульфатвідновлювальні бактерії, виділені з техногенних біотопів, продукували більшу кількість сірководню (323–450 мг/л), порівняно з бактеріями, виділеними з чистих ґрунтів (160–170 мг/л). Отже, за техногенних умов сформувалися мікробні угруповання, які в середньому продукували сірководню більше в 1,5–2,5 разу, ніж угруповання, виділені з природних біотопів. Слід зазначити, що у ґрунтах, де ведеться прокладання лінії метрополітену, продукування сірководню було найвищим, досягаючи 450 мг/л, при цьому чисельність сульфатвідновлювальних бактерій була на 2–3 порядки нижчою, ніж у ґрунті, прилеглому

до газопроводу в Карпатах. На нашу думку, це є свідченням активізації метаболічної активності бактерій, обумовленої порушенням динамічної рівноваги в біотопі, де відбувалося підземне будівництво. Таке техногенне втручання у ґрунти є стресовою ситуацією для мікробних угруповань, за якої частина мінорних видів угруповання може втрачатися, а активність і різноманіття сульфатвідновлювальних бактерій зростає. Вони стають домінантними в мікробному угрупованні, перетворюючи його в корозійно агресивне, небезпечне для підземних об'єктів.



Кількість сульфатвідновлювальних бактерій (СВБ) і продукування сірководню ( $H_2S$ ): 1, 2 – ґрунти, прилеглі до газопроводу „Союз”, Карпати; 3, 4 – ґрунти із зони прокладення прогону тунелю ст. м. „Голосівська” Куренівсько-Червоноармійської лінії метрополітену, м. Київ; 5, 6 – ґрунти зі ст. м. „Васильківська”; 7, 8, 9 – природні чисті (лучні) ґрунти з Київської області, Васильківський і Вишгородський райони

Quantity of sulfate-reducing bacteria and their hydrogen sulfide production: 1, 2 – adjacent soils from gas-main „Souz”, Carpathian Mts; 3, 4 – soils from zone of tunnel construction at underground station „Golosiivska”, Kurenivsko-Chervonoarmiyska branch line, Kyiv; 5, 6 – soils of underground station „Vasil'kyvska”; 7, 8, 9 – natural ecological (lower) soils from Vasil'kyvsky and Vyshgorodsky districts of Kyiv region

Отримані результати досліджень слугують ще одним доказом того, що техногенез є потужним фактором, який призводить до значного порушення сталості й різноманіття мікробних угруповань природних ґрунтів. Зміни у мікробному угрупованні є одним із критеріїв оцінки корозійної агресивності ґрунтів і можуть бути використані у прогнозуванні корозійно небезпечних ділянок при проектуванні та будівництві підземних споруд.

1. *Александрова Л.Н., Найденова О.А. Лабораторно-практические занятия по почвоведению.* Москва: Колос, 1976; 280 с.
2. *Андреюк К.І., Козлова І.П., Коптева Ж.П.* та ін. **Мікробна корозія підземних споруд.** Київ: Наук. думка, 2005; 260 с.
3. *Герхард Ф. Методы общей бактериологии / Ф. Герхард,* Москва: Мир, 1984, 472 с.
4. *Занина В.В., Коптева Ж.П., Коптева А.Е., Козлова И.А.* Методы оценки микробной стойкости защитных материалов. **Мікробіол. журн,** 2003; 65 (5): 41–45.
5. *Лурье Ю.Ю. Унифицированные методы анализа вод.* Москва: Химия, 1971, 194 с.
6. *Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов.* Ленинград: Наука, 1974, 196 с.
7. *Hamilton W.A.* Microbially influenced corrosion as a model system for the study of metal microbe interactions: a unifying electron transfer hypothesis. **Biofouling,** 2003; 19 (1): 65–76.
8. *Lee W., Lewandowski Z., Nielsen P. H., Hamilton W. A.* Role of Sulfate-Reducing Bacteria in Corrosion of Mild Steel: a Review. **Biofouling,** 1995; 8 (1): 165–194.

## DIVERSITY OF CORROSIVE AGGRESSIVE BACTERIA IN SOILS OF DIFFERENT BIOTOPES

*D. R. Abdulina, L. G. Asaulenko, L. M. Purish*

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine  
154, Zabolotnyi St., Kyiv 03680, Ukraine  
e-mail: adara@ukr.net*

Dissemination of corrosive-aggressive bacteria in soils from different biotopes under man-caused load was investigated. In the man-caused biotopes there were 2–3 degree more of the sulfate-reducing bacteria, 1–2 degreeless nitrogen-fixing bacteria, and 2–3 degreeless denitrifying bacteria, than in the innate biotopes. The man-made and innate soils did not differ significant in the amount of the iron-reducing bacteria, sulfur bacteria, and ammonifyingly bacteria. Microbial communities from man-caused soils are produced 1.5–2.5 times more hydrogen sulfide than the innate ones. Man-caused invasion to the soils is a stress situation for microbial community, when the ecological trophic groups of bacteria are altered and activity of the corrosive aggressive sulfate-reducing bacteria is increased.

**Key words:** man-caused soils, microbial community, corrosive-aggressive bacteria, sulfate-reducing-bacteria.

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ КОРРОЗИОННО-АГРЕССИВНЫХ БАКТЕРИЙ В ПОЧВАХ РАЗНЫХ БИОТОПОВ

*Д. Р. Абдуліна, Л. Г. Асауленко, Л. М. Пуриш*

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАНУ  
ул. Заболотного, 154, Киев МСП03680, Украина  
e-mail: adara@ukr.net*

Изучено распространение коррозионно-агрессивных бактерий в почвах биотопов с различной техногенной нагрузкой. В техногенных биотопах обнаружено на 2–3 порядка больше сульфатвосстанавливающих бактерий, содержание азотфиксирующих бактерий меньше на 1–2 порядка, а денитрифицирующих – на 2–3 порядка, по сравнению с природными. По количеству железовосстанавливающих, тионовых и аммонифицирующих исследуемые почвы различаются несущественно. Микробные сообщества из почв техногенных биотопов продуцировали сероводорода в 1,5–2,5 раза больше, чем из почв природных биотопов. Техногенное вмешательство в почвы – это стрессовая ситуация для микробных сообществ, при которой происходит смена соотношения разных эколого-трофических групп бактерий, при этом активность коррозионно-агрессивных сульфатвосстанавливающих бактерий увеличивается.

**Ключевые слова:** техногенные почвы, микробное сообщество, коррозионно-агрессивные бактерии, сульфатвосстанавливающие бактерии.

Одержано: 13.09.2010