

Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университеті

ӘОК 579.26 (574.54) + 60

Қолжазба құқығында

СПАНКУЛОВА ГУЛЬЖАН АБИКУЛКЫЗЫ

**Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған Қызылорда облысының
топырақтарын биоремедиациялау әдісін өңдеу**

6D070100 – Биотехнология

Философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін дайындаған диссертация

Ғылыми жетекші:
б.ғ.д., профессор
Саданов А.К.

Шетелдік кеңесші:
PhD, доцент
Златка Алексиева

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2022

МАЗМҰНЫ

БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР	4
КІРІСПЕ	5
1 ЗЕРТТЕУ БАҒЫТЫН ТАҢДАУДЫҢ НЕГІЗДЕМЕСІ	9
1.1 Қызылорда облысының табиғи - климаттық жағдайы	9
1.2 Мұнай және мұнай өнімдерінің қоршаған ортаға түсу жолдары.....	10
1.2.1 Мұнай және мұнай өнімдері.....	11
1.2.2 Мұнай және мұнай өнімдерінің топыраққа әсері	13
1.3 Топырақтағы мұнай мен мұнай өнімдерінің табиғи биодegradациясы	16
1.4 Көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің табиғатта таралуы	18
1.5 Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақты қайта қалпына келтіру әдістері мен тәсілдері	21
1.5.1 Биоремедиациялау әдісі - мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтардың қайта қалпына келтірудің негізі	24
1.5.1.1 Биостимуляция	25
1.5.1.2 Биоаугментация	28
1.6 Топырақтағы мұнай мен мұнай өнімдерінің деструкциясының микробиологиялық процестерінің ерекшеліктері	31
2 ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ МЕН ӘДІСТЕРІ	33
2.1 Зерттеу объектілері	33
2.2 Зерттеу материалдары	33
2.2.1 Мұнай және мұнай өнімдері	33
2.2.2 Ароматты және полициклді ароматты көмірсутектер.....	34
2.2.3 Қоректік орта	34
2.3 Зерттеу әдістері	35
2.3.1 Микробиологиялық әдістер.....	35
2.3.1.1 Көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдерді бөліп алу.....	35
2.3.1.2 Деструктор-бактерия штамдардың дақылды-морфологиялық және физиологиялық-биохимиялық қасиеттерін зерттеу.....	35
2.3.1.3 Микроорганизмдердің жалпы микробтық саны (ЖМС) анықтау...	36
2.3.1.4 Деструктор-бактериялардың штамдардың биологиялық үйлесімділігін анықтау.....	36
2.3.1.5 Мұнайтотықтырғыш микроорганизмдер ассоциацияларын құру...	37
2.3.2 Молекулалық генетикалық әдіс.....	37
2.3.2.1 Деструктор-бактерия штамдарын 16S рРНҚ негізінде генетикалық анықтау.....	37
2.3.3 Физика – химиялық әдістер.....	39
2.3.3.1 Деструктор-бактерия штамдардың мұнай және мұнай өнімдерін деструкциялау қабілетін зерттеу.....	39
2.3.3.2 Мұнайтотықтырғыш микроорганизмдерден құрылған ассоциациялардың деструкциялау белсенділігін зерттеу.....	39

2.3.3.3	Деструктор-бактерия штамдарының ароматты көмірсутектерді деструкциялау қасиеттерін анықтау.....	39
2.4	Ассоциациялардың мұнай мен мұнай өнімдерімен ластанған топырақты тазарту бойынша модельдік зерттеулер.....	40
2.4.1	Зертханалық модельдік тәжірибе.....	40
2.4.2	Далалық модельдік тәжірибе.....	42
2.5	Мәліметтерді статистикалық өңдеу	43
3	НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ	44
3.1	Мұнайототықтырғыш микроорганизмдерді бөліп алу, іріктеу	44
3.2	Деструктор-бактерия штамдарының мұнай және мұнай өнімдерін деструкциялау белсенділігін анықтау	46
3.3	Микроорганизмдердің идентификациясы.....	51
3.3.1	Белсенді штамдардың дақылды-морфологиялық және физиологиялық-биохимиялық қасиеттерін анықтау	51
3.3.2	Белсенді-деструктор бактерия штамдарының молекулалы-генетикалық идентификациясы	56
3.4	Деструктор-бактерия штамдарының ароматты және полициклді ароматты көмірсутектерді деструкциялау қабілетін анықтау	62
3.5	Көмірсутектерді белсенді деструкциялауға қабілетті мұнайототықтырғыш бактериялар ассоциациясын құру	67
3.5.1	Ассоциацияларын құру үшін таңдалған белсенді штамдардың арасындағы биологиялық үйлесімділікті анықтау	67
3.5.2	Мұнайототықтырғыш микроорганизмдер ассоциацияларының мұнай және мұнай өнімдерінде өсуін анықтау	68
3.5.3	Ассоциациялардың көмірсутекототықтырғыш белсенділігін анықтау	70
3.6	Белсенді ассоциациялармен зертханалық модельдік тәжірибелер жүргізу	71
3.6.1	Белсенді ассоциациялардың ластанған топырақты тазарту дәрежесін анықтау	72
3.6.2	Белсенді ассоциациялардың ластанған топырақтың биологиялық белсенділігіне әсерін бағалау	75
3.6.3	Белсенді ассоциациялармен деструкциялағаннан кейінгі мұнай мен мұнай өнімдерінің фракциялық құрамының өзгеруін анықтау.....	83
3.6.4	Биодеградациядан кейінгі топырақтың токсикометриялық көрсеткіштерін анықтау	86
3.7	Белсенді ассоциацияларымен мұнаймен ластанған топырақты тазарту бойынша далалық тәжірибе жүргізу	88
	ҚОРЫТЫНДЫ	91
	ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	93
	ҚОСЫМША А	112
	ҚОСЫМША Ә	117
	ҚОСЫМША Б	125

БЕЛГІЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

БПА	- балық-пептонды агар
ВД	- Ворошилова – Дианова
ГХ	- газды хроматография
ДО	- дизельді отын
ЕПА	- ет пептонды агар
ЕЫС (НВЧ)	- ең ықтимал сан
КАА	- крахмал-аммиакты агар
КТБ (КОЕ)	- колония түзуші бірлік
л	- литр
мин	- минут
мин/айн	- минутына айналым
мл	- миллилитр
мкл	- микролитр
мкм	- микрометр
мм	- миллиметр
МӨ	- мұнай өнімдері
МС	- масс-спектрометрия
ОМТ	- органоминералды тыңайтқыштар
ПАК	- полициклді ароматты көмірсутектер
ПТР	- полимеразды тізбекті реакция
NCBI	- National Center for Biotechnology Information (Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы)
pH	- қышқыл көрсеткіші

КІРІСПЕ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы.

Жұмыс мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған Қызылорда облысының топырақтарын биоремедиациялау әдісін өңдеу үшін бөліп алынған микроорганизмдердің биологиялық (дақылды-морфологиялық, физиологиялық-биохимиялық) және молекулалық-генетикалық қасиеттерін олардың филогенетикалық туыс белгілерін анықтауға және олардың көмірсутектерді деструкциялау қабілетін анықтауға, белсенді көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдер негізінде белсенді ассоциациялар құруға арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі.

Қазіргі заманда мұнай әлемдегі негізгі және сұранысқа ие энергия көздерінің бірі болып табылады. Сондықтанда, қазіргі кезде дүние жүзіндегі кез келген елдің, атап айтқанда Қазақстанның экономикасының тұрақты дамуы ресурстық және ең алдымен мұнайдың потенциалына тікелей байланысты. Мұнай өндіру қарқынын арттыру, жаңа кен орындарын ашу, мұнай тасмалдау және көмірсутек шикізатын экспорттаушы жетекші елдердің бірі болу – мұнай өндіру аймақтарында қоршаған ортаны тазартудың тиімді әдістерін әзірлеу бойынша зерттеулер жүргізуге басымдық береді. Қазақстанда мұнай өндіру және өңдеуді жүзеге асыру бойынша экологиялық күйзеліс аймақтарының ішінде Қызылорда облысы ерекше орын алады. Қызылорда облыстарының мұнай өндіру саласының негізі Құмкөл кен орындарының тобы болып табылады – маңыздылығы жағынан Қазақстанның бесінші мұнай-газ провинциясы. Жалпы мұнайды өңдеу барысында ол атмосфераны 73%, суды 20%, ал топырақты 7% ластайды. Экологиялық сарапшылардың мәлімдеуі бойынша өндірілген мұнайдың 35% жоғалады [1]. Осы жағдайларды ескерсек, мұнайды өндіру мен өңдеу экологиялық қауіпті. Құмкөл кен орнының шартты аумағындағы жасалынатын жұмыстар атмосфералық қоршаған ортаға айтарлықтай зиянын тигізеді. Өңірде жұмыс істейтін мұнай-газ кешендерінің қызметі нәтижесінде біршама күрделі экологиялық жағдай, яғни топырақтың мұнай және мұнай өнімдерімен ластануы қалыптасады

Мұнай-газ кешенінің қазіргі даму деңгейінде оның қоршаған ортаға тигізетін кері әсерін толығымен жою мүмкін емес. Топырақты мұнайдан өзін-өзі тазарту процестерінде микроорганизмдер маңызды шешуші рөл атқарады, дегенмен ол өте ұзақ процесс. Тазалаудың механикалық және физика-химиялық әдістеріне келер болсақ, олардың мүмкіндіктерінің шектеулі болуына байланысты қоршаған ортаны мұнай ластануынан тазарту проблемасы күн өткен сайын өте өзекті болып отыр. Мұнаймен ластанған топырақтарды биоремедиациялау әдісі мұнайдың ауыр фракцияларын деструкциялауға қабілетті микроорганизмдердің белсенді ассоциацияларын енгізуге және олардың тіршілік әрекеті үшін оңтайлы жағдайларды қамтамасыз етуге бағытталған бірден бір экологиялық жағынан таза, экономикалық жағынан арзан тиімді технология.

Жұмыстың мақсаты: тиімді көмірсутекті тотықтырғыш микроорганизм ассоциацияларын қолдану негізінде Қызылорда облысының мұнаймен ластанған топырақтарын биоремедиациялау әдісін әзірлеу.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. Қызылорда облысының мұнаймен ластанған топырақтарынан белсенді деструктор-микроорганизмдерді бөліп алу және іріктеу;
2. Микроорганизмдерді таксономиялық жүйелеу үшін іріктелген белсенді штамдарды идентификациялау;
3. Бөліп алынған микроорганизм штамдарының көмірсутекті тотықтырғыш қабілетін зерттеу;
4. Мұнай тотықтырғыш микроорганизмдердің тиімді ассоциациясын құру;
5. Мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер ассоциацияларының мұнай және мұнай өнімдерін тазалауда модельдік тәжірибелер жүргізу.

Зерттеу әдістері.

Зерттеу барысында дәстүрлі микробиологиялық (Кох әдісі, микроскопия әдісі, перпендикулярлы штрих әдісі және т.б.), биохимиялық, молекулалық-генетикалық (16S РНК ген фрагменттерін секвенирлеу) және физика-химиялық (гравиметриялық әдіс, колориметриялық әдіс, спектрофотометриялық әдіс, газды хроматографиялық әдіс) зерттеу әдістері қолданылды.

Зерттеу жұмысының ғылыми жаңалығы.

Алғаш рет Қызылорда облысы Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан мұнай тотықтырғыш микроорганизмдердің белсенді штамдары *Tessaracoccus sp.* және *Alcanovorax sp.* бөлініп алынды.

Алғаш рет *Rhodococcus sp.* 1D/1; *Gordonia sp.* 12/5; *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамдары мұнайды, мазутты, дизельді отынды және қозғалтқыш майларын деструкциялауға, сонымен қатар ароматты (фенол, орто-, пара-, мета-крезол) және полициклді ароматты көмірсутектерді (нафталин, фенантрен, антрацен) ыдыратуға жоғары қабілеттілік көрсетті.

Белсенді штамм-деструктор-бактериялар негізінде мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер штамдарының ассоциациялары құрылды. Ассоциация I (*Rhodococcus sp.* 1D/1, *Tessaracoccus sp.* 13/8, *Dietzia sp.* 13/4) және Ассоциация II (*Gordonia sp.* 12/5, *Dietzia sp.* 12/7, *Rhodococcus erythropolis* 14/1, *Arthrobacter sp.* 15/3) мұнай және мұнай өнімдерінің (мазут, дизельдік отын) n-алкандарын, n-алкилдерін, тармақталған тізбекті, ароматты және полициклді ароматты көмірсутектерін ыдырататындығы анықталды.

Мұнаймен ластанған топырақтардан бөліп алынған мұнай және мұнай өнімдерінің көмірсутектерін деструкциялаушы-бактериялардың штамдарын қолдану негізінде Қызылорда облысының топырақтарын биоремедиациялау әдісі әзірленді.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы мен практикалық құндылығы: мұнайды, мазутты, дизельді отынды, сондай-ақ ароматты (фенол, орто-, пара-, мета-крезол) және полициклді ароматты көмірсутектерді (нафталин, фенантрен, антрацен) тиімді ыдырататын мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер топтамасы құрылды.

Қызылорда облысы, Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан бөлініп алынған белсенді көмірсутектотықтырғыш бактерия штамдарының 16S рРНҚ нуклеотидтер тізбегі GenBank-те тіркелген, жарияланған және штамдарға кіруге арналған тіркеу нөмерлері: *Rhodococcus sp.* 1D/1 - MF188988.1; *Gordonia sp.* 12/5 - MF188989.1; *Dietzia sp.* 12/7 - MF188990.1; *Dietzia sp.* 13/4 - MF188991.1; *Tessaracoccus sp.* 13/8 - MF188992.1; *Rhodococcus erythropolis* 14/1 - MF188993.1; *Rhodococcus sp.* 14/3 - MF188994.1; *Arthrobacter sp.* 15/3 - MF188995.1; *Microbacterium arabinogalactanolyticum* 12/6 - MF188996.1; *Pseudomonas sp.* 14/2 - MF188997.1; *Microbacterium sp.* 16/1 - MF188998.1; *Alcanovorax sp.* 16/3 - MF188999.1.

Таңдалған белсенді штамдар мен олардың негізінде құрылған ассоциациялар мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтарды биоремедиациялау үшін қолданылатын биологиялық препараттар жасаудың негізі бола алады.

Әзірленген әдіс мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтарды қалпына келтіру тиімділігін арттыруға мүмкіндік беретіні және бұл аймақтың экологиялық жағдайына тиімді әсер ететіні сөзсіз. Жұмыстың нәтижелерін одан әрі биотехнологиялық зерттеулерге және Қазақстандағы мұнаймен ластанған топырақтарды қалпына келтірудің кешенді технологияларын жасап шығаруға мүмкіндік жасайды.

Қорғауға ұсынылатын ережелер:

1. Мұнаймен ластанған топырақтан бөліп алынған көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдерге скрининг жүргізу мұнайда, мұнай өнімдерінде, ароматты және полициклді ароматты көмірсутектерде өсетін штамдарды таңдауға мүмкіндік берді.

2. Белсенді штамдар *Rhodococcus sp.* 1D/1; *Gordonia sp.* 12/5; *Rhodococcus erythropolis* 14/1 мұнайды, мазутты, дизельді отынды және қозғалтқыш майларын ыдыратуға, сонымен қатар ароматты (фенол, орто-, пара-, мета-крезол) және полициклді ароматты көмірсутектерді (нафталин, фенантрен, антрацен) ыдыратуға жоғары қабілетілік көрсетті.

3. Мұнайотықтырғыш микроорганизмдердің белсенді ассоциацияларын органикалық-минералды тыңайтқыштармен бірге қолданғанда Қызылорда облысының ластанған топырақтарын тазалап қалпына келтіру процесін 1,5-2 есеге дейін арттыратыны анықталды.

Жұмыстың сыннан өтуі. Зерттеу материалдары бойынша ашық баспасөзде 12 ғылыми жарияланым жарияланды. Оның ішінде 2 мақала Thomson Reuters деректер базасына енгізілген; Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Білім және ғылым саласында сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған республикалық ғылыми журналдарда 3 мақала; Конференция материалдарында 2 мақала және 1 тезис, Микробиология және вирусология журналында 1 мақала. Сондай – ақ өнер табысқа патент (№ 34047 (2019) алынды.

Жарияланымдар.

- Биоремедиация-мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтардың

қайта қалпына келтірудің негізі (әдеби шолу) // Хабаршы ҚР ҰҒА, Алматы 2015, № 4, Биология және медицина сериясы. - Б. 102-107.

- Выделение и отбор микроорганизмов-деструкторов нефти и нп // Вестник НАН РК, Алматы 2016, №3, Серия биологическая и медицинская. - С.56-60.

- Determining ability of oil degrading bacterial strains to utilize phenol as a sole source of carbon // Fifth International Conference "Ecological Engineering and Environment Protection" (ЕЕЕР'2017)7 Plovdiv, 2017. Бесінші халықаралық «Экологиялық инженерия және қоршаған ортаны қорғау» конференциясы (ЭИҚОҚ'2017), Пловдив (конференцияға қатысу).

- Biodegradation of PAHs by bacterial strains isolated from the oil field Kumkol in Kazakhstan // VII International Conference on Environmental Industrial and Applied Microbiology. Madrid (Spain), 2017, P. 30

- Мұнай-тотықтырғыш бактерия штамдарының фенолды ыдырату қабілетін Анықтау // «Ғылымның өзекті мәселелері» атты Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция, «Металлургия және кен байыту институты» АҚ, Алматы, 2018, 80-81 б.

- Molecular identification of petroleum-degrading bacteria and characterization of their biodegradation potential related phenol // Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences. Tome 71, No 11, Sofia (Bulgaria) 2018. P. 1473-1478

- Изучение таксономических характеристик и возможности деструкции ароматических углеводородных соединений нефтеокисляющего штамма 12/5 *Gardonia sp.* // XV Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji, «Aktualne problemy nowoczesnych nauk - 2019» Nauka i studia: Volume 10. Przemysł. 07 -15 czerwca (июнь) Przemysł, 2019. С. 9-16.

- Ассоциации микроорганизмов для биоремедиации нефтезагрязненных почв// Научно -технический журнал «Нефть и газ», 1(115), Алматы, 2020. С. 114-122.

- Degradation of petroleum hydrocarbons with thermotolerant microorganisms // Rasāyan Journal of Chemistry, Vol.13. No. 2. 2020. P. 1271-1282

- Мұнай тотықтырғыш *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамының токсонимикалық қасиеті мен ароматты көмірсутекті қосылыстарды деструкциялау мүмкіндігін зерттеу // Журнал «Микробиология және вирусология», Алматы. 2020. № 3 (30), С. 20-31.

Диссертацияның құрылымы. Диссертация 125 бетінде ұсынылған және белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен әдістерден, нәтижелер мен талқылаудан, қорытындылардан, 235 пайдаланылған әдебиеттер тізімінен 16 кестеден, 25 суреттен және 3 қосымшадан тұрады.

1 ЗЕРТТЕУ БАҒЫТЫН ТАҢДАУДЫҢ НЕГІЗДЕМЕСІ

1.1 Қызылорда облысының табиғи - климаттық жағдайы

Қызылорда облысы Арал теңізінің шығысында Сырдария өзенінің төменгі ағысында орналасқан. Облыс аумағының негізгі бөлігі Тұран ойпатының шегінде орналасқан (биіктігі 50-200 м). Аймақтың батысы Арал теңізімен шектеседі, оңтүстік -шығысында - Қаратау жотасы мен тау бөктеріндегі жазықтардың солтүстік -батыс сілемдері, солтүстік -батысында Арал маңы Қарақұмының көлемі үлкен төбелі құмдар.

Қызылорда облысы материктің ішкі бөлігінде орналасқан және ірі су айдындарынан едәуір аластатылған. Сондықтан қарастырылып отырған аймақтың климаты, әсіресе оның жазық бөлігі континенттік және құрғақ ауа райының күрт болуымен сипатталады. Мұнда қыста ашық және құрғақ ауа райы басым болуы антициклонның азиялық әсерінен, ал жазда - оңтүстіктен келетін және орнында пайда болатын тропикалық ауаның әсерінен болады. Жыл бойы дерлік ауа райы Қазақстанның оңтүстігіне күн радиациясының үлкен ағынын тудырады. Күн сәулесінің ұзақтығы ұзақ және шөлдерде жылына шамамен 3000-3080 сағатты құрайды, тау бөктері мен таулы аймақтарда 2600-2800 сағатқа дейін, максималды ұзақтығы шілдеге келеді және айына 370-420 сағатты құрайды.

Қызылорда облысының физикалық - географиялық жағдайларының әртүрлілігі жел режимінің әр түрлі сипатын анықтайды. Қарастырылып отырған аймақтағы желдің жылдамдығы әр түрлі және өте үлкен шектерде өзгереді. Жылдық жылдамдықтың орташа мәндері бүкіл аумақта 1,8 -ден 5,8 м/с -қа дейін өзгереді [2].

Территорияның үлкен бөлігінің аймағының топырақтары солтүстік шөл зонасына жатады, елеулі әртүрлілікпен сипатталады және екі үлкен аймаққа айқын бөлінеді: ауылшаруашылық белдеуінің ылғалдандыру топырақтары (гидроморфты); құрғақ (субаэралық), шөл бөлігінде ежелгі суару іздері бар жерлерде. Шөлдік климаттық режимнің әр түрлі ерекшеліктері- құмдыларды қоспағанда, барлық жазық топырақтардың агрономиялық маңызы бар ортақ сипаттамалары бар: құрамында мөлшері 10-25% көміртекті әк бар карбонат. Сонымен қатар карбонаттардың көп болуы өсімдіктердің фосфор тыңайтқыштарының аз қозғалатын, бірақ ассимиляцияға айналдыру процесін жылдамдатады. Топырақтың айрықша ерекшелігі-40-75% шаңды бөлшектердің басым болуы, фракция көлемінің елеусіз мөлшері 1-0,25 мм фракциясының шамалы мөлшері және диаметрі 1 мм бөлшектердің болмауы. Өзенді аудандардағы топырақтың тұздылығының шекті беткі қабатында 0-15 см және профильдің ортаңғы бөлігіндегі шөлді топырақта 20-150 см. Тұздылықта - натрий (Na), магний (Mg) және кальций (Ca) хлорлы-сульфатты тұздары басым. Аймақ топырағының көп бөлігі шайылуды қажет етеді. Микробиологиялық процестердің карбонатты құрамының жоғары болуы органикалық заттардың тез ыдырауына әкеледі. Аймақтағы барлық топырақтар калийге бай, құрамында фосфордың орташа мөлшері бар, бірақ азотқа кедей. Ол үшін органикалық заттарды - көнді, компостты, сидерит пен минералды тыңайтқыштарды, әсіресе

азотты тыңайтқыштарды енгізу қажет. Гумустың мөлшері 0,5-тен 3-4%-ға дейін, сирек 6%-ға жетеді [3].

Құмкөл кен орны Қазақстанның жер қорының табиғи және ауылшаруашылық аудандауы бойынша Арал-Балқаш аймағында шөлді аймақта орналасқан. Кен орнының бедері сәл толқынды аккумулятивті жазықта орналасқан. Жер асты сулары 2,5-20,0 м аралығында жатыр және топырақ түзілу процесіне әсер етпейді. Жыл мезгіліне байланысты жер асты суларының тереңдігі 1-5 м болатын сор бассейндерінде ғана ерекшеленеді. Құмкөл аумағының басым бөлігін зоналық сұр-қоңыр шөлді топырақтар құрайды. Территорияның маңызды аудандарын сортаңдар мен олардың кешендері алып жатыр. Аумақтың сортаң топырақтарына тән ерекшелігі - құрамында сода (NaHCO_3) тұздарының басым болуы. Сода гидролитикалық сілтілі тұз болғандықтан, сілтілі топырақтар мен сортаң топырақтардың пайда болуына ықпал етеді. Бұндағы өсімдіктердің таралуы - галофиттер. Көбінесе сода-тұзды топырақтар құрғақ көлдердің түбінде, ежелгі теңіз шөгінділерінде түзіледі. Барлық топырақтар қарашірік көкжиегінің салыстырмалы түрде аз қалыңдығымен, қоректік заттардың аз мөлшерімен және сіңіру қабілетінің төмендігімен сипатталады [4].

Қызылорда облысы, Құмкөл кен орны Қазақстан бойынша алдыңғы қатардағы мұнай өндіруші ірі кен орындарының бірі болып табылады. Мұнай - газ өндіретін кәсіпорындардың өндірістік қызметі табиғи орта объектілеріне сөзсіз техногендік әсер етеді, сондықтан қоршаған ортаны қорғау және табиғи ресурстарды ұтымды пайдалану мәселелері маңызды мәнге ие.

1.2 Мұнай және мұнай өнімдерінің қоршаған ортаға түсу жолдары

Мұнай және газ ресурстарын игеру кезінде қоршаған ортаға түсетін көптеген органикалық қосылыстар, мұнай өндіруші көптеген аудандар үшін ластаушылардың басым түрі болып табылады.

Қазақстан әлемдегі мұнай өндіруші елдер ретінде алғашқы ондыққа кіреді. Мұнай мен газды өндіру және оларды тасымалдауын қатар алғанда, осы аталған саланың әлі де болса дамып жатқандығы байқалады. Қазіргі уақытта өндіріс категориясындағы мұнай қорын өндіру республиканың сегіз облысында – Ақтөбе, Атырау, Жамбыл, Батыс Қазақстан, Қарағанды, Қызылорда, Маңғыстау және Оңтүстік Қазақстан шоғырланған.

Мұнай және газдың облыс бойынша таралуы туралы мәліметтерді талдай отырып, республика аумағы бойынша көмірсутекті шикізат қорының әрқелкі таралуын сипаттайды. Мұнай және газ кен орындарының көп бөлігі 100 млн т аса қоры Каспий теңізінің қазақстандық бөлігінде, негізінен Атырау, Маңғыстау, Ақтөбе, Мұнай және газдың 100 млн т-дан аса қоры Каспий теңізінің (шамамен 85%), Қазақстандық бөлігінде, негізінен Атырау (38%), Маңғыстау (28,8%), Ақтөбе (10,7%) және Батыс Қазақстан (7,5%) облыстарында шоғырланған. Қызылорда – 7,5%, Жамбыл – 4%, Қарағанды – 2,0%, ОҚО – 1,5% [5]

Өндіретін мұнай қорларына сәйкес, Қазақстан әлемдік мұнай қорының 3% -на ие әлемнің 15 жетекші елдерінің қатарына кіреді. Болашағы бар және

пайдаланылған мұнай-газ өңірлерінің ауданы 1700 мың км² құрайды, бұл еліміздің бүкіл аумағының 62% -дан астамын құрайды және 208 астам мұнай және газ кен орындарын қамтиды [6]. Мұнай қорының 90%-дан астамы 15 ірі кен орындарында: Теңіз, Жетібай, Құмкөл, Қашаған, Солтүстік Бозашы, Қарашығанақ, Әлібекмола, Жаңажол, Қаламқас, Кеңқияқ, Қаражанбас, Орталық және Шығыс Оппасы (Прорва), Өзен, Кенбай, Корольдік шоғырланған [7]. 2015 жылы 79,46 миллион тонна мұнай өндірілді, ал 2017 жылы Қазақстан Республикасында мұнай өндіру көлемі 86,2 миллион тоннаны құрап, ел Тәуелсіздігінің бүкіл тарихындағы рекордтық көрсеткіш болды. Әрине осыған орай мұнай және газды өндірумен және тасымалдаумен қатар қоршаған ортаның мұнай өнеркәсібінің қалдықтарымен ластануының жылдан-жылға артып жатқаны байқалады, бұл ретте топыраққа төгілген мұнайдың көлемі, ресми мәліметтер бойынша, жылына 8-9 млн тоннаны құрайды [8].

Қоршаған ортаның ластануы мұнай өнімдерін су айдындарына рұқсатсыз төгу, техногендік авариялар, өнеркәсіптік өндіріс нәтижесінде де орын алады. Технологиялардың жетілдірілмегендігі, басқа да объективті және субъективті себептердің нәтижесінде мұнай және мұнай өнімдерімен жұмыс істеудің барлық кезеңдерінде жекелеген апаттар орын алып, мұнай және мұнай өнімдерінің төгілуінен атмосфераның, ашық су объектілерінің, топырақ пен жер асты суларының ластануына әкеледі [9]. Осының салдарынан қоршаған орта мұнай өнімдерімен ластанып, жануарлар дүниесі зардап шегіп, мұнай өнімдерінің ауыз суға түсуі халықтың денсаулығына тікелей қауіп төндіреді. Мұнай ресурстарын игеру мен пайдалану ауқымының ұлғаюына байланысты олардың қоршаған ортаны ластау проблемасы өзекті болып отыр.

1.2.1 Мұнай мен мұнай өнімдері

Мұнай – газ тәрізді және басқа да заттар еріген сұйық көмірсутектердің күрделі қоспасы. Мұнай – 1000-ға жуық жеке заттардың қоспасынан тұрады, олардың көпшілігі сұйық көмірсутектер (80-90%) және гетероатомды органикалық қосылыстар (4-5%). Қалған компоненттерге еріген көмірсутекті газдар, су, минералды тұздар, органикалық қышқылдардың тұздарының ерітінділері, механикалық қоспалар жатады. Мұнай құрамындағы металдардың ішінде мыналар басым: V – 10-3-10-2 %; Ni – 10-3-10-2 %; Fe – 10-4-10-3 %; Zn – 10-5-10-3 %; Hg - 10-5 % шамасында; Na, K, Ca, Mg – 10-3-10-4%. Мұнайдың көмірсутекті құрамы: парафин (25-35%, жиі 40-50% көлемде), нафтен (25-75%), аз дәрежеде ароматты қатардағы қосылыстар (10-20, сирек 35%-ға дейін) және аралас немесе гибридті құрылымды (мысалы, парафинді-нафтенді, нафтенді-ароматты). Гетероатомды компоненттер құрамында күкірт бар – күкіртсутек, меркаптандар (қалдық өнімдерде – мазут пен шайырда шоғырланған); құрамында азот бар – негізінен пиридин, хинолин, индол және т.б. гомологтары (ауыр фракциялар мен қалдықтардағы концентрат); құрамында оттегі бар – нафтен қышқылдары, фенолдар, шайырлы – асфальтенді заттар ұсынылған [10].

«Мұнай өнімдері» (МӨ) ұғымының екі мағынасы бар – техникалық және аналитикалық. Техникалық мұнай өнімдері – бұл кен орнында алғашқы өндеуден

өткен тауарлық мұнай және шаруашылық қызметтің әртүрлі түрлерінде қолданылатын мұнай өнімдері: авиациялық және автомобильдік бензиндер, реактивті, тракторлық және жарықтандыру керосиндері, дизельді отын, мазут, еріткіштер, қозғалтқыш майлары, шайырлар, мұнай битумдары және басқа да мұнай өнімдері (парафин, мұнай коксы т.б.). Аналитикалық мағынада мұнай өнімдеріне гександа еритін және алюминий оксидімен сорбцияланбайтын полярлы емес және төмен полярлы көмірсутектер жатады. Бұған жанар-жағармайларды, еріткіштерді және майлау майлары жатады [11].

Мазут – қайнау температурасы 320-350 °С жоғары мұнай фракцияларының айдауынан кейінгі қалдық. Мазутты қазандық отыны ретінде пайдалануға немесе одан әрі өңдеуеп мұнай фракцияларын немесе вакуумды газойльдің кең фракцияларын іріктеу арқылы төмендетілген қысымда (вакуумда) айдау арқылы жанармай алуға болады. Бұл көмірсутектердің (молекулалық массасы 400-ден 1000-ға дейін), мұнай шайырларының (молекулалық массасы 500-3000 және одан да көп), асфальтендердің, карбендердің, карбоидтердің және құрамында әртүрлі микроэлементтері (V, Ni, Fe, Mg, Na, Ca, Ti, Hg, Zn және басқада) бар органикалық қосылыстардың қоспасы [11].

Дизельдік отын мұнайды 200–350°С температурада және атмосфералық қысымда айдау арқылы алынады. Бұл тізбек ұзындығы 9-дан 25-ке дейін көміртегі атомдарынан тұратын тізбекті және ароматты көмірсутектердің және олардың туындыларының қоспасы [11, 12]. Пойыздар, кемелер, автобустар мен жүк көліктері, ауыл шаруашылығы және әскери көліктер дизельдік отынмен жүреді. Дизельдік отын арзан және көп энергия өндіретіндіктен, дизельдік отын электр генераторлары мен жылыту қазандықтарын отын үшін пайдаланылады.

Қозғалтқыш майы, дұрыс тазартудан кейін алынған майлау майының ең жоғары бөлігі болып табылады. Қозғалтқыш майының құрамына молекулалық салмағы 300-ден 700 а.б. дейінгі C₂₀-C₅₀ диапазонындағы көмірсутектер кіреді. [12]. Бұл көмірсутектер аралас құрылымға ие және олар нафтопарафин, парафин-ароматты немесе парафин-нафтено-ароматты қосылыстармен ұсынылған. Мұнайдың сапасы көбінесе ондағы парафиндердің, ароматты заттардың және нафтендердің қатынасына байланысты. Белгілі бір қоспаларды енгізу арқылы майдың тозуға қарсы қасиеттерін, оның тотығуға төзімділігін айтарлықтай жақсартады. Заманауи қозғалтқыш майларында қоспалардың үлесі 15-тен 25%-ға дейін ауытқиды. Қозғалтқыш майлары ретінде қолданылатын майлар минералды, гидрокрекингтік, жартылай синтетикалық және синтетикалық болып бөлінеді [13, 14].

Қоршаған ортағаның мұнай және мұнай өнімдерімен ластануының әсері өте үлкен және күрделі. Мұнай өнеркәсібінің дамуына байланысты мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған аумақтардың ауданы ұлғаяды деп болжауға болады. Демек, белгілі бір уақытта қалыптасқан экологиялық жағдай нашарлайды, бұл қоршаған ортаға әсері болғаннан кейін, адам денсаулығының жай-күйіне де тікелей әсер етеді.

1.2.2 Мұнай мен мұнай өнімдерінің топыраққа әсері

Мұнай және мұнай өнімдерін өндіру, тасымалдау, сақтау және өңдеу процестері көбінесе апатты жағдайға әкелетін топырақты ластау көздеріне айналады [15].

Мұнай мен мұнай өнімдерімен ластануы топырақтың барлық сипаттамаларының – оның физикалық, физика-химиялық және химиялық қасиеттерінің өзгеруіне әкеледі. Бұл өзгерістердің көлемі топырақтың түріне де, бастапқы күйіне де, ластаушы заттың түрі мен мөлшеріне де байланысты. Топырақтың мұнаймен немесе мұнай өнімдерімен ластануынан кейінгі айқын, көрнекі өзгерістерді олардың морфологиясынан байқауға болады. Мұнаймен ластанған сазды-сортаң топырақтарға тән келесі өзгерістер байқалады: жоғарғы горизонттардың күңгірт түсі; біркелкі емес; топырақта мұнайдың біркелкі таралуы нәтижесінде морфологиялық құрылымның мозаикалық өзгерістері; профильдің типтік элювиальді-иллювиальді дифференциациясының әлсіреуі [16].

Сондай-ақ мұнаймен ластанған типтік қара топырақтар да морфологиялық өзгерістерге ұшырайды. Ластанған аумақтарда топырақтың құрылымдық бірліктері бір-біріне жабысып күңгірт түстерге айналады. Мұнайдың таралуы топырақ кесіндісінің қабырғасы бойымен анық көрінеді. Мұнайдың таралуының 2 максимумы бар: жоғарғысы жер жырту сызығының шекарасында, ал төменгісі иллювиальды горизонтта. Топырақ құрылымының өзгеруі барлық профиль бойынша бақыланады, ол агрономиялық тұрғыдан ең құнды болып табылатын ең ірілерінің құрамының төмендеуімен және ұсақ және орташа фракциялардың көбеюінен көрінеді. Бірақ сонымен бірге бұл агрегаттар мұнайдың максималды мөлшерін жинайды және суға төзімділікке ие болады, бұл қоректік заттардың топырақ түсуін қиындатады [17].

Мұнаймен ластану сазды-сортаң және сұр орман топырақтарының меншікті бетінің ауданын айтарлықтай төмендетеді, бұл да топырақ бөлшектерінің мұнаймен қапталуымен және олардың жабысуымен байланысты. Мұнай өнімдерінің сіңуі кезінде топырақтың цементтену мүмкіндігі жоққа шығарылмайды, бұл батпақтануға әкелуі мүмкін. Ластағыштар құмды гранулометриялық құрамды топырақтарға түскенде олардың белсенді миграциясы байқалады, одан кейін төменгі горизонттарда жиналып, сонымен қатар жер асты суларына түседі [18].

Мұнай және мұнай өнімдерімен ластану нәтижесінде топырақ бетінің түсінің өзгеруі және топырақ бөлшектерінің мұнай қабықшасымен қапталуы топырақтың спектрлік шағылысу қабілетінің төмендеуіне әкеледі. Ластану кезеңінің ұлғаюымен мұнайдың өзгеруіне байланысты топырақтың спектрлік шағылысу қабілеті пропорционалды түрде жоғарылайтыны анықталды. Ластанған топырақтың түсінің өзгеруі де мұндай топырақтардың жоғары қызуына ықпал етеді [19].

Мұнай және мұнай өнімдерімен ластану нәтижесінде өзгерістер топырақтың химиялық қасиеттеріне – органикалық көміртегінің, қарашірік

құрамының, макро- және микроэлементтердің мөлшері мен арақатынасының өзгеруіне де әсер етеді [20].

Органикалық көміртегінің жалпы мөлшерінің өзгеруінен басқа, карашіріктің фракциялық құрамы да өзгереді. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде гумин қышқылдарының мөлшерінің айтарлықтай төмендеуі және гидролизденбейтін қалдық – гумин және гумин тәрізді заттардың, лигниннің, терпендердің, балауыз шайырларының және битумдардың үлес салмағының жоғарылауы белгіленді [21].

Мұнай және мұнай өнімдері топыраққа түсіп, олардың тотығу-тотықсыздану жағдайына өзгеруіне әкеледі. Аэрацияның бұзылуы және топырақта анаэробты жағдайлардың пайда болуы нәтижесінде оның азаюы артып, тотығу потенциалы төмендейді, бұл топырақтың глейлену процестерінің дамуына және тіпті жер үсті батпақтануына әкелуі мүмкін [22].

Мұнай және мұнай өнімдерінің топыраққа еніп, ластануының негізгі жолдары 1 - суретте көрсетілген.



Сурет 1 – Топырақтың мұнай және мұнай өнімдерімен ластану жолдары

Осылайша, мұнай және мұнай өнімдері басым жағдайда топырақтың барлық сипаттамаларында теріс өзгерістерді тудырады. Топырақтың сіңіру кешенінің өзгеруі әртүрлі иондардың сапалық және сандық қайта бөлінуіне, топырақ ерітіндісінің рН-ның өзгеруіне әкеледі [23]. Топырақ типтерінің көпшілігіне тән жалпы өзгерістер мұнай мен мұнай өнімдерімен ластанғаннан кейін органикалық көміртегі мөлшерінің жоғарылауы, С:N қатынасының кеңеюі және жылжымалы калий, фосфор және азот мөлшерінің төмендеуі болып табылады. Ластанған топырақтың агрохимиялық және агрофизикалық күйі нашарлайды, бұл топырақтың өз қызметтерін орындауының төмендеуіне немесе толық тоқтатылуына себеп болады.

Топырақтың биологиялық белсенділігі ең алдымен бактериялар, микроскопиялық саңырауқұлақтар мен балдырлар және омыртқасыздар сияқты топырақ микроорганизмдердің қауымдастықтарының жағдайымен анықталады. Топырақтың мұнай мен мұнай өнімдерімен ластануы тірі ағзалар топтарының әр түрлі жауап реакциясын тудырады. Топырақ микроорганизмдері қауымдастығының жағдайы ластаушы заттың бастапқы концентрациясына байланысты ғана емес, сонымен қатар ластанған сәттен бастап өткен уақытқа да өзгереді. Сонымен, көптеген зерттеулері бойынша мұнайдың ластануы кезінде микроорганизмдердің биомассасын өзгеруі және топырақты қайтадан қалпына келтіру процесі бес кезеңді қамтиды: өлу, бейімделу, сызықтық және экспоненциалды өсу, тұрақтандыру. Бұл жағдайда ластаушы заттардың төмен концентрациясында өліп қалу сатысы болмауы мүмкін [24, 25]. Сонымен қатар топырақ микроботасының доминанттар санының өзгеруіне негізделген сабақтастықтың үш кезеңін ажыратуға болады. 1-ші кезеңде микробоценоздың қайта құрылымдалуы және көмірсутектотықтыратын микроорганизмдер тобының белсенденуі жүреді. 2-ші кезеңде топырақтағы көмірсутектердің мөлшері төмендеген сайын ластануға сезімтал организмдердің 3-ші кезең-микробтар қауымдастығының біртіндеп және ұзақ уақытқа бастапқы күйіне немесе соған жақын күйіне оралуы. Бұл сызба орташа тайга зонасы үшін ұсынылды, ал өзін-өзі тазарту процестерінің ұзақтығы 10 - 15 жылда анықталды [26]. Микробоценоздың саны мен түр құрамының өзгеруінің ұқсас заңдылықтары әр түрлі зерттеу топтарының көптеген зерттеулерінде расталған [27, 28, 29, 30].

Жаңадан ластанған топырақтарда, әдетте, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium* тектес көмірсутектотықтыратын бактериялар басым болғандықтан, топырақта микроорганизмдердің саны өте көп. Көмірсутектотықтырғыштардың дамуын ынталандыру аясында гетеротрофты микроботаның басылуы жүреді, ал мұнайдың жоғары концентрациясында микроорганизмдердің екі тобының да дамуы тежеледі [31]. Кейінірек ластанудан кейін олиготрофты микрофлоралардың, олигонитрофилдердің және целлюлозаны бұзатын микроорганизмдердің саны артады, ал жалпы саны жоғары болып қалады [29, 32].

Нитрификациялайты бактериялар мұнай әсеріне ең сезімтал болып шықты, ал азотфиксациялауға, аммонификациялауға және денитрификациялауға қатысатын микроорганизмдердің саны мен белсенділігі керісінше жоғарылайды [33, 34]. Топырақтың мұнаймен ластану кезеңі мен одан тазарту дәрежесінің жоғарылауымен бактериялардың әртүрлілігі ластанбаған топырақтың бастапқы көрсеткіштеріне жақындайды.

Мұнайдың жоғары концентрациясында микроорганизмдердің барлық дерлік топтары, соның ішінде микромицеттер тежеледі. Ластанудың төмен деңгейінде микроскопиялық саңырауқұлақтардың дамуы ынталандырылады, жоғары деңгейде саңырауқұлақ кешендерінің әртүрлілігі фондық топырақтармен салыстырғанда төмендейді. Микромицеттер қауымдастығының қайта құрылымдалуы бар - сезімтал түрлер жойылады, ал мұнай көмірсутектерін қолдануға қабілетті микромицеттер басым орын алады [35].

Осылайша, топырақтың мұнай және мұнай өнімдерімен ластануының нәтижесінде топырақ микробиоталарының саны мен құрылымында өзгерістер орын алады.

1.3 Топырақтағы мұнай мен мұнай өнімдерінің биодеградациясы

Шикі мұнай мен мұнай өнімдері топыраққа түскенде олардың табиғи фракциялануы мен ыдырауы басталады. Жеңіл фракциялар (құрылымы бойынша ең қарапайым және төмен молекулалы алкандар, циклопарафиндер мен ароматты көмірсутектер) атмосфераға біртіндеп буланып кетеді. Керосин (C₁₁-C₁₃), газойль (C₁₄-C₁₇), жеңіл майлар немесе дизель (C₁₈-C₂₅) фракцияларының көмірсутектері аз кемиді, майлау немесе қозғалтқыш майларының фракциялары (C₂₆-C₃₅) мен шайыр (C₃₆-C₆₀ және т.б.) іс жүзінде ауада кемуге ұшырамайды. Топырақтың терең қабатына ластанудың енуі көмірсутектердің ыдырау жылдамдығын төмендетеді және олардың жер қойнауында сақталуына әкеледі [36].

Топырақ бетінде мұнай химиялық тотығудан өтеді, ультракүлгін сәулеленумен ішінара тотығады және жер үсті суларымен шығарылады [37, 38], өсімдіктер мен басқа ағзаларда жинақталады. Алайда, мұнай көмірсутектерінің жойылуының негізгі процесі - олардың микроорганизмдердің қатысуымен биохимиялық тотығуы.

Мұнайдың микробиологиялық ыдырауына екі фактор әсер етеді: көмірсутектің соңғы тобына молекулалық түрінен бір оттегі атомын енгізетін күрделі ферменттер - оксидазалардың болуы және судың сіңуін қамтамасыз ететін, суда ерімейтін гидрофобты субстраттың жасушаларда болуы [38].

Аэробты жағдайда әр түрлі кластардағы көмірсутектердің тотығуының негізгі механизмі молекулаға оттегінің енгізілуі және бөліну энергиясы төмен (C-C, C-H) байланыстардың бөліну энергиясы жоғары (C-O, H-O) байланыстармен алмастырылуы болып табылады [39]. Көмірсутек қоспасында алдымен байланыс үзілу энергиясы ең төмен молекулалар түрленеді.

Алкандардың тізбек ұзындығына байланысты субстраттың оксигенациясы үшін әр түрлі ферменттік жүйелер қажет: C₁-C₄ - алкандары

метанмонооксигеназалармен тотығады (еритіні де, мембранамен байланысқаныда); C₅-C₁₆ – алкандары құрамында гемі жоқ темір немесе цитохром P450 - монооксигеназасы бар алкангидроксилазалық жүйелермен; құрамында 17 немесе одан да көп көміртегі атомы бар алкандар - осы күнге дейін жеткілікті зерттелмеген ферменттермен (мысалы, диоксигеназалар) тотығады [40]. Аэробты жағдайда n-гексадекан тотығу кезінде көмірсутек катаболизмінің бірінші реакциясы олардың монооксигеназа ферменттерінің әсерінен оттегінің қатысуымен сәйкес спирттерге тотығуы болып табылады [40, 41, 42].

Мұнай құрамына кіретін көмірсутектердің барлығы дерлік микробиологиялық әсерге ұшырауы мүмкін. Топырақ микрофлорасы көмірсутектерді көмірқышқыл газы мен суға тотықтыра алады немесе басқа микроорганизмдер пайдаланатын қосылыстарға айналады.

Ароматты көмірсутектер мен олардың туындыларының табиғатта жоғары канцерогенділігіне қарамастан, оларды көміртегі мен энергия көзі ретінде қолдануға қабілетті микроорганизмдер көп кездеседі [40, 41, 43]. Көптеген бактериялар, сондай - ақ ашытқы мен басқа да саңырауқұлақтар ароматты сақинаны бұзу арқылы ароматты қосылыстарды ыдыратуға қабілетті. Бұл мағынада жан-жақты белсенділікті псевдомонадтар, микобактериялар, спириллалар, кокктар мен спора түзуші бактериялар көрсетеді. Барлық жағдайда ароматты сақинаны биологиялық түрде бұзу үшін оттегі қажет. Анаэробты жағдайда ароматты қосылыстарды тек фототрофты бактериялар қолданады. Кейбір жеке *Rhodopseudomonas* және *Rhodospirillum* штаммдары қатаң анаэробты жағдайда бензой қышқылын жарықта ассимиляциялайды [44]. ПАК биологиялық ыдырауына бәсекеге қабілетті тежелу, аралық өнімдермен ингибирлеу, кресталды индукциясы және кометаболизм сияқты әсерлер әсер етеді. Табиғи экожүйелерде ПАК биодеградациясын микроорганизмдер қауымдастығы жүзеге асырады, ал ПАК деградациясының метаболикалық жүйесі микробтар қауымдастығының әр түрлі мүшелері арасында таралады [45].

Құрамында шайыр мен асфальтені бар ауыр мұнай фракцияларының биодеградациясы олардың ферменттерге төзімділігіне және сұйық ортада дисперсиялылығының төмен болуына байланысты қиын. Ластану неғұрлым ескі болса, соғұрлым бұл фракциялардың үлесі жоғары болады (1 -ден 20%-ға дейін). Инерттілігіне байланысты түзілген жоғары молекулалық қосылыстар мен ілеспе мұнай қалдықтары қоршаған ортаға аз қауіп төндіреді [46].

Мұнайдың биодеградациясын зерттеген соңғы онжылдықтар ішінде сызықты және тармақталған көмірсутектерді, әсіресе молекулалық массасы төмен және орташа, сондай - ақ молекуласында бес немесе одан аз ароматты сақиналары бар ароматты көмірсутектерді пайдалану жақсы зерттелді [47, 48]. Сонымен қатар, бірқатар авторлар атап өткендей, микроорганизмдердің шайырлар мен асфальтендерді ыдырату қабілеті жеткіліксіз зерттелген. Мұнайдың жоғары молекулалы гетероатомды компоненттері микробтардың бұзылуына төзімді және топырақта ұзақ уақыт сақталады деп есептеледі [49].

Микробтық бірлестіктердің мұнай көмірсутектерінің биологиялық тотығу ерекшеліктерін зерттеу микробиологияның, биохимияның, экологияның іргелі

мәселелерін шешу үшін де, биотехнология саласында практикалық қолдану үшін қажет. Мұнайды ыдыратуға қабілетті микроорганизмдердің әртүрлілігі жоғары бәсекелестікке және мұнайдың әр түрлі фракцияларының деградациялануының көптеген жолдарына байланысты. Микроорганизмдер әр түрлі көмірсутектерге селективті қатынас қасиетіне ие; бұл қабілет көмірсутектер құрылымының айырмашылығымен, сонымен қатар осы құрылымға кіретін көміртек атомдарының санымен анықталады. Табиғи жағдайда микроорганизмдер консорциумдар түзіп, мұнай көмірсутектерінің тотығуының бір тізбегін құрайды. Белгілі бір субстратты (көмірсутектердің өздері де, олардың туындылары да) қолдануға бағытталған арнайы ферменттер жүйесі бар консорциумның әрбір микроорганизмі осы субстраттын метаболизмінде қолданылады. Сондықтан консорциум микроорганизмдерінің бірлескен әсерінен мұнай көмірсутектерінің неғұрлым көп мөлшері, не кеңірек ауқымы жойылады. Мұнай мен мұнай өнімдерінің биологиялық тотығу процестеріне арналған еңбектерде негізінен көбінде мына микроорганизмдер туыстықтары қарастырылған: *Rhodococcus* [50, 51, 52, 53, 54], *Pseudomonas* [55, 56, 57, 58, 59], *Azotobacter* [60, 61, 62], *Bacillus* [63, 64, 65, 66], *Arthrobacter* [67, 68, 69, 70, 71, 72], *Acinetobacter* [73, 74, 75, 76], *Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Nocardia*, және басқалар [74, 76, 77, 78].

Кейінгі жылдары ғалымдар шикі мұнай көмірсутектерінің кең спектрін (n-алкандар мен ароматты көмірсутектер) тотықтыруға және ыдыратуға қабілетті басқа бактериялар тұқымының бөліп алынғаны туралы хабарлады. Мұндай организмдерге *Bacillus*, *Dietzia*, *Gordonia*, *Halomonas*, *Cellulomonas*, *Rhodococcus* және галатолерантты *Alcanivorax sp.* сияқты микроорганизмдер жатады [79, 80, 81].

Мұнайдың биодеградацияға айтарлықтай төзімді компоненттерін тотықтыратын көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдерінің ең белсенді штамдары негізінен мұнаймен ластанған топырақты тазарту үшін биологиялық препараттар негізін құрайтын белсенді деструктор-ассоциациялар құру ең тиімді болып табылады.

1.4 Көмірсутектотықтыратын микроорганизмдердің табиғатта таралуы

Мұнай мен мұнай өнімдерінің әсеріне ұшыраған топырақтар белгілі түрлік құрамы бар арнайы микрофлорамен сипатталады. Топырақтағы көмірсутектердің ыдырауында негізгі рөлді бактериялардың микрофлорасы атқарады, бұл саңырауқұлақтармен салыстырғанда бактериялардың көптігімен дәлелденеді. Мұнай көмірсутектерінде дамитын ең көп таралған бактериялар *Pseudomonas* тұқымдас түрлері - грамтеріс таяқша тәрізді полярлық жгутиктері бар, спора түзбейтін бактериялар [82]. Оларға *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas desmolytica*, *Pseudomonas dacunae*, *Pseudomonas longa*, *Pseudomonas pelliculosa* және т.б. жатады. Негізінен шахталық суларда немесе озокерит карьерінің көздерінде таралатын *Pseudomonadaceae* түрлері лигроин мен керосинді энергия көзі ретінде

пайдаланады. Метан-нафтен мұнайының жеңіл бензин фракциясы тек *Pseudomonas* тектес организмдер үшін субстрат қызметін атқарды [83]. *Pseudomonas* тектес өкілдерінің көміртегі мен энергияның жалғыз көзі ретінде полициклді көмірсутектерді (нафталин, антрацен, фенантрен) жиі қолдануы айтылады. Мұнай қабаттарында псевдомонадтардың басым таралуының тағы бір себебі олардың микроаэрофильді және анаэробты жағдайда өмір сүру қабілеттілігі болуы мүмкіндігі [82].

Rhodococcus тұқымдасына біріктірілген нокарди тәрізді бактериялар көмірсутектерді белсенді ыдыратушылары болып табылады. Олар газ тәрізді, сұйық n-алкандардың, ароматты көмірсутектердің ассимиляциясына қатысады.

Родококк тектес бактериялар грам-оң, аэробты, ішінара қышқылға төзімді микроорганизмдер болып табылады. Олар таяқшалардан бастап көп тармақталған вегетативті мицелияға дейін әр түрлі формаларды құрайды. Барлық штамдарда кокк немесе қысқа таяқшалардың азды - көпті күрделі морфологиялық өзгерістер тізбегінен өтіп тіршілік циклын аяқтайтын морфологиялық цикл сатысынан басталады. Коктар қысқа таяқшаға айналуы мүмкін, бүйірлік өсіндісі бар немесе қарапайым тармақталуы бар жіпшелер түзеді немесе неғұрлым сараланған формада жоғары тармақталған гифалар пайда болады. Коктардың келесі ұрпағы таяқшалар, жіптер мен гифалардың бөлшектенуі нәтижесінде түзіледі [84].

Rhodococcus тұқымдасының келесі түрлері алкандарды деградациялау қасиетіне ие: *Rhodococcus erithropolis*, *Rhodococcus rubber*, *Rhodococcus maris*, *Rhodococcus luteus* [85]. Бұл түрлерді ажырату үшін уреазаның болуы, колониялардың түсі, жасушалардың морфологиясы, әр түрлі қант пен қант спирттерінен қышқылдың түзілуі, органикалық қышқылдардың натрий тұздарының ассимиляциясы, тирозиннің ыдырауы, т.б. белгілерді пайдаланады.

Gordonia штамдары-белгілі алкандар деструкторлары [86, 87]. Алкандар өндірілетін мұнайдың көп бөлігін құрайтын негізгі (шамамен 70%) болғандықтан, бұл микроорганизмдер мұнаймен ластанған жерлерді биоремедиациялауда маңызды рөл атқарады. *Gordonia* бактерияларының көпшілігі тізбек ұзындығы C₉-дан асатын n-алкандарды ассимиляциялауға қабілетті, өйткені метаннан басқа қысқа тізбекті тотығу қиын және улы. Көміртегі тізбегінің ұзындығы C₃₀-дан C₄₀-қа дейінгі n -алкандардың бұл микроорганизмдермен бұзылуы бір айдан бірнеше айға дейін, ал C₄₀ -тан асса - бірнеше жылдар ішінде болуы мүмкін [88, 89]. *Gordonia* - қоршаған ортада ең көп таралған аэробты актинобактерия. Олар көбінесе судан және топырақтан бөлініп алынады. *Gordonia* бактериялық тұқымдасы *Actinobacteria* класының *Corynebacteriales* отрядының *Gordoniaceae* тұқымдасына жатады. Алынған көптеген деректер *Gordonia* тұқымының өкілдері биохимиялық және филогенетикалық сипаттамалары бойынша *Rhodococcus* тұқымынан жеке таксон ретінде бөлініп алынғаны туралы ақпаратты толықтырады. *Rhodococcus* көптеген түрлері 1989 жылы қайта анықталып, Гардония тұқымдасына жатқызылды [90]. Бұл тұқым 1971 жылы американдық бактериолог Рут Гордонның атымен аталған [86]. Қазіргі уақытта белсенді филогенетикалық

зерттеулердің арқасында *Gordonia* тұқымдас бактериялардың 20-дан астам түрі сипатталған. *Gordonia* тұқымдасының мүшелері елеулі метаболикалық әлеуетке ие, яғни. улы қалдықтарды [91] және ыстық құрғақ климаты бар аймақтардағы мұнаймен ластанған сортаң топырақтар мен суларды биоремедиациялау процесінде тиімді [92]. *Gordonia* тұқымдасының кейбір түрлері алифатты және ароматты көмірсутектерді, мұнай мен мұнай өнімдерінің полициклді ароматты көмірсутектерін тотықтырады [87, 92].

Көптеген зерттеулер *Dietzia* тұқымының бактериялық штаммын мұнай мен бірқатар мұнайөнімдерінің белсенді деструкторы ретінде сипаттады [93, 94, 95]. *Dietzia* тұқымдасы бактериялардың проблемалы тұқымдарына ұқсас болып табылады, олардың түрлері 16S рРНҚ гендерінің тізбегінің салыстырмалы түрде төмен дивергенциясына ие; сондықтан олардың филогенетикалық идентификациясы қиын. *Dietzia sp.* (*Dietziaceae* тұқымдасы, *Corynebacterineae* тобытармағы, *Actinomycetales* отряды) бастапқыда әр түрлі ортадан бөліп алынған [95]. Қазіргі уақытта *Dietzia* тұқымдасына оннан астам түрі кіреді: *D. maris*, *D. natronolimnaea*, *D. psychrocaliphila*, *D. kunjamensis*, *D. cinnama*, *D. papillomatosis*, *D. schimae* және *D. cercidiphylli*, *D. lutea*, *D. aerolata*, *D. timorensis* және *D. alimentaria* [96]. Бұл бактериялар мұнаймен ластанған топырақтан, тұщы сулар мен тұзды жерлерден бөлініп алынған. Осы тұқымның кейбір өкілдерінің n-алкандарды, алифатты көмірсутектер мен ароматты қосылыстарды жою қабілеті байқалады, бұл оларды төмен температурада және рН кең интервалында мұнаймен ластанған тіршілік ортасын биоремедиациялауға ұсынуға мүмкіндік береді [97, 98, 99, 100].

Micrococcaceae тұқымдасы, *Actinomycetales* отряды, *Actinobacteria* класы. *Arthrobacter* тұқымдасының бактериялық штамдары қоршаған ортада, атап айтқанда топырақта кең таралған [124]. *Arthrobacter sp.* MIGI-89, VKPM-1576 шикі мұнай мен мұнайөнімдерін ыдырату үшін қолданылады, олар мұнайдың ауыр фракцияларын (C₂₄-C₃₃) белсенді түрде пайдаланады. Микроорганизмдердің тіршілік әрекеті процесінде тізбек ұзындығы C₁₄ - C₂₀ болатын май қышқылдары түрінде екіншілік метаболиттер түзіледі, олар фракцияны сандық бағалауға үлес қоса алады [101, 102, 103]. *Arthrobacter sp.* 15T минералды ортада, теңіз суы мен топырақта Каспий маңы аймағының әр түрлі кен орындарының мұнайын белсенді пайдаланады. Мұнайдың жойылу дәрежесі 58,4-84,8% құрайды [103]. *Arthrobacter* тектес бактериялардың штаммы алкандар, ароматты көмірсутектер, шайырлар мен асфальтендерді кең диапазонды температурада -5 °С -тен бастап +50 -қа дейін тотықтыруға қабілетті [104]. Белгілі көмірсутектердің барлығы дерлік микробтық әсерге ұшырайды. Мұнай көмірсутектерінің биодеградация процесі мұнайдың физико - химиялық қасиеттерінің, топтық және жеке көмірсутек құрамының өзгеруімен жүреді. Айта кету керек, мұнай көп компонентті жүйе, сондықтан оның биодеградация процесі күрделі және оның физикалық және химиялық құрамына байланысты. Сонымен қатар, ПАК кәдеге жарату процестері грамтеріс бактерияларда, атап айтқанда, *Arthrobacter* тектес бактерияларда толығырақ зерттелген [104]. *Arthrobacter* тектес бактериялардың штаммы көмірсутек субстраттарында жақсы

өсу қабілетін көрсетеді: парафин (C₁₀ - C₁₃), гексадекан және шикі мұнайда, және бұл жағдайда өсу негізінен фаза аралықтардың шекарасында байқалады. Районда сұйық қоректік ортада 20% дейінгі концентрацияда мұнай мен парафиндерді ассимиляциялауға қабілетті [104].

Microbacterium sp. қоршаған ортаны ластайтын көптеген заттардың биологиялық ыдырауында маңызды рөл атқарады, мысалы, мұнай мен мұнай өнімдері (соның ішінде ПАК), пестицидтер, құрамында көмірсутегі бар қалдықтар және т.б. Мысалы, қозғалтқыш майымен ластанған топырақ-қиыршық қоспасынан бөлініп алынған *Microbacterium paraoxydans* VKM Ac-2619D бактериялық штаммы суда кең ауқымды +8-ден + 37 ° C-қа дейінгі температурада 60 күнде мұнайды деструкциялауы 72, 52% мұнай үшін және дизель отыны үшін 72,92% құрады [105]. Santhakumar M. және басқалардың ғылыми еңбектерінде, *Microbacterium hydroxarbonoxydans* штаммы шикі мұнайдың жақсы ыдырауын көрсетті, бұл оның шикі мұнаймен байытылған ортада белсенді өсу жылдамдығымен және диоксигенаның белсенділігінің жоғарылауымен дәлелдеді. Сонымен қатар, *Microbacterium hydrobrocoxdans* штаммының деректерін қолданған кезде шикі мұнайдағы жалпы мұнай көмірсутектерінің (ПАК) деградациясы жоғары болды [106].

Осылайша, әдебиеттерге шолу біздің елде мұнай мен мұнай өнімдерімен ластанған экожүйені тазарту, сондай -ақ оларды қалпына келтіру мәселесі кеңінен таралғанын көрсетеді. Ол үшін әр түрлі технологиялар, соның ішінде биологиялық әдістер әзірленіп, тәжірибеге енгізілуде. Микробтық биологиялық препараттар кеңінен қолданылады, олар белсенді микроорганизмдерге негізделген - мұнай мен мұнай өнімдерінің көмірсутектерінің деструкторлары. Сонымен қатар Қазақстанда, мұнайды ыдырататын микроорганизмдердің таңдау өте үлкен және ешқандай проблемалар туғызбайды, өйткені олар кеңінен таралған, жеткілікті зерттелген және тәжірибеге енгізілген. Осыған байланысты мұнай мен мұнай өнімдерімен ластанған жерлерді рекультивациялаудың балама әдістері мен тәсілдерін зерттеу мен әзірлемелер жасаудың қажеттілігі туындайды.

1.5 Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақты қайта қалпына келтіру әдістері

Топырақ өзінде тіршілік ететін барлық тірі организмдердің: әртүрлі бактериялар, актиномицеттер, саңырауқұлақтар, балдырлар, қарапайымдылар, жауынқұрттар, жәндіктердің личинкалар жиынтығының белсенді қызметтерінің арқасында өзіндік кремат тазару қабілетке ие [107]. Мұнаймен ластанған табиғат нысандарының өзіндік табиғи тазаруы – ұзақ жүретін үрдіс. Осыған байланысты, мұнай көмірсутектерімен ластанған топырақты тазарту тәсілдерін өңдеу – қоршаған ортаға антропогенді әсерлерді төмендету мәселелерін шешуде маңызды міндеттердің бірі. Қазіргі деңгейде мұнай өндіретін және мұнай өндейтін өндірістердің соншалықты дамуы, оның қоршаған ортаға әсерін жою мүмкіншілігін бере алмай отыр, сондықтан, мұнаймен ластанған топырақты

рекультивациялаудың бар технологиясын жетілдіру және қажетті жаңа технологияларды өңдеулер қажет.

Мұнай немесе мұнай өнімдерімен ластанған топырақтарды рекультивациялауға бағытталған барлық жұмыстар ex situ және in situ санаттарына жіктеледі. Ex situ технологиялары белгілі бір аумақтан топырақты міндетті түрде алып тастауды және кейін оны өңдеу және сақтау орнына тасымалдауды қамтиды. Ластанған топырақты оқшаулау және кейінгі өңдеу өңдеудің неғұрлым күрделі және тиімді әдістеріне мүмкіндік береді. Сонымен қатар, мұндай технологиялар ластанудың үлкен аумақтары және жер телімдерінің қол жетімділігі үшін қабылданбайды. Сонымен қатар, топырақты алып тастау жер телімдеріндегі топырақтың морфологиялық құрылымының өзгеруіне әкеледі және жер үсті және жер асты суларының ағынының бұзылуына әкелуі мүмкін. In situ технологиялар тікелей ластану орнында қолданылады. Бұл технологиялардың негізгі кемшілігі геологиялық тұрғыдан да, ластанудың таралуы бойынша да субстраттың табиғатының гетерогенділігі болып табылады.

Мұнаймен ластанған топырақты тазартудың бірнеше әдістері, атап айтқанда механикалық, физика-химиялық, биологиялық әдістері бар.

Механикалық тазалау әдісі. Мұнайды топырақ бетінен механикалық тазалау үшін ластаған мұнайды үймелеп, мұнайды ыдыстарға сорғылармен және вакуумдық құрылғылармен алып, үлкен ыдыста шайқау. Қолданудың ерекшеліктері: сәйкес техникалар мен резервуарлардан көп мөлшерде төгілу кезіндегі алғашқы шаралар (топырақты тазалау мәселесінде мұнайды топыраққа іркіуге рұқсат етілмейді). Әдістің кемшіліктері - технологиялық процестің күрделілігі, ластануды толық жоймауы, тазалауға көп шығындардың шығуы. Арнайы техника мен полигондардың болуын талап етеді.

Физика-химиялық тазалау әдістерінің тәсілдері: өртеу, тұтануға жол бермеу, топырақты дренаждау (құрғату), ерітінділермен экстракциялау, сорбция.

Өртеу тәсілінің қолдану ерекшелігі мұнайдың су көздеріне төгілу қаупі кезіндегі төтенше шара. Бұл мұнай және мұнай өнімдерінің түріне байланысты, бұл төгілген мұнай мен мұнай өнімдерінің 50 %-дан 70 %-ға дейін жояды, ал қалғаны топыраққа сіңіп кетеді. Жоғары температураның жетіспеуінен мұнайдың толық тотықпағаны бұға айналған өнімдері атмосфераға таралады және өртегеннен кейінгі топырақты қоқыс тастайтын жерге шығарып тастау қажет.

Тұтануға жол бермеу тәсілінің ерекшелігі - цехтарда, тұрғын үйлерде, автомагистральдарда тез жаңғыш өнімдер төгілген жағдайда төгінділердің бетін, сондай-ақ өрттену қаупі бар ластанған топырақтарды өртке қарсы көбіктермен бөлу немесе сорбенттермен көміп тастау керек [108].

2007 жылы Керчен бұғазысындағы мұнай ластануының салдарын жоюға қатысты жүргізілген зерттеулерде мәселені тиімді шешудің бірі табиғи глауконит- сорбенттің қолдану болып табылды. Осы табиғи сорбент арқылы мұнаймен ластанған топырақты бейтараптандыру технологиясы мұнай адсорбенті ретінде, сондай-ақ топырақты детоксикациялау үшін пайдалануға

мүмкіндік береді. Бұл технология топырақты техногендік ластанудан (мұнай және т.б.) тазартуға мүмкіндік береді. Ластанған заттарды осы сорбентпен тазалағаннан кейін зиянды заттардың концентрациясы шекті рұқсат етілген концентрация деңгейіне жетеді [109].

Сорбция тәсілінің сипаттамасы - қатты беткі қабатқа (асфальт, бетон, қатты зақымданған грунт) жеңіл жаңғыш мұнай өнімдердің төгілуі кезінде мұнай өнімдерін жою және өрт қауіпсіздігін төмендету үшін сорбенттермен көміп тасталады. Әдістің артықшылықтары - тазалау технологиясын қолдану маусымға байланысты емес [108]. Қазіргі уақытта органикалық және бейорганикалық табиғаттың екі жүзге жуық әртүрлі сорбенттері жасалған. Бірінші топқа каоусто-биолиттер (шымтезек, көмір, графит және т.б.), өсімдік және жануар тектес табиғи шикізат және оларды өңдеу қалдықтары (мүк, жапырақ, қабық, үгінділер, жарма қауызы, макулатура және т.б.) және синтетикалық (полипропилен, полиуретан, тефлон, көбік). Екінші топқа табиғи минералдар (күм, саз және т.б.), жасанды минералдар (перлит, керамзит, силикагель және т.б.) және органо-минералдар (сапропель, тақтатас және т.б.) негізіндегі сорбенттер жатады. Олардың барлығы бір дәрежеде топырақ пен судың бетінен МӨ жинау үшін қолданылады. Сорбент ретінде вермикулит [110], цеолит [111], диатомит [112], хитозан [113], белсендірілген көмір [114], үгінділер [115], сияқты материалдарды пайдалану мүмкіндігі зерттелген.

Өсімдік және жануар тектес, сондай-ақ минералды-органикалық материалдар негізіндегі сорбенттер синтетикалық сорбенттермен салыстырғанда мұнайды соруы төмен және салыстырмалы түрде суды жоғары сіңіреді [116]. Дегенмен, олардың бірқатар артықшылықтары бар, олардың ең бастысы - табиғи экожүйелерге теріс әсерді барынша азайтатын биологиялық ыдырау қабілеті.

Қазіргі уақытта көмірсутекті тотықтырғыш микроорганизмдердің тасымалдаушылары болып табылатын мұнайды тотықтырғыш биосорбенттер едәуір мөлшерде әзірленді. Сорбентке қосылған жасушалар сыртқы факторларға азырақ әрекет етеді, ал олардың ферментативті белсенділігі артады [112].

Мұнаймен ластанған жерлерді тазалаудың химиялық әдістерін қолдану ластаушы заттардың тотығуына және ыдырауына әкелетін арнайы реагенттерді қолдануға негізделген. Әдістің кемшіліктері - әдісті пайдаланған кезде бұл технологияның ыдырау өнімдері табиғи жүйелерге қауіп төндіруі, қоршаған ортаның ластануы мүмкін, тазалау құны жоғары болуы, арнайы техниканы, полигондарды қажет етеді.

Мұнай жанған кезінде ластанған жерлерді топырақпен толтыру, ластанған топырақты үйінділерге шығару, яғни топыраққа мұнай төгілуін жою кезінде оның салдары көбінесе құнарлы топырақ қабатының қайтымсыз бұзылуы болуы мүмкін. Механикалық және физикалық әдістер мұнай мен мұнай өнімдерін топырақтан толық алып тастауды қамтамасыз ете алмайды, және олардың топырақтағы табиғи ыдырау процесі өте көп уақытты қажет етеді, сондықтан қазіргі кезде биологиялық әдістер ең қолайлы болып табылады.

Биологиялық әдіс - топырақты тазартудың табиғи процестерін жеделдетуге, ластанудың қауіптілік класын төмендетуге мүмкіндік береді,

мұнаймен ластанған топырақтарды тазалау үшін, экономикалық та, сондай-ақ экологиялық жоспарда да ең перспективті әдіс болып табылады. Бұл мұнай және мұнай өнімдерінің компоненттерін ыдырататуға ерекше жоғары қабілетті, әртүрлі микроорганизмдердің топтарын және өсімдіктерді пайдалануға негізделген. Аталған әдістер соңғы кездері біршама сұранысқа ие.

Фиторемедиация әдісі мұнаймен ластанған топырақты өсімдік арқылы тазарту процесінде негізделген. Топырақтың жоғарғы құнарлығын қамтамасыз ететін негізгі фактор – өсімдіктер болып табылады. Сондықтан топырақтағы өсімдіктер жиынтығының мұнаймен ластануының әсерін зерттеу және топырақ құнарлығының қайта қалпына келуі біздің елімізде өте маңызды. Фиторемедиация – топырақтағы мұнай қалдықтарын мұнайға төзімді шөптесін өсімдіктермен тазалау (жоңышқа, қымыздық, шалғын және т.б.), ластанған топырақты рекультивациялаудың соңғы кезеңі ретінде де кеңінен қолданылады [117, 118, 119, 120, 121].

Фиторемедиацияның ластанған аумақтарды *in situ* қалпына келтіруге арналған үнемді, экологиялық таза және эстетикалық тартымды биотехнология ретіндегі артықшылығы көпшіліктің мақұлдауын тапқаны көптеген зерттеулерде көрсетілген [122, 123, 124, 125, 126].

Фиторемедиацияның кемшіліктеріне оның ластану деңгейі төмен аймақтарға ғана жарамдылығын, климаттық және маусымдық жағдайларға тәуелділігін, өсімдіктерді аурулар немесе зиянкестермен зақымдаған кезде тиімділігінің болмауын жатқызуға болады. Оны пайдалану ластаушы заттардың ерігіштігімен және қолжетімділігімен, сондай-ақ олардың әсеріне өсімдіктердің төзімділік дәрежесімен шектеледі [127, 128]. Қоршаған ортаны тазарту үшін қолданылатын өсімдіктерге белгілі талаптар қойылады: ластаушы заттардың жоғары концентрациясына төзімділік; оларды жоғары концентрацияда сіңіру және жинақтау мүмкіндігі; оларды тамыр жүйесінен жер үсті қайта өңделетін биомассаға тасымалдау мүмкіндігі; жоғары өсу қарқыны, жеткілікті үлкен биомасса және үлкен өлшем; терең өсетін тамыр жүйесі; аурулар мен зиянкестерге жоғары төзімділік; тазалауға ыңғайлылық және жануарлар үшін тартымсыздық [129].

Бірқатар зерттеушілердің пікірі бойынша [121, 129, 130], фиторемедиация басқа биоремедиация әдістерімен және биологиялық емес тазарту технологияларымен үйлесімде қолданылуы керек. Бұл оның кемшіліктерін түзетеді (топырақ қасиеттеріне, климаттық жағдайларға, ластаушы заттардың уыттылығына және т.б.) және қоршаған ортаны антропогендік ластанудан барынша тиімді және толық тазартуды қамтамасыз етеді.

1.5.1 Биоремедиация - мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтардың қайта қалпына келтірудің негізі

Биоремедиация – бұл өмір сүру қызметінде органикалық ластаушыларды сіңіру, метаболиздеу, оларды деградациялау қабілетіне ие тірі организмдердің негізінен құралған, биологиялық тазалауға арналған технология [131].

Биоремедиация технологиялары әр түрлі *ex situ* (басқа жерде) биоремедиациялау және *in situ* (орнында) биоремедиациялау түрлеріне жіктеледі.

Биоремедиация ex situ - ластану орнынан тыс жерде жүзеге асырылады. Мұнаймен ластанған топырақты алып тастау арқылы биоремедиация әдістері бірқатар маңызды артықшылықтарға ие, мысалы, қалпына келтірілген топыраққа бақылауды күшейту және процесті онтайландыру. Бұл әдістің маңызды кемшіліктері - жоғары шығындар мен маңызды аумақтардың шаруашылық айналымнан шығуы, өйткені ластанған топырақ шығарылады, арнайы қондырғыларда биоремедиацияланады және ластану орнына қайтарылады [132].

Биоремедиация in situ - ластанған топырақты тасымалдауды қажет етпейді және тікелей ластанған орында жүргізіледі [132]. Бұл әдіс ластанған жерде тіршілік ететін табиғи (аборигенді) микроорганизмдердің өсуін реттеуге негізделген. Биоремедиация *in situ*-дің екі негізгі тәсілі бар: биостимуляция және биоаугментация (биоқосымша).

1.5.1.1 Биостимуляция

Биостимуляция - бұл тәсіл ластанған топырақта мекен ететін және ластаушыларды жоюға қабілетті табиғи микроорганизмдердің өсімін реттеуге негізделген, бірақ негізгі биогенді элементтердің (азот, фосфор, калий және басқада қосылыстардың) жетіспеушілігінен немесе физика-химиялық жағдайлардың қолайсыздығынан микроорганизмдер тиімді болуға қабілетсіз болады. Табиғи жағдайда көмірсутектерді жою процесі көбінесе қолайсыз экологиялық жағдайлармен шектеледі. Белгілі бір элементтері жоқ микроорганизмдерде көмірсутектотықтыру белсенділігінің күрт төмендеуі байқалады, бұл биоремедиация процесінің тоқтауына әкеледі [133]. Бұндай жағдайда зертханалық тәжірибелер барысында ластанған топырақ үлгілерін пайдалану, ластанған нысанға қанша мөлшерде және анық қандай кешендер енгізу керектігі анықталады, яғни ластаушыларды ыдыратуға қабілетті микроорганизмдердің өсімін реттейді. Мұнаймен ластануды жоюды тездету үшін минералды тыңайтқыштар [82, 134], мысалы, нитроаммофоска, құрамында азот, фосфор, калий, сондай-ақ органикалық тыңайтқыштар - көң қолданылады [135].

Минералды тыңайтқыштар. Қоректік заттар (негізінен азот, фосфор, калий және кейбір жағдайларда темір т.б.) көмірсутек ластаушы заттардың тиімді биодеградация процесінің маңызды құрамдас бөлігі болып табылады. Табиғи микрофлораны белсендіру үшін ластанған экожүйеге енгізілген қоректік заттар тұздар қоспасы немесе жеке дара болуы мүмкін.

Көптеген зерттеулер бойынша рекультивация жұмыстар кезінде мұнайдың жойылуының ең маңызды факторы минералды тыңайтқыштарды қолдану болып табылады [135, 136]. Сондай ақ D.K. Chaudhary және авторлық серіктестерінің еңбегінде [137] дизель отынның биодеградациясында *Acinetobacter sp.* K-6 (клетка концентрациясы: 8×10^6 КОЕ /г) штаммымен биогенді элементтер ретінде азот пен фосфорды (NH_4NO_3 , KH_2PO_4) 100:10:1 қатынасында қолданған

кезде деградация жылдамдығын тездетіп және қаныққан алифатты көмірсутектерді ыдыратуын жоғарылатты.

Көмірсутектотықтыратын микроорганизмдерді дамыту арқылы қоректік заттарды қарқынды тұтыну, сондай-ақ нитрификация мен аммонификация процестерін басу нәтижесінде топырақтың азот режимінің бұзылуы негізгі қоректік заттардың мөлшерінің төмендеуіне әкеледі. Топырақты биогенді элементтермен - азотпен, фосформен және калиймен қамтамасыз ету мұнай мен мұнай өнімдерінің ыдырау қарқындылығын жылдамдатады [137, 138]. Бұл элементтердің жетіспеушілігін көмірсутектердің ыдырауын ынталандыратын топыраққа минералды тыңайтқыштарды енгізу арқылы толықтыру қажет. Бұл процесс жыл сайын органикалық тыңайтқыштармен бірге құрамында NPK бар тыңайтқыштар кешенін қолданғанда өте қарқынды жүреді.

Органикалық тыңайтқыштар. Биостимуляция агенттері ретінде минералды тыңайтқыштар өте кең таралған. Дегенмен, олардың құны оларды мұнаймен ластанған топырақтың үлкен көлемін тазалау үшін пайдалануға мүмкіндік бермейді [139, 140]. Тыңайтқыштардың құны қалпына келтіру технологиясын қолдану перспективасын анықтау кезінде бағаланатын негізгі параметрлердің бірі болып табылады. Мәселені шешудің перспективалы жолы – егін және мал шаруашылығы қалдықтарын пайдалану. Мысалы, бірқатар зерттеулер күнбағыс қабығы мен күріш қабығын [141], банан қабығы және какао қабығын [142], үгінділер [143, 144] сияқты органикалық өсімдік қалдықтарын, сондай-ақ органикалық жануарлар қалдықтары: сиыр мен ешкі көңі, құс саңғырықтарын [144, 145] пайдалану мүмкіндігін көрсетті.

Органикалық табиғаттың мелиоранттары ретінде биокомпосты [146], вермикомпосты [147], химиялық немесе целлюлоза-қағаз фабрикаларының белсенді тұнбасын [148], сыра қайнату өнеркәсібінің қалдықтарын [149], көмір мен шымтезек гуматтарын [150] қолдану мүмкіндігін зерттеді. Сондай-ақ, А.М. Шигаповтың ғылыми жұмысынның зерттеу нәтижелері мұнаймен ластанған топырақтарды биоремедиациялау үшін ағаш дайындау өнеркәсібінің қалдықтары мен сұлы. (*Avena sativa* L) тұқымдарының органикалық компоненттерін пайдаланудың тиімділігі мен мүмкіндігін растайды [151]. Бұл қоспаларды қолдану аборигендік микробиотаның қалпына келуін жақсартады, ферментативті белсенділікті жоғарылатады, көмірсутектердің биодеградациясын тездетеді және гумустың құрамын оңтайландыруға көмектеседі.

Мұнаймен ластанған топырақты рекультивациялауда минералды және органикалық тыңайтқыштарды қолдану қажеттілігі туралы көптеген авторлардың пікірлері сәйкес келеді, бірақ ұсынылған тыңайтқыштардың мөлшері айтарлықтай өзгереді. Қолданылатын тыңайтқыштың мөлшеріне аймақтың топырақ -климаттық жағдайлары, топырақтағы мұнай өнімдерінің түрі мен концентрациясы, топырақтың микробиологиялық сипаттамасы және басқа факторлар әсер етеді. 1 - кестеде көптеген зерттеушілердің ластанған

аймақтардағы топырақты қайта қалпына келтіру жұмыстар кезінде минералды тыңайтқыштарды ұсыныған мөлшері көрсетілген.

Кесте 1 Ластанған аймақтарды қайта қалпына келтіру кезінде минералды тыңайтқыштардың ұсынылатын мөлшері

Топырақтың түрі	Мұнай және МӨ концентрациясы	Тыңайтқыштардың мөлшері	Ғылыми еңбектер
Шлам жиналған жердің топырағы	Мұнай өнімі (3%)	N – 30 кг/га P ₂ O ₅ – 30 кг/га K ₂ O – 30 кг/га	[16]
Шымтезек	Мұнай (8%)	N – 45 кг/га P ₂ O ₅ – 45 кг/га K ₂ O – 60 кг/га	[150]
		N – 60 г/м ² P ₂ O ₅ – 60 г/м ²	
Шымтезек пен шымтезек-балшық (бұрғылау алаңдарының топырақтары)	Мұнай (0,1-1%)	Азофоска, аммофоска N – 20 кг/га P ₂ O ₅ – 20 кг/га K ₂ O – 20 кг/га	[134]
Шымды-жартылай сазды орташа балшықты	Мұнай (10%)	Азофоска N – 24 кг/га P ₂ O ₅ – 24 кг/га K ₂ O – 24 кг/га аммиакты селитра N – 52 кг/га	[152]
Шымды-жартылай сазды	Мұнай (10% дейін)	N – 120 кг/га P ₂ O ₅ – 180 кг/га K ₂ O – 60 кг/га	[153]
Иллювиалды темір аралас жартылай сазды	Газоконденсат (6%)	N – 120 кг/га P ₂ O ₅ – 180 кг/га K ₂ O – 90 кг/га	[154]
Шымтезек (шымтезек) - қопа сазды	Мұнай (5-45%)	N – 90 кг/га P ₂ O ₅ – 90 кг/га K ₂ O – 90 кг/га	[155]
Шымтезек	Мұнай және МӨ	Нитроаммофоска N – 184 кг/га P ₂ O ₅ – 184 кг/га K ₂ O – 184 кг/га	[156]
Шалғынды – иллювиалды топырақ	Мұнай 2 – 17%	N – 120 кг/га P ₂ O ₅ – 80 кг/га K ₂ O – 30 кг/га	[157]

Сонымен, көмірсутектерді биодеградациялау мұнайототықтырғыш микрофлораларды ынталандыру арқылы олардың дамуына қолайлы жағдай жасау жолымен немесе ластанған эко жүйеге көмірсутекототықтырғыш микроорганизмдерді органоминералды тыңайтқыштармен бірге енгізу арқылы іске асыру өте тиімді.

1.5.1.2 Биоаугментация

Биоаугментация ластанған жерге мамандандырылған, ол жерде мекен етпеген бөлек микроорганизмдерді енгізумен жүретін өзіндік процесс, яғни алдын ала ластанған топырақтардан бөлініп алынған немесе арнайы генетикалық модифицирленген микроорганизмдерді енгізу [158, 159, 160]. Биоаугментацияны қашан қолдану керек:

1. Топырақта ластаушы заттың концентрациясы салыстырмалы түрде жоғары болғанда (аборигенді микрофлора ластаушы сапасына төтеп бере алмайды).

2. Ластаушы - бұл табиғи микрофлораның ыдыратуына, егер ол үшін оңтайлы өсу жағдайлары жасалса да әл бермейтін тұрақты қосылыс. Мұнай шламдарындағы табиғи көмірсутекототықтыратын микроорганизмдердің популяция тығыздығы мен метаболизмдік белсенділігі көп жағдайда өте төмен болады. Сондықтан мұнда биоаугментацияны қолдану айқын.

3. Органикалық қосылыстардың жақында төгілуі нәтижесінде ластаушылар топыраққа түскен кезде, табиғи микрофлораның ксенобиотиктерге бейімделу үшін уақыт қажет [159, 160]. Сондықтан осындай жағдайларда міндетті түрде биоаугментацияны қолдануды қажет етеді. Топыраққа мұнай өнімдерін тотықтыруға қабілетті деструктор-микроорганизмдердің штамдары бар микробиологиялық препараттар енгізіледі.

Мұнаймен ластанған экожүйелерді биоремедиациялауда енгізілген консорциумдардың монокультураларға қарағанда артықшылықтары қауымдастық мүшелері арасындағы синергетикалық өзара әрекеттесумен байланысты болуы мүмкін. Демек, түрлердің бірі басқаларға улы болатын метаболиттерді алып тастауы мүмкін. Сондай-ақ бактериялар қосылыстарды ыдыратуы мүмкін консорциумның басқа мүшелері үшін қол жеткізу қиын болады. Аралас штамдар өзара әрекеттесулерін зерттеу бактериялық консорциумдармен мұнайдың ыдырау процесін түсіну үшін маңызды, бірақ бұл штамдардың саның бақылаудың адекватты әдістерін әзірлеуді талап етеді.

Мұнайдың биодеградациясының тиімділігін арттыру үшін ластанған экожүйеге микробтық консорциумдарды енгізу де кең таралған тәсіл болып табылады. Мұнай төгілген жерде бейімделген және белсендірілген микробтық препаратты қажетті қоректік заттарды енгізумен бірге қолдану қалпына келтіру кезеңін айтарлықтай қысқартуы мүмкін. Мысалы, M.F. Alkhatib пен авторлар бірлестігі [161] Малайзиядағы ағынды суларды тазарту қондырғыларында мұнай шламының биоремедиациясын зерттеу үшін *Klebsiella* және *Enterobacteriaceae* штамдарымен ұсынылған бактериялық консорциумды пайдаланды. Авторлар

микробтық консорциум енгізілген стерильді топырақтағы көмірсутектердің ыдырау жылдамдығы мен дәрежесін бірдей параметрлермен салыстырды, бірақ жергілікті микрофлораны ынталандыру үшін стерильді емес топыраққа лай қосты. Екі экспериментте де ұқсас нәтижелер (>90% жойылу) алынды, алайда авторлар енгізілген консорциум арқылы қалпына келтіру кезінде процесс жылдамырақ жүретінін атап өтті.

Бұған дейін F.M. Ghazali серіктес авторлар бірлестігінде [162] дизельдік отынның микробтық деградациясына қатысты ұқсас суретті алды. Топырақтағы көмірсутектерді жою үшін авторлар екі консорциум құрады: 1-консорциумға *Pseudomonas aeruginosa* және *Bacillus* штамдары, 2-консорциумға *P. aeruginosa*, *Bacillus* және *Micrococcus* кірді. Стерильді емес топыраққа микробтық консорциумдарды қосу бактерия қосылмаған үлгілермен салыстырғанда орташа және ұзын тізбекті алкандардың ыдырау пайызын арттырды. Авторлар 60 күндік инкубациядан кейін 2 Консорциумымен топырақта дизельдік отынның микробтық жойылуының ең жоғары дәрежесін (52,6%) атап өтті. Бақылауда (енгізілген бактерияларсыз үлгілер) деградацияның максималды деңгейі ~20% құрады. Осылайша, Ghazali авторлар бірлестігі [162] *Pseudomonas-Bacillus - Micrococcus* микробтар құрамындағы консорциум дизельді отынмен ластанған топырақты биоремедиациялауда тиімдірек болуы мүмкін деген қортындыға келді. Консорциуммен мұнайды жоюдың тиімділігін тексеру мақсатында кен орындарының жағдайын модельдеу кезінде топырақтың ерекшеліктерін ескеру қажет. Осылайша, Вильямс [163] *Acinetobacter*, *Rhodococcus* және *Pseudomonas* штамдарының консорциумымен Нигер өзенінің сағасының топырақ биоремедиациясының процесін модельдеу кезінде осы аймақтағы топырақ параметрлерін: ылғал мен рН, органикалық және минералды заттардың, микроэлементтердің жалпы құрамын талдады. Цеолит негізгі қоректік зат ретінде пайдаланылды. Автор цеолиті бар саз және құмды топырақтардағы көмірсутекті фракциясы (C₁₀-C₁₈) сәйкесінше 92,1% -57,7% және 74,0% -43,7% ыдырайтынын көрсетті, ал цеолитсіз 80,4% - 44,8% (саз) және 69,4 % -42,8% (құм) құрады. Топырақтағы ұзын тізбекті көмірсутектер (C₂₀₊) іс жүзінде бактериялармен тотықпады. Автордың пікірінше, микробтық консорциум мен цеолит қоспасын біріктіріп қолдану құмды топырақта емес, сазды топырақта жедел биодеградацияға әкеледі.

Биостимуляция мен биоаугментацияны бірге қолдану көмірсутектердің ыдырауының жылдамдығы мен дәрежесін арттырады [164]. Экожүйелерді тазартуға бағытталған технологиялар осы әдістердің үйлесімін пайдаланады. Тыңайтқыштарды енгізу нормалары, суару үшін пайдаланылатын судың мөлшері, сондай-ақ топырақтың бірлігіне енгізілген микроорганизмдердің шығыны аумақтың жағдайына байланысты таңдалуы керек. Мұнаймен ластанған топырақты тазарту технологиясын әзірлеуге кешенді көзқарас

биодеградация жылдамдығы мен дәрежесін арттыруға және өңделген аумақтың құнарлылығын қысқа мерзімде қалпына келтіруге мүмкіндік береді.

Шетелде микробиологиялық препараттарға негізделген биоремедиация технологиялары кеңінен дамыған. Мұнаймен ластанған топырақтарды биоремедиациялауға арналған биопрепараттар Ресей мен Қазақстанда кеңінен қолданылады. Ең тиімділері: «Девороил», «Экоил», «Экогеос - 1», «Псевдомин», «Биодеструктор» и «Бакойл». Қазақстандық биопрепараттардың ішінде «МикоОйл», «KazBioRem», «НефтедеструкторКазБио» «Бакойл-kz» сияқты биопрепараттарды атап өтуге болады.

«Мико-Ойл» биопрепаратының негізінде Батыс Қазақстан топырағынан бөлініп алынған микроорганизмдердің жергілікті штамдары жатыр. Бұл препараттағы мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер бактерия және ашытқы штамдарымен ұсынылған: *Rhodococcus erythropolis* 119GM, *Bacillus subtilis* 109KS, *Rhodococcus globerulus* 51 KS, *Pseudomonas aeruginosa* 122AC, *Trichosporon jirovecii* B2, *Aureobasidium pullulans* P7, *Trichosporon utaneum* P20C02. Бұл микроорганизмдер топырақтың тұздылығының 4 пайызға дейін, қоршаған ортаның температурасы 50 градусқа дейін және топырақтың төмен ылғал сыйымдылығы жағдайында өз белсенділігін сақтайды.

«KazBioRem» биопрепаратын «Экостандарт.kz» ЖШС 2018 жылы жасаған. Бұл биопрепарат мұнай тотықтырғыш микроорганизмдердің 2 штаммына негізделген - *Rhodococcus erythreus* AT7, *Dietzia maris* 22K. Бұл биопрепаратта органикалық тасымалдаушы ретінде кебек пайдаланылды. Ақтөбе облысы, Әлібекмола кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан *Rhodococcus erythreus* AT7 штаммы бөлініп алынды. *Dietzia maris* 22K штаммы Қызылорда облысындағы Құмкөл кен орнының топырағынан бөлініп алынған [165].

«НефтедеструкторКазБио» биопрепараты «КазЭкоБиосистема» ЖШС әзірлеген. Биопрепарат мұнай тотықтырғыш микроорганизм *Rhodococcus erythropolis* КД штаммына негізделген. Микроорганизмдердің өсуі үшін оңтайлы температура 28 градус.

«Бакойл-kz» биопрепаратын ТОО «Микробиология және вирусология ҒЗО» жасап шығарған. Бұл биопрепараттың құрамына кіретін консорциум штамдар – *Acinetobacter calcoeticum* 2 А және *Microbacterium lacticum* 41-3 [166]. «Мико-Ойл» және «Бакойл-КЗ» биопрепараттары топырақты мұнай ластануынан тазартуда жоғары тиімділік танытады. «Мико-Ойл» биопрепараты Атырау және Маңғыстау облыстарының топырағында сыналғанда қысқа мерзімде (1 ай) жоғары (93%) тазарту пайызын көрсетті [167], ал «Бакойл-kz» Атырау облысының мұнаймен ластанған топырақтарында сыналған топырақтағы мұнай құрамын төмендетіп қана қоймай, сонымен қатар, бір жағынан, топырақтың ферментативті белсенділігін белсендірді, екінші жағынан, топырақтың тыныс алуын күшейтеді [168].

Көптеген заманауи биологиялық препараттар құрамы жағынан көп компонентті. Әдеби деректер микроорганизмдер ассоциациясының жеке штамдармен салыстырғанда көмірсутек субстраттарын толық және жылдам ыдыратуға қабілетті екенін көрсетеді [169, 170]. Әдетте, микроорганизмдер консорциумының әрекеті монокультуралардың әрекетіне қарағанда тиімдірек. Микроорганизмдер негізінде биологиялық препараттарды жасаудың екі негізгі тәсілі ұсынылды. Олардың әрқайсысының өзіндік артықшылықтары мен кемшіліктері бар. Біріншісі белгілі ыдырату қабілеті бар (белгілі бір консорциум) бірқатар штамдарды біріктіру арқылы алынған микроорганизмдердің консорциумын құруға негізделген. Бұл әдіс толық анықталған және қайталанатын әдіс болып табылады, бірақ көмірсутектердің биодеградация дәрежесін жоғарылату және пайдаланылған қосылыстардың санын кеңейту үшін деградациялық штамдардың үлкен санының консорциумы қажет. Анықталмаған консорциумдарды алуды көздейтін екінші тәсіл, яғни оның әрбір мүшесінің белгісіз сипаттамалары бар консорциумдар осы консорциум алдын ала бейімделген белгілі бір лаптаушы заттың деградациясы үшін әсіресе тиімді болуы мүмкін [171].

Биологиялық рекультивацияның тиімділігі зертханалық және далалық тәжірибелермен дәлелденеді, яғни табиғи ресурстарды көктем-жаз уақытында қолдануға қарамастан, пайдалану анағұрлым экологиялық және экономикалық жағынан тиімді. Осыған байланысты мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтарды биоремедиациялаудың экологиялық таза, балама әдістері мен тәсілдерін зерттеу мен әзірлемелер жасаудың қажеттілігі туындайды.

1.6 Топырақтағы мұнай мен мұнай өнімдерінің деструкциясының микробиологиялық процестерінің ерекшеліктері

Топырақтағы мұнайдың ыдырау процесі, оның ішінде көмірсутектердің микробиологиялық тотығуы көптеген ғылыми еңбектерде жан-жақты зерттелген. Мұнайдың биодеградациясына көмірсутекті тотықтыратын микрофлораның қатысуымен физико-химиялық және микробиологиялық процестердің әсерінен алифатты көмірсутектердің жойылуы, асфальт-шайырлы қосылыстардың, циклдік, полициклді және қанықпаған көмірсутектердің трансформациясы мен жойылуы кіреді [172, 173, 174]. Топырақ экожүйесінде кеңінен таралған *Bacillus*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium* тұқымдастарының көптеген өкілдері мұнай өнімдерінің биодеградациясына қабілетті [175, 176].

Топырақ экожүйесіне мұнай түскеннен кейін бірден топырақ бетінен төмен молекулалық ұшқыш фракциялардың булануы байқалады. Жеңіл фракциялар ластанудан кейінгі алғашқы 2-3 күн ішінде топырақтан жойылады, ал мұнайдың уыттылығы айтарлықтай төмендейді. Сонымен қатар, топырақ горизонты бойынша мұнай көмірсутектерінің қоныс аударуы, сорбциялануы, шайылуы, тотығу процестері, соның ішінде күн ультракүлгін сәулеленудің

әсерінен, микробиологиялық бұзылу және көмірсутектердің микробиологиялық трансформация өнімдерінің топырақ ылғалдылығында еруі байқалады.

Мұнайдағы циклді көмірсутектер нафтенді және ароматты көмірсутектермен ұсынылған. Бұл қосылыстар оксо және окси қышқылдарын түзу үшін көмірсутек тотықтыратын микрофлорамен белсенді түрде қолданылады. Топырақ бетіндегі ароматты көмірсутектер фотоліз әсерінен жойылады, аралас микробтар популяциясында микробиологиялық ферменттер әсерінен топырақта тотығу мен гидролиз жүреді. Биодеградацияға ең төзімділер - көмірсутек молекуласындағы сақиналары көп қосылыстар [177].

Топырақтың физикалық қасиеттеріндегі ең маңызды өзгерісі асфальт-шайырлы қосылыстар қоршаған ортаға енген кезде болады. Олар топырақтың жоғарғы қарашірік горизонтында сорбцияланады, оның бөлшектерін бір-біріне мықтап ұстайды, бұл кезде кеуекті кеңістік едәуір қысқарады және аэрация бұзылады. Асфальт-шайырлы қосылыстар айқын гидрофобты қасиетке ие, сондықтан топырақ бөлшектерін осы қосылыстармен қаптау нәтижесінде субстрат айқын гидрофобты қасиетке ие болады. Бұл жоғары молекулалы қосылыстар микроорганизмдердің ферменттік жүйесіне кірмейді, сондықтан олардың тотығуы мен минералдануы өте баяу жүреді [145].

Мұнай мен мұнай өнімдерінің құрамына кіретін көмірсутектердің әр түрлі класстары әртүрлі дәрежеде тотығуға ұшырайтыны белгілі. Мұнайдың биодеградацияға айтарлықтай төзімді компоненттерін тотықтыратын көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің ең белсенді штамдары, олардың негізінен топырақты мұнай ластаушы заттардан тазарту үшін биологиялық препараттар құру үшін ең перспективті бола алады.

2 ЗЕРТТЕУ ОБЪЕКТІЛЕРІ МЕН ӘДІСТЕР

2.1 Зерттеу объектілері

Топырақ. Көмірсутек тотықтыратын микроорганизмдерді бөліп алу үшін Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағы пайдаланылды. Қарағанды облысы Ұлытау ауданында, Қызылорда облысы Қызылорда қаласынан солтүстік-шығысқа қарай 150 км және Павлодар-Шымкент мұнай құбырынан 230 км батыста орналасқан. 1983 жылы іздеу-барлау нәтижесінде анықталып, 1984 жылы алғашқы ұңғыманы бұрғылау барысында мұнай алынған [178].

Микроорганизмдер. Зерттеу жұмысында Қызылорда облысы, Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан бөлінген 182 бактериялық штамм қолданылды. Бөлініп алынған штамдар ЕПА қоректік ортасында мезгіл - мезгіл қайта отырғызу әдісімен, сондай - ақ вазелин майының қабаты астында + 4 °С температурада сақталады [179].

2.2 Зерттеу материалдары

2.2.1 Мұнай және мұнай өнімдері.

Мұнай өндірісі бірден-бір қоршаған ортаны зиянды заттармен жабдықтаушы екендігін қазіргі уақытта өте белгілі. Әсіресе, көмірсутекті күрделі құрамдары бар мұнай өнімдерімен жердің геологиялық жоғарғы беткі қабаттарының ластануы тіршілік орталарының деградациялануына әкелуде, халықтың денсаулығына залалын тигізуге алып келуде. Мазут, дизельді отын, қозғалтқыш майлар канцерогенді және мутагендер класына жататын қоршаған ортаны ластаушы заттар [12, 13, 14, 46, 180]. Сондықтанда мұнай және мұнай өнімдерімен қоршаған ортаның ластануы өте маңызды да, өзекті экологиялық мәселе болып отыр.

Мұнай. Қызылорда облысының Құмкөл кен орнынан алынған мұнай - тығыздығы 0,812-0,819 г/см³, күкірт 0,11-0,52%, парафин 10,8-11,5%, асфальтен 0,11-0,92 %, шайыр 4,8-8,42%. Газ құрамында күкіртсутек — 0,02-0,07%, азот — 3,1-10%, көмірқышқыл газ — 0,5-0,9% және гелий 0,01-0,1% [178].

Мазут. Мазут - тұтқырлығы 8–80 мм²/с (100 °С кезінде), тығыздығы 0,89–1,00 г/см³ (20 °С температурада), құю температурасы 10-40 ° С, күкірт мөлшері 0,5-3,5%, күл 0,3% дейін, төмен калориялық құндылығы 39,4-40,7 МДж / кг [178].

Дизель отыны. Дизель отыны – қайнау температурасы 180 – 360 °С, тығыздығы 0,790 – 0,860 г/см³, тұтқырлығы 1,5–8,0 мм²/с, қоспа мөлшері (көмірсутектің күкіртті, азотты және оттекті туындылары) 4%-ға дейін болатын сұйықтық [181].

Қозғалтқыш майлары. Қозғалтқыш майының екі түрі қолданылды:

№ 1 – *Mobil 1 SAE 5W-20* (США) - инновациялық толық синтетикалық қозғалтқыш майы – тұтқырлығы – 8,9 мм²/с (100 °С кезінде), 49,8 мм²/с (40 °С кезінде), құрамында күкірттің массалық үлесі – 0,85%, қатты қою емес, барлық мезгілде қолдануға болады;

№ 2 - *Mobil Super Moto* SAE 20W-40 - минералды қозғалтқыш майы кинематикалық тұтқырлық - 12,5 - 16,3 мм²/с, -28 °С қатады, құрамында күкірт - 1,3%, кальций - 0,2%, мырыш - 0,08%, қою, қыс мезгіліне арналған [181].

2.2.2 Ароматты және полициклді ароматты көмірсутектер.

Ароматты және ПАК табиғи немесе антропогендік әрекеттерге байланысты топырақты ең көп таралған органикалық ластаушы заттардың бірі ретінде белгілі.

Ароматты көмірсутектер. Фенол – ауада қызғылт түске боялатын, өзіне тән иісі бар, түссіз ине тәрізді кристалдар. Улы, күшті тітіркендіргіш.

Катехол - органикалық қосылыс, химиялық формуласы С₆H₄ (ОН)₂ болатын екі атомды фенол. Аллерген болып табылады, сонымен қатар мутагендік және канцерогендік қасиеттерге ие, күшті тітіркендіргіш.

Орто-, пара-, мета- крезол түссіз кристалдар немесе сұйықтықтар да болады. Крезолдар этанолда, диэтил эфирінде, бензолда, хлороформда, ацетонда жақсы ериді; суда, сілті ерітінділерінде (крезолат тұздарының түзілуімен) ериді. Фенол мен фенолды қосылыстар өте улы және канцерогенді болып табылады [182].

Полициклді ароматты көмірсутектер. Нафталин - С₁₀H₈ органикалық қосылыс. Бұл өзіне тән иісі бар қатты кристалды зат. Суда аздап ериді. Бензолда, эфирде, спиртте, хлороформда жақсы ериді.

Фенантрен - түссіз кристалдар, балқу t^0 218°С. Суда ерімейді, ацетонитрилде және ацетонда ериді, қыздырғанда бензолда ериді.

Антрацен - үшциклді ароматты көмірсутек. Жоғары концентрацияда улы. II қауіптілік класына жатады.

ПАК - қоршаған ортаны ластайтын ең қауіпті заттардың бірі. Нафталин, фенантрен, антрацен мұнайдың ауыр фракцияларының құрамдас бөлігі болып табылады және оттегінің жетіспеушілігімен жанармайдың жануы кезінде мұнай мен мұнай өнімдерінің кездейсоқ төгілуі нәтижесінде, сондай - ақ автокөліктерден шығатын газдардың құрамында көп мөлшерде қоршаған ортаға шығарылады. ПАК канцерогенді және мутагендер класына жататын бірден бір ластаушы заттар [183].

2.2.3 Қоректік орталар

Көмірсутек тотықтыратын микроорганизмдерді бөліп алу және санын анықтау үшін келесі қоректік орталар пайдаланылды:

Балық - пептонды агар (БПА) құрамында: құбырдағы су - 1 л, қоректік агар – 28 г., агар – 7 г.

Модифицирленген балық-пептонды агар құрамында: құбырдағын су – 1 л, қоректік агар – 28 г., агар – 7 г., ашытқы сығынды – 5 г., глюкоза – 10 г.

Крахмал – аммиакты агар (КАА) құрамында: дистилденген су – 1 л., ерігіш крахмал – 10 г., (NH₄)₂SO₄ – 1 г., MgSO₄ – 1 г., NaCl – 1 г., CaCO₃ – 3 г., агар – 20 г.

Чапекә қоректік ортасы құрамында: құбырдағы су – 1 л., глюкоза немесе сахароза – 20 г., NaNO_3 – 2,0 г., K_2HPO_4 – 1,0 г., MgSO_4 – 0,5 г., KCl – 0,5 г., FeSO_4 – 0,1 г., CaCO_3 – 3,0 г., агар – 20 г.

Тапшы агар (ТА) ортасы құрамында: дистилденген су - 1 л., агар - 20 г. pH -7,0-7,2.

Сабуро (СА) ортасы құрамында: дистилденген су – 1 л., глюкоза немесе мальтоза -40 г., пептон – 10 г., агар - 18 г.

Ворошилова – Дианова (ВД) минералды ортасы құрамында: дистилденген су 1 л., NH_4NO_3 -1,0 г., K_2HPO_4 – 1,0 г., KH_2PO_4 – 1,0 г., MgSO_4 – 0,2 г., $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ -0,02 г., FeCl_2 – ізді, pH -7,0-7,2 [179].

2.3 Зерттеу әдістері

2.3.1 Микробиологиялық әдістер

2.3.1.1 Көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдерді бөліп алу

Зерттеу жұмысында микроорганизмдерді бөліп алуда дәстүрлі микробиологиялық: штамдарды жинақтау әдісі, Петри табақшасы әдісімен (Кох әдісі) қатты қоректік ортаға егу арқылы жүргізілді [179, 184]. Қызылорда облысының ластанған топырағынан мұнай тотықтыратын микроорганизмдерді бөліп алу штамдарды жинақтау әдісімен келесі құрамдағы Ворошилова -Дианова (ВД) минералды қоректік ортасында жүргізілді: (г/л) NH_4NO_3 - 1,0; K_2HPO_4 - 1,0; KH_2PO_4 - 1,0; MgSO_4 - 0,2; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,02; FeCl_3 - шымшым, pH = 7,0-7,2. Мұнай мен мұнай өнімдері (мазут, дизель отыны, № 1, № 2 қозғалтқыш майлары) көміртегі мен энергия көзі ретінде 1% мөлшерінде қолданылды, Инкубация зертханалық дөңгелетіп шайқайтын шейкерде (180 айн/мин) 26–28°C температурада 14 тәулік бойы жүргізілді [179, 184].

Мұнай тотықтыратын бактериялардың таза штамдарын бөліп алу Петри табақшасы әдісімен балық-пептонды агарға (БПА) егіп, 28°C термостатта 1-3 тәулік аралығында инкубациялану арқылы жүргізілді. Бөліп алынған микроорганизм штамдарының тазалығын жалпы қабылдаған әдістер бойынша 3-4 сегменттік штрихтап егу әдісімен бақыланды [179, 184].

Бөліп алынған штамдарға көміртегінің жалғыз көзі ретінде мұнай және мұнай өнімдерінде өсу қабілеті бойынша ВД минералды қоректік ортасында скрининг жүргізілді. Көлемі 250 мл Эрленмейер колбаларында 100 мл зарарсыздандырылған минералды ВД ортаға 5 мл штамм суспензиялары және 1% көмірсутектер (мұнай, мазут, дизель отыны, қозғалтқыш майлары) қосылды. Өсу 14-ші тәулікте 4 балдық шкала бойынша визуальді түрде бағаланды.

2.3.1.2 Деструктор-бактерия штамдардың дақылды-морфологиялық және физиологиялық-биохимиялық қасиеттерін анықтау

Микроорганизмдердің бөліп алынған штамдарын анықтау үшін дәстүрлі микробиологиялық әдістер қолданылды. Дақылды - морфологиялық қасиеттері: макро- микроморфология, спора түзу, қозғалғыштығы, Грам бойынша бояу. Физиология-биохимиялық қасиеттері: газдың түзілуін анықтау, желатинді ертіту, крахмалды гидролиздеу, оттегіне қатынасы, оксидазды белсенділік,

каталаздық белсенділігі анықталды. Штамдардың туыстық белгілерін анықталуы Берджи анықтаушысы арқылы жүргізілді [179, 185].

Микроскопия әдістері

Жасушаларды микроскопиялық зерттеу MAX 200 Premiere (Қытай) зертханалық микроскоптың және TESCAN LYRA (Чехия) сериясының электронды микроскопының көмегімен жүргізілді. Препараттар жалпы қабылданған әдістеме бойынша дайындалды [179].

2.3.1.3 Микроорганизмдердің жалпы микробтық саны (ЖМС) анықтау

Таза топырақтағы, мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтағы микроорганизмдердің жалпы микробтық саны жалпы қабылданған микробиологиялық Петри табақшасы әдісімен (Кох әдісі) қатты қоректік ортаға егу арқылы жүргізілді [179, 184].

Полициклді ароматты көмірсутектерде өсуге қабілетті деструктор-бактериялардың колония түзетін бірліктері (КТБ) дәстүрлі микробиологиялық әдіспен анықталды. Мұнайтотықтырғыш штамдардың полициклді ароматты көмірсутектерді өсуі бойынша тәжірибе жүргізу үшін микроорганизмдердің таңдалған штамдары 1% глюкоза қосылған сұйық ЕПС ортасында өсірілді. Содан кейін 1 мл микроорганизмдердің суспензиясы 30 мл сұйық минералды ВД қоректік ортасы бар колбаларға енгізілді және 0,2 г/л концентрациясында ПАК (нафталин, фенантрен, антрацен) қосылды. Дақылдану температурасы 28 °С орбиталдық шейкерде (180 айн/мин) жүргізілді. Нафталин, антрацен және фенантрендегі бактериялардың өсуі 5 тәулік бойы зерттелді. Колония түзетін бірлік (КТБ) сұйылту әдісімен анықталды, содан кейін ЕПА қоректік ортасы бар Петри табақшаларына микроорганизмдердің колонияларын егу және санау жүргізілді [179, 184].

2.3.1.4 Деструктор-бактериялардың штамдардың биологиялық үйлесімділігін анықтау

Мұнайтотықтырғыш микроорганизмдердің антогонистік белсенділігін анықтау үшін БПА қоректік ортасына перпендикулярлы штрих әдісі қолданылды [186]. Ол үшін штамдар агарлы қоректік ортада өсірілді, зерттелетін бактерия штамдары Петри табақшаның агар қосылған ортасына жолақ болып, тест штамдары жолаққа перпендикуляр егілді. Егер зерттелетін микроорганизм – антагонист тест – штамдарға қатысты әсері бар болса өсуі белгілі бір қашықтықтан басталады. Бұл қашықтық неғұрлым үлкен болса, тест-штамм зерттелген микроорганизмге сезімтал болады. Сезімтал емес штамдар штрихқа жақын өседі. Өсудің басу аймағының қашықтығын мм сызғышпен өлшейді. Бактерия штамдары арасындағы антогонистің болуы немесе болмауы зерттелген штамдардың 28 °С термостатта 1-3 тәулік өсіруден кейін анықталды. Өсу аймағының ара қашықтығы 2-10 мм болса - антагонизмнің әлсіз деңгейі, 10-20 мм – орташа, 20 мм үлкен болса – жоғары болып есептеледі [186].

2.3.1.5 Мұнайототықтырғыш микроорганизмдерің ассоциацияларын құру
Ассоциацияларды құру үшін белсенді көмірсутекотықтырғыш қасиеттері бар 12 штамм қолданылды. Бактериялардың ЕПС суспензиясы 28°C термостат – шейкерде 24-48 сағат өсірілді. 2 штамды қолданған жағдайда ассоциация алу үшін микробтар 1:1 қатынасында, 3 штамды қолдану кезінде 1:1:1 және 4 штамда 1:1:1:1 араластырылды. Алынған ассоциацияларды қоректік орта көлемінен 10 % мөлшерінде инокулят ретінде пайдаланылды.

2.3.2 Молекулалық генетикалық әдіс

2.3.2.1 Деструктор-бактерия штамдарын 16S рРНҚ негізінде генетикалық анықтау

Микроорганизмдердің түрлерін анықтау үшін бактериялардың генетикалық сәйкестендірілуі 16S рРНҚ ген фрагментінің тікелей нуклеотидтер тізбегінің талдауы негізінде жүргізілді, содан кейін нуклеотидтердің сәйкестігі бірізділікпен анықтады, халықаралық Gene Bank деректер қорына сақтауға берілді. Талдау Болгария ғылым академиясы С. Ангелов атындағы Микробиология институтында, (София, Болгарияда) жүргізілді.

К. Wilson сипаттаған әдіс бойынша ДНҚ бөлініп алынды [187]. ДНҚ бөлу үшін бактериялық штамдардың тәуліктік өскен колониялары байдаланылды. 1,5 мл штамды 5 минут ішінде 10 000 айн/мин центрифугаланды, супернатанттың беткі қабатын төгіп, ал тұнбаны 500 мкл лизис буферінде (400 мМ Трис-НСІ [рН 8.0], 60 мМ ЕДТА [рН 8.0], 150 мМ NaCl, 1% натрий додецил сульфаты SDS) суспензияланды. Содан кейін пробирканы бөлме температурасында 10 минутқа қалдырылды. 150 мкл К-ацетатты қосқаннан кейін (рН 4,8; құрамында 60 мл 5 М калий ацетаты, 11,5 мл мұз сірке қышқылы мен 28,5 мл тазартылған судан тұратын) пробирканы вортесте (vortex) айналдырып араластырдық. Айналымнан кейін, супернатант 1 минут ішінде 10 000 айн/мин центрифугаланды. Ары қарай супернатант жаңа Эппендорф пробиркасына құйылды, содан кейін 1 минут ішінде 10 000 айн/мин жылдамдықпен центрифугаланды. Центрифугалағаннан кейін супернатанттың жоғарғы фазасы (1,5 мл) таза Эппендорф пробиркасына құйылды және 300 мкл изопропил спирті қосылды. ДНҚ 10,000 айн/мин жылдамдықпен 2 минут центрифугалау арқылы тұндырылды, ал үстіңгі қабат төгіліп тасталды. Содан кейін ДНҚ тұнбасын 70% этанолмен (300 мкл) бір рет шайылды. Барлық сұйықтық ағып кеткеннен кейін пробирканы Дезоксирибонуклеин қышқылы (ДНҚ) тұнбасымен ауада аздап, спирттің иісі кеткенше құрғаттық. Тазартылған ДНҚ үлгілері 50 мкл ТЕ буферінде ерітілді және – 20 °С температурада сақталды. ДНҚ электрофорезі үшін 5-10 мкл үлгі жеткілікті. Штамдардың бөліп алынған ДНҚ кесіндісін Электрофорездеу арқылы анықталды, ол үшін 1 % агарозды гель қолданылды. 1 % гель үшін 100 мл дис. суға 1 грамм агароза қосып араластырып, ыстыққа төзімді шыны ыдысқа дайындалды. Ертіндіні қайнауға жақындатып қысқа толқында немесе магнитті араластырғышқа қойып дайындалды. Қысқа

толқынды пештен алғаннан кейін суытып, Электрофорездің арнайы пластмасалық ыдысына құйылады. Тоңазытқыштың мұздатқыш камерасына қойған бөліп алған ДНҚ генің алып шығып нөмірленді. 10 μ l шамдарды Loading ертіндісінің тамшысымен араластырып, дайындаған агарозды гельдің ұяшықтарына 14 μ l – ден жәймен, мұқият құямыз. 1-ші ұяшыққа маркер тамызылды. Молекулалық салмақтың маркері ретінде біз GeneRuler™ 100bp Plus DNA Ladder (Fermentas) маркері қолданылды. Үлгілер құйылған ыдысты электрофорезге орналастырып, жақсы батып тұратындай TE буфері құйылады. Электрофорезді қосамыз, бастапқы 10 минутта 100 Вт қоямыз, содан кейін ДНҚ жылжығаннан кейін 60 Вт қойылды. Электрофорез Bio-RAD Basic көлденең электрофорез камерасында және Consort EV-243 ток көзінде жүргізілді. 1xTAE буфері электрод буфері ретінде пайдаланылды. ДНҚ кесінділері мөлшеріне байланысты жылдамдықпен тұрақты электр өрісінің теріс полюсінен оң полюсіне қарай жылжиды. Электрофорез апаратын өшіріп, гельді алып 15 минут бром этидий ертіндісіне (0,5 мкг / мл концентрацияда) салып, содан кейін гельді дистилденген суда 5 минут ұсталды. Гельді алып УФ жарығында трансиллюминаторда (UVP Photo Doc-It™ Imaging System Benchtop UV Transilluminator) көрілді және фотоға түсірілдеді. Нәтижелер Gel Doc гельдік құжаттама жүйесі арқылы құжатталды. ДНҚ талданатын үлгілердің молекулаларының өлшемдері олардың молекулалық массасы белгілі ДНҚ фрагменті - электрофоретикалық қозғалғыштық маркерлерін салыстыру арқылы анықталды.

Микроорганизмдердің 16S рРНҚ генін күшейту Mastercycler Ampliator термоциклерде (Eppendorf AG, Германия) өндірушінің ұсыныстарына сәйкес PureTaq™ Ready-To-Go™ бисерлерінің көмегімен (Amersham Bioscience, АҚШ) жүргізілді. ПТР әмбебап праймерлермен 27F (AGAGTTTGATCCTGG) және 1492R (TACGGYTACCTTGTTAC) орындалды. ПТР температуралық режим ампликациясы: 1 кезең - 95°C - 5 мин. бойы ұзақ мерзімді денатурацияны қамтыды; 2 кезең - 35 цикл: 95°C - 30 с, 55°C - 30 с, 72°C - 1 мин. 30 с.; 3 кезең - соңғы элонгация 72°C - 5 мин. болды.

Алынған ПТР өнімдері ДНҚ тазарту жиынтығымен гельдік жолағы GFX™ (GE Healthcare) көмегімен тазартылды және MacroGen Inc., Нидерландияға реттілікке (секвенирленуге) жіберілді. Өңделмеген реттілік деректері Sequence Scanner V1.0 (Қолданбалы биожүйелер - Applied Biosystems) көмегімен қателерге тексерілді. ДНҚ тізбектері NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> - Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы) банктік деректер базасында BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) мәліметтерді талдауы бағдарламасының көмегімен салыстыруға ыңғайлы түрде пішімделді. Сәйкес нуклеотидтер тізбегі DNASTAR Inc. Madison WI бағдарламасымен қамтамасыз ету арқылы ДНҚ тізбегінен алынды. ClustalW көмегімен жұптық және бірнеше тізбекті теңестіру орындалды [188], филогенетикалық ағаштарды салу үшін Neighbor-Joining (NJ) әдісі қолданылды.

2.3.3 Физика – химиялық әдістер

2.3.3.1 Деструктор-бактерия штамдардың мұнай және мұнай өнімдерін деструкциялау қабілетін зерттеу (Гравиметриялық әдіс)

Таңдап алынған алынған штамдардың мұнайототықтырғыш белсенділігін зерттеу үшін ВД минералды қоректік ортасы пайдаланылды. Мұнай, мазут, дизель отыны және қозғалтқыш майлары (1, 3, 5%) көміртектің жалғыз көзі ретінде қорекетік ортаға қосылды. Микроорганизмдерді өсіру 100 мл минералды ВД ортасы бар Эрленмейер колбаларында 28 °С температурада дөңгелетіп шайқайтын шейкерде (180 айн/мин) 14 тәулік бойы жүргізілді. Колбадағы штамдардың инокуляциясы оптикалық тығыздығы 0,25 бірлік болатын 2 күндік микроорганизмдердің штамдарының суспензиясымен жүргізілді. Минералды ВД ортасындағы мұнай мен мұнай өнімдерінің қалдық құрамын сандық анықтау гравиметриялық әдіспен жүргізілді [189]. Қалдық мұнай мен мұнай өнімдері бөлу құйғыштарда (делительные воронки) хлороформмен экстрацияланды. Хлороформ сығындысы тұрақты салмағы бар стакандарға салынды, бөлме температурасында сорғыш шкафта кептірілді және ОНАУS ExplorerEX 124 (АҚШ) аналитикалық таразыда өлшенді. Тұтынылған мұнай мен мұнай өнімдерінің мөлшері мына формула бойынша есептелді:

$$A = (a_1 - a_2) / a_1 \times 100\%$$

мұндағы, А – деструкцияланған мұнай мен мұнай өнімдерінің % -дағы саны a_1 – бастапқы мұнай мен мұнай өнімдерінің саны, a_2 – мұнай мен мұнай өнімдерінің қалдық саны.

2.3.3.2 Мұнайототықтырғыш микроорганизмдерден құрылған ассоциациялардың деструкциялау белсенділігін зерттеу

Мұнайототықтырғыш микроорганизмдерден құрылған ассоциациялардың деструктивті белсенділігін зерттеу үшін Ворошилова-Дианова (ВД) минералды ортасы қолданылды. Минералды ВД ортаға көміртектің көзі ретінде мұнай және мұнай өнімдері (3, 5, 7%) қосылды. Микроорганизмдерді өсіру 100 мл минералды ВД ортасы бар Эрленмейер колбаларында 28 ° С температурада орбиталдық шейкерде (180 айн/мин) 14 тәулік бойы жүргізілді. Қоректік ортадағы мұнай мен мұнай өнімдерінің қалдық құрамын сандық анықтау хлороформмен экстракциялап, гравиметриялық әдіспен [189] жүргізілді, «ОНАУS» ExplorerEX 124 (АҚШ) аналитикалық таразы қолданылды.

2.3.3.3 Деструктор-бактерия штамдарының ароматты көмірсутектерді деструкциялау қасиеттерін анықтау (колориметриялық әдіс)

Деструктор-бактерия штамдарының ароматты көмірсутектерді деструкциялау қасиеттері колориметриялық әдіспен анықталды. Ароматты көмірсутектерді деструкциялау бойынша тәжірибе жүргізу үшін микроорганизмдердің таңдалған штамдары 1% глюкоза қосылған сұйық ЕПС ортасында өсірілді. Содан кейін 3 мл микроорганизмдердің суспензиясы 30 мл сұйық минералды ВД қоректік ортасы бар колбаларға енгізілді және 0,3 г/л концентрациясында ароматты көмірсутектер (фенол, катехол, орто-, пара-, мета-

крезол) қосылды. Дақылдану температурасы 28 °С орбиталдық шейкерде (180 айн/мин) жүргізілді. Қоректік ортадағы ароматтық көмірсутектердің қалдық концентрациясы әр 24 сағат сайын негізгі реагент 4 аминокантипиринмен Ю.Ю. Лурье [189] сипаттаған қалдық колориметриялық әдіспен спектрофотометрде (UV-VIS 6305 JENWAY) 620 нм толқын ұзындығында нөлдік көрсеткішке дейін анықталды және кюветаның қалыңдығы 0,5 см.

Деструктор - штамдардың клеткаларының оптикалық тығыздығын анықтау (спектрофотометриялық әдіс)

Деструктор - штамдардың ароматты көмірсутектерде өсу сипаттамаларын, клетканың оптикалық тығыздығын анықтау спектрофотометрия әдісімен анықталды [189]. Деструктор - штамдардың ароматты көмірсутектерде өсу бойынша тәжірибе жүргізу үшін микроорганизмдердің таңдалған штамдары 1% глюкоза қосылған сұйық ЕПС ортасында өсірілді. Содан кейін 1 мл микроорганизмдердің суспензиясы 30 мл сұйық минералды ВД қоректік ортасы бар колбаларға енгізілді және 0,3 г/л концентрациясында ароматты көмірсутектер (фенол, катехол, орто-, пара-, мета-крезол) қосылды. Дақылдану температурасы 28°С орбиталдық шейкерде (180 айн/мин) жүргізілді. Деструктор – штамдарының клеткаларының оптикалық тығыздық (ОТ), штамдардың өсу мерзімінде толқын ұзындығы 540 нм әр 24 сағат сайын спектрофотометрде (UV-VIS 6305 JENWAY) анықталды және кюветаның қалыңдығы 0,5 см.

Мұнай мен мұнай өнімдерінің фракциялық құрамының өзгеруін зерттеу (Газды хроматография әдісі)

Мұнай мен мұнай өнімдерінің фракциялық құрамының өзгеруі газды хроматография әдісімен анықталды [190]. Бұл әдіс Agilent 7890В газды хроматографта жалын-ионизациялау детекторымен жүзеге асырылды. DB -35 MS капиллярлық колонна қолданылады (ұзындығы - 30 м, диаметрі - 0,25 мм, қабаттың қалыңдығы - 0,25 мкм). Газ-тасымалдаушы ретінде гелий (> 99,995%, Орынбор-Техгаз, Ресей) қолданылды. Инжектор температурасы - 260 °С, интерфейс температурасы - 300 °С; термостаттың бағанасының бастапқы және соңғы температуралары - тиісінше 50 және 260 °С (термостаттың бағанасының температурасы 5 °С/мин жылдамдықпен өзгертілді); енгізілген сынаманың көлемі 1,0 мкл құрайды. Сынама ағыны 10:1 болатын хроматографқа енгізілді. Хроматографиялық нәтижелерді өңдеу NIST'02 газ хроматографының электронды кітапханасының мәліметтер қорын (кітапханадағы спектрлердің жалпы саны 550 мыңнан астам) қолдану арқылы MS Office Excel жүргізілді.

2.4 Ассоциациялардың мұнай мен мұнай өнімдерімен ластанған топырақты тазарту мүмкіндігін бағалау бойынша модельдік зерттеулер

2.4.1 Зертханалық модельдік тәжірибе

Құрылған ассоциациялардың мұнай деградациясына әсерін зерттеу үшін модельдік тәжірибелер жүргізу үшін Қызылорда облысының таза топырағы қолданылды. Ыдысқа 300 г топырақ салынды, содан кейін көлемі бойынша 5%

және 10% мөлшерінде мұнай және мұнай өнімдерімен жасанды түрде ластанды. Содан кейін органикалық -минералды тыңайтқыштары суспензия түрінде қосылды (ОМТ - Нитроаммофоска NPK 20:10:10 (178 мг) + көң (10 мг)). ОМТ ластанудан 7 күн өткен соң енгізілді. Титрі 10^9 жасуша/мл болатын микроорганизмдердің суспензиясы 5 мл мөлшерінде енгізілді. Топырақты ылғалдандыру және қопсыту кезенді түрде жүргізілді. Тәжірибе бөлме температурасында (22-26 °С) табиғи жарық жағдайында 90 күн бойы жүргізілді, тұрақты суару жүргізілді. Топырақтан сынама алу микробиологиялық және физика-химиялық анализге топырақ сынамаларын алу мен дайындаудың белгіленген әдісіне [179] сәйкес жүргізілді.

Мұнай және мұнай өнімдерінің модельдік тәжірибесінің сызбасы:

1. Бақылау 1 (Таза топырақ)
2. Бақылау 2 (Топырақ + 5 % мұнай)
3. Топырақ + 5 % мұнай + Ассоциация I
4. Топырақ + 5 % мұнай + Ассоциация II
5. Бақылау 3 (Топырақ + 5 % мұнай + ОМТ)
6. Топырақ + 5 % мұнай + Ассоциация I + ОМТ
7. Топырақ + 5 % мұнай + Ассоциация II + ОМТ
8. Бақылау 4 (Топырақ + 5 % мазут)
9. Топырақ + 5 % мазут + Ассоциация I
10. Топырақ + 5 % мазут + Ассоциация II
11. Бақылау 5 (Топырақ + 5 % мазут + ОМТ)
12. Топырақ + 5 % мазут + Ассоциация I + ОМТ
13. Топырақ + 5 % мазут + Ассоциация II + ОМТ
14. Бақылау 6 (Топырақ + 5 % ДО)
15. Топырақ + 5 % ДО + Ассоциация I
16. Топырақ + 5 % ДО + Ассоциация II
17. Бақылау 7 (Топырақ + 5 % ДО + ОМТ)
18. Топырақ + 5 % ДО + Ассоциация I + ОМТ
19. Топырақ + 5 % ДО + Ассоциация II + ОМТ
20. Бақылау 2¹ (Топырақ + 10 % мұнай)
21. Топырақ + 10 % мұнай + Ассоциация I
22. Топырақ + 10 % мұнай + Ассоциация II
23. Бақылау 3¹ (Топырақ + 10 % мұнай + ОМТ)
24. Топырақ + 10 % мұнай + Ассоциация I + ОМТ
25. Топырақ + 10 % мұнай + Ассоциация II + ОМТ
26. Бақылау 4¹ (Топырақ + 10 % мазут)
27. Топырақ + 10 % мазут + Ассоциация I
28. Топырақ + 10 % мазут + Ассоциация II
29. Бақылау 5¹ (Топырақ + 10 % мазут + ОМТ)
30. Топырақ + 10 % мазут + Ассоциация I + ОМТ
31. Топырақ + 10 % мазут + Ассоциация II + ОМТ
32. Бақылау 6¹ (Топырақ + 10 % ДО)

33. Топырақ + 10 % ДО + Ассоциация I
34. Топырақ + 10 % ДО + Ассоциация II
35. Бақылау 7¹ (Топырақ + 10 % ДО + ОМТ)
36. Топырақ + 10 % ДО + Ассоциация I + ОМТ
37. Топырақ + 10 % ДО + Ассоциация II + ОМТ

Зертханалық модельдік тәжірибеде мұнай мен мұнай өнімдерінің деструкциялану дәрежесі 1 және 3 айдан кейін гравиметриялық әдіспен анықталды [189].

Мұнаймен ластанған және таза топырақтағы микроорганизмдердің негізгі топтарының саны жалпы қабылданған микробиологиялық әдістермен анықталды [179].

Мұнай мен мұнай өнімдерінің фракциялық құрамының өзгеруі газды хроматография әдісімен анықталды [190].

Топырақтың фитоубыттылығы шалғам тұқымының (*Raphanus sativa L.*) өну пайызы бойынша анықталды [191, 192].

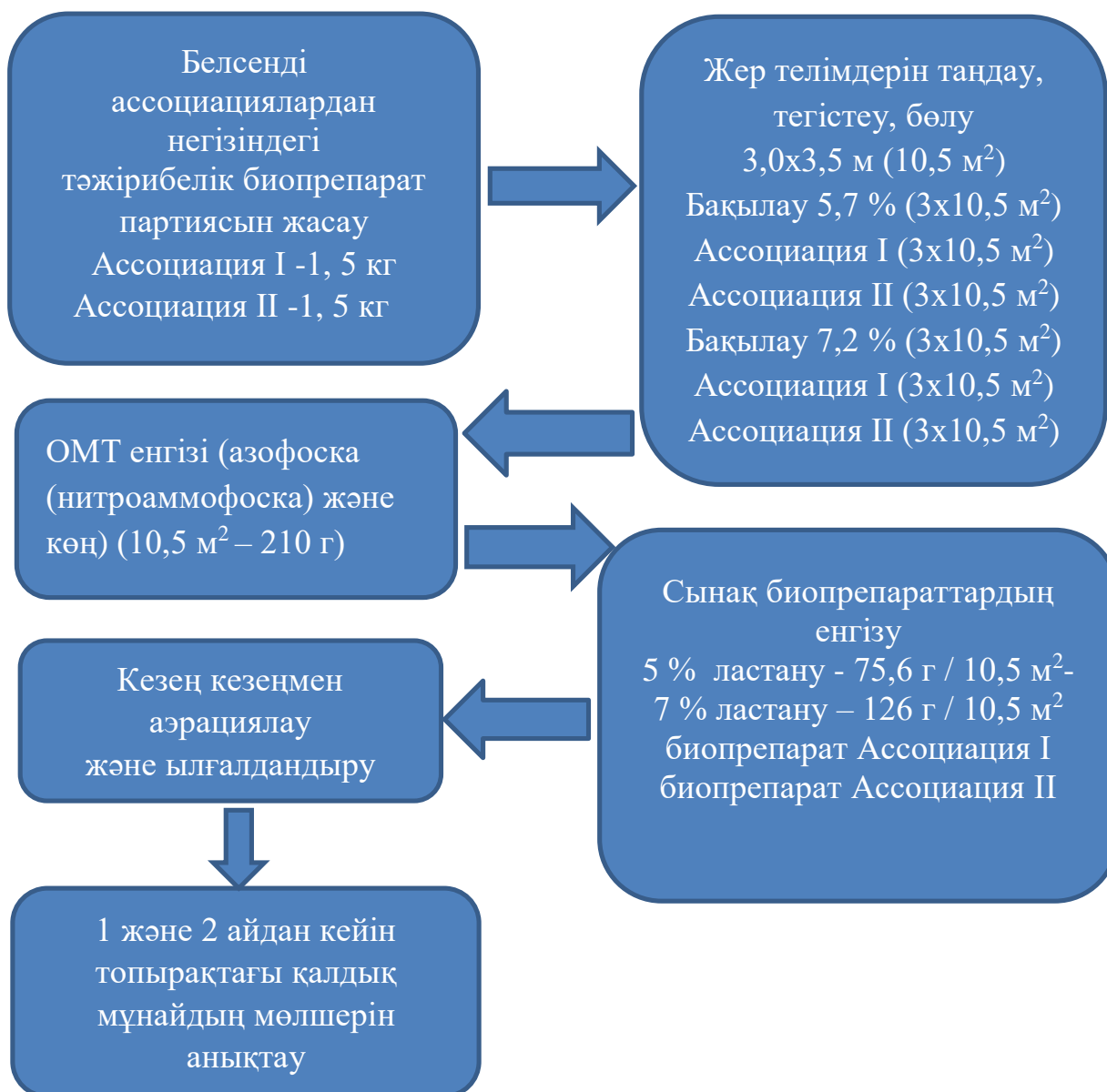
2.4.2 Далалық модельдік тәжірибе

Микробиология және вирусология ҒЗО Қызылорда филиалының тәжірибе алаңында мұнайтотықтырғыш микроорганизмдердің белсенді ассоциацияларымен әртүрлі деңгейдегі мұнаймен ластанған топырақты тазарту бойынша шағын жер телімдерінде далалық тәжірибе жүргізілді. Тәжірибе жүргізілетін шағын жер телімдерін рандомизация әдісі бойынша таңдадық. Рандомизация - бұл бөлу немесе таңдау толығымен кездейсоқ жүзеге асырылатын әдіс.

Тәжірибе алаңын тегістеліп, көлемі 3,0 x 3,5 м, олардың арасындағы қашықтық 1 м болатын шағын жер телімдеріне бөлінді. Жер телімдерінде РІТ Р51016 культиваторымен тиісті агротехникалық шаралар жүргізіліп, одан кейін ластанған топыраққа органоминералды тыңайтқыштар (азофоска (нитроаммофоска) және көң) қосылды. Содан кейін сызба бойынша (2- Сурет) мұнайтотықтырғыш микроорганизмдердің ең белсенді екі ассоциациялары негізінде зерттелетін сынақ биопрепараттары енгізілді. Микробиология және вирусология ҒЗО тәжірибелік зауытында 3,0 кг көлемінде биопрепараттың тәжірибелік партиялары шығарылды. Жер телімдерінің топырақтарын азрациялау және ылғалдандыру кезенді түрде жүргізілді. Тәжірибе 3 қайталаумен жүргізілді.

Далалық модельдік тәжірибеде мұнай мен мұнай өнімдерінің деструкциялану дәрежесі 1 және 2 айдан кейін гравиметриялық әдіспен анықталды [189].

Мұнаймен ластанған және таза топырақтағы микроорганизмдердің негізгі топтарының саны жалпы қабылданған микробиологиялық әдістермен анықталды [179].



Сурет 2 - Белсенді ассоциацияларымен мұнаймен ластанған топырақты тазарту бойынша далалық тәжірибе жүргізудің сызбасы негізіндегі

2.5 Мәліметтерді статистикалық өңдеу

Статистикалық мәліметтерді өңдеу П.Ф. Рокицкийдің [193] еңбегімен жүргізілді. Екі нүкте арасындағы айырмашылықтың нақтылығы (t) Стьюдент критерийімен анықталды:

$$t = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{Sp_1^2 + Sp_2^2}}$$

мұнда: p_1 мен p_2 – қателік айырмашылығы; S_p – орташа статистикалық өңдеу. Осылайша есептелген айырмашылықтардың сенімділігі маңызыдылық деңгейі 5%-ға дейін сенімді болды, бұл жоғары сенімділікті көрсетеді [193].

Алынған нәтижелер, графиктер мен диаграммалар құрылысы Excell (MS Office 2010) көмегімен қолданбалы бағдарламаларды пайдалана отырып, компьютерде статистикалық өңдеуден өтті, $p < 0,05$ айырмашылықтар статистикалық маңызды деп саналды.

3 НӘТИЖЕЛЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУЛАР

3.1 Мұнай тотықтырғыш микроорганизмдерді бөліп алу, іріктеу

Қоршаған ортаны мұнай мен мұнай өнімдерімен ластау проблемасына байланысты шикі мұнайды да, оның туындыларын да қолдануға қабілетті, метаболизмі жоғары белсенді жаңа микробтық штамдарды бөліп алу қажет. Көмірсутек тотықтырғыш белсенді деструктор-микроорганизмдерді таңдағанда бір қатар ережелерді сақтау керек, соның ішінде деструктор-микроорганизмдерді іздек, бөліп алу кезінде, топыраққа енгізілетін микробты биомасса топырақ мкрофлорасы үшін бөтен болмауын ескеру керек [194]. Сондықтанда зерттеу жұмысы бойынша Қызылорда облысындағы Құмкөл кен орнынан ластанған топырақтың сынамалары алынды. Мұнайда, дизельді отында, мазутта және қозғалтқыш майларының екі түрінде өсе алатын көмірсутек тотықтыратын бактериялық штамдар бөлініп алынды. Штамдарды жинақтау әдісімен жүргізілген жұмыстың нәтижесінде бастапқыда 182 изолят бөлінді. Бұл штамдарды қайталап скринингтен өткізгеннен кейін 46 штам таңдалды, олар колбадағы сұйық ВД қоректік ортасында мұнаймен және әр түрлі мұнай өнімдерімен инкубацияланды (2-кесте). Бактериялық штамдар колониялардың түсі, формасы, көлемі және беті бойынша ерекшеленді. Колониялар түссіз де, пигментті де болды (сарғыш, қызыл, ақшыл сары).

Бөліп алынған штамдарға мұнай мен мұнай өнімдері бойынша скрининг жүргізілді (мазут, дизельді отын, қозғалтқыш майлары). Өсу қабілеті балдық жүйе арқылы визуалды түрде бағаланды. Сұйық ортада зерттелген микроорганизмдердің мұнай мен мұнай өнімдерін тұтынуымен, олардың физикалық - химиялық қасиеттерінде бақылауға қарағанда айтарлықтай өзгерістер болды. Интенсивті өсу кезінде (4 балл) көмірсутек қабығының толық жойылуы байқалды. Мұнай мен мұнай өнімдері едәуір өзгеріп, ең ұсақ бөлшектердің суспензиясына айналды, сондай-ақ айтарлықтай бактериялық биомасса жинақталды. Скрининг нәтижесінде мұнай мен әр түрлі мұнай өнімдері бар сұйық ВД қоректік ортасында өсетін 46 штам таңдалып алынды (2 -кесте).

Кесте 2 – Бөліп алынған штамдардың 1% мұнай және мұнай өнімдерінде өсуі

Р/н	Штамдар	Мұнай	Мазут	Дизельді отын	№1 қозғалтқыш майы	№2 қозғалтқыш майы
1	5/1	+	+	++++	++	++
2	6/2	+	+	+	++++	+++
3	6/3	+	+	+	++	++++
4	6/4	++	++++	+	+	+
5	7/4	+	++	++++	+	+
6	9/2	++	++	++	++++	++
7	10/1	++++	++++	++	+++	++++
8	10/2	++	++	+	++	++++
9	10/3	++	++++	++	+++	+++

кестенің жалғасы

10	11/2	++++	+	++++	+	+
11	11/3	++	+	++++	+	+
12	11/5	+	+	+	++++	+
13	12/1	++++	++	++	++	++
14	12/3	+++	+++	++++	+++	+++
15	12/4	++++	++++	++++	++++	++
16	12/5	++++	++++	++++	++++	++++
17	12/6	++++	++++	++	+++	++++
18	12/7	+++	+++	++++	+++	++++
19	12/8	++	-	++++	+++	++
20	12/9	++++	-	++	+++	++++
21	13/1	-	-	++	++++	++++
22	13/2	-	++++	-	++++	++++
23	13/4	++++	++++	++++	+++	++++
24	13/5	-	-	-	++++	++
25	13/6	++++	++	+	++++	++++
26	13/7	-	-	-	++++	++
27	13/8	++++	++++	++++	+++	++++
28	13/9	+	++	++++	++++	+++
29	13/10	++	++++	++++	++	+++
30	13/11	++	+++	-	++++	++
31	13/12	++	+	-	++++	++
32	13/13	++	+++	-	++++	+++
33	13/15	++	+++	-	++++	+++
34	14/1	++++	+	++++	++++	++++
35	14/2	++++	++++	++	++	+
36	14/3	++++	++++	++++	++	++++
37	14/4	+	++++	++++	++++	++++
38	15/1	++++	++++	++++	+++	++++
39	15/2	++++	++++	++++	++++	++++
40	15/3	++++	++++	++	+++	++
41	16/1	++++	++++	++++	-	-
42	16/2	-	-	++++	++++	++
43	16/3	++++	++	+	++	++++
44	1D/1	++++	++++	+	++	++++
45	1D/2	+++	+++	++++	+++	++
46	1D/3	++	+	++	+++	++++
Ескерту: - - өсімнің жоғы, + - нашар өсім, ++ -әлсіз өсім, +++ - жақсы өсім, ++++ - интенсивті өсім						

2 - кестеде көрсетілген нәтижелерде инкубациялаудың ең жақсы нәтижелерді сәйкесінше мұнай мен мазутта 20 штамм, дизель отынында - 21, №1 және №2

қозғалтқыш майларында - 19 және 20 штамм көрсеткен. Зерттелген 25 штамм бірнеше көмірсутектерді ыдыратуда белсенді қабілетілік көрсетті.

Микроорганизмдер биотехнологиясын және микробиологиялық әдістердің технологиясын дамыту мұнаймен ластанған орталардағы функционалды көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдерді анықтау үшін және оларды скринингтеу үшін пайдалы [195, 196]. Шынында да, көптеген зерттеулер мұнай төгілген аумақтар мен мұнаймен ластанған, мұнайға бай орталарда көмірсутекті ыдырататын бактериялардың үлкен саны бар екенін көрсетті [197, 198] және олардың көптігі мен саны мұнай көмірсутектерінің түрлерімен және қоршаған орта факторларымен тығыз байланысты [199, 200]. Қызылорда облысының мұнаймен ластанған топырағынан бөлініп алынған мұнайотықтырғыш микроорганизм штамдарынан алдағы зерттеулер үшін мұнай және мазут, дизель отыны мен қозғалтқыш майлары сияқты мұнай өнімдерін әр түрлі дәрежеде қолдануға қабілетті 46 штамм таңдалынды.

3.2 Деструктор-бактерия штамдарының мұнай және мұнай өнімдерін деструкциялау белсенділігін анықтау

Топырақтың мұнай ластануынан өзін-өзі тазартудың табиғи механизмдерінің ішінде микроорганизмдер маңызды рөл атқарады. Микроорганизмдердің бұл қасиеттері мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтарды қайта қалпына келтіруде қолданылады. Мұнай деструкторлары ретінде мұнай көмірсутектерін қоректік субстрат ретінде пайдаланатын әртүрлі бактериялар қолданылады. Кейінгі кездегі зерттеулер мұнай көмірсутектерін ыдыратуға қабілетті 79-дан астам бактерияларды анықтады [201].

Мұнай мен мұнай өнімдерінде қарқынды өсу қабілетін көрсететін барлық штамдарды іріктеп алғаннан кейін көмірсутектотықтыру белсенділігі гравиметриялық әдіспен зерттелді. Осы мақсатта ВД минералды қоректік ортасы қолданылды. Көміртегі мен энергияның жалғыз көзі ретінде 1% мұнай және мұнай өнімдері (мазут, дизель отыны, қозғалтқыш майлары) пайдаланылды (3, 4-кесте). 3-кестедегі мәліметтерден 14 тәулік ішінде мұнайдың жойылу дәрежесі 43,4-83,5% болғанын көруге болады. Бұл жағдайда табиғи жойылуы - 14,1% болды. 50% -дан астам мұнайды ыдыратуға қабілетті ең белсенді штамдар 12/5, 13/6, 14/1, 14/2, 14/3, 15/3, 16/1, 16/3, 1D/1 болды. 12/7 штаммы мұнайдың 80% -дан астамын тотықтырды [202].

Тәжірибеде мазуттың табиғи жойылуы (бақылау) - 16,5%, ал бұл мұнай өнімімен сұйық минералды ортада таңдалған штамдардың көпшілігінің өсуі қарқынды болды, мазутты пайдалану 47,5-88,8% құрады. Айта кету керек, тексерілген 20 штамның 16-сы 60%-дан астам жоғары белсенділік көрсетті. 12/6, 12/7, 14/2, 15/3 штамдары мазуттың 80% -дан астамын пайдаланды [202].

Көптеген мұнаймен ластанған топырақтардан бактерия түрлері бөлініп алынып, мұнай көмірсутектерінің биодеструкторлары ретінде пайдаланылады. Кейбір бактериялар мұнай және мұнай өнімдерінің белгілі бір көмірсутектерін - алкандарды метаболиздей алады, ал басқалары көмірсутектердің ароматты немесе шайырлы фракцияларын ыдыратуға қабілетті болады. Бұл құбылыс

мұнайдың көмірсутектік компоненттерінің химиялық құрылымымен байланысты [203].

Кесте 3 – Бөліп алынған көмірсутектотықтырғыш штамдардың 1 % мұнай мен мазутты деструкциялауы

Штамдар	Мұнайды деструкциялау дәрежесі, %	Штамдар	Мазутты деструкциялау дәрежесі, %
10/1	46,5	6/4	41,6
11/2	47,0	10/1	49,2
12/1	46,6	10/3	48,6
12/4	45,4	12/4	68,4
12/5	75,2	12/5	71,9
12/6	49,3	12/6	81,5
12/7	83,5	12/7	81,6
12/9	47,2	13/2	73,2
13/4	47,1	13/4	74,6
13/6	51,7	13/8	62,9
13/8	68,3	13/10	47,5
14/1	70,8	14/1	77,8
14/2	55,8	14/2	81,2
14/3	56,7	14/3	64,8
15/1	43,4	15/1	48,9
15/2	48,9	15/2	70,7
15/3	78,0	15/3	88,8
16/1	66,0	16/1	62,6
16/3	65,7	16/3	72,0
1D/1	66,5	1D/1	73,7
Бақылау	14,1	Бақылау	16,5
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$			

Бөліп алынған штамдардың дизельді отынын ыдыратуы біршама әлсіз болды. Сыналған 21 штамның 9 штаммы дизельді отынды 50% -дан жоғары ыдыратты, басқа штамдар үшін ыдырату коэффициенті 34,6-49,8% құрады (4-кесте). Дизельді отынды ең белсенді ыдыратқан штамдар 12/5 және 15/3 болды. Деградациялануы қиын көмірсутектер қозғалтқыш майлары болды. №1 қозғалтқыш майының ыдырауы 32,2%-дан 46,8%-ға дейін ауытқыды, ал бақылау 8,5% болды. Тексерілген штамдардың ешқайсы бұл мұнай өнімін 50% -дан жоғары ыдырата алмады. Дәл осындай үрдіс №2 қозғалтқыш майын жою кезінде де байқалды. Сыналған 20 штамның ішінде 15-і бұл майдың 40 %-дан аса жойылуын көрсетті, ал бақылау 8,9 % құрады. Зерттелген штамдардың қозғалтқыш майларын деструкциялауы бұл әдебиет деректеріне сәйкес келеді,

қозғалтқыш майлары өте төзімді, топыраққа түскенде биологиялық қиын, ұзақ ыдырайды [14, 204].

Кесте 4 – Бөлініп алынған көмірсутектотықтырғыш штамдардың 1 % дизельді отын мен қозғалтқыш майларын деструкциялауы

Штамдар	Дизельді отынды деструкциялау дәрежесі, %	Штамдар	№1 қозғ. майын деструк-у дәрежесі, %	Штамдар	№2 қозғ. майын деструк-у дәрежесі, %
5/1	47,2	6/2	46,8	6/3	41,8
7/4	46,3	9/2	43,9	10/1	46,1
11/2	34,6	11/5	39,5	10/2	43,4
11/3	44,8	12/4	44,2	12/5	42,2
12/3	45,7	12/5	32,2	12/7	44,1
12/4	44,9	13/1	44,6	12/9	42,6
12/5	76,5	13/2	35,7	13/1	40,7
12/6	49,8	13/5	42,4	13/2	41,4
12/7	63,2	13/6	41,6	13/4	33,5
13/4	45,1	13/7	44,3	13/6	37,1
13/8	51,2	13/9	42,7	13/8	31,7
13/9	45,2	13/11	43,3	14/1	45,3
13/10	44,1	13/12	38,6	14/3	44,5
14/1	65,7	13/13	44,1	14/4	37,6
14/2	58,3	13/15	42,1	15/1	47,2
14/3	64,0	14/1	45,4	15/2	40,4
15/1	48,3	14/4	33,3	16/3	42,1
15/3	75,3	15,2	35,8	1D/1	43,3
16/1	43,9	16/2	34,7	1D/3	44,2
16/3	66,5	Бақылау	8,5	Бақылау	8,9
1D/2	69,4				
Бақылау	25,9				

Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$

Осылайша, бөлініп алынған штамдар мазутпен инкубациялағанда ең жоғары белсенділік танытқаны анықталды, ал кейбір штамдардың мазутты 80%-дан жоғары деструкциялады. Мұнай мен дизельді отынды ыдырату шамамен сол деңгейде болды. Кейбір штамдар бұл қосылыстардың 60% -нан астамын тұтынады. Деградацияға ең төзімді болып қозғалтқыш майлары болды, олардың пайдалану мөлшері 46 % -дан аспады. Бірнеше штамдар бірнеше мұнай өнімдерін белсенді түрде жоюға қабілетті болды. Штамдарды мұнай, мазут және дизельді отында өсіру кезінде 12/5, 12/7, 14/1, 14/3 және 16/3 штамдары жоғары ыдырату қабілеттілігін көрсетті [202].

Келесі кезеңде 3 және 5% мұнай мен мұнай өнімдері бар қоректік ортада 12 белсенді штамның деструктивті белсенділігі зерттелді (5, 6, 7 кестелер).

Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, мұнайдың концентрациясы жоғарылаған кезде де, штамдар мұнайотықтырғыш белсенділіктерін сақтап қалды. Көптеген штамдарда мұнайдың деструкциялану дәрежесі 50%-дан асады. Мұнайдың 70%-дан астамын пайдаланған 12/5, 12/7 және 15/3 штамдары ең белсенді болды. Ең төмен мұнайдың деструкциясын 13/4 және 12/6 штамдары болды олардың деструкциялау дәрежесі 45,1-48,3% құрады.

Кесте 5 – Таңдап алынған мұнайотықтырғыш микроорганизмдер штамдарымен Құмкөл кен орнынан алынған мұнайды деструкциялау

Штамдар	Мұнайды деструкциялау дәрежесі, %	
	3%	5%
1D/1	64,7	63,5
12/5	74,6	72,7
12/6	48,3	47,2
12/7	82,3	81,0
13/4	46,5	45,1
13/8	61,2	60,8
14/1	70,2	69,3
14/2	55,2	54,4
14/3	55,1	54,7
15/3	76,5	75,3
16/1	66,3	62,4
16/3	65,2	64,8
Бақылау	13,2	12,5
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$		

Минералды ВД ортада мазут концентрациясының жоғарылаған кезінде, зерттелген микроорганизмдер штамдарының деструкциялау қабілеті аздап төмендеді, бірақ жоғары деңгейде қалды (6 – кесте). Сонымен, 3 % концентрация құрамындағы деструкциялау дәрежесі 48,3-86,4 % құрады. Осы кезде штамдардың көпшілігі мұнай өнімінің 70 % -дан көбін пайдаланады.

Кесте 6 – Таңдап алынған мұнайотықтырғыш микроорганизмдер штамдарымен мазутты деструкциялау

Штамдар	Мазуттың деструкциялану дәрежесі, %	
	3%	5%
1D/1	72,8	63,5
12/5	70,2	69,7
12/6	79,5	76,2
12/7	81,3	79,0
13/4	70,5	68,3

кестенің жалғасы

13/8	58,3	54,8
14/1	75,6	72,3
14/2	76,1	70,4
14/3	60,3	56,4
15/3	86,4	81,2
16/1	58,4	55,2
16/3	68,1	64,7
Бақылау	15,3	13,9
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$		

6- кестедегі мәліметтерден көріп отырғанымыздай минералды ВД ортада мазут концентрациясының 5% кезінде зерттелген штамдардың әсерінен мазуттың мөлшері 44,8-81,2% -ға төмендеді. 15/3, 12/7, 12/6, 14/1, 14/2 штамдары неғұрлым белсенді болды, олар мазуттың 70,4 % -дан 81,2 % дейін деструкциялады.

Ресей ғылым академиясының микроорганизмдердің биохимиясы және физиологиясы институтының Бүкілресейлік микроорганизмдер коллекциясында VKM Ac-2044 D тіркеу нөмірімен сақталған штаммы *Gordonia* sp. мұнай шламының құрамына кіретін мұнай көмірсутектеріне, сондай-ақ мұнай мен мазутқа жоғары деструктивті белсенділік көрсеткен. Көрсетілген штамм мұнайдың 7-ші күні 100%-ға дейін, мұнай шламын – 99%-ға дейін, мазут – 97%-ға дейін деструкциялаған. Бақылау мазутта - 17%, бақылау мұнай – 21% құраған [205]. Осындай ғылыми зерттеулерден кейін мазуттың деструкциялануы құрамындағы көмірсутектерге және микроорганизмдердің физиологиялық-биохимиялық қасиеттеріне байланысты болуы мүмкін. Ғылыми зерттеу жұмысында

Таңдалған штамдардың дизельді отынды деструкциялауы мұнай және мазутпен салыстырғанда біршама әлсіз болды. Қоректік ортада 3% дизель отынының концентрациясы кезінде, оның жойылуы 40,4 - 72,4 % құрады. Мұнай өнімінің бұл концентрациясында субстраттың 70 % -дан астамын пайдаланған 15/3 және 12/5 штамдары ең белсенді болды. 12/6, 13/4, 13/8 және 16/1 штамдары дизельді отынның 50 % -дан төмен тотықтырды (7 -кесте).

Кесте 7 – Таңдап алынған мұнайотықтырғыш микроорганизмдер штамдарымен дизельді отынды деструкциялау

Штамдар	Дизельді отынның деструкциялану дәрежесі, %	
	3%	5%
1D/1	63,8	60,5
12/5	71,2	69,2
12/6	45,2	41,4
12/7	60,1	59,5
13/4	40,5	38,3
13/8	48,3	44,8

кестенің жалғасы

14/1	62,6	59,3
14/2	54,1	48,4
14/3	62,3	60,4
15/3	72,4	69,7
16/1	40,4	35,8
16/3	58,1	54,6
Бақылау	24,4	23,8
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$		

Дизель отынының концентрациясы 5% болғанда, зерттелген 12 штамның тек 4 штаммы (15/3, 12/5, 1D/1 және 14/3) 60% - дан жоғары ыдыратты, басқа штамдарда ыдырату 35,8-59,5 % болды.

Мұнай көмірсутектерінің құрамына ұшатын және ұшпайтын ароматты қосылыстар және алифатты фракциялары кіреді. Дизельді отын негізінен алифатты (> 90%) және ароматты (< 5%) көмірсутектерден тұрады [206]. Дизельді отынның орташа ұзындықтағы алифатты көмірсутектері полярлы емес, ұшқыш емес, суда ерімейтін болғандықтан, биологиялық ыдырауы қиын [206, 207]. Көптеген зерттеулерде көрсеткендей, дизельді отынның қанықпаған орташа ұзындықтағы C₁₈-C₂₂ көмірсутектері басқа алифатты көмірсутектермен салыстырғанда жылдам деградацияға ұшырамайды [208, 209]. Зерттелген деструктор-штамдардың дизельді отынды өте жоғары деңгейде деградациялай алмауы осы ғылыми еңбектерге сәйкес, дизельді отынның құрамындағы көмірсутектердің компоненттеріне байланысты болуы мүмкін. Дегенменде, 12/5 және 15/3 штамдары жоғары белсенділік көрсете алды.

Осылайша, таңдап алынған мұнайотықтырғыш микроорганизмдердің барлық 12 штаммы жоғары деструкциялық қабілеттілікті көрсетті, ең белсенділері 12/5, 12/7, 13/8, 14/1, 15/3 және 1D/1 штамдары болды.

3.3. Іріктеп алынған белсенді көмірсутекотықтырғыш микроорганизм штамдарының идентификациясы

3.3.1 Белсенді микроорганизмдер штамдарының дақылды-морфологиялық және физиологиялық-биохимиялық қасиеттерін анықтау

Таксономиялық зерттеулер ғылымның негізі болатын теориялық бағыттарын дамыту үшін де, биотехнология, медицина, ауыл шаруашылығы және қоршаған ортаны қорғау саласындағы бірқатар нақты мәселелерді шешу үшін де маңызды. Бактериялар негізгі факторлар болып табылатын барлық салаларда түрлер мен түрді анықтау әдістерінің мәселесі бірінші кезекте маңызды болып табылады [210, 211].

Мұнайотықтырғыш бактериялардың ең белсенді 12 штамын идентификация жүргізілді. Олардың дақылдық-морфологиялық, физиологиялық және биохимиялық қасиеттері классикалық [179] және молекулалық-генетикалық әдістерге [187] сәйкес зерттелді.

Зерттелген бактерия штамдарының дақылдық-морфологиялық және физиологиялық-биохимиялық сипаттамалары 3, 4 суреттерде және 8 кестеде келтірілген.



а)



ә)



б)



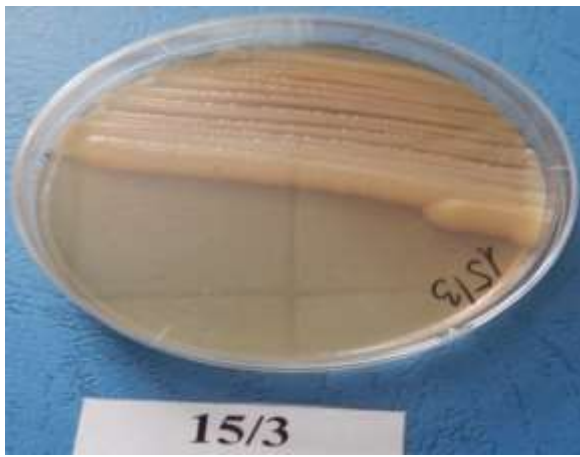
в)



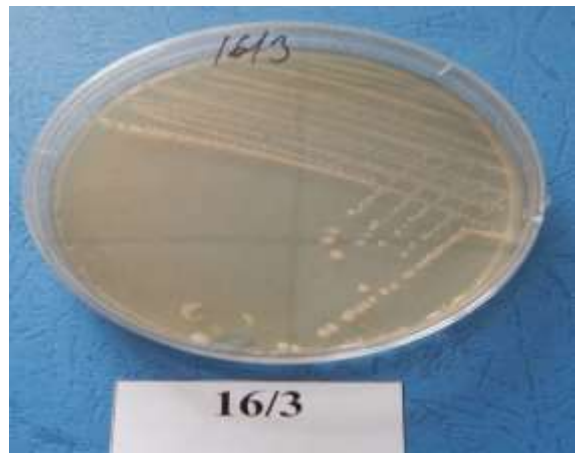
г)



д)

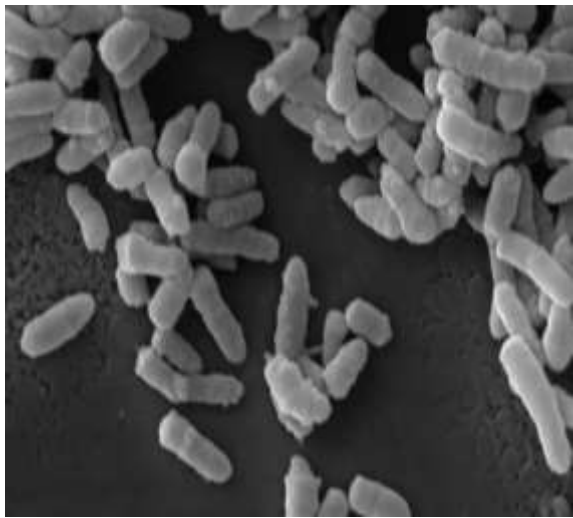


д)

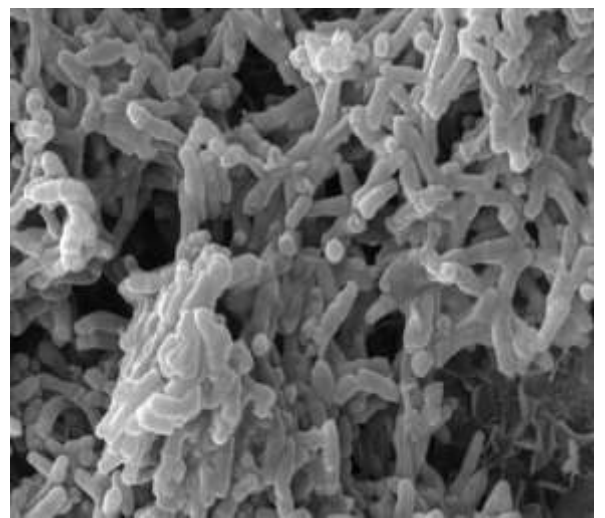


е)

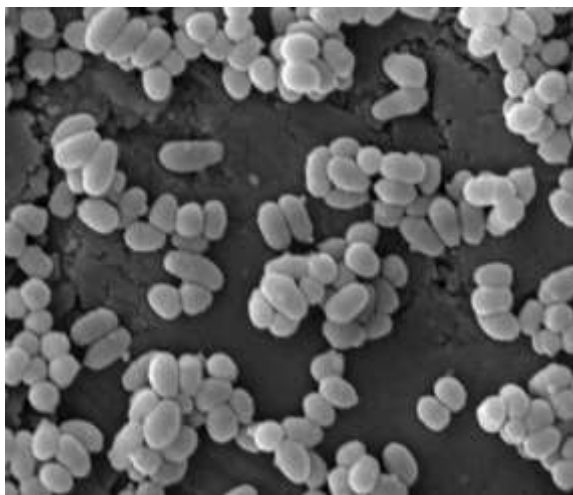
Сурет 3 – Көмірсутектотықтырғыш деструктор – бактериялардың штамдары:
а) 1D/1; ә) 12/5; б) 12/6; в) 12/7; г) 13/4; з) 14/1; д) 15/3; е) 16/3.



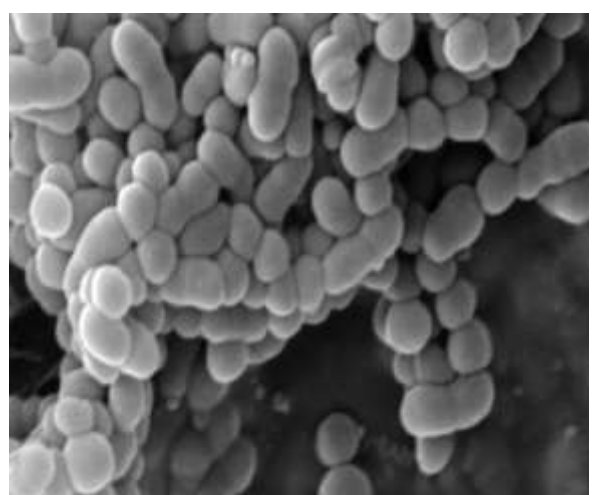
а)



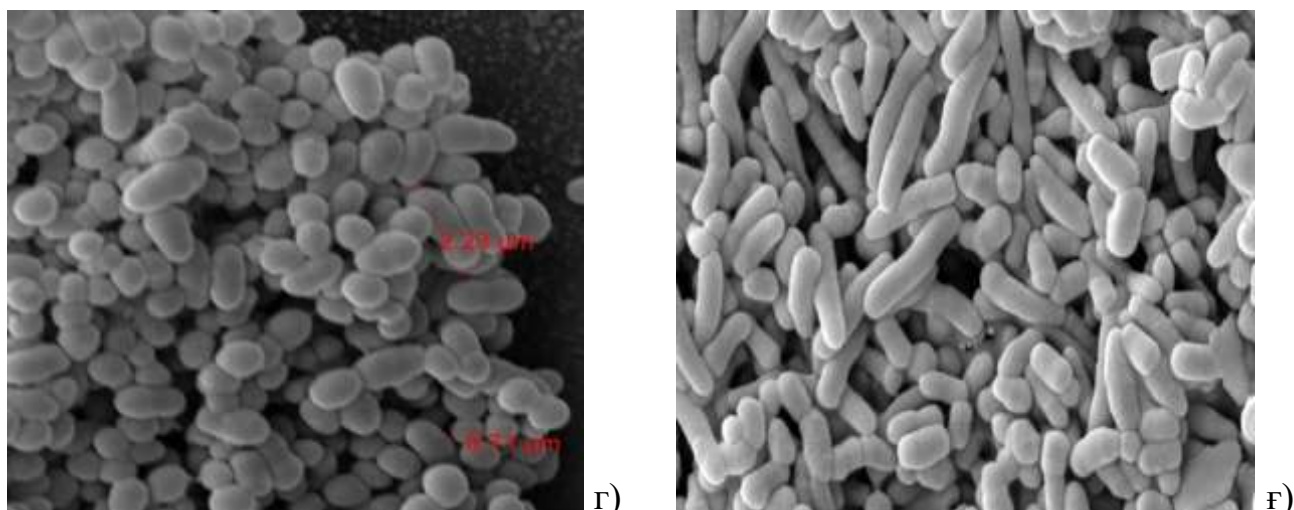
ә)



б)



в)



Сурет 4 – Белсенді бактериялық штамдардың жасушалық морфологиясы.
 Сканирлеуші электронды микроскопия (а-з): а) 1D/1; ә) 12/5; б) 12/7; в) 13/4; г) 13/8; з) 15/3

3-4 суреттердегі және 8 кестедегі көрсетілген зерттеу нәтижелері бойынша Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан бөлінген бактериялық штамдардың морфологиялық зерттеулерге сәйкес 1D/1 штаммы – таяқша, Грам оң, қозғалмайды, қызғыл-сарғыш түсті, жылтыр, тегіс жиегі бар колониялар түзеді және қоректік ортаға пигмент шығармайды, 2-3 мм болып табылады. 12/5 штаммы – таяқша, қозғалмайды, Грам оң, диаметрі 1 мм дөңгелек, дөңес қызғылт түсті колониялар түзеді. Колониялардың шеті тегіс, құрылымы ұсақ түйіршікті және қоректік ортаға пигментті шығармайды. 12/6 штаммы – таяқша, Грам оң, қозғалмайды, ақшыл қоңыр-сарғыш түсті, жылтыр, тегіс жиекті жалпақ колониялар түзеді. 12/7 штаммы - таяқша, Грам вариавельді, қозғалмайды, ақшыл қызғылт түсті, біркелкі жиегі бар сәл дөңес нүктелі колониялар түзеді, қоректік ортаға пигмент шығармайды. Колонияның түсі өсудің басында ашық қызғылт түсінен қанық қызғылт түске өзгереді. 13/4 штаммы – таяқша, Грам вариавельді, қозғалмайды, қызғылт түсті, нүктелі, тамшы тәрізді, жылтыр колониялар түзеді және қоректік ортасын пигмент шығармайды. Колония диаметрі 0,71 мм -ден 2,23 мм -ге дейін. 13/8 штаммы - таяқша, Грам оң, қозғалмайды, қанық қызғылт түсті, түсі айқын, нүктелі, шеті тегіс жылтыр колониялар түзеді. 14/1 штаммы - таяқша, Грам оң, қозғалмайды, бозғылт қызғылт түсті, жылтыр, тегіс жиегі бар жалпақ колониялар түзеді. 14/2 штаммы – таяқша, Грам оң, қозғалмайды, қоңыр-сарғыш түсті, күңгірт, жиектері жалпақ колониялар түзеді. 14/3 штаммы – таяқша, Грам оң, қозғалмайды, сары-қызғылт түсті, жылтыр, тегіс жиегі бар колониялар түзеді және қоректік ортаға пигмент шығармайды. 15/3 штаммы - таяқша, Грам оң, қозғалмайды, ақшыл - сарғыш түсті, жылтыр, тегіс емес шеттері бар колониялар түзеді. 16/1 штаммы - таяқша, Грам оң, қозғалмайды, ақшыл-сарғыш түсті, жартылай жылтыр, нүктелі, жартылай дөңес колониялар түзеді. 16/3 штаммы - таяқша, Грам теріс, қозғалмайды, ақшыл түсті, жылтыр, тегіс жиегі бар жалпақ колониялар түзеді.

Кесте 8 - Мұнайтотықтыратын бактериялар штамдарының дақылдық-морфологиялық және физиологиялық-биохимиялық сипаттамасы

Белгілері	Штамдар											
	1D/1	12/5	12/6	12/7	13/4	13/8	14/1	14/2	14/3	15/3	16/1	16/3
Морфологиясы	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша	таяқша
Қозғалғыштығы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Грамм бойынша бояуы	+	+	+	в	в	+	+	+	+	+	+	-
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Оксидаза	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-
Оттегімен байланысы	аэр.	ф. аэр.	аэр.	ф. аэр.	аэр.	ф. анаэр.	аэр.	аэр.	аэр.	аэр.	аэр.	аэр.
Споротүзуі	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Желатинді сұйылтуы	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-
Күкірсутек түзуі	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-
Аммиак түзілуі	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Индола түзілуі	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Нитраттар мен нитриттерді қалпына келтіруі	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Крахмалды гидролиздеуі	-	-	-	-	-	-	сл	-	-	-	-	-
Көмірсуларды пайдалануы:												
глюкоза	АҚ	А	Қ	А	АҚ	АҚ	А	С	АҚ	АҚ	А	АҚ
лактоза	С	А	АҚ	С	С	С	А	А	С	А	А	АҚ
сахароза	А	АҚ	АҚ	А	А	А	С	С	А	АҚ	С	С
арабиноза	А	АҚ	АҚ	А	А	АҚ	АҚ	С	А	АҚ	АҚ	АҚ
ксилоза	С	А	А	С	С	С	АҚ	С	С	АҚ	АҚ	А
маннит	А	С	А	А	А	А	А	А	А	АҚ	А	А
NaCl мен ЕПС өсуі:												
2,5%	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
6,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Өртүрлі температурада өсуі:												
-5 °С	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
+37 °С	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+42 °С	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+

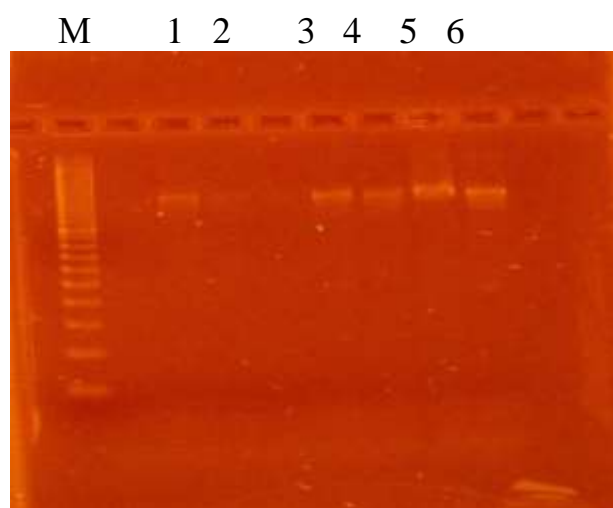
Ескерту: 1) аэр-аэробты; ф.аэр. – факультативті аэробты, 2) эл. – элсіз өсім, 3) А – ассимиляциялайды, Қ – қышқыл түзуге меңгеріледі, С – қоректік орта сілтіленеді

8 кестедегі көрсетілген зерттеу нәтижелері бойынша Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырағынан бөлінген бактериялық штамдардың физиологиялық –биохимиялық зерттеулерге сәйкес 12 штамм аэробты және факультативті анаэробты, спора түзбейтін штамдар – каталаза оң; 9 штамда оксидаза теріс (1D/1, 12//5, 12/6, 12/7, 14/1, 14/3, 15/3, 16/1, 16,/3), 3 штамда оң (13/4, 13/8, 14/2); 8 штамм (1D/1, 12//5, 12/7, 14/3, 16/1, 16,/3) желатинді сұйылтпайды, 4 штамм 12/6, 14/1, 14/2, 15/3) сұйылтады; Күкіртсутек түзілу оң 7 штамм (1D/1, 12//5, 12/6, 16,/3), теріс (12/7, 14/1, 14/3, 15/3, 16/1); Аммиак түзілу теріс – 11 штамм (1D/1, 12/5, 12/6, 12/7,13/4, 13/8,14/2, 14/3, 15/3, 16/1, 16,/3), оң - 14/1; Индол түзу бәрі теріс; Нитраттар мен нитриттерді қалпына келтіру 12 штаммда теріс, крахмал түзу 11 штамм анықтады; Көмірсуларды ассимиляциялайды; NaCl 2.5% және 6.5% ортаға оң , тек 14/2 штаммы 2,5% теріс; - 5 °С – 12/5 штаммы оң, 15/3 әлсіз оң, қалғандары теріс. + 37 °С барлық штамм – оң, + 42 °С - 1D/1, 12/7, 15/3, 16/1 оң.

Сонымен Қызылорда облысы, Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырақтарынан бөлініп алынған штамдарының дақылды-морфологиялық, физиологиялық-биохимиялық қасиеттерін анықталды.

3.3.2 Белсенді-деструктор бактерия штамдарының молекулалы-генетикалық идентификациясы

Келесі кезеңде зерттелетін штамдардың молекулалық-генетикалық идентификациясы жүргізілді. Бөліп алынған деструктор - бактериялар штамдарының ДНҚ-сы УК сәулесі өтетін трансиллюминаторда (UVP Photo Doc-It™ Imaging System Benchtop UV Transilluminator) қаралды және суретке түсірілді (5-сурет).



Сурет 5 - Деструктор штамдардың ДНҚ-ның электрофореграммасы.
 Ескерту: 1 - 1D/1; 2 - 12/5; 3 - 12/7; 4 - 13/4; 5 - 13/8; 6 - 14/1;
 М – молекулалық салмақтың маркері 300 – 3000 н.т.

Зерттелетін штамдарды дәлірек идентификациялау үшін GenBank-тің белгілі құрылымдарымен 16S рРНҚ генінің нуклеотидтер тізбегін секвенирлеу және салыстырмалы талдау жүргізілді.

16S рРНҚ гендерінің күшейтілген фрагменттерін секвенирлеу және алынған тізбектерді талдау бойынша, осы жұмыста бөлініп алынған 12 мұнайотықтырғыш штамдары *Gordonia* (12/5), *Rhodococcus* (1D/1, 14/1, 14/3), *Dietzia* (12/7, 13/4), *Pseudomonas* (14/2), *Arthrobacter* (15/3), *Alcanovorax* (16/3), *Microbacterium* (12/6, 16/1) және *Tessaracoccus* (13/8) туыстарының өкілдеріне жататынын көрсетті.

Деструктор-штамдардың 16S рРНҚ гендерін 27F (AGAGTTTGATCCTGG) және 1492R (TACGGYTACCTTGTTAC) эмбебап праймерлерімен секвенирлеу кезінде 800-1500 т.н. ұзындықтағы өнім алынды.

Алынған тізбектер GenBank дерекқорында бар көмірсутектотықтырғыш бактериялардың басқа 16S рРНҚ гендерінің тізбегімен салыстырылды, теңестіру жүргізілді және филогенетикалық ағаштар құрылды. Филогенетикалық ағаштардың тұрақтылығы Neighbor Joining алгоритмдері арқылы расталды (NJ).

Rhodococcus sp. 1D/1 16S рРНҚ генінің нуклеотидтер тізбегі (1371 н.т.) GenBank-те MF188988.1 нөмірімен депонирленген (А қосымшасы). Оның GenBank-ке ұсынылған реттіліктермен салыстырмалы талдауы, зерттелетін микроорганизмнің *Rhodococcus* тұқымдасына жататынын және 7B-577 - *Rhodococcus sp.* типті штаммен 99% ұқсастығын жоғары ықтималдықпен айтуға мүмкіндік береді, GenBank-гі сілтеме коды KF441686.1 (Сурет-6).

GenBank-те MF188993.1 нөмірімен депонирленген *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамының 16S рРНҚ тізбегінің реттілігі 1383 н.т. болды (А қосымшасы). Штамм *Rhodococcus erythropolis* тұқымдасына жатады, *Rhodococcus erythropolis* BG43 штаммымен 99% гомологиялық дәрежеде сәйкес келеді – GenBank-гі сілтеме коды CP011295.1 (Сурет-6).

GenBank-те MF188994.1 нөмірімен депонирленген 14/3 штаммының 16S рРНҚ тізбегінің реттілігі 1365 н.т. реттілігін берді (А қосымшасы). Штамм *Rhodococcus* тұқымдасына жатады және *Rhodococcus sp.* VD25-3 штаммына 99% ұқсастығы бар – GenBank-гі сілтеме коды KT152242.1 (Сурет-5).

12/5 штаммының 16S рРНҚ ген тізбегінің секвенирленуі ұзындығы 1365 н.т. реттілігін берді. Филогенетикалық ағашта 12/5 штаммы *Gordonia sp.* типті штаммымен бір кластерге жатады. 12/5 штаммының және типті *Gordonia sp.* НХВА05 пен РЕТВА16 штамдарының реттілігі гомологиялық жоғары дәрежеге ие болды (99% бірдей н.т.) - GenBank-гі сілтеме кодтары JQ658424.1 және JQ658420.1, бұл дегеніміз GenBank-те MF188989.1 нөмірімен тіркелген (А қосымшасы) 12/5 штаммын *Gordonia sp.* ретінде анықтауға мүмкіндік берді (Сурет-6).

12/7 штаммының 16S рРНҚ генінің нуклеотидтік тізбегі (1363 н.т.) GenBank-те MF188990.1 нөмірімен депонирленген (А қосымшасы). Нуклеотидтер тізбегін салыстырмалы талдау 12/7 штаммының *Dietzia* тұқымдасына жататынын және *Dietzia sp.* B105-52 типті штаммымен 99%

ұқсастығын жоғары ықтималдықпен дәлелдеуге мүмкіндік берді – GenBank-гі сілтеме коды KJ191037.1

MF188991.1 нөмірімен GenBank-те депонирленген 13/4 штаммының 16S рРНҚ тізбегінің ұзындығы 1368 н.т. реттілігін берді (А қосымшасы). Штамм *Dietzia* тұқымдасына жатады, *Dietzia sp.* MCCC 1A11230 штаммымен 100% гомология дәрежесінде ұқсас - GenBank-гі сілтеме коды KU560456.1 (Сурет-6).

13/8 штаммының 16S рРНҚ генінің нуклеотидтер тізбегі (1359 н.т.) GenBank-те MF188992.1 нөмірімен депонирленген (А қосымшасы). Нуклеотидтер тізбегінің салыстырмалы талдауы 13/8 штаммының *Tessaracoccus* тұқымдасына жататынын және типтік *Tessaracoccus sp.* R-36527 штаммымен 99 % ұқсастығы бар - GenBank-гі сілтеме коды FR682696.1 (Сурет-6).

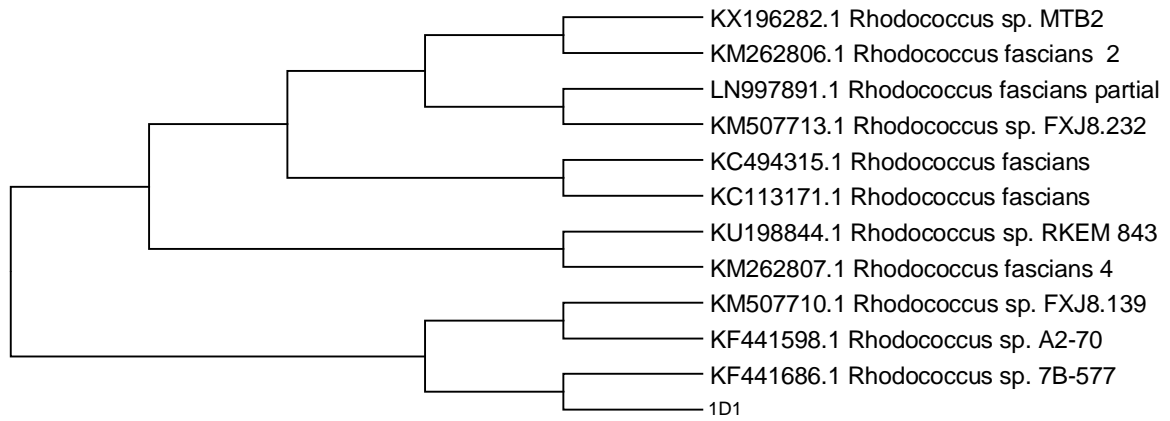
Бұл 13/8 *Tessaracoccus sp.* штаммы алғаш рет Қызылорда облысы Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырақтарынан бөлініп алынған. Бұрын бұл түрдің бактериялары Қазақстанда анықталмаған. *Tessaracoccus* тұқымдасы *Actinomycetales* отрядының *Propionibacteriaceae* тұқымдасына жатады және алғаш рет 1999 жылы Maszenan және т.б. еңбегінде сипатталған [212]. 2011 жылы үш бактериялық *Tessaracoccus oleagri sp.* штамдары Қытайдың Шэнли мұнай кенінінің шикі мұнаймен ластанған тұзды топырағынан бөліп алынған [213].

15/3 штаммының 16S рРНҚ генінің нуклеотидтер тізбегі (1388 н.т.) GenBank-те MF188995.1 нөмірімен депонирленген (А қосымшасы), нуклеотидтер тізбегінің салыстырмалы талдауы 15/3 штаммының жоғары дәржелі ықтималдылығымен *Arthrobacter* тұқымдасына жатады деп айтуға мүмкіндік берді және типтік *Arthrobacter sp.* EP04 штаммына 100% ұқсастығы бар – GenBank-гі сілтеме коды AM398213.1 (Сурет-6).

12/6 және 16/1 штаммдарының 16S рРНҚ гендерінің тізбегін GenBank ұсынылған реттіліктермен салыстырмалы талдау оларды *Microbacterium* тұқымдасына жоғары дәрежеде ықтималдықпен жатқызуға мүмкіндік берді. 12/6 штаммы типтік *Microbacterium arabinogalactanolyticum* 21A штаммына 100 % ұқсас - GenBank-гі сілтеме коды JF792087.1 (6-сурет).

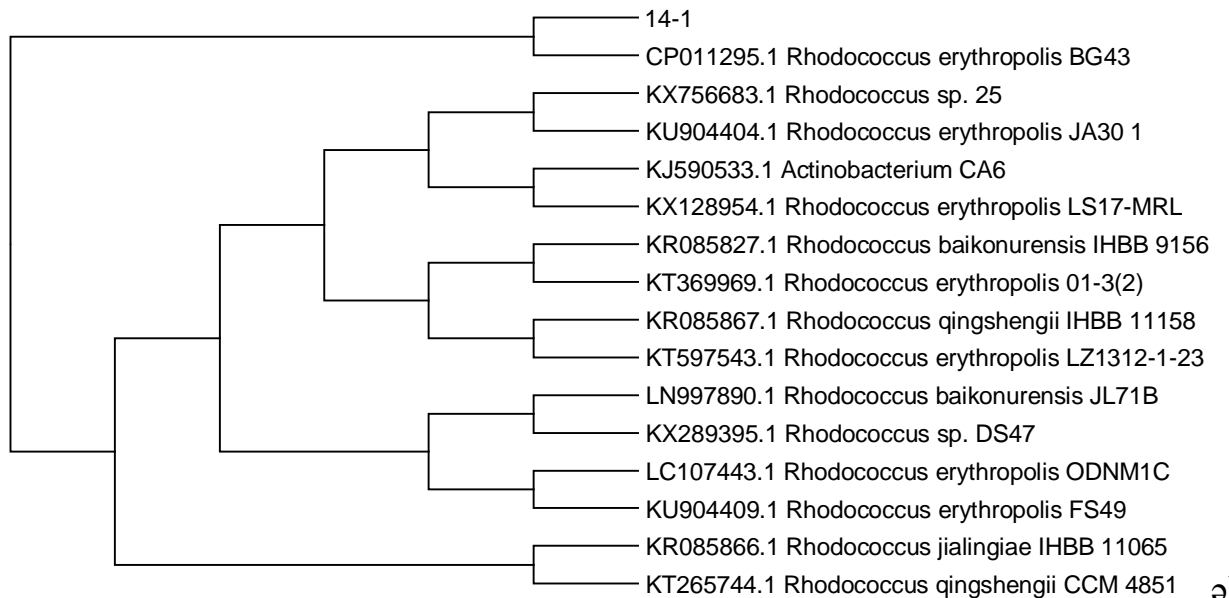
16/1 *Microbacterium sp.* штаммы типтік *Microbacterium sp.* HKG 229 штаммымен гомологиялық дәрежесі 100% болып бір кластерге кіріп тұр - GenBank-гі сілтеме коды KX774200.1 (Сурет-6).

Нуклеотидтер тізбегін салыстырмалы талдау 14/2 штаммының *Pseudomonas* тұқымдасына жататынын және *Pseudomonas sp.* JSZCNM4 штаммымен 99% ұқсастығын жоғары ықтималдықпен дәлелдеуге мүмкіндік берді. - GenBank-гі сілтеме коды KU643205.1 16/3 штаммының 16S рРНҚ генінің нуклеотидтер тізбегін GenBank ұсынылған реттіліктермен салыстырмалы талдау 16/3 штаммының *Alcanovorax* тұқымдасына жататынын және типтік *Alcanivorax sp.* D1 штаммымен 99% ұқсастығын жоғары ықтималдықпен айтуға мүмкіндік берді - GenBank-гі сілтеме коды KP252276.1 (Сурет-6).



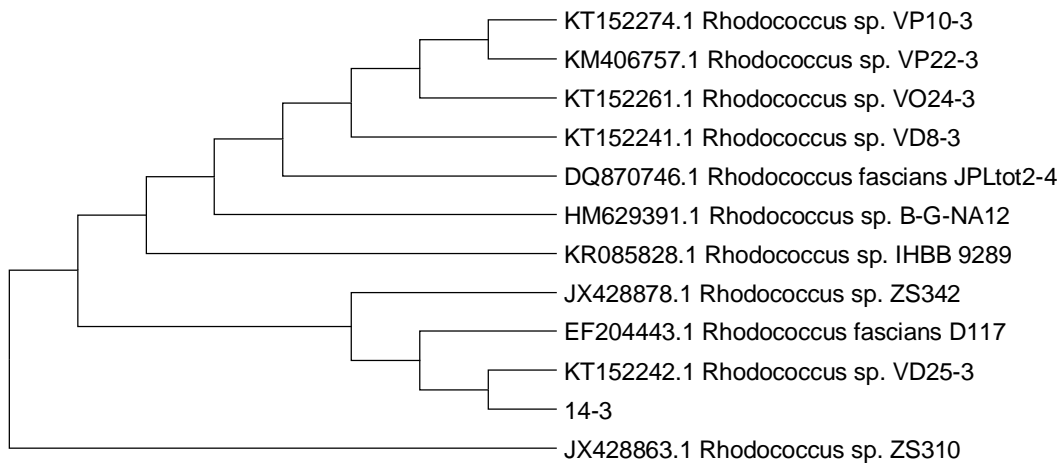
0,01

a)



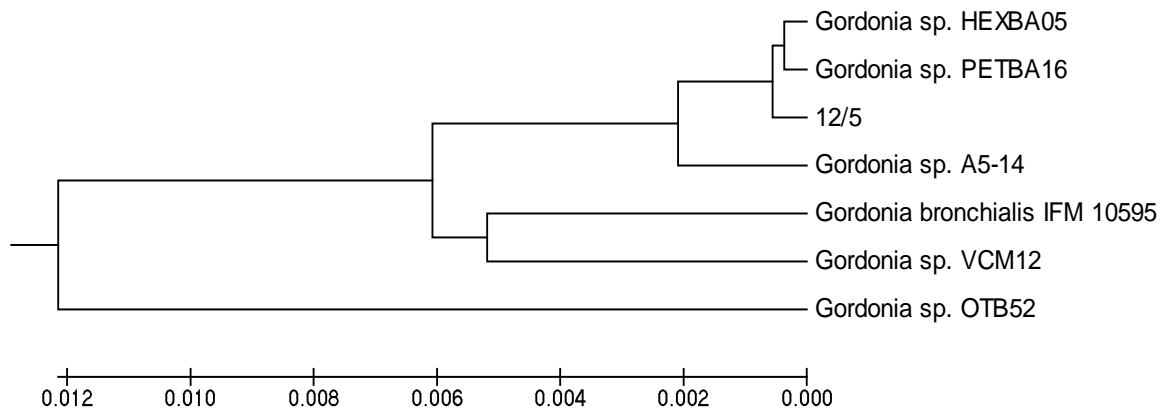
0,01

ə)

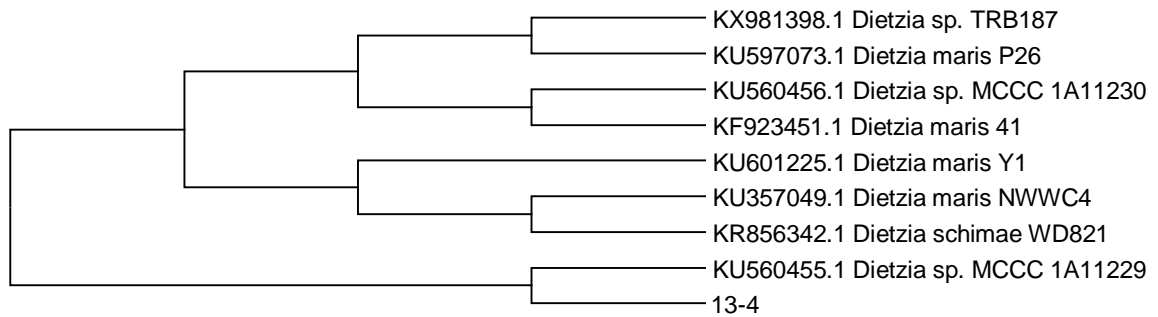


0,01

б)

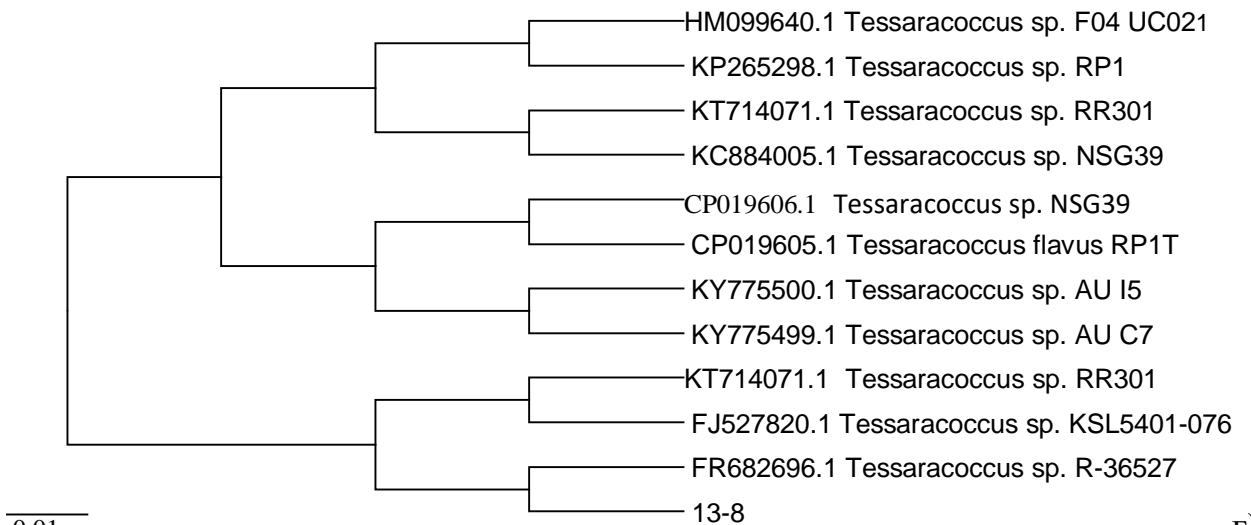


B)



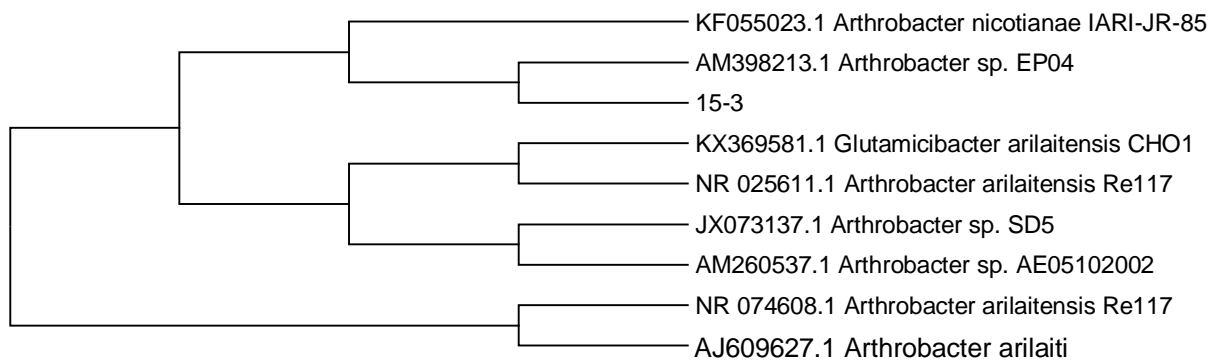
0,01F)

Г)

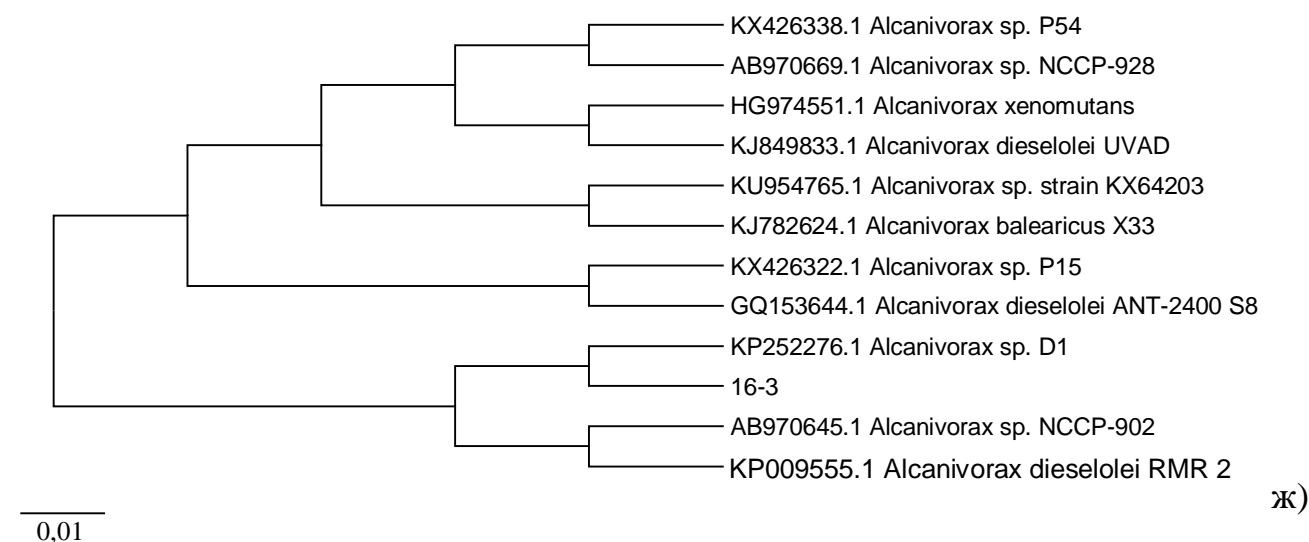
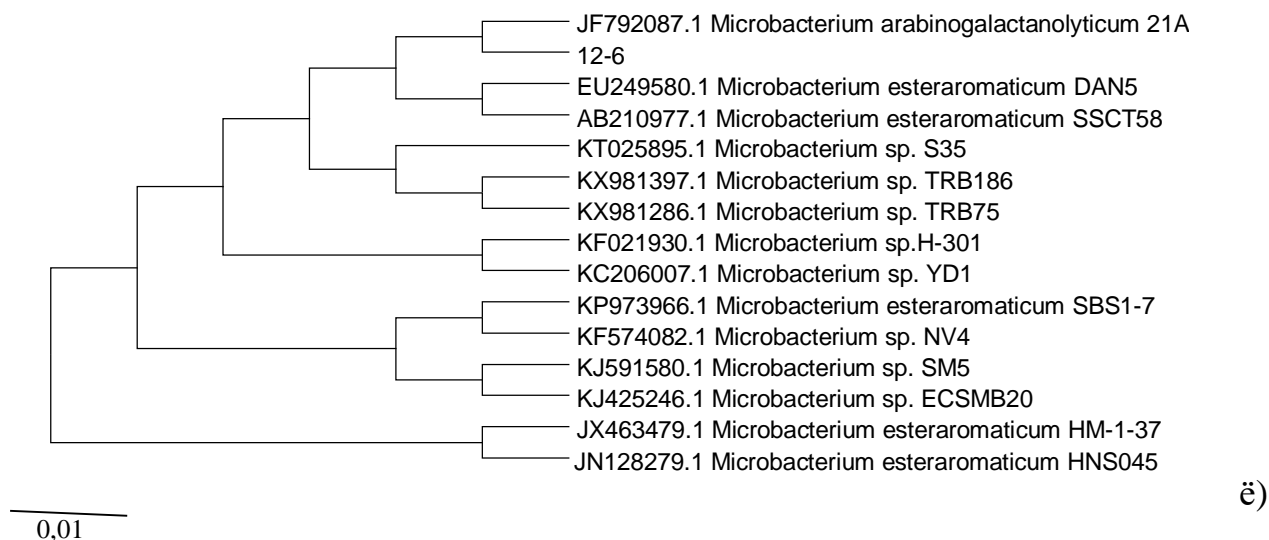
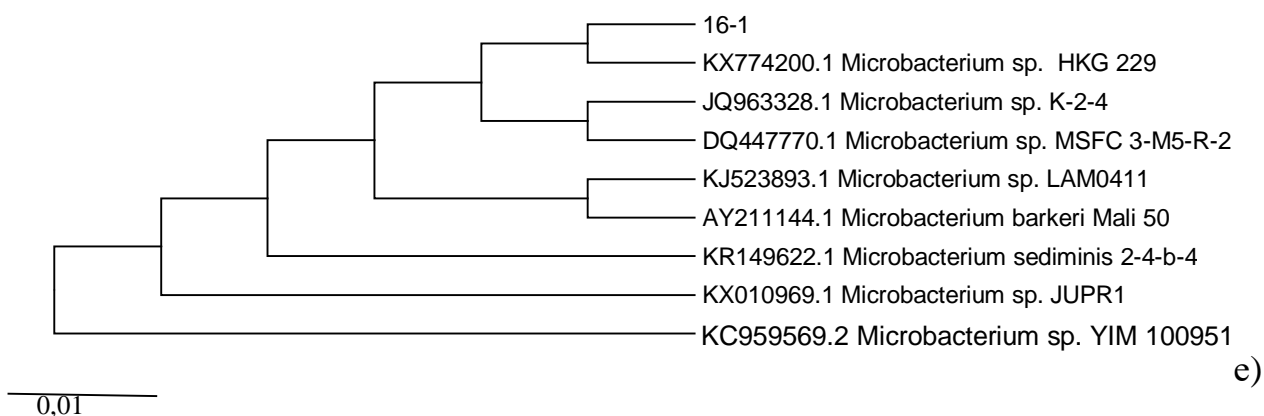


0,01

Ф)



Д)



Сурет 6 - Мұнайототықтырғыш штамдардың филогенетикалық ағашы
 Ескерту: (а) *Rhodococcus sp.* 1D/1; ә) *Rhodococcus erythropolis* 14/1;
 б) *Rhodococcus sp.* 14/3; в) *Gordonia sp.* 12/5; г) *Dietzia sp.* 13/4; ғ) *Tessaracoccus sp.* 13/8; д) *Arthrobacter sp.* 15/3; е) 12/6 *Microbacterium arabinogalactanolyticum*;
 ө) 16/1 *Microbacterium sp.*; ж) *Alcanovorax sp.* 16/3).

3.4 Микроорганизмдердің таңдалған штамдарының полициклді ароматты көмірсутектерді ыдырату қабілетін зерттеу

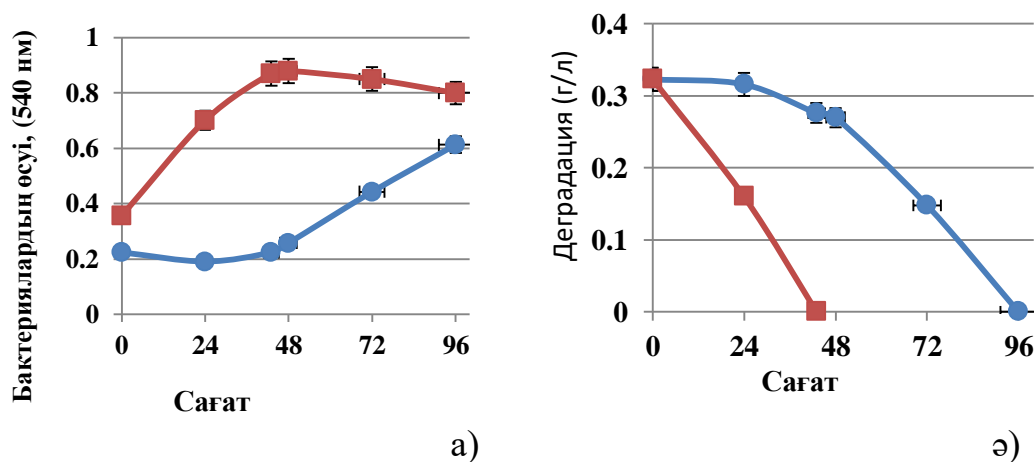
Көп жағдайда өндірістік аймақтардағы қоршаған ортаның ластануы күрделі, полихимиялық сипатта болады. Ароматты және полициклді ароматты көмірсутектерге (ПАК) кіретін ластаушы заттардың жоғарылауымен қатар, топырақ пен су объектілері басқа экстремалды факторларға, атап айтқанда, жоғары минералдануға ұшырауы мүмкін. Осы жағдайларда ПАК микробтармен жойылу мүмкіндігі бактериялардың жоғары құрамдағы тұздарға төзімділігімен және бұл жағдайда биодеградациялық қасиеттерді көрсету қабілетімен анықталады [214].

Фенол және фенол қосылыстары өте улы және канцерогенді болып табылады және олардың биодеградациясы қоршаған ортаны қорғау ережелерін сақтау үшін қажет. Көптеген ғылыми мақалаларда микроорганизмдер көміртегі көзі ретінде ароматты көмірсутектерді, соның ішінде фенолдар мен фенолды қосылыстарды пайдаланатыны көрсетілген [214, 215, 216].

Әрі қарайғы зерттеулер таңдалған мұнайотықтырғыш микроорганизмдердің ароматты көмірсутектерді ыдырату қабілетін зерттеумен байланысты болды. Тәжірибе Болгария мемлекеті, София қаласындағы БҒА С.Ангелов атындағы Микробиология институтында ғылыми тағылымдамадан өту кезінде жүргізілді.

Таңдалған штамдардың ароматты қосылыстарды ыдырату қабілеті көміртегі мен энергияның жалғыз көзі ретінде 0,3 г/л көлемінде фенол және фенол қосылыстары (катехол (1,2-дигидроксибензол), орто-, пара-, мета-крезол) қосылған ВД минералды қоректік ортада (30 мл) зерттелді.

Фенолдың деструкциясы. Зерттеу нәтижелері фенолдың тек 2 штаммен ыдырағанын көрсетті: *Gordonia sp.* 12/5 және *Rhodococcus erythropolis* 14/1. Сонымен қатар *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штаммының фенолды жою жылдамдығы жоғары болды: 48 сағаттан кейін ол толығымен жойды [217]. (Сурет -7).

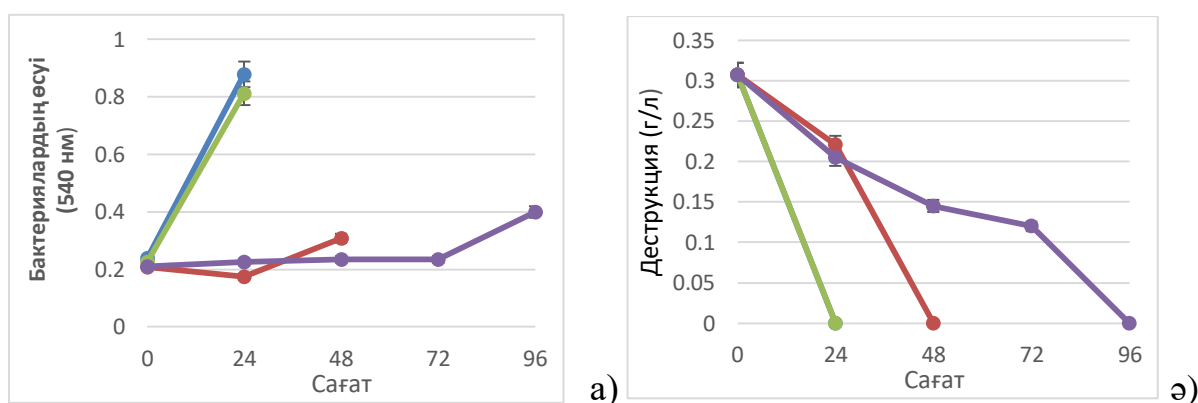


Сурет 7 - Штамдардың фенолда өсуі (а) мен фенолды деградациялауы (ә): *Rhodococcus erythropolis* 14/1 (■) және *Gordonia sp.* 12/5 (●).

Gordonia sp. 12/5 штаммы фенолдың толық 96 сағаттан кейін ыдыратты. Бұл деректер биомассаның өсуімен сәйкес келеді. Осылайша, зерттелетін штамдардың биомассасының ең үлкен өсуі сол уақыт аралықтарында байқалды.

Фенолды жоюдың көптеген белгілі физикалық және химиялық әдістерінен басқа, ағынды сулар мен топырақты тазартуда биологиялық әдістер маңызды рөл атқарады. Химиялық әдістерге келетін болсақ, фенолды және оның туындыларын ыдырату үшін жетілдірілген тотығу процестері кеңінен қолданылады [218, 219]. Физика-химиялық әдістермен салыстырғанда биологиялық әдістердің салыстырмалы түрде төмен өңдеуге кететін шығындары және екіншілік ластаушы заттардың түзілуін барынша азайтуға байланысты артықшылықтары бар [220, 221]. Сондықтан фенолдың микроорганизмдермен биодеградациясы көптеген зерттеулердің нысаны болды.

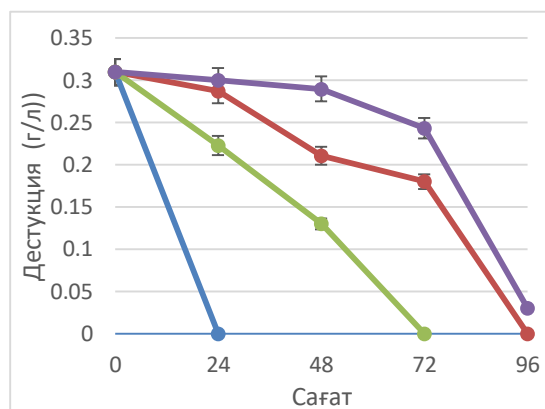
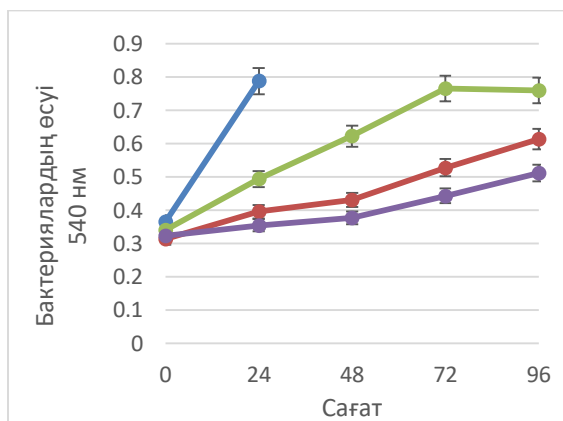
Катехолдың деструкциясы. Катехолда 4 штамм белсенді өсті: *Rhodococcus sp.* 1D/1, *Gordonia sp.* 12/5, *Rhodococcus erythropolis* 14/1 және *Arthrobacter sp.* 15/3. 24 сағ. кейін *Rhodococcus sp.* 1D/1 мен *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамдарының әсерінен және 48 сағ. кейін *Gordonia sp.* 12/5 әсерінен субстраттың толық жойылуы байқалды [222]. *Arthrobacter sp.* 15/3 штаммы 96 сағ. кейін катехолдың 85% ыдыратты (Сурет -8).



Сурет 8 - Штамдардың катехолда өсуі (а) мен катехолды деструкциялауы (ә): *Rhodococcus sp.* 1D/1 (●), *Gordonia sp.* 12/5 (●), *Rhodococcus erythropolis* 14/1 (●) және *Arthrobacter sp.* 15/3 (●).

Пара-, мета-, орто-крезолдардың деструкциясы.

Зерттеу нәтижелері 4 штамның пара-крезолды да ыдыратқанын көрсетті: *Gordonia sp.* 12/5, *Rhodococcus sp.* 1D/1, *Rhodococcus erythropolis* 14/1 және *Dietzia sp.* 12/7. Субстраттың толық жойылуы 24 сағ. кейін *Gordonia sp.* 12/5 штамының әсерінен және 72 сағ. кейін *Dietzia sp.* 12/7 штамы әсерінен байқалды. *Rhodococcus sp.* 1D/1 штамы пара-крезолды 96 сағ. кейін толығымен ыдыратты. Сондай-ақ, *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамы пара-крезолды 96 сағ. кейін ішінара 91% ыдыратты (Сурет - 9).

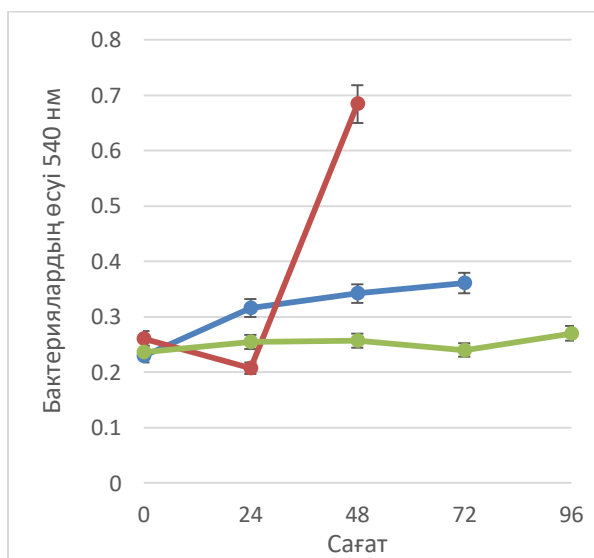


а)

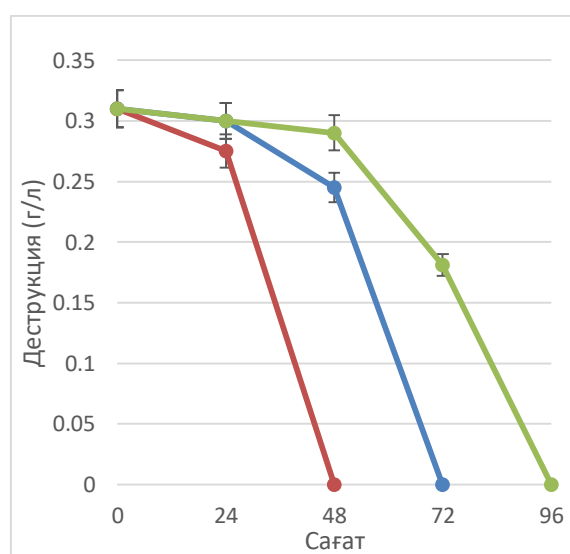
ә)

Сурет 9 - Штамдардың п-крезолда өсуі (а) мен п-крезолды деградациялауы (ә): *Gordonia sp. 12/5* (●), *Dietzia sp. 12/7* (●), *Rhodococcus sp. 1D/1* (●) және *Rhodococcus erythropolis 14/1* (●).

Мета-крезолда үш штамм өсті: *Gordonia sp. 12/5*, *Rhodococcus sp. 1D/1* және *Rhodococcus erythropolis 14/1*. *Gordonia sp. 12/5* штаммының әсерінен 48 сағ. кейін, штамм *Rhodococcus sp. 1D/1* - 72 сағ. және *Rhodococcus erythropolis 14/1* штаммы ішінара - 96 сағ. субстраттың толық жойылуы байқалды (Сурет - 10).



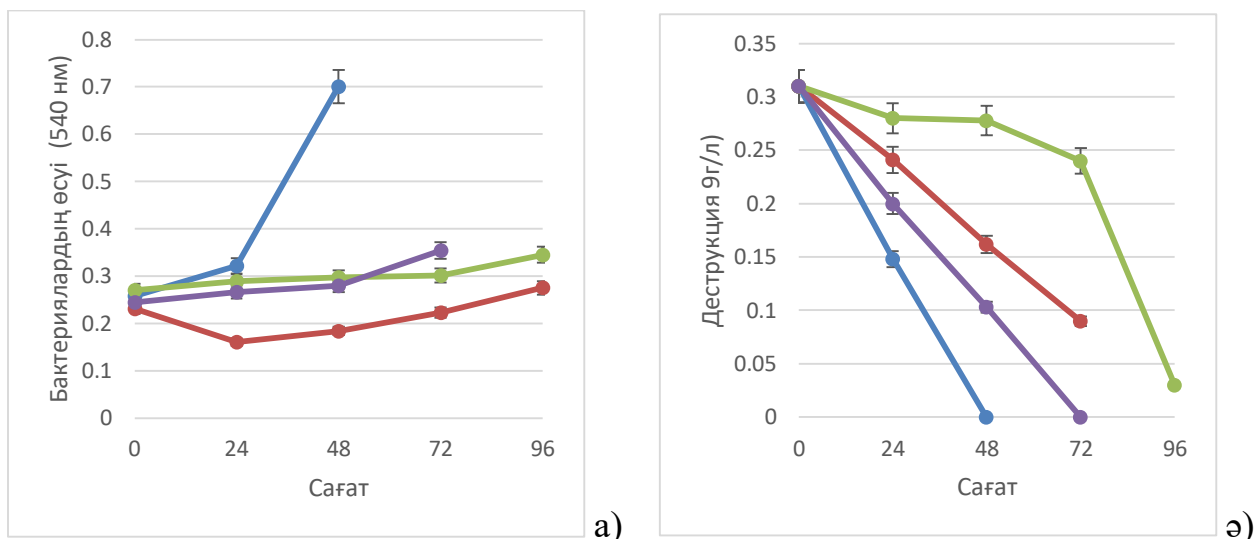
а)



ә)

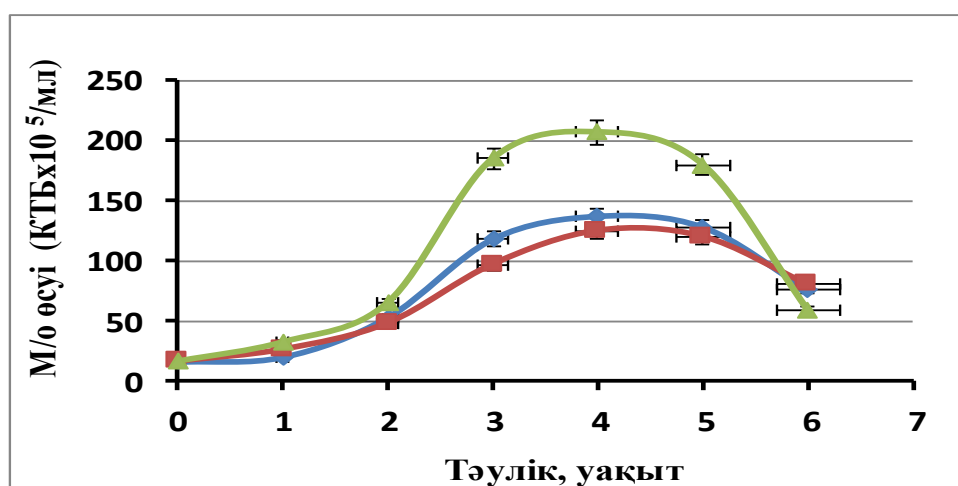
Сурет 10 – Штамдардың м-крезолда өсуі (а) мен м-крезолды деградациялауы (ә): *Gorgonia sp. 12/5* (●), *Rhodococcus sp. 1D/1* (●) және *Rhodococcus erythropolis 14/1* (●).

Орто-крезолда 4 штамм белсенді өскен: *Gorgonia sp. 12/5*, *Rhodococcus erythropolis 14/1*, *Dietzia sp. 12/7* және *Rhodococcus sp. 1D/1*. *Gorgonia sp. 12/5* штаммының әсерінен 48 сағаттан кейін субстраттың толық жойылуы байқалды. 72 сағаттан кейін *Rhodococcus erythropolis 14/1* штаммы орто-крезолды толықтай, ал *Dietzia sp. 12/7* штаммы 91% ыдыратты. *Rhodococcus sp. 1D/1* штаммы орто-крезолды 96 сағаттан кейін 97% ыдыратты. (Сурет - 11).



Сурет 11 – Штамдардың о-крезолда өсуі (а) мен о-крезолды деградациялауы (ә): *Gorgonia sp.* 12/5 (●), *Rhodococcus erythropolis* 14/1 (●), *Dietzia sp.* 12/7 (●) және *Rhodococcus sp.* 1D/1 (●).

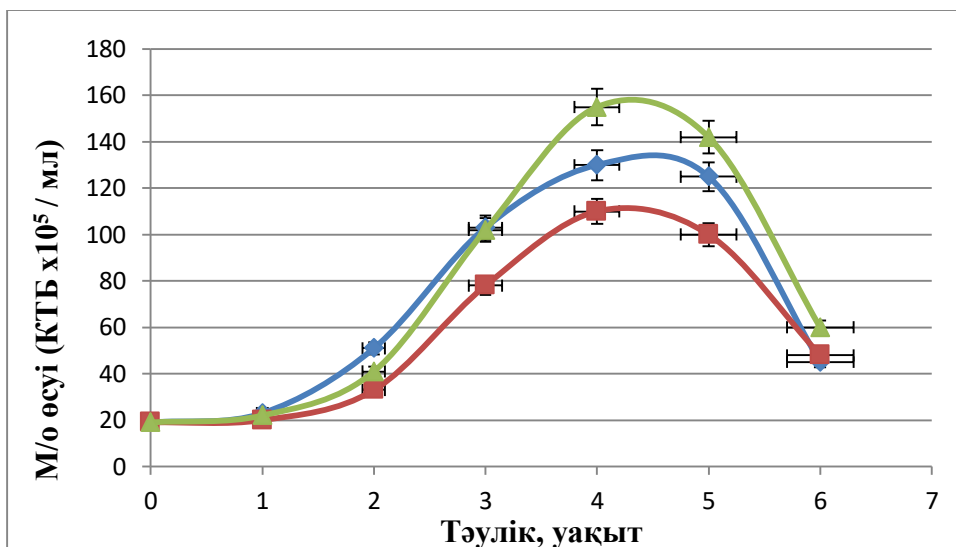
Мұнай тотықтырғыш штамдардың ПАК (нафталин, антрацен, фенантрен) өсуі. Таңдалған штамдардың сұйық ВД қоректік ортада 0,2 г/л нафталин, антрацен және фенантрен бірге өсу қабілеттері зерттелді. Оның ішінде тек 3 штамм ғана зерттелген көмірсутектерді игеруге (ассимиляциялауға) қабілетті. *Rhodococcus sp.* 1D / 1, *Gordonia sp.* 12/5 және *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамдары барлық үш субстратта өсудің 4-ші күні биомассаның максималды өсімін көрсетті (12-14-сурет). Сонымен бірге биомассаның ең көп өсуі фенантренде байқалды. Биомасса *Rhodococcus sp.* 1D/1 және *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамдарында 11-11,5 есеге, *Gordonia sp.* 12/5 штаммында - 8 есеге жоғарылады.



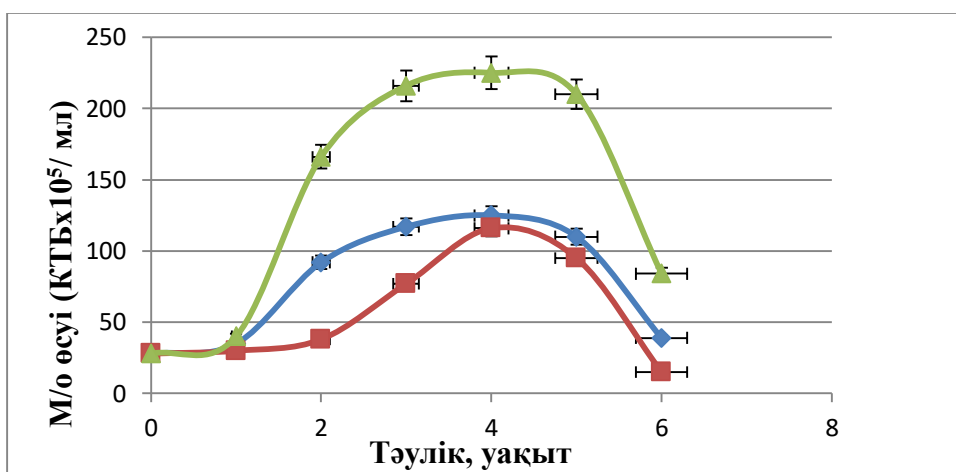
Сурет 12 - *Rhodococcus sp.* 1D/1 штаммының (●) нафталинде, (●) антраценде және (●) фенантренде өсуі.

Rhodococcus sp. 1D/1 штаммы антрацен мен нафталинде де ең үлкен белсенділік көрсетті, оның биомассасы сәйкесінше 7,5 және 8 есе өсті [223]. *Gordonia sp.* 12/5 штаммыда антрацен мен нафталинде өсуде жақсы белсенділік

көрсетті, биомассасы нафталинде 6,7 есеге, антроподе 5,5 есе өскені байқалды. *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штаммы қатты белсенділік көрсете алмады, осы субстраттарда өсуі кезінде биомассасы 4,1 және 4,5 есеге өсті.



Сурет 13- *Gordonia sp.* 12/5 штаммының (●) нафталинде, (●) антраценде және (●) фенантренте өсуі.



○ Сурет 14 - *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штаммының (●) нафталинде, (●) антраценде және (●) фенантренте өсуі.

Алкандар, алкендер, ароматты, полициклді ароматты көмірсутектер және олармен байланысты туындылар аз мөлшерде табиғи жағдайда кең таралған. Сондықтан қоршаған ортадағы көптеген деструктор микроорганизмдер бұл заттарды көміртегінің көзі ретінде пайдаланады [224, 225, 226].

Барлық таңдалған мұнайотықтырғыш белсенді штамдардың ішінен үш штаммы *Gordonia sp.* 12/5, *Rhodococcus erythropolis* 14/1 және *Rhodococcus sp.* 1D/1 жоғары ыдырату потенциалына ие және ароматты көмірсутектерді толық ассимиляциялауға қабілетті. *Gordonia sp.* 12/5 және *Rhodococcus erythropolis* 14/1 штамдары барлық зерттелген ароматты көмірсутектерде өсті. *Rhodococcus sp.* 1D/1 тек фенолда өспеді, бірақ ПАК-ге қатысты ең жоғары белсенділік көрсетті.

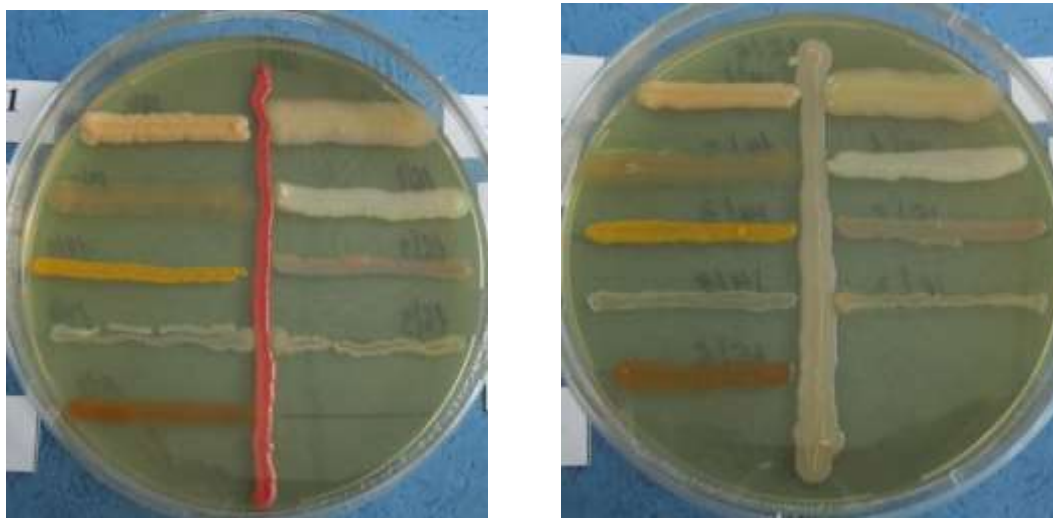
3.5 Көмірсутектерді белсенді деструкциялауға қабілетті мұнайтотықтырғыш бактериялар ассоциациясын құру

Көп жағдайда қоршаған ортаны мұнай көмірсутектерінен тазарту үшін берілген биотехнологияларда көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің жеке штамдарының да, бактериялық консорциумдардың да өміршен жасушалары бар биопрепараттар қолданылады. Мұнай мен мұнай өнімдерін биодеградациялау тиімділігін арттыру үшін көбінесе екі немесе одан да көп микроорганизмдерден тұратын аралас штамдар қолданылатыны белгілі. Ассоциация құрамына кіретін микроорганизмдердің әртүрлі ферменттік жүйелерге ие бола отырып, бірлескен әрекетімен көмірсутектерді жоғары тиімділікпен ыдыратуға қабілетті екенін атап өткен жөн [227].

3.5.1 Ассоциацияларын құру үшін таңдалған белсенді штамдардың арасындағы биологиялық үйлесімділікті анықтау

Қызылорда облысының ластанған топырақтарын биоремедиациялауға перспективті ассоциацияларын құру мақсатында мұнайтотықтырғыш микроорганизмдердің тұрақты және тиімді ассоциацияларын алу үшін серіктес штамдарға іріктеу жүргізілді. Келесі штамдар зерттелді: *Rhodococcus sp.* 1D/1; *Gordonia sp.* 12/5; *Microbacterium arabinogalactanolyticum* 12/6; *Dietzia sp.* 12/7; *Dietzia sp.* 13/4; *Tessaracoccus sp.* 13/8; *Rhodococcus erythropolis* 14/1; *Pseudomonas sp.* 14/2; *Rhodococcus sp.* 14/3; *Arthrobacter sp.* 15/3; *Microbacterium sp.* 16/1; *Alcanovorax sp.* 16/3.

Штамдарды таңдау үшін мұнай-деструктивті белсенділіктің жоғарылауымен сипатталатын штамдар арасындағы антагонизмнің болуы немесе болмауы зерттелді. Антагонистік белсенділік перпендикулярлық штрихтау әдісімен анықталды [186]. Сыналатын штамм (доминант) диаметрі бойына штрих түрінде егілді, тест-объектілері (ассоцианттар) паралельді түрде егілді (Сурет - 15). Өсу 24, 48 сағаттан 28⁰С термостатта жүргізілді.



Сурет 15 - Белсенді штамдардың арасындағы биологиялық үйлесімділік.

Өсудің тежелу аймақтарын есепке алу 24, 48 сағаттан кейін жүргізілді. Суреттен көріп отырғанымыздай зерттеліп отырған мұнай тотықтырғыш микроорганизмдердің штамдары ешқайсы бір-біріне антагонистік белсенділік танытпады, бір-біріне өзара төзімділігін көрсетті [228]. Бұл қасиет олардың бірлесіп өсіруіне ықпал етеді.

3.5.2 Мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер ассоциацияларының мұнай және мұнай өнімдерінде өсуін зерттеу.

Мұнайдың құрамына әртүрлі химиялық қосылыстардың көп мөлшері кіретіндіктен және бір штамм осы компоненттердің биодеградациясына қажетті ферменттердің барлық спектрін иелене алмайтындықтан, микроорганизмдер штамдарының ассоциацияларын қолдану қажет болады. Тұтынылатын заттардың спектрі бойынша ерекшеленетін ластанған субстратқа бірнеше штамдарды енгізу мұнайды тиімдірек деструкциялауға мүмкіндік береді [229].

Таңдалған штамдардың екі модельдік комбинациясынан тұратын және табиғи көздерден бөлініп алынған бактериялық консорциумдарды қолдану, көптеген авторлардың пікірінше, монокультураларды қолданудан гөрі орынды [136, 140, 230].

Мұнай және мұнай өнімдерінің құрамындағы көмірсутектердің барлығы дерлік микробиологиялық процестерге ұшырауы мүмкін. Топырақтың микрофлорасы көмірсутектерді көмірқышқыл газы мен суға тотықтыра алады.

Мұнай және мұнай өнімдерін деструкциялауға қабілетті микроорганизмдердің әртүрлілігі жоғары бәсекелестікке және мұнай және мұнай өнімдерінің әр түрлі фракцияларының деградациялануының көптеген жолдарына байланысты. Сондықтан мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақты биоремедиациялау үшін деструктор көмірсутек тотықтырғыш штамдардан белсенді тиімді көмірсутек тотықтырғыш ассоциациялар құрған тиімді.

Келесі зерттеу жұмыстарымыз үшін таңдалған белсенді көмірсутек тотықтырғыш қасиеттері 12 штамдар негізінде 9 ассоциация олардың ішінде 2 моноштамнан тұратын 1 ассоциация; 3 моноштамнан тұратын 4 ассоциация және 4 моноштамнан тұратын 2 ассоциация құрылды. Ассоциацияларды құрастыру кезінде бактериялардың моноштамдары 48 сағат ішінде БПА – бесендірілді, содан кейін екі штамм қолданылса 1:1, үш штамм болса 1:1:1 және төрт штамм болғанда 1:1:1:1 қатынасында сәйкесінше арластырылды. Алынған ассоциацияларды қоректік орта көлемінен минералды ортаға 10 % мөлшерінде инокулят ретінде енгізілді.

Ассоциациялардың деструкциялау белсенділігі 3% мұнай және мұнай өнімдерімен (мазут, дизельдік отын, қозғалтқыш майлары №1, 2) минералды ВД ортада 14 тәулік бойы 28⁰С термостат-шейкерде өсірілді. Зерттеу нәтижелері таңдалған бактерия ассоциациялары мұнайды - 44,5-83,9%, мазутты – 38,7-81,9%, дизельді отынды – 38,3-74,5% ыдырататының көретті [228]. Зерттелген ассоциациялар қозғалтқыш майларында өсу кезде төмен белсенділік көрсетті (9-кесте).

Кесте – 9 Мұнайтотықтырғыш микроорганизмдер ассоциацияларының 3% көмірсутектерді (мұнай, мазут, дизельдік отын) деструкциялауы

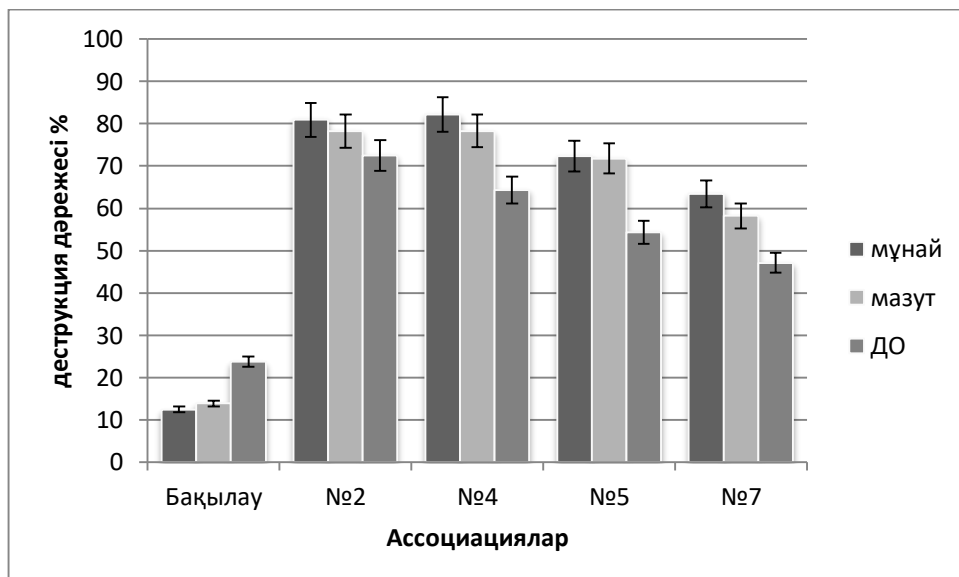
№ асс.	Ассоциациялар	Деструкция дәрежесі, %		
		мұнай	мазут	ДО
1	<i>Gordonia sp.</i> 12/5 + <i>Microbacterium sp.</i> 16/1 + <i>Alcanovorax sp.</i> 16/3	49,7	48,4	42,2
2	<i>Rhodococcus sp.</i> 1D/1 + <i>Tessaracoccus sp.</i> 13/8 + <i>Dietzia sp.</i> 13/4	82,8	81,8	70,1
3	<i>Arthrobacter sp.</i> 15/3 + <i>Microbacterium arabinogalactanolyticum</i> 12/6 + <i>Rhodococcus sp.</i> 14/3	47,8	39,1	51,7
3	<i>Arthrobacter sp.</i> 15/3 + <i>Microbacterium arabinogalactanolyticum</i> 12/6 + <i>Rhodococcus sp.</i> 14/3	47,8	39,1	51,7
4	<i>Gordonia sp.</i> 12/5 + <i>Rhodococcus erythropolis</i> 14/1 + <i>Arthrobacter sp.</i> 15/3 + <i>Dietzia sp.</i> 12/7	83,9	81,9	74,5
5	<i>Dietzia sp.</i> 12/7 + <i>Tessaracoccus sp.</i> 13/8 + <i>Dietzia sp.</i> 13/4	78,1	69,5	60,7
6	<i>Gordonia sp.</i> 12/5 + <i>Microbacterium sp.</i> 16/1 + <i>Rhodococcus sp.</i> 14/3 + <i>Tessaracoccus sp.</i> 13/8	58,7	53,3	47,2
7	<i>Rhodococcus erythropolis</i> 14/1 + <i>Gordonia sp.</i> 12/5	66,2	61,5	56,8
8	<i>Rhodococcus sp.</i> 1D/1 + <i>Gordonia sp.</i> 12/5 + <i>Microbacterium arabinogalactanolyticum</i> 12/6	50,9	41,2	42,8
9	<i>Rhodococcus erythropolis</i> 14/1 + <i>Rhodococcus sp.</i> 14/3 + <i>Alcanovorax sp.</i> 16/3	44,5	38,7	38,3
	Бақылау	13,1	15,3	24,4
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$				

Белсенділік төрт ассоциация: 2, 4, 5 және 7 көрсетті. Қалғандарының белсенділігі төмен болды. Үш штамнан тұратын 2-ассоциация және төрт штамнан тұратын 4-ассоциация шамамен бірдей деңгейде мұнай және мұнай өнімдерін инкубацияның 14 тәулігінде деструкциялады: мұнай мен мазут – 80%-дан жоғары, дизельдік отын – 70%-дан жоғары болды. 5-ассоциация бойынша мұнай, мазут және дизель отынын деструкциялау 78,1; 69,5 және 60,7%, ал осы уақыт аралығында 7 - ассоциация бойынша сәйкесінше - 66,2; 61,5 және 56,8% құрады. Бұл ретте мұнайдың қоректік ортадағы табиғи азаяуы 13,1%, мазут 15,3% және дизельді отын 24,4% құрады. Белсенділік көрсеткен төрт ассоциацияны ары қарай көмірсутектотықтырғыш белсенділігін анықтау бойынша зерттеулер жүргізілді.

3.5.3 Ассоциациялардың көмірсутектотықтырғыш белсенділігін анықтау

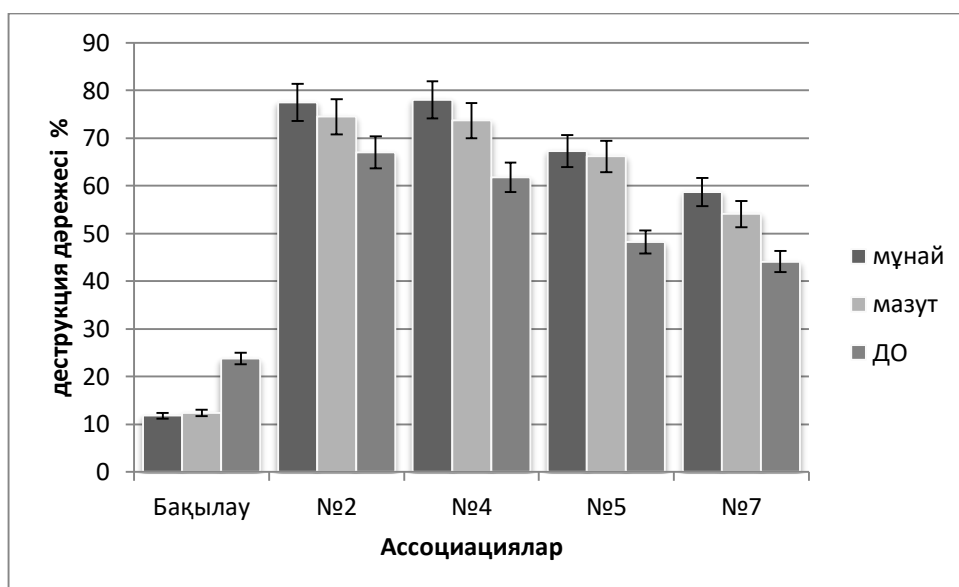
Көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің ассоциацияларын таңдау нәтижесінде ең тиімді төрт ассоциация анықталды (2, 4, 5 және 7). Қоректік ортада мұнайдың, мазуттың және дизельдік отынның жоғары концентрациясында олардың деструктивті қызметін зерттеу мақсатқа сай болды. Ассоциациялар 5 және 7% мұнай, мазут және дизель отыны бар ВД минералды минералды ортада өсірілді.

Мұнай мен мұнай өнімдерінің минералды ВД ортадағы сандық шығынын зерттеу 5% мөлшеріндегі мұнайды 63,4 – 82,2%, мазут – 58,2 – 78,3% және дизельдік отын – 47,1 – 72,5% деструкциялағанын көрсетті (Сурет -16). 5% ластануда 2 және 4 ассоциациялардың белсенділігі іс жүзінде өзгермегені және 3% ластанудағы деструктивті деңгейін сақтап отырғаны байқалды. 5 және 7 ассоциациялардың белсенділігі дизельдік отынмен инкубациялау кезінде сәйкесінше 54,3 және 47,1-ге дейін аздап төмендеді.



Сурет 16 – Ассоциациялардың 5% көмірсутектерді деструкциялауы

Зерттелетін ассоциациялардың белсенділігінің анағұрлым маңызды өзгерістері мұнай және мұнай өнімдері концентрациясының жоғарылауында олардың минералды ортадағы 7% концентрациясында болды (Сурет - 17). Мұнайдың жойылуы 58,7 - 78,0%, мазут 54,1 - 74,5% және дизельдік отын 44,1 - 67,1% құрады. Қоректік ортада мұнай мен мұнай өнімдерінің мөлшері 7% болғанда, концентрацияның жоғарылауымен белсенділіктің айтарлықтай төмендеуі 7-ассоциацияны өсіру кезінде байқалды. Оның әсерінен мұнайды ыдыратуы 58,7%, мазутты 54,1% және дизельдік отынды 44,1% құрады. 2-ші және 4-ші ассоциациялар 3% және 5% ластану кезіндегі ең жоғары деструктивті белсенділікті көрсетті. Олардың әсерінен мұнай мен мазут шығыны 70%-дан, ал дизельдік отын 60%-дан асты.



Сурет 17 – Ассоциациялардың 7% көмірсутектерді деструкциялауы

Осылайша, таңдалған белсенді деструктор-микроорганизмдер негізінде мұнайды, сондай-ақ мазут пен дизельдік отынды белсенді деструкциялай алатын ассоциациялар құрастырылды. Ең тиімдісі *Rhodococcus sp.* 1D / 1, *Tessaracoccus sp.* 13/8, *Dietzia sp.* 13/4 (№2 Ассоциация ары қарай Ассоциация I) және *Gordonia sp.* 12/5, *Rhodococcus erythropolis* 14/1, *Arthrobacter sp.* 15/3, *Dietzia sp.* 12/7 (№4 Ассоциация ары қарай Ассоциация II) бактериялардан тұратын екі ассоциация болды. Минералды ортадағы 3% және 5% концентрациядағы мұнай, мазут, дизельді отынның 14 тәулік өсуінде, оларды Ассоциация I - 80% жоғар деструкциялады. Ассоциация II мұнай мен мазутты 70% жоғары, ал дизельді отынды 70% жоғары деструкциялады. Мұнай және мұнай өнімдерінің концентрациясы 7%-ға дейін ұлғайған кезде бұл ассоциациялардың белсенділігі төмендеді.

3.6 Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақты тазалау үшін белсенді ассоциациялармен зертханалық модельдік тәжірибелер жүргізу

Топырақтың мұнай және мұнай өнімдерімен ластану нәтижесінде топырақтың азот режимінің бұзылуы негізгі қоректік заттардың мөлшерінің төмендеуіне әкеледі. Топырақты биогенді элементтермен - азотпен, фосформен және калиймен қамтамасыз ету мұнай мен мұнай өнімдерінің деструкциялау қарқындылығын тездетеді. Мұнаймен ластанған топырақтарға көмірсутектердің деструкциясын ынталандыратын топыраққа минералды тыңайтқыштарды енгізу арқылы толықтыру қажет. Бұл процесс органикалық тыңайтқыштармен бірге құрамында NPK бар тыңайтқыштар кешенін қолданғанда өте тиімді жүреді [136, 137].

Бізде зерттеу жұмысымызда зертханалық модельдік тәжірибемізді белсенді ассоциациялармен бірге органоминералды тыңайтқыштарды (NPK + көң) бірге енгізу арқылы жүргіздік.

3.6.1 Белсенді ассоциациялардың ластанған топырақты тазарту дәрежесін анықтау.

Топырақтағы мұнай мен мұнай өнімдерін деструкциялау бойынша модельдік тәжірибені жүргізу үшін келесі ассоциациялар таңдалды:

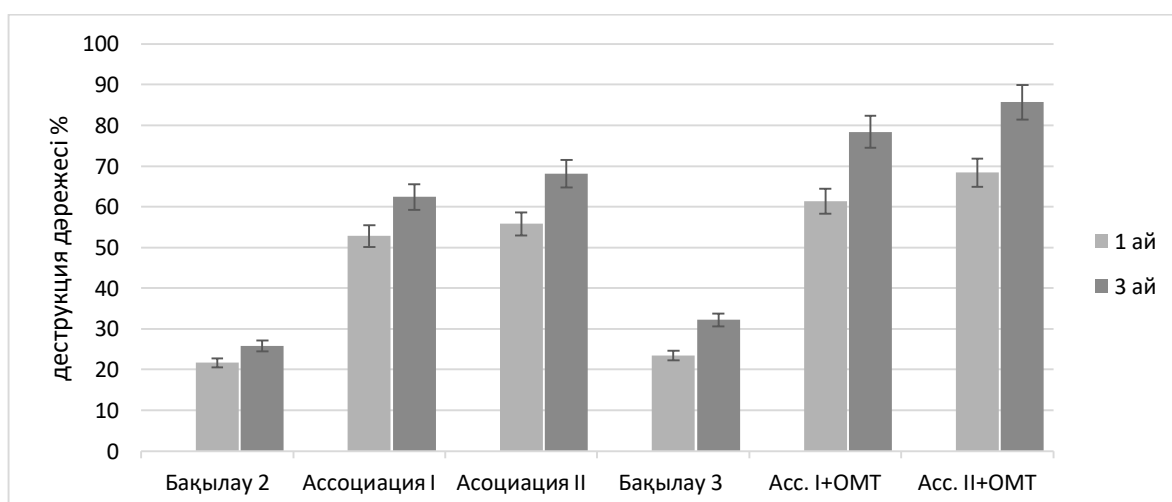
Ассоциация I - *Rhodococcus sp.* 1D/1, *Tessaracoccus sp.* 13/8, *Dietzia sp.* 13/4;

Ассоциация II - *Gordonia sp.* 12/5, *Dietzia sp.* 12/7, *Rhodococcus erythropolis* 14/1, *Arthrobacter sp.* 15/3.

Модельдік тәжірибе үшін Құмкөл кен орнынан алынған таза топырақтан 300 г алынған топырақты, мұнай және мұнай өнімдерімен (мазут, дизельдік отын) көлемі бойынша 5 және 10 % мөлшерінде жасанды түрде ластанды. Микроорганизмдер ассоциацияларының суспензиясы 5 мл мөлшерінде - титрі 10^9 КТБ/г енгізілді.

Топырақтың биогенді элементтермен - азотпен, фосформен және калиймен қамтамасыз етілуі мұнай және өнімдерін өңдеуде олардың ыдырау жылдамдығын анықтайтын маңызды фактор екені белгілі. Биогенді заттардың жетіспеушілігін топыраққа минералды тыңайтқыштарды енгізу арқылы толтыру керек. Көмірсутектердің ең қарқынды ыдырауы құрамында NPK бар тыңайтқыштар кешенін көңмен бірге енгізгенде болады [156, 231]. Әдебиеттердегі мәліметтер бойынша [138, 232] азот-фосфор тыңайтқышымен өңдеу аборигендердің мұнай тотықтырғыш микрофлорасын ынталандыратыны белгілі. Сондықтан тәжірибеде ассоциациялармен бірлесіп органоминералды тыңайтқыштарды (азофоска (нитроаммофоска) және көн) қолдандық.

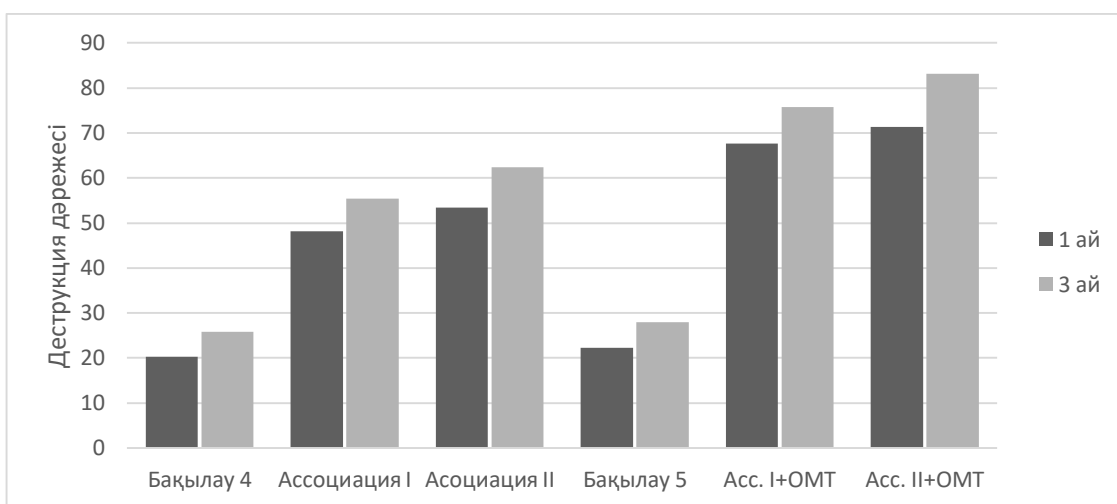
1 және 3 айдан кейін таңдап алынған ассоциациялар мен ОМТ қосылған ассоциациялардың көмегімен топырақтың мұнай мен мұнай өнімдерінен тазартылу дәрежесі анықталды. Зерттеу нәтижелері тек ассоциациялар бар нұсқаларда топырақтағы мұнайдың жойылу дәрежесі оның 5% мөлшерінде 1 айдан кейін 52,8-55,8% және 3 айдан кейін 62,4-68,1% құрайтынын көрсетті. Бақылау үлгілерінде мұнайдың мөлшері өздігінен микрофлораның дамуына байланысты сәйкесінше 21,7% және 25,8% төмендеді (Сурет - 18).



Сурет 18 – 1 және 3 айдан кейін 5% ластану кезінде белсенді ассоциацияларымен мұнайдың деструкциялану дәрежесі

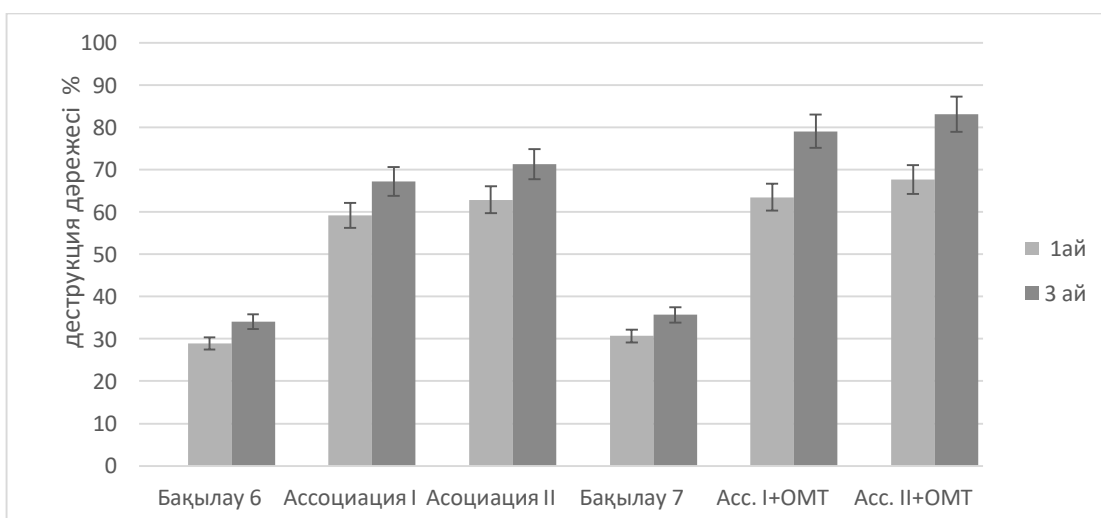
Ассоциациямен бірлесіп ОМТ енгізу топырақты мұнайдан тазарту қарқынының артуына ықпал етті. Мәселен, бір айдан кейін мұнай мөлшері 61,4-68,4%-ға, ал үш айдан кейін 78,47-85,7%-ға төмендеді. ОМТ қосылған бақылау нұсқасында топырақтағы мұнайдың жойылу дәрежесі 3 айдан кейін 8,8%-ға өсті.

Топырақтағы мазуттың жойылу дәрежесі оның 5% мөлшерінде 3 айдан кейін тек ассоциациялардың өздерін ғана енгізу кезінде 55,4-62,4% және ассоциациялар мен бірге ОМТ енгізу кезінде 75,8-83,1% құрады (Сурет - 19). Бақылау үлгілерінде осы уақыт аралығында мазут мөлшері 25,8%-ға азайған. ОМТ қосу өздігінен микрофлораның белсендірек дамуына ықпал етті, бұл тазарту дәрежесінің 5,6%-ға артуына әкелді.



Сурет 19 – 1 және 3 айдан кейін 5% ластану кезінде белсенді ассоциацияларымен мазуттың жойылу дәрежесі

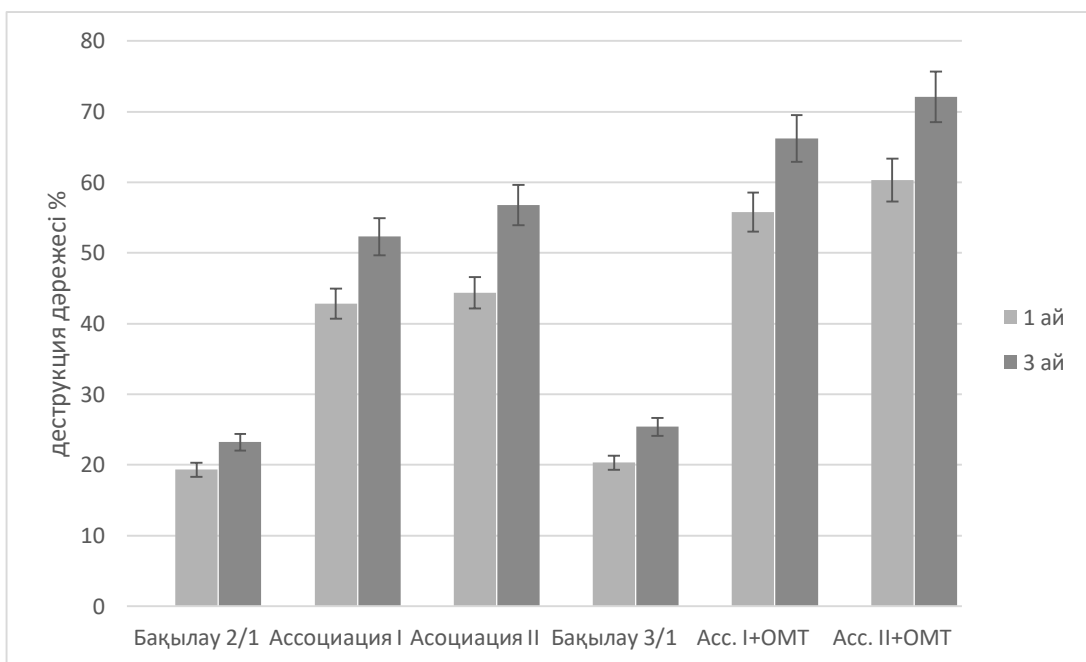
Құрамында 5% болған дизельді отынның топырақта жойылуы белсендірек болды және тәжірибелік нұсқаларда 1 айдан кейін 59,2-67,7% және 3 айдан кейін 67,2-83,1% құрады (Сурет - 20).



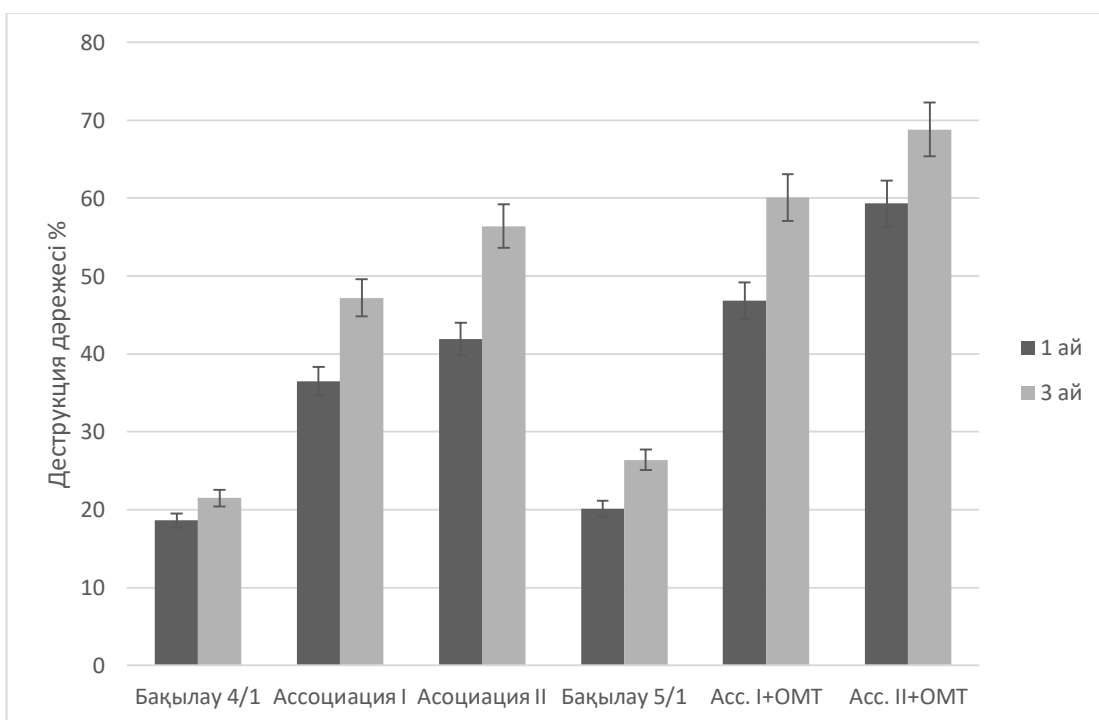
Сурет 20 – 1 және 3 айдан кейін 5% ластану кезінде белсенді ассоциацияларымен дизельді отынның жойылу дәрежесі

Бақылау үлгілерінде дизель отынының мөлшері сәйкесінше 28,9% және 34,1% төмендеді. Ластанған топыраққа ОМТ қосқанда мұнай өнімінің жойылу дәрежесі 30,7% және 35,7% дейін өсті.

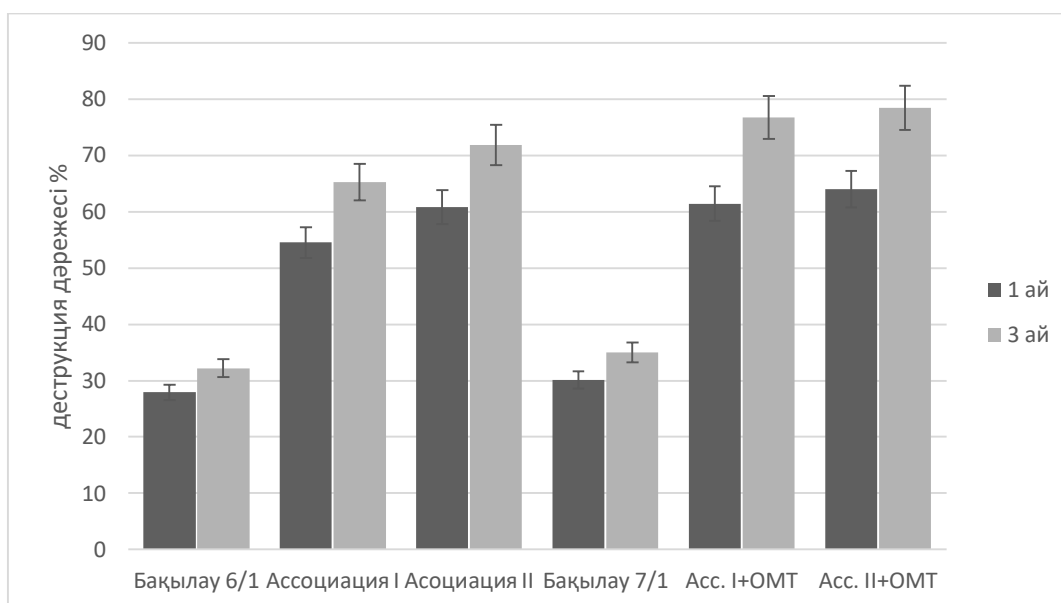
Топырақтағы мұнай мен мұнай өнімдерінің құрамының 10%-ға дейін артуы кезінде ассоциациялар өздерінің жоғары белсенділігін сақтап қалды. Үш айдағы мұнайдың төмендеуі ассоциацияларды ОМТ-сыз және ОМТ-пен бірге енгізу кезінде тиісінше 52,3-56,8% және 66,2-72,1% құрады. Осы уақыт аралығында топырақтағы мазут мөлшері 47,2-68,8%-ға, ал дизельдік отын 65,2-78,4%-ға төмендеді (Сурет - 21).



а)



ә)



б)

Сурет 21 – белсенді ассоциациялардың 1 және 3 айдан кейін 10 % ластану деңгейіндегі көмірсутектерді деструкциялау дәрежесі

Ескерту: а – мұнай, ә – мазут, б – дизельді отын.

Осылайша, тәжірибе нәтижелері мұнай және мұнай өнімдерімен 5% және 10% ластану кезінде ассоциация II ең белсенді болғанын көрсетті (*Gordonia sp.* 12/5, *Dietzia sp.* 12/7, *Rhodococcus erythropolis* 14/1, *Arthrobacter sp.* 15/3). Ассоциациялармен бірге ОМТ енгізу топырақты мұнай мен мұнай өнімдерінен тиімдірек тазартуға ықпал ететінің көрсетті.

3.6.2 Белсенді ассоциациялардың ластанған топырақтың биологиялық белсенділігіне әсерін бағалау

Модельдік тәжірибеде топыраққа көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдер ассоциацияларын енгізгеннен кейін 1 және 3 айдан кейін биологиялық белсенділікті бағалау қажет. Микроорганизмдердің жалпы саны, әдетте, топырақтың микробиологиялық белсенділігін, органикалық заттардың ыдырау жылдамдығын және минералды элементтердің айналымын анық көрсетеді. Осы көрсеткішке сүйене отырып, топырақтың мұнаймен ластану дәрежесін ғана емес, сонымен бірге оның қалпына келу мүмкіндігін, сондай-ақ табиғи жағдайларда және ластанған топырақтарды қайта қалпына келтіру кезіндегі мұнайдың деструкциялану процестерін бағалауға болады.

Зерттелетін ассоциациялардың пайдалану қабілетін анықтаумен қатар, топырақтың биологиялық белсенділігі де зерттелді. Ластанған топырақтың биоремедиациясынан кейін топырақ микрофлорасының молдығы анықталды. Топырақтың микробтық әртүрлілігін бағалау үшін әртүрлі токсаномикалық топтардың микроорганизмдерінің саны (гетеротрофты бактериялар, актиномицеттер, жіп тәрізді саңырауқұлақтар және мұнайотықтырғыш микроорганизмдер), сонымен қатар микроорганизмдер саны сияқты көрсеткіштерді таңдадық. Микроорганизмдердің осы топтарының бастапқы құрамын анықтау үшін мұнайотықтырғыш микроорганизмдердің

ассоциацияларын енгізер алдында таза топырақтан және құрамында 5%, 10% мұнай және мұнай өнімдері бар бастапқы топырақтан топырақ үлгілері алынды (Кесте -10).

Кесте 10 - Модельдік тәжірибенің басындағы микроорганизмдердің негізгі топтарының саны (таза және мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтардың бақылау нұсқалары)

Нұсқалар	Гетеротрофты бактериялар, КТБ /г	Актиномицеттер КТБ/г	Жіп тәрізді саңырау-құлақ-р, КТБ /г	КТМ, ЕЫС жас/г
Бақылау 1 (Таза топырақ)	$(6,0\pm 0,6)10^3$	$(5,6\pm 0,3)10^2$	$(2,0\pm 0,2)10^2$	-
Бақылау 2 (Топырақ + 5 % мұнай)	$(5,2\pm 0,2)10^3$	$(5,0\pm 0,3)10^2$	$(2,1\pm 0,2)10^2$	10^2
Бақылау 4 (Топырақ + 5 % мазут)	$(5,1\pm 0,4)10^3$	$(6,2\pm 0,4)10^2$	$(2,6\pm 0,3)10^2$	10^2
Бақылау 6 (Топырақ + 5 % ДО)	$(5,0\pm 0,4)10^3$	$(5,8\pm 0,4)10^2$	$(2,8\pm 0,3)10^2$	10^2
Бақылау 2 ¹ (Топырақ + 10 % мұнай)	$(5,3\pm 0,2)10^3$	$(8,0\pm 0,4)10^2$	$(3,2\pm 0,1)\times 10^2$	10^3
Бақылау 4 ¹ (Топырақ + 10 % мазут)	$(5,1\pm 0,5)10^3$	$(6,1\pm 0,4)10^2$	$(2,2\pm 0,2)10^2$	10^3
Бақылау 6 ¹ (Топырақ + 10 % ДТ)	$(4,0\pm 0,6)10^3$	$(6,2\pm 0,4)10^2$	$(3,4\pm 0,2)10^2$	10^3
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$				

10 кестеден көріп отырғанымыздай, таза топырақпен салыстырғанда, мұнай және мұнай өнімдерін (мазут және дизельді отын) енгізгеннен кейінгі бақылау нұсқаларында 7 күннен кейін гетеротрофты бактериялар, жіп тәрізді саңырауқұлақтар мен актиномицеттер санында айтарлықтай өзгерістер байқалмады. Тек көмірсутектерді енгізу көмірсутекті тотықтырғыш микроорганизмдердің дамуына ықпал етті.

Көптеген ғылыми зерттеулері бойынша мұнайдың ластануы кезінде микроорганизмдердің биомассасын өзгеруі немесе ластаушы заттардың төмен концентрациясында өліп қалу сатысы болмауы да мүмкін [21, 22].

1 айдан кейін зерттеу нәтижелері ластанбаған және мұнаймен, мазутпен, дизельді отынмен ластанған, өңдеуден өтпеген және Ассоциациялар мен

органиклық-минералдық тыңайтқыштарды енгізген топырақта микроорганизмдер санының айтарлықтай айырмашылығын көрсетті (Кесте -11).

Кесте 11 - Мұнай және мұнай өнімдерімен (5%) ластанған топырақ үлгілеріндегі микроорганизмдер саны, 1 айдан кейінгі модельдік тәжірибе

Нұсқалар	Гетеротрофты бактериялар, КТБ /г	Актиномицеттер, КТБ/г	Жіп тәрізді саңырауқұлақ-р, КТБ /г	КТМ, ЕЫС жас/г
5 % мұнай				
Бақылау 2	$(2,1 \pm 0,2)10^4$	$(7,0 \pm 0,4)10^2$	$(2,1 \pm 0,2)10^2$	10^3
Ассоциация I	$(6,0 \pm 0,3)10^5$	$(4,5 \pm 0,3)10^2$	$(1,8 \pm 0,2)10^2$	10^4
Ассоциация II	$(7,0 \pm 0,4)10^4$	$(2,0 \pm 0,2)10^2$	$(1,6 \pm 0,2)10^2$	10^5
Бақылау 3	$(3,4 \pm 0,3)10^4$	$(8,7 \pm 0,5)10^2$	$(1,8 \pm 0,2)10^2$	10^3
Ассоциация I + ОМТ	$(4,0 \pm 0,4)10^5$	$(5,4 \pm 0,4)10^2$	$(1,5 \pm 0,2)10^2$	10^4
Ассоциация II + ОМТ	$(5,0 \pm 0,5)10^5$	$(2,5 \pm 0,3)10^2$	$(1,4 \pm 0,2)10^2$	10^5
5 % мазут				
Бақылау 4	$(5,1 \pm 0,4)10^4$	$(3,2 \pm 0,3)10^2$	$(,2 \pm 0,1)10^2$	10^3
Ассоциация I	$(3,3 \pm 0,3)10^5$	$(3,0 \pm 0,3)10^2$	$(4,3 \pm 0,2)10^2$	10^4
Ассоциация II	$(4,0 \pm 0,4)10^5$	$(4,1 \pm 0,3)10^2$	$(5,2 \pm 0,2)10^2$	10^5
Бақылау 5	$(8,0 \pm 0,4)10^5$	$(8,4 \pm 0,5)10^2$	$(4,0 \pm 0,3)10^2$	10^3
Ассоциация I + ОМТ	$(5,4 \pm 0,4)10^5$	$(6,0 \pm 0,4)10^2$	$(5,3 \pm 0,2)10^2$	10^5
Ассоциация II + ОМТ	$(16,1 \pm 0,6)10^5$	$(4,0 \pm 0,3)10^2$	$(6,8 \pm 0,3)10^2$	10^5
5 % ДО				
Бақылау 6	$(10,0 \pm 0,5)10^3$	$(6,0 \pm 0,4)10^2$	$(2,4 \pm 0,3)10^2$	10^3
Ассоциация I	$(5,0 \pm 0,3)10^4$	$(1,0 \pm 0,1)10$	$(2,8 \pm 0,3)10^2$	10^4
Ассоциация II	$(9,0 \pm 0,5)10^4$	анықталмаған	$(3,0 \pm 0,2)10$	10^6
Бақылау 7	$(5,1 \pm 0,4)10^4$	$(3,0 \pm 0,2)10^2$	$(3,0 \pm 0,3)10^2$	10^3
Ассоциация I + ОМТ	$(5,0 \pm 0,3)10^5$	анықталмаған	$(4,2 \pm 0,3)10^2$	10^4
Ассоциация II + ОМТ	$(7,0 \pm 0,3)10^5$	$(2,2 \pm 0,2)10$	$(3,3 \pm 0,3)10^2$	10^5
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$				

11 кестеден көріп отырғанымыздай, бақылау нұсқаларында 5% мұнай және ОМТ енгізілгеннен кейін 1 айдан кейін гетеротрофты бактериялар, актиномицеттер және көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдер санының өсуі байқалды, ал жіп тәрізді саңырауқұлақтар саны іс жүзінде өзгерген жоқ. Сондай-ақ бақылау нұсқаларында таза топырақпен (Бақылау1) салыстырғанда гетеротрофты бактериялар, актиномицеттер және УОМ санының көбеюі байқалды.

5% мазут пен ОМТ бар бақылау нұсқасында 1 айдан кейін барлық зерттелген микроорганизмдер топтарының санының өсуі байқалды. Бұл ретте гетеротрофты бактериялар мен көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің саны реттілікпен өсті. ОМТ енгізілмеген бақылау 4 нұсқасында тек көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің саны өсті, ал актиномицеттер мен жіп тәрізді саңырауқұлақтардың мөлшері азайды.

Бақылау нұсқаларында 5% дизельдік отын енгізілгеннен кейін, ОМТ қосылған да, қосылмаған да, 1 айдан кейін гетеротрофты бактериялар мен көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдер саны артты. Актиномицеттер мен жіп тәрізді саңырауқұлақтардың саны іс жүзінде өзгеріссіз қалды, Бақылау 7-і қоспағанда, актиномицеттер саны 2 есе азайды.

Көмірсутектермен 5% ластануында ОМТ бірге Ассоциациялар мен ОМТ –сыз Ассоциацияларды енгізу арқылы топырақтағы көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің және гетеротрофты микроорганизмдердің санының динамикасы 1 және 2 реттік ұлғаюымен сипатталады. Ең жоғары мәндер $((16,1 \pm 0,6) 10^5$ КТБ/г және 10^5 ЕБС жас/г) ОМТ енгізу арқылы Ассоциация II нұсқасында (5% мазут) байқалды. Актиномицеттер ОМТ енгізілген Ассоциация I және Ассоциация II-нің барлық нұсқаларында төмендеді, тек ОМТ қосылған Ассоциация I (5% мазут) нұсқасында $((6,0 \pm 0,4) 10^2$ КТБ/г), сондай-ақ Ассоциация II (ДТ 5%) нұсқаларында өсті, және ОМТ қосылған Ассоциация I (дизельді отын 5%) нұсқасында анықталған жоқ. Жіп тәрізді саңырауқұлақтардың саны ОМТ бірге Ассоциациялар және ОМТ –сыз Ассоциациялар енгізілген барлық нұсқаларда өсті.

Кесте 12 - 1 айдан кейінгі модельдік тәжірибедегі мұнай және мұнай өнімдерімен (10%) ластанған топырақ үлгілеріндегі микроорганизмдер саны

Нұсқалар	Гетеротрофты бактериялар, КТБ /г	Актиномицеттер, КТБ/г	Жіп тәрізді саңырауқұлақ-р, КТБ /г	КТМ, ЕБС жас/г
10 % мұнай				
Бақылау 2 ¹	$(2,3 \pm 0,3) 10^4$	$(3,0 \pm 0,3) 10^2$	$(2,4 \pm 0,2) 10^2$	10^3
Ассоциация I	$(4,1 \pm 0,3) 10^4$	$(6,2 \pm 0,3) 10^2$	$(2,7 \pm 0,3) 10^2$	10^4
Ассоциация II	$(9,0 \pm 0,5) 10^4$	$(3,0 \pm 0,3) 10^2$	$(3,0 \pm 0,2) 10^2$	10^5
Бақылау 3 ¹	$(7,0 \pm 0,4) 10^4$	$(2,0 \pm 0,2) 10^2$	$(3,1 \pm 0,2) 10^2$	10^3
Ассоциация I + ОМТ	$(8,1 \pm 0,3) 10^4$	$(6,1 \pm 0,3) 10^2$	$(3,4 \pm 0,2) 10^2$	10^4
Ассоциация II + ОМТ	$(9,0 \pm 0,5) 10^4$	$(7,1 \pm 0,2) 10^2$	$(3,2 \pm 0,1) 10^2$	10^5
10 % мазут				
Бақылау 4 ¹	$(10,0 \pm 0,5) 10^3$	$(2,1 \pm 0,2) 10^2$	$(3,2 \pm 0,2) 10^2$	10^3
Ассоциация I	$(6,0 \pm 0,3) 10^4$	$(1,0 \pm 0,2) 10^2$	$(3,6 \pm 0,2) 10^2$	10^4
Ассоциация II	$(8,0 \pm 0,4) 10^4$	$(1,0 \pm 0,2) 10$	$(3,0 \pm 0,2) 10$	10^5
Бақылау 5	$(5,2 \pm 0,4) 10^4$	$(3,0 \pm 0,3) 10^2$	$(3,2 \pm 0,3) 10^2$	10^3

кестенің жалғасы

Ассоциация I + ОМТ	$(3,1 \pm 0,3)10^5$	$(6,0 \pm 0,2)10^2$	$(3,4 \pm 0,3)10$	10^4
Ассоциация II + ОМТ	$(8,0 \pm 0,4)10^5$	$(5,6 \pm 0,4)10^2$	$(3,8 \pm 0,2)10^2$	10^5
10 % ДО				
Бақылау 6 ¹	$(5,0 \pm 0,4)10^4$	$(1,2 \pm 0,2)10^2$	$(3,4 \pm 0,2)10^2$	10^3
Ассоциация I	$(4,0 \pm 0,3)10^4$	анықталмаған	$(3,8 \pm 0,1)10^2$	10^4
Ассоциация II	$(6,0 \pm 0,4)10^4$	$(1,0 \pm 0,2)10^2$	$(4,0 \pm 0,2)10^2$	10^4
Бақылау 7 ¹	$(8,3 \pm 0,5)10^4$	$(1,8 \pm 0,2)10^2$	$(3,0 \pm 0,3)10^2$	10^3
Ассоциация I + ОМТ	$(20,1 \pm 0,7)10^4$	$(3,1 \pm 0,3)10^2$	анықталмаған	10^4
Ассоциация II + ОМТ	$(11,1 \pm 0,5)10^5$	$(1,2 \pm 0,2)10^2$	$(4,0 \pm 0,2)10^2$	10^4
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$				

Бақылау нұсқаларында, 12 -кестеден көрініп тұрғандай, 10% мұнай және ОМТ енгізілгеннен кейінгі 1 айдан кейін гетеротрофты бактериялар мен көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің санының 1-2 реттік өсімі байқалды. Барлық бақылау нұсқаларында жіп тәрізді саңырауқұлақтардың саны өсті, ал барлық бақылау нұсқаларында актиномицеттер саны азайды.

Бақылау нұсқаларында 10% мазут пен ОМТ енгізілгеннен кейінгі 1 айдан кейін гетеротрофты бактериялар мен көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдер көбейіп, барлық бақылау нұсқаларында актиномицеттер саны азайған. Барлық бақылау нұсқаларында жіп тәрізді саңырауқұлақтардың саны таза топырақпен салыстырғанда өсті.

Бақылау нұсқаларында 10% дизельдік отын мен ОМТ енгізілгеннен кейін 1 айдан кейін гетеротрофты бактериялар мен КТМ саны өсті. Барлық бақылау нұсқаларында актиномицеттер саны 10% дизельдік отынды қосқанда азайған. Бақылау нұсқаларындағы жіп тәрізді саңырауқұлақтардың саны таза топырақпен салыстырғанда өсті.

Көмірсутектердің 10% ластануы кезінде ОМТ қосу арқылы ассоциациялар мен жеке ассоциацияларды енгізу арқылы топырақтағы көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің және гетеротрофты микроорганизмдердің санының динамикасы 1 және 2 реттік ұлғаюымен сипатталады. Ең жоғары мәндер $(8,0 \pm 0,4) 10^5$ КТБ/г және 10^5 ЕБІС жас/г ассоциация II + ОМТ енгізілген топырақ нұсқаларында (Мазут 10%) анықталды. Актиномицеттер ОМТ бірге қосылған ассоциациялар мен ОМТ-сыз ассоциациялар енгізілген барлық нұсқалар бойынша төмендеді, тек ассоциация I (мұнай 10%) - $(6,2 \pm 0,3) 10^2$ КТБ/г, ассоциация I + ОМТ (мұнай 10%) - $(6,1 \pm 0,3) 10^2$ КТБ/г, ассоциация II + ОМТ (мұнай 10%) - $(7,1 \pm 0,2) 10^2$ КТБ/г) нұсқаларында өсті, сондай-ақ ассоциация I (ДО 10%) нұсқасында табылмады. Сондай-ақ ОМТ бірге қосылған ассоциациялар мен ОМТ-сыз ассоциациялар енгізілген барлық нұсқаларында

жіп тәріздес саңырауқұлақтар өсті, тек ассоциация I + ОМТ (ДТ 10%) нұсқаларында таза топырақпен (Бақылау1) салыстырғанда анықталмады.

3 айдан кейін 5% мұнай, мазут және дизельді отын концентрациясының барлық бақылау нұсқаларында гетеротрофты бактериялардың көрсеткіштері 1 және 2 ретке өсті. Сондай-ақ, көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің саны 1, 2 және 3 реттерге өсті. Актиномицеттер саны 2 есеге өсті және 1 ретке жоғары, тек Бақылау 6 нұсқаларында анықталмады және Бақылау 7-нұсқада ол төмендеді $(2,0 \pm 0,2)10^2$ КТБ/г. Бақылау 2 нұсқасындағы жіп тәрізді саңырауқұлақтардың саны дерлік өзгеріссіз қалды, ал қалғандары барлық Бақылау нұсқаларында 1 айдан кейінгі нұсқалармен және таза топырақпен салыстырғанда 1 ретке жоғарылады (11-кесте).

Көмірсутектермен (мұнай, мазут, дизельдік отын) 5% ластану кезінде топырақта көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің және гетеротрофты микроорганизмдердің санының динамикасы ОМТ қосылған Ассоциациялар мен ОМТ-сыз енгізілген Ассоциацияларда 1, 2 және 3 ретке өсуімен сипатталады. Ең жоғары мәндер Ассоциация II + ОМТ (5% мазут) топырақ нұсқаларында $((18,0 \pm 0,6) 10^5$ КТБ/г және 10^6 ЕЫС жас/г) байқалды. ОМТ қосылған Ассоциациялар мен ОМТ-сыз Ассоциациялар енгізілген барлық нұсқалар бойынша актиномицеттер өсті, тек Ассоциация II (мұнай 5%) - $(5,3 \pm 0,3) 10^2$ КТБ/г), Ассоциация I (5% ДО) - $(1,3 \pm 0,3)10^2$ КТБ/г), Ассоциация II (5% ДО) - $(3,0 \pm 0,4)10^2$ КТБ/г), Ассоциация I + ОМТ (5% ДО) - $(3,0 \pm 0,2)10^2$ КТБ/г), Ассоциация II + ОМТ (5% ДО) - $(2,4 \pm 0,3)10^2$ КТБ/г) нұсқаларында төмендеді (Кесте - 11). Сондай-ақ 12-кестеде жіп тәріздес саңырауқұлақтар ОМТ қосылған Ассоциациялар мен ОМТ-сыз енгізілген Ассоциациялардың барлық нұсқаларда 1 айдан кейінгі және таза топырақ (Бақылау1) нұсқалармен салыстырғанда өскенін көруге болады.

Кесте 13 - Мұнай және мұнай өнімдерімен (5%) ластанған топырақ үлгілеріндегі микроорганизмдер саны, 3 айдан кейінгі модельдік тәжірибе

Нұсқалар	Гетеротрофты бактериялар, КТБ /г	Актиномицеттер, КТБ/г	Жіп тәрізді саңырауқұлақ-р, КТБ /г	КТМ, ЕЫС жас/г
5 % мұнай				
Бақылау 2	$(2,8 \pm 0,3)10^4$	$6,0 \pm 0,2)10^2$	$(2,3 \pm 0,2)10^2$	10^4
Ассоциация I	$(2,4 \pm 0,3)10^5$	$(8,2 \pm 0,3)10^2$	$(2,4 \pm 0,2)10^2$	10^5
Ассоциация II	$(4,3 \pm 0,5)10^5$	$(5,3 \pm 0,3)10^2$	$(2,1 \pm 0,1)10^2$	10^6
Бақылау 3	$(4,0 \pm 0,4)10^5$	$(2,0 \pm 0,3)10^3$	$(2,1 \pm 0,2)10^3$	10^5
Ассоциация I + ОМТ	$(5,3 \pm 0,3)10^5$	$(1,2 \pm 0,2)10^3$	$(2,2 \pm 0,2)10^3$	10^6
Ассоциация II + ОМТ	$(7,0 \pm 1,0)10^5$	$(2,0 \pm 0,3)10^3$	$(2,3 \pm 0,2)10^3$	10^6
5 % мазут				
Бақылау 4	$(4,0 \pm 0,3)10^4$	$(1,0 \pm 0,2)10^3$	$(3,2 \pm 0,2)10^2$	10^4

кестенің жалғасы

Ассоциация I	$(4,0 \pm 0,3)10^5$	$(3,2 \pm 0,4)10^3$	$(4,1 \pm 0,2)10^2$	10^5
Ассоциация II	$(2,8 \pm 0,3)10^5$	$(3,0 \pm 0,4)10^3$	$(5,3 \pm 0,2)10^2$	10^6
Бақылау 5	$(6,0 \pm 1,0)10^5$	$2,5 \pm 0,2)10^3$	$(2,2 \pm 0,2)10^3$	10^4
Ассоциация I + ОМТ	$(8,0 \pm 1,0)10^5$	$2,4 \pm 0,2)10^3$	$(3,3 \pm 0,2)10^3$	10^5
Ассоциация II + ОМТ	$(18,0 \pm 0,6)10^5$	-	$(3,2 \pm 0,2)10^3$	10^6
5 % ДО				
Бақылау 6	$(5,0 \pm 0,2)10^4$	анықталмады	$(0,3 \pm 0,1)10^3$	10^4
Ассоциация I	$(2,3 \pm 0,3)10^5$	$(1,3 \pm 0,3)10^2$	$(0,8 \pm 0,2)10^3$	10^5
Ассоциация II	$(8,0 \pm 1,0)10^5$	$(3,0 \pm 0,4)10^2$	$(0,1 \pm 0,1)10^3$	10^5
Бақылау 7	$(4,1 \pm 0,2)10^5$	$(2,0 \pm 0,2)10^2$	$(1,0 \pm 0,3)10^3$	10^5
Ассоциация I + ОМТ	$(8,1 \pm 0,4)10^5$	$(3,0 \pm 0,2)10^2$	$(1,7 \pm 0,2)10^3$	10^6
Ассоциация II + ОМТ	$(9,0 \pm 1,0)10^5$	$(2,4 \pm 0,3)10^2$	$(2,2 \pm 0,1)10^3$	10^6
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$				

3 айдан кейін 10% мұнай, мазут және дизельді отын концентрациясында барлық бақылау нұсқаларында гетеротрофты бактериялардың көрсеткіштері 2 және 3 ретке өсті. Сондай-ақ, көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің саны 1, 2 және 3 реттерге өсті. Барлық бақылау нұсқаларында актиномицеттер саны азайған, Бақылау 4¹ және Бақылау 5¹ нұсқаларында таза топырақпен салыстырғанда анықталған жоқ, 1 айдан кейінгі нұсқалармен салыстырғанда 1,2 есе өскен. Бақылау 2¹ нұсқасындағы жіп тәрізді саңырауқұлақтардың саны дерлік өзгерген жоқ, ал қалғандары барлық Бақылау нұсқаларында 1 айдан кейінгі және таза топырақтан кейінгі нұсқалармен салыстырғанда 1 және 2 есе жоғары (14-кесте).

Кесте 14 - Мұнай және мұнай өнімдерімен (10%) ластанған топырақ үлгілеріндегі микроорганизмдер саны, 3 айдан кейінгі модельдік тәжірибе

Нұсқалар	Гетеротрофты бактериялар, КТБ /г	Актиномицеттер, КТБ/г	Жіп тәрізді саңырауқұлақ-р, КТБ /г	КТМ, ЕЫС жас/г
10 % мұнай				
Бақылау 2 ¹	$(3,0 \pm 0,2)10^4$	$(3,1 \pm 0,3)10^2$	$2,5 \pm 0,2)10^2$	10^3
Ассоциация I	$(3,0 \pm 0,4)10^5$	$(6,3 \pm 0,4)10^2$	$(3,1 \pm 0,1)10^2$	10^4
Ассоциация II	$(5,0 \pm 0,5)10^5$	$(4,5 \pm 0,3)10^2$	$(3,5 \pm 0,1)10^2$	10^4
Бақылау 3 ¹	$(8,1 \pm 0,4)10^4$	$(3,0 \pm 0,4)10^2$	$(3,7 \pm 0,3)10^2$	10^4
Асс. I + ОМТ	$(11,0 \pm 1,0)10^4$	$(6,4 \pm 0,4)10^2$	$(4,5 \pm 0,2)10^2$	10^5
Асс. II+ОМУ	$(3,1 \pm 0,4)10^5$	$(7,8 \pm 0,3)10^2$	$(4,1 \pm 0,1)10^2$	10^6

кестенің жалғасы

10 % мазут				
Бақылау 4 ¹	$(12,2 \pm 0,2)10^3$	не выявлены	$(3,5 \pm 0,3)10^2$	10^3
Ассоциация I	$(5,0 \pm 0,5)10^5$	$(4,0 \pm 0,4)10^2$	$(4,4 \pm 0,2)10^2$	10^4
Ассоциация II	$(1,0 \pm 0,2)10^5$	$(4,1 \pm 0,2)10^2$	$(4,3 \pm 0,2)10^2$	10^4
Бақылау 5 ¹	$(3,0 \pm 0,2)10^5$	не выявлены	$(4,4 \pm 0,3)10^2$	10^4
Асс. I + ОМТ	$(5,2 \pm 0,4)10^5$	$(1,0 \pm 0,2)10^2$	$(5,1 \pm 0,2)10^2$	10^5
Асс. II + ОМТ	$(10,1 \pm 1,0)10^5$	анықталмаған	$(5,5 \pm 0,1)10^2$	10^5
10 % ДО				
Бақылау 6 ¹	$(5,0 \pm 0,5)10^4$	$(1,4 \pm 0,3)10^2$	$(4,1 \pm 0,1)10^2$	10^4
Ассоциация I	$(2,0 \pm 0,3)10^5$	$(1,8 \pm 0,3)10^2$	$(4,3 \pm 0,1)10^2$	10^5
Ассоциация II	$(4,0 \pm 0,4)10^5$	$(2,0 \pm 0,2)10^2$	$(4,2 \pm 0,2)10^2$	10^6
Бақылау 7 ¹	$(2,1 \pm 0,3)10^5$	$(2,2 \pm 0,3)10^2$	$(5,3 \pm 0,2)10^2$	10^5
Асс. I + ОМТ	$(8,3 \pm 1,0)10^5$	$(3,4 \pm 0,3)10^2$	$(5,6 \pm 0,2)10^2$	10^6
Асс. II + ОМТ	$(5,2 \pm 0,2)10^5$	$(2,3 \pm 0,3)10^2$	$(6,0 \pm 0,2)10^2$	10^6
Ескерту: шынайылығы $p < 0,05$				

Көмірсутектермен (мұнай, мазут ДО) 10% ластану кезінде ОМТ қосу арқылы ассоциациялар мен тек жеке ассоциацияларды енгізу арқылы топырақта көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің және гетеротрофты микроорганизмдердің санының динамикасы 1, 2 және 3 ретке жоғарылауымен сипатталады. ОМТ қосу арқылы ассоциациялар мен жеке ассоциациялар енгізілген барлық нұсқаларында актиномицеттер төмендеді, тек ассоциация II + ОМТ (10% мұнай) - $(7,1 \pm 0,2) 10^2$ КТБ/г) нұсқаларында 1 есе өсті, ал ассоциация I (10% ДО) нұсқасында анықталмады. Сондай-ақ жіп тәрізді саңырауқұлақтар, ОМТ бірге ассоциациялар мен жеке ассоциациялар енгізілген барлық нұсқаларда 1 айдан кейінгі нұсқалармен және таза топырақпен (Бақылау 1) салыстырғанда өсті.

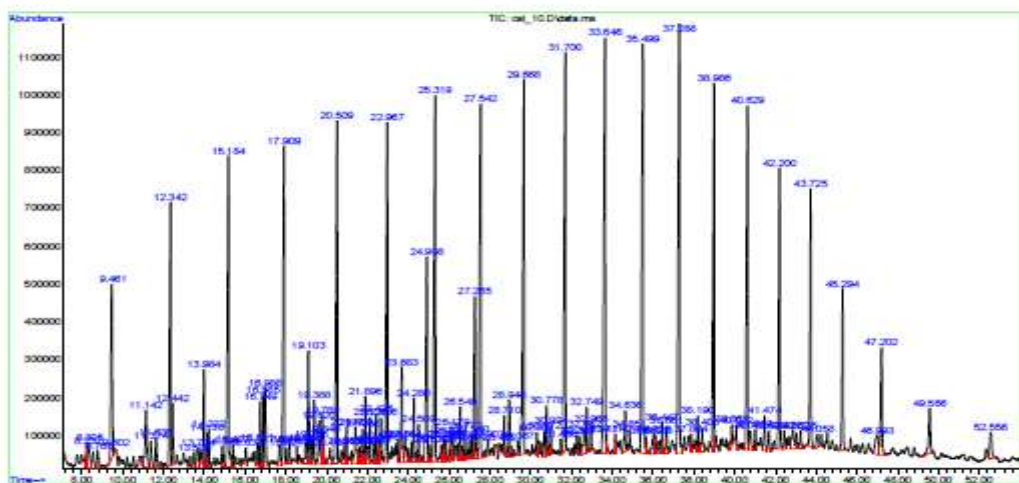
Зерттеу жұмысымыздың зертханалық модельдік тәжірибе барысында ОМТ қосумен байланысты Ассоциацияларды енгізуде (тиісінше 5 және 10% ластану деңгейінде) гетеротрофты бактериялар мен көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің саны 5 және 6 ретке артқаны анықталды (бастапқы титрі 10^3 ЕБС/г). Осыған ұқсас тыңайтқыштар мен көмірсутектотықтырғыш концорциумды бір мезгілде қолдану ластанушы заттардың ыдырау дәрежесінің жоғарылауына және көмірсутекті тотықтырғыш микроорганизмдер санының артуына ықпал ететінін нәтижелерді А.А. Ветрова және т.б. [133] ғылыми жұмыстарында көрсетті.

Осылайша, көмірсутекті тотықтырғыш микроорганизмдер негізіндегі ассоциацияларды органоминералды тыңайтқыштармен бірлесіп пайдалану мұнаймен ластанған топырақты тазарту тиімділігін екі есеге дерлік арттыруға мүмкіндік берді. Тәжірибе барысында алынған 1 айдан кейінгі нәтижелер бойынша көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің негізінде құрылған ассоциацияларды (Ассоциация I, Ассоциация II) органоминералды тыңайтқыштармен қатар қолдану арқылы микроорганизмдердің табиғи

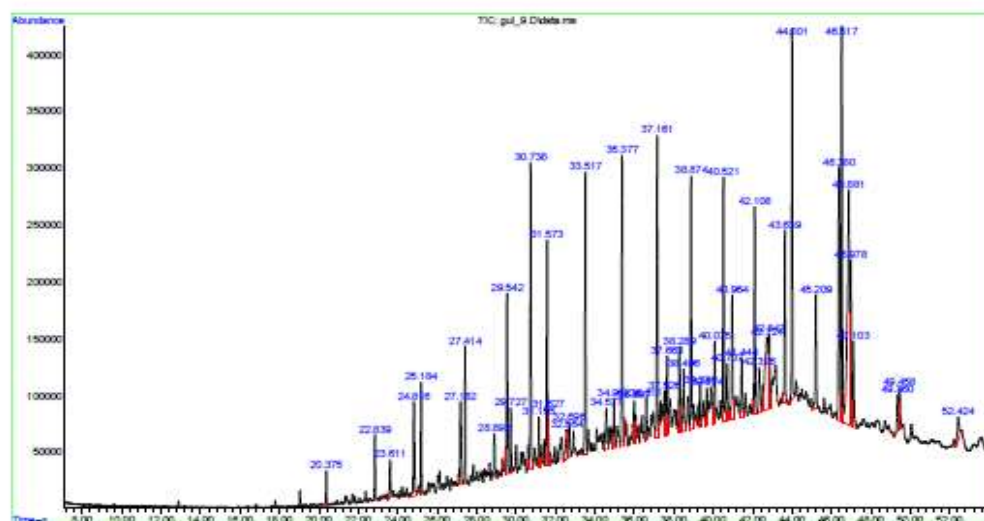
қауымдастығын ынталандыру, бактериялардың көмірсутектотықтырғыш тобының санын арттырғанын көрсетті. Бұл мұнай және мұнай өнімдерінің жойылу дәрежесі туралы деректермен жақсы сәйкес келеді.

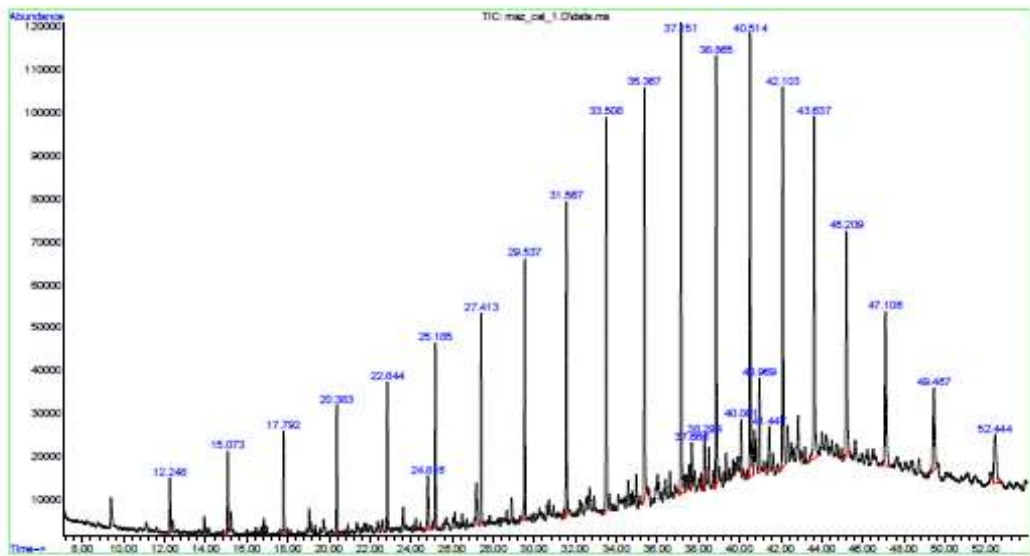
3.6.3 Белсенді ассоциациялармен деструкциялағаннан кейінгі мұнай мен мұнай өнімдерінің фракциялық құрамының өзгеруін анықтау

Мұнай және мұнай өнімдерінің жекелеген компоненттерінің, атап айтқанда, орташа қайнайтын КС фракциясының жоғалуына сапалық және сандық талдау газ-сұйықтық хроматографиясы (ГСХ) әдісімен жүргізілді [227, 228]. Біздің зерттеулерімізде мұнай және мұнай өнімдерінің (мазут, дизельді отын) ең тиімді деструкциялануы (бастапқы көмірсутектермен салыстырғанда аудандары шыңының 2-2,5 есеге азаюы) ассоциациялар мен ОМТ бірлестіріп енгізу нұсқаларында байқалды (Сурет 22).

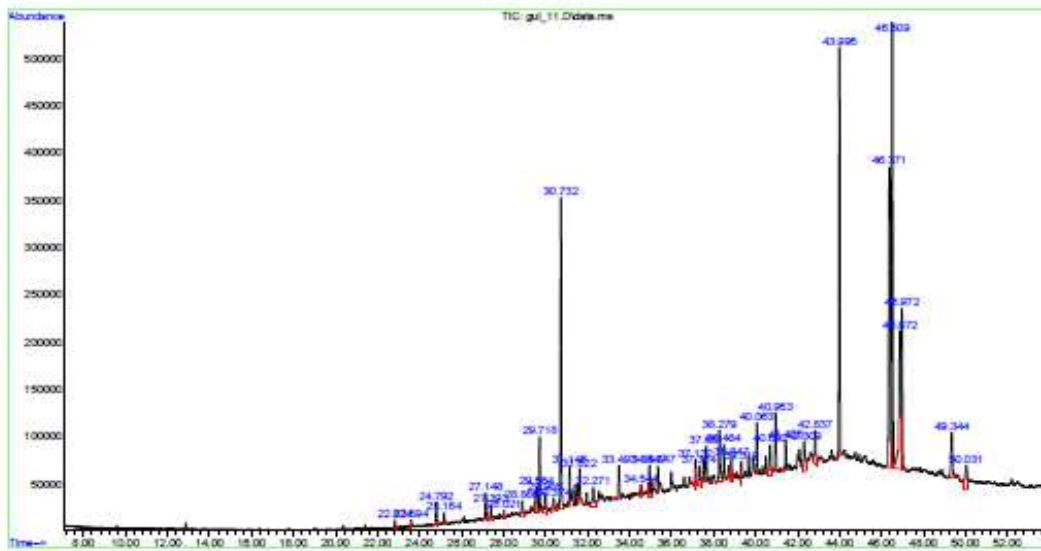


а)

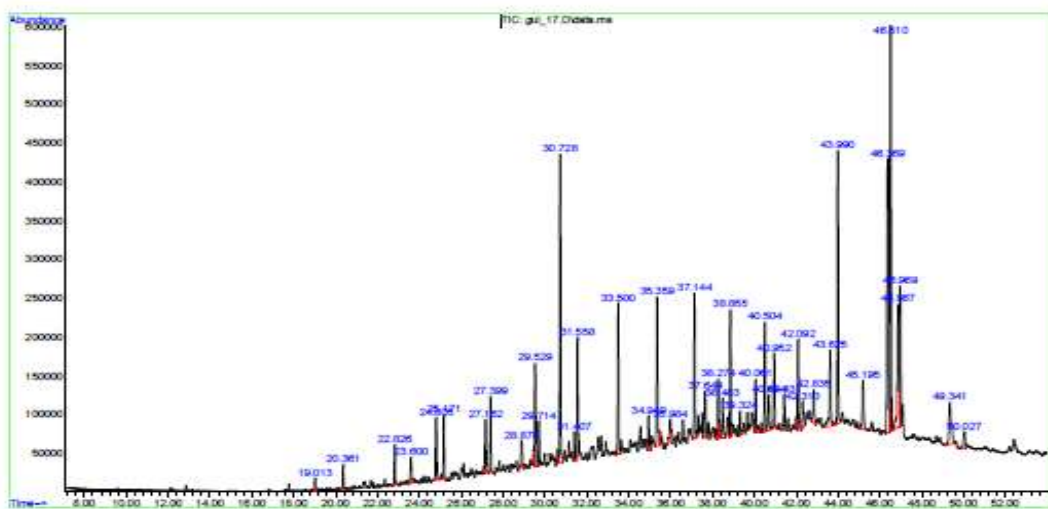




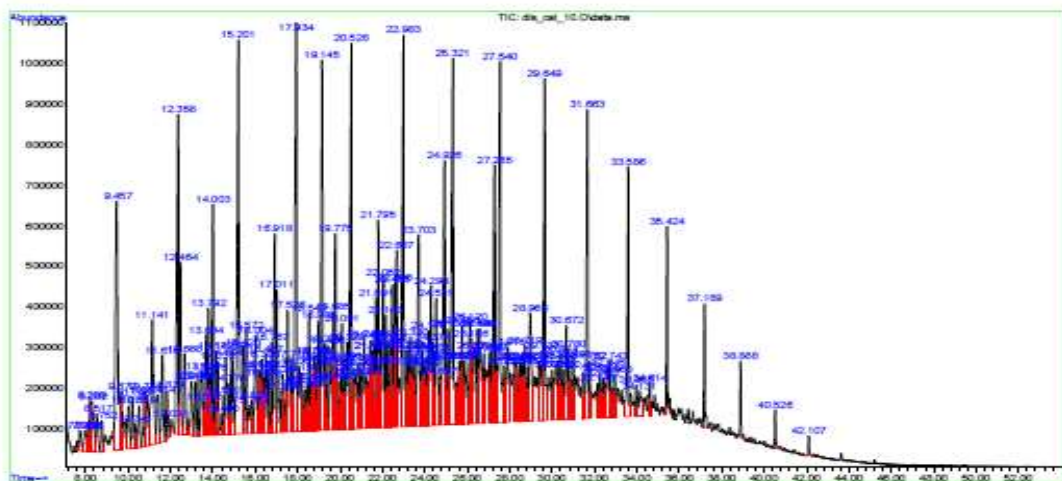
b)



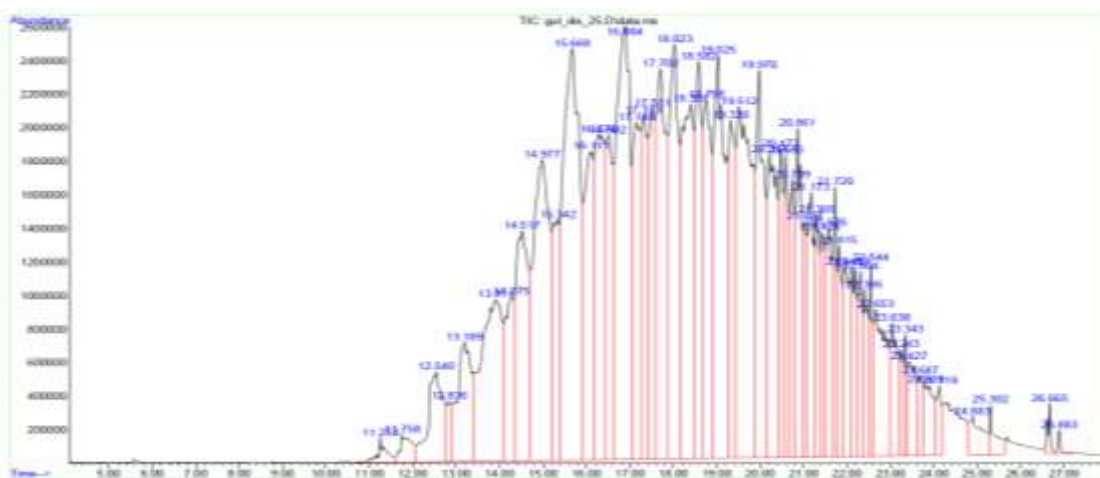
B)



f)



Ғ)



д)

Сурет 22 – Мұнай және мұнай өнімдерінің биодеструкциясының газды хроматографиясы

Ескерту: а) мұнай; ә) Ассоциация II + ОМТ (10 % мұнай); б) мазут;
в) Ассоциация I (5 % мазут); г) Ассоциация II + ОМТ (10 % мазут) г) дизельді отын; д) Ассоциация II + ОМТ (10 % ДО).

Бақылау нұсқаларында (мазут, мазут, дизельді отын) хроматографиялық талдау нәтижелері бойынша n-алкандардың гомологтық қатары C₁₀-нан C₄₄-ке дейінгі көмірсутектермен ұсынылған (Қосымша Ә). Мұнай және мұнай өнімдерінің көмірсутектерінің биодеградациясынан кейін (мазут, дизельді отын), n-алкандардың салыстырмалы құрамы n-C₁₀-n-C₁₃, барлық дерлік жоғалтулар байқалды, C₁₄, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₁, C₂₄, C₂₅, C₂₆ 2-7 есе төмендеді; n-алкандар мен изоалкандардың гомологтық C₁₅, C₁₆, C₂₀, C₂₂, C₂₃ қатарлары бойынша үлесі айтарлықтай өсті.

Хроматографиялық талдау нәтижелері бойынша зерттелген I және II ассоциациялар мұнай және мұнай өнімдерінің орташа қайнау фракциясын, атап айтқанда лигроиндық (ауыр нафта) (C₁₂-C₁₄), керосинді (C₁₂-C₁₈) және газойльді (C₁₉-C₂₉) фракцияларын іс жүзінде толықтай ыдыратуға қабілетті және бақылаумен салыстырғанда мұнай мен мұнай өнімдерінің көмірсутектерін

ыдырату мүмкіндігі жоғары. I және II екі ассоциация мұнай мен мұнай өнімдерінің (мазут, дизельді отын) мысалы, 2,6,10-триметил-додекан, 2-метил-тридекан, n-пентадециклогексан, n-гептадекан ($C_{17}H_{36}$), пентадекан ($C_{15}H_{32}$), гексадекан ($C_{16}H_{34}$), n-Эйкозан ($C_{20}H_{44}$) n-Генейкозан ($C_{21}H_{44}$) n-Гептакозан ($C_{27}H_{56}$) n-Гептатриаконтан ($C_{37}H_{76}$), n-Тетратетраконтан ($C_{44}H_{90}$) сияқты n-алкандарын белсенді ыдыра алды (Қосымша Ә).

Сондай-ақ зерттелген ассоциациялар мұнай мен мұнай өнімдерінің (мазут, дизельді отын) ароматты көмірсутектерін белсенді түрде ыдыратады. Бастапқы мұнай және мұнай өнімдерінде (мазут, дизельді отын) бензолдың, алкилнафталиндердің, алкилфенантрендердің және т.б. гомологтары ұсынылды, биодеградациядан кейін олардың үлесі айтарлықтай төмендеген (Қосымша Ә).

Ассоциация II n-алкандар мен n-алкилциклогександардан басқа, бірнеше монометил- және моноэтил-алмастырылған алкандар, тармақталған алкандар, алкилдифенилундекандарды толығымен ыдырата алды (Қосымша Ә). Осыған байланысты ассоциация II-де ыдыратуы кезінде мұнай және мұнай өнімдерінің жалпы құрамының төмендеуі ассоциация I қарағанда жоғары болды.

Осылайша, зерттелген I және II ассоциациялар мұнай компоненттері мен мұнай өнімдерінің кең спектрін тиімді тотықтыру мүмкіндігіне ие екендігі көрсетілді. Ассоциация II құрамына кіретін жекелеген көмірсутектотықтырғыш деструктор-штамдар *Gordonia sp.* 12/5, *Dietzia sp.* 12/7, *Rhodococcus erythropolis* 14/1, *Arthrobacter sp.* 15/3 мұнай мен мұнай өнімдерінің (мазут, дизельді отын) құрамына кіретін 2,6,10-триметил-додекан, 2-метил-тридекан, n-пентадециклогексан, n-гептадекан ($C_{17}H_{36}$), пентадекан ($C_{15}H_{32}$), гексадекан ($C_{16}H_{34}$), n-Эйкозан ($C_{20}H_{44}$) n-Генейкозан ($C_{21}H_{44}$) n-Гептакозан ($C_{27}H_{56}$) сияқты n-алкандарын белсенді ыдыратуға өте қабілетті [134].

3.6.4 Биодеградациядан кейінгі топырақтың токсикометриялық көрсеткіштерін анықтау

Әртүрлі физиологиялық белсенді заттардың әсерін анықтау үшін тұқымның өнуіне арналған биологиялық сынақтар сәтті қолданылады. Биологиялық үлгілер қоршаған ортаның әртүрлі компоненттерін, әсіресе топырақты токсикологиялық бағалау үшін де қолданылады. Әдетте, сынақ объектілері ретінде ұсақ тұқымдар (зығыр, көкнәр, шалғам, аскөк және т.б.) қолданылады [235].

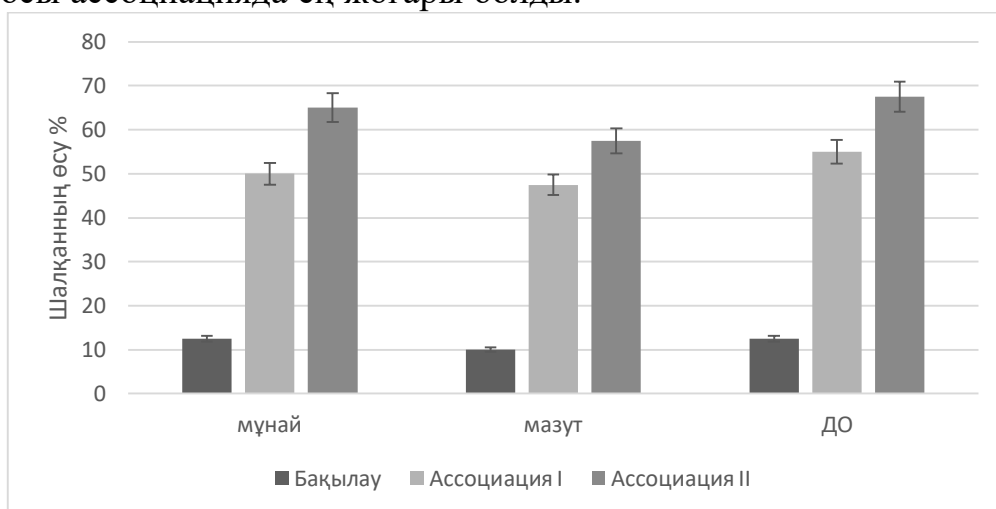
Зертханалық модельдік тәжірибеде топырақтың токсикометриялық көрсеткіштерін анықтау үшін топырақтың фитоуыттылығына сынақ - өсіру жүргіздік. Сынақ объектісі ретінде биотестілеу үшін жиі қолданылатын объектілердің бірі шалғам (*Raphanus sativa L.*) таңдалды [235]. Топырақтың фитоуыттылығы зертханалық модельдік тәжірибенің соңында шалғам тұқымдарының өнуі арқылы анықталды. Топырақтың фитоуыттылығын төмендету тиімділігін тексеру үшін биодеградациядан кейін сынақ үлгілеріне 10 шалғам тұқымы қосылды. Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақпен бақылау нұсқаларында тұқымның ең төменгі өнгіштігі – 10-17,5% болғанын байқадық (Суреттер – 23,24). Ластанған топыраққа органоминералды

тыңайтқышты енгізу оның фитоуыттылығының төмендеуіне ықпал етті. Тұқымның өнуі 12,5-22,5%-ға дейін өсті.

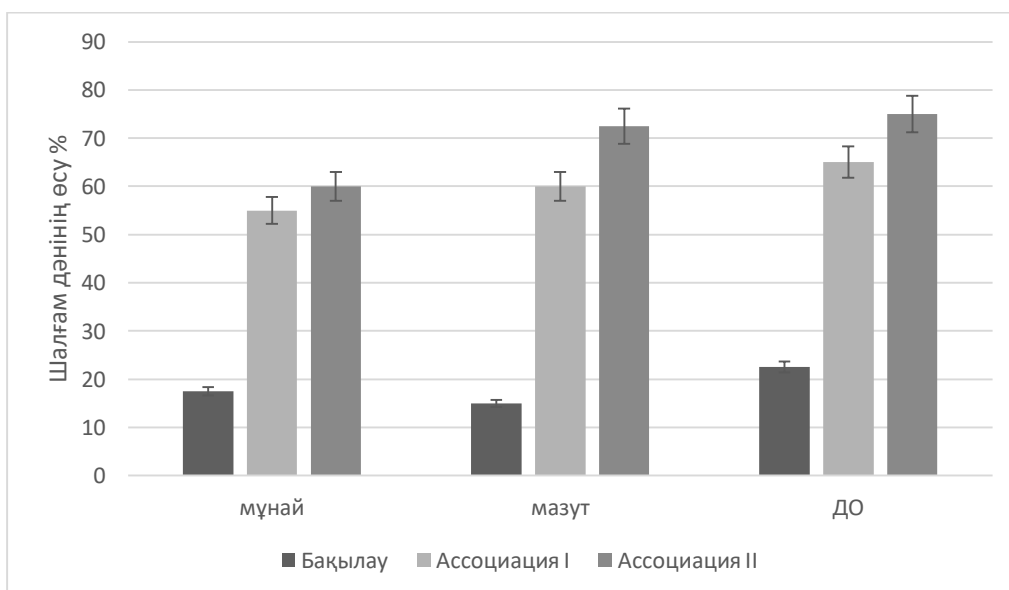
Мұнайоттықтырғыш микроорганизмдердің белсенді ассоциацияларының көмегімен топырақты мұнай ластануынан тазарту фитоуыттылықтың айтарлықтай төмендеуіне әкелді. Сонымен, 5% ластанған топырақта шалғам тұқымының өнуі 47,5-67,5% құрады. 10% ластануы бар топырақта ол біршама төмен болды - 45-60%. Ассоциациялар мен органоминералды тыңайтқыштарды бірлесіп енгізген кезде өнген тұқымдар саны 5% және 10% ластанумен сәйкесінше 55-75% және 50-72,5% дейін өсті.

Тұқымның ең жоғары өнуі дизельді отынмен ластанған топырағы бар нұсқаларда, кейбір тек қана ассоциацияларды енгізу кезінде де, сондай –ақ органоминералды тыңайтқыштармен біріктірілгенде де байқалды.

Зерттеу нәтижелері II ассоциацияның ең тиімді екенін көрсетті. Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақты өңдегеннен кейін өнген тұқымдар саны осы ассоциацияда ең жоғары болды.



а)



ә)

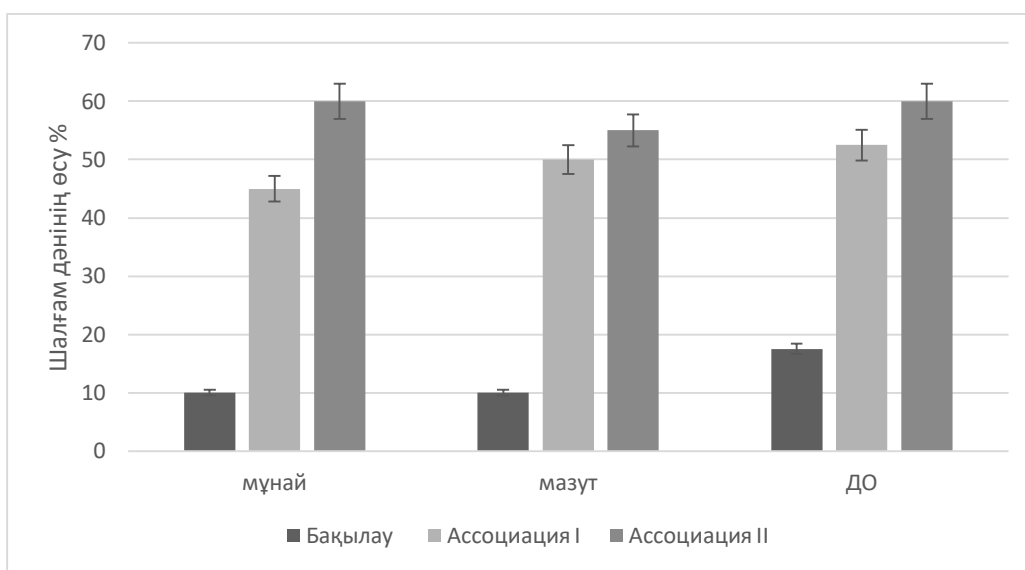
Сурет 23 - шалғам тұқымының 5% мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақта өнуі (биоремедиациядан кейінгі)

Ескерту: а) – ОМТ қосылмаған, ә – ОМТ қосылған.

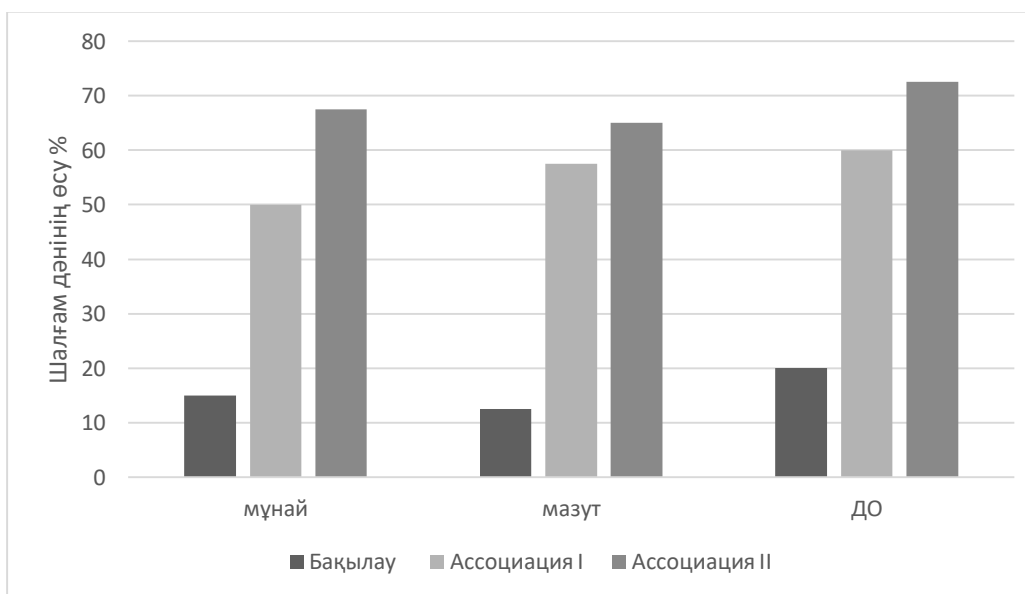
Сонымен мұнаймен ластанған топырақта өнгіштік 60-65%, мазут 55-57,5%, дизельді отында 60-67,5% болды. ОМТ енгізілген нұсқада өнім саны 7,5-15%-ға өсті.

Зерттеу нәтижелері II ассоциацияның ең тиімді екенін көрсетті. Мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақты өңдегеннен кейін өнген тұқымдар саны осы ассоциацияда ең жоғары болды. Сонымен мұнаймен ластанған топырақта өнгіштік 60-65%, мазут 55-57,5%, дизельді отында 60-67,5% болды. ОМТ енгізілген нұсқада өнім саны 7,5-15%-ға өсті.

Ластанған топырақты ассоциация I өңдегеннен кейін тұқымның өнуі ассоциация II -мен салыстырғанда 5-15%-ға төмен болды.



а)



ә)

Сурет 24 - шалғам тұқымының 10% мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақта өнуі (биоремедиациядан кейінгі)

Ескерту: а) – ОМТ қосылмаған, ә – ОМТ қосылған.

Сонымен, алынған нәтижелер мұнайототықтырғыш микроорганизмдердің ассоциацияларын қолдану мұнаймен ластанған топырақты рекультивациялауға оң әсер ететінін көрсетті. Топырақтағы ластаушы заттардың мөлшерін азайтумен қатар оның фитоуыттылығы да төмендейді.

3.7 Белсенді ассоциацияларымен мұнаймен ластанған топырақты тазарту бойынша далалық тәжірибе жүргізу

Мұнайототықтырғыш микроорганизмдердің белсенді ассоциацияларымен әртүрлі деңгейдегі мұнаймен ластанған топырақты тазарту бойынша Микробиология және вирусология ҒЗО Қызылорда филиалының тәжірибе алаңында шағын учаскелік далалық тәжірибе жүргізілді.

Жер телімін тегістеуден кейін тәжірибе алаңы көлемі 3,0 x 3,5 м, олардың арасындағы қашықтық 1 м болатын бөліктерге бөлінді (Сурет 25).



Сурет 25– Зерттеу учаскесінің жалпы көрінісі

Бақылау құралы ретінде мұнаймен ластанған өңделмеген топырақ пайдаланылды. Топырақ бөліктерін аэрациялау және ылғалдандыру кезенді түрде жүргізілді. Тәжірибе 3 қайталаумен жүргізілді.

Ассоциациялар енгізілгеннен кейін 1 және 2 айдан кейін топырақтағы қалдық мұнайдың мөлшері анықталды (15-кесте). Топырақтағы мұнайдың бастапқы мөлшері химиялық талдау мәліметтері бойынша 5,7% және 7,2% болды.

Зерттеу нәтижелері бақылау нұсқаларында мұнай шығыны шамалы және 2 айдан кейін 5,7 % ластануда 20,8%, 7,2 % ластануда 18,7% болғанын көрсетті. Зерттелетін ассоциацияларды енгізгеннен кейін топырақтағы мұнайдың құрамы күрт төмендеді. Ассоциация I әсері 5,7 % ластану кезінде мұнайдың 69,0%-ға жойылуына әкелді. 7,2 % ластану кезінде топырақтағы мұнайдың қалдық мөлшері 64,3 % құрады. Ассоциация II белсендірек болды. 5,7 % ластанумен 2 айда мұнайды пайдалану 73,4%, ал 7,2 % ластанумен 70,7% құрады (кесте 15).

Кесте 15 – Далалық тәжірибеде мұнаймен ластанған топыраққа енгізілген ассоциациялар арқылы мұнайды деструкциялау

Нұсқа	Мұнайды деструкциялау дәрежесі, %	
	1 ай	2 ай
Бақылау (5,7 % ластанған)	17,5	20,8
Ассоциация I	58,6	69,0
Ассоциация II	65,9	73,4
Бақылау (7,2 % ластанған)	15,2	18,7
Ассоциация I	55,5	64,3
Ассоциация II	58,6	70,7

Биоремедиация жұмысынан кейін 2 айдан кейін микроорганизмдердің негізгі топтарының саны анықталды (Кесте - 16).

Кесте 16 – Мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер ассоциациялары енгізілгеннен кейін 2 айдан кейін топырақтағы микроорганизмдер саны

Нұсқа	Гетеротрофты бактериялар, КТБ/г	Актиномицеттер, КТБ/г	Жіп тәрізді саңырауқұлақ-р, КТБ/г	КТМ, ЕБС, жас/г
Бақылау (5,7 % ластанған)	$(4,0 \pm 0,1) \times 10^6$	$(7,0 \pm 0,9) \times 10^2$	$(2,6 \pm 0,4) \times 10^3$	10^2
Ассоциация I	$(5,1 \pm 0,4) \times 10^7$	$(4,5 \pm 0,8) \times 10^3$	$(1,6 \pm 0,3) \times 10^4$	10^5
Ассоциация II	$(4,7 \pm 0,3) \times 10^7$	$(2,7 \pm 0,4) \times 10^5$	$(4,5 \pm 0,9) \times 10^3$	10^6
Бақылау (7,2 % ластанған)	$(3,4 \pm 0,3) \times 10^6$	$(4,2 \pm 0,4) \times 10^3$	$(8,0 \pm 0,9) \times 10^2$	10^2
Ассоциация I	$(3,9 \pm 0,4) \times 10^7$	$(2,8 \pm 0,4) \times 10^4$	$(4,1 \pm 0,5) \times 10^3$	10^5
Ассоциация II	$(4,7 \pm 0,5) \times 10^7$	$(3,0 \pm 0,1) \times 10^4$	$(6,0 \pm 0,9) \times 10^3$	10^6

Мұнай тотықтырғыш микроорганизмдердің белсенді ассоциацияларының енгізілуі гетеротрофты бактериялардың, актиномицеттер мен әсіресе маңызды болып табылатын көмірсутекті тотықтырғыш микроорганизмдердің санының артуына ықпал етті, олардың саны 3-4 ретке өсті.

Осылайша, Қызылорда облысының мұнаймен ластанған топырақтарын тазарту үшін таңдалған белсенді ассоциациялар негізінде құрылған биологиялық препаратты пайдаланудың тиімділігі көрсетілген.

ҚОРЫТЫНДЫ

Мұнай және мұнай өнімдерін қарқынды өндіру мен оларды өңдеу табиғатқа яғни, қоршаған ортаға едәуір зияның тигізеді. Ең алдымен мұнай өндіру учаскелері мен құбырлардағы жиі кездесетін апаттарға байланысты ластану процестері Қызылорда облысы үшін де күрделі мәселе болып табылады. Осыған байланысты Қазақстан Республикасының мұнай өндіруші аймақтарының топырақтарын биоремедиациялау, қайта қалпына келтіру бүгінгі таңда ерекше өзекті болып отыр.

Біздің зерттеуіміздің нәтижесінде мынадай қорытынды жасауға болады:

1. Қызылорда облысы Құмкөл кен орнының мұнаймен ластанған топырақтарынан көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің 182 штаммы бөлініп алынды. Мұнайды ең тиімді, әрі белсенді деструкциялаушыларын таңдау үшін іріктеу жүргізілді, нәтижесінде сұйық минералды қоректік ортада мұнай мен мұнай өнімдерін (мазут, дизельді отын) – 14 тәулікте белсенді түрде 43,9-88,8% деструкциялайтын 12 штамм таңдап алынды.

2. Биотехнология үшін жаңа тиімді көмірсутектотықтырғыш бактериялардың штамдары сипатталды – *Rhodococcus sp.* 1D / 1; *Gordonia sp.* 12/5; *Dietzia sp.* 12/7; *Dietzia sp.* 13/4; *Tessaracoccus sp.* 13/8; *Rhodococcus erythropolis* 14/1; *Rhodococcus sp.* 14/3; *Arthrobacter sp.* 15/3; *Microbacterium arabinogalactanolyticum* 12/6; *Pseudomonas sp.* 14/2; *Microbacterium sp.* 16/1; *Alcanovorax sp.* 16/3. Штамдардың 16S рРНҚ нуклеотидтер тізбегі GenBank-те тіркеу нөмірлерімен тіркелген: № MF188988.1; № MF188989.1; № MF188990.1; № MF188991.1; № MF188992.1; № MF188993.1; № MF188994.1; № MF188995.1; № MF188996.1; № MF188997.1; № MF188998.1; № MF188999.1.

3. Мұнайотықтырғыш микроорганизмдерден таңдап алынған штамдардың көмірсутектотықтырғыш белсенділігін зерттеу нәтижесі олардың деструктивті қабілеті жоғары екенін көрсетті. Штамдарды 14 тәулікте көмірсутектермен 3% және 5% құрамда өсіруде мұнайдың деградация дәрежесі сәйкесінше 46,5-82,3% және 45,1-81,0%, мазут – 58,3-86,4% және 54,8-81,2%, дизельді отын – 40,5-72,4% және 35,8-69,7% құрады. Ең белсенді штамдар 12/5, 12/7, 13/8, 14/1, 15/3, 12/6 және 1D/1 болды.

4. Зерттеудің нәтижесі бойынша мұнайотықтырғыш микроорганизмдерден бөлініп алынған белсенді штамдардың арасынан үш штамм *Gordonia sp.* 12/5, *Rhodococcus erythropolis* 14/1 және *Rhodococcus sp.* 1D/1 жоғары дәрежеде ыдырататын қасиетке және де ароматты көмірсутектерді (нафталин, фенантрен, антрацен, фенол, катехол, орто-, пара-, мета-крезол) толық ассимиляциялау мүмкіндіктеріне ие болды.

5. Таңдап алынған белсенді жоғары деструктор микроорганизмдер негізінде Құмкөл кен орнының мұнайын және мазут пен дизельді отынды белсенді түрде ыдыратуға қабілеті жоғары ассоциациялар құрылды. Ең тиімдісі бактериялардан тұратын екі ассоциация болды *Rhodococcus sp.* 1D/1, *Tessaracoccus sp.* 13/8, *Dietzia sp.* 13/4 (Ассоциация I) және *Gordonia sp.* 12/5, *Rhodococcus erythropolis*

14/1, *Arthrobacter sp.* 15/3, *Dietzia sp.* 12/7 (Ассоциация II). Өсірудің 14 тәулігінде 7% құрамдағы мұнайдың жойылуы сәйкесінше 77,5% және 78%, мазут – 74,5% және 73,7%, дизельді отын – 67,1% және 61,8% құрады.

6. Зертханалық модельдік тәжірибеде мұнайотықтырғыш микроорганизмдер

ассоциациялары мен органоминералды тыңайтқыштарды бірлесіп қолдану топырақты мұнай мен мұнай өнімдерінен тиімді тазартуға ықпал еткенін көрсетті. Үш айдың ішінде топырақтағы мұнай мен мұнай өнімдерінің мөлшері сәйкесінше 5% және 10% ластану кезінде 62,4-85,7% және 60,1-78,4% төмендеді. Бұл ретте ассоциация II жоғары белсенділік танытқаны байқалды.

7. Қызылорда облысында мұнаймен ластанған топырақтарды биоремедиациялау әдісін әзірлеу үшін шағын учаскелік далалық зерттеулер жүргізілді. «Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС тәжірибелік зауытында мұнайотықтырғыш микроорганизмдердің белсенді ассоциациялары (ассоциация I және ассоциация II) негізінде биологиялық препараттардың тәжірибелік партиялары әзірленді. Топырақтың ең тиімді тазартылуы ассоциация II мен органоминералды тыңайтқыштарды бірлесе қолданғанда байқалғаны анықталды. Топырақтағы ластану деңгейі 5,7% және 7,2%-да мұнай мөлшері 2 айдан кейін 73,4% және 70,7% төмендеді.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Нуржанова Д.Б., Ташимова А.А. Қызылорда облысы мұнай – газ өнеркәсібінің қоршаған ортаға әсерінің экологиялық критерийлері //«Энергия және ресурстар үнемдеу технологиялары: тәжірибелер және келешегі» халықаралық ғылыми - тәжірибелік конференция материалдары. – Қызылорда: Қорқыт Ата атындағы ҚМУ, 2017. Б.249 -253
2. Шомантаев А.А. Гидрохимический режим и сельскохозяйственное использование возвратных вод в низовьях реки Сырдарьи. - Алматы, 2006. - С. 26-31.
3. Олжабаева А.О. Повышение эффективности использования водных ресурсов на рисовых системах в низовьях реки Сырдарьи: дис. док. философии (PhD) - Алматы, 2018. – 128 с.
4. Хорошун Д.В. Экологический мониторинг состояния окружающей среды месторождения Кумколь. KazNU Bulletin. Ecology series. №2 (41). 2014. – с. 127-134
5. Мұнай және газ геологиясы танымдық және кәсіптік-технологиялық терминдерінің түсіндірме сөздігі. Анықтамалық басылым. - Алматы: 2011. ISBN 9965-472-27-0
6. Кушеков А.У., Воробьев А.Е. 120 лет Казахской нефти // «Казахстанская нефть: прошлое, настоящее и будущее»: Сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной 120-летию казахстанской нефти. - Атырау, 2019 г. – С. 12 - 17
7. Медиева Г.А. Этапы и перспективы развития нефтегазовой отрасли Казахстана //Нефть и газ (Казахстан). –Алматы 2010. - №5. – С. 41-46.
8. Анисимова Н. М., Алимтаева А. А. Перспективы развития нефтегазовой отрасли Казахстана в рамках ЕАЭС. Научно-методический журнал Academy, № 5 (8), 2016, с.29-31
9. Құлжанов Қ.С. Мұнай өндеу процестерін жетілдіру: Оқулық. – Алматы: Print-S. 2017 – 333 б.
10. Кошановская В.С. Разливы нефти в Российской федерации: причины и пути решения проблемы // Экология: IX Международный форум. М., 2018. С.13 – 18
11. Жумагулов Р.Б. Качество нефти – важный фактор развития перерабатывающей отрасли // Нефть и газ. – Алматы 2006. - № 2. – С. 75-82
12. Иванова А.Е., Канатьева А.Ю., Курганов А.А. Аэробная биодegradация жидких моторных топлив в условиях экстремальной кислотности // Микробиология, 2019, Т. 88, № 3, с. 318-327
13. Чернявская М.И., Сидоренко А.В., Голонченко С.Г., Лысак В.В., Самсонова А.С. Экологическая микробиология: учеб.метод.пособие. – Минск: БГУ, 2016. – 63 с.
14. Кузнецов А.Е., Градов Н.Б. Прикладная экобиотехнология: учебное пособие / М.: Бинном. Лабораторий знаний, 2012. – 629 с.
15. Khamforoush M., Bijan-Manesh M.-J., Hatami T. Application of the Haug model for process design of petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation by

- composting process // *Int. J. Environ. Sci. Technol.* (2013) 10:533–544 DOI 10.1007/s13762-012-0129-4
16. Андреева, Т.А. Интегральная оценка воздействия нефтяного загрязнения на параметры химического и биологического состояния почв таежной зоны Западной Сибири: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.27 / Андреева Татьяна Анатольевна. – Томск, 2005. – 26 с.
 17. Шорина Т.С. Влияние нефтяного загрязнения на биологическую активность черноземов Оренбургской области // *Вестник ОГУ №6 (100)*, 2009. – С. 651-653
 18. Просяников Е.В., Смольский Е.В., Гуца А.С. Влияние загрязнения нефтью на почвы юго-запада нечерноземной зоны России / // *Агрехимия*. – 2012. – №7. – С. 74-86.
 19. Васильев А.В., Быков Д.Е., Пименов А.А. Экологический мониторинг загрязнения почвы нефтесодержащими отходами // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. – 2015 г. - № 4. – 269-272 с.
 20. Thapa В.А., Kumar К.С., Ghimire А. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil // *Kathmandu university journal of science, engineering and technology*, 8(1). 2012. P. 164-170.
 21. Черепанова А.Е. Биодegradация сырой нефти бактериями, выделенными из загрязненной сырой нефтью почвы (обзор) // *Вестник науки и образования № 7(43) 2018. Том 2. С. 18-22*
 22. Яковлев А. Л., Савенок О. В. Нарушения экологической безопасности при интенсификации добычи нефти на месторождениях Краснодарского края // *Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе*, 2017, № 1. С. 50 – 54.
 23. Казиахмедова И.А. Методы биоиндикации в оценке состояния нефтезагрязненных земель // *Окружающая среда и устойчивое развитие регионов: новые методы и технологии исследований. Том IV: Экологическая безопасность, инновации и устойчивое развитие. Образование для устойчивого развития; под ред. проф. Латыповой В.З. и доц. Яковлевой О.Г.* – Казань: Изд-во «Отечество», 2009. – С. 106-108.
 24. Яппаров А.Х., Дегтярева И.А., Хидиятуллина А.Я. Комплексный подход к рекультивации нефтезагрязненных почв // *Современные проблемы науки и образования*. – 2012. – № 1. – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5537>.
 25. Киреева Н.А., Водопьянов В.В. Моделирование биодegradации нефти в почве микроорганизмами / II Международная научная конференция «Современные проблемы загрязнения почв». Том 2: сборник материалов. - М.: Изд-во МГУ, 2007. - С. 78-79.
 26. Мязин В.А. Разработка способов повышения эффективности биоремедиации почв кольского севера при загрязнении нефтепродуктами (в условиях модельного эксперимента) // дис. канд. тех. наук: 03.02.08. – Апатиты, 2014. – 159 с.
 27. Кирсанов А.Д., Орлова Е.Е., Иванова А.В. Изменение биологической активности дерново-подзолистой почвы при повторном загрязнении нефтью

- // Антропогенная трансформация природной среды: материалы междунар. конф. - Пермь: Пермский гос. ун-т, 2010. - Т.1., Ч.2. -С. 364-366.
- 28.Евдокимова Г.А., Маслобоев В.А. Биоремедиация загрязненных нефтепродуктами почв в условиях Кольского Севера // МурманшельфИнфо. – 2011. – №2 (15). – С.34-38.
- 29.Вершинин А.А., Петров А.М., Акайкин Д.В., Игнатъев Ю.А. Оценка биологической активности дерново-подзолистых почв разного гранулометрического состава в условиях нефтяного загрязнения // Почвоведение. 2014. № 2. С. 250-256
- 30.Руденко Е.Ю. Исследование влияния нефти на биологическую активность черноземной почвы // Известия ВУЗов. Прикладная химия и биотехнология. 2020. Том 10, № 4. С. 719-727
- 31.Коршунова Т. Ю., Четвериков С. П., Бакаева М. Д., Кузина Е. В. и др. Микроорганизмы в ликвидации последствий нефтяного загрязнения (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология, 2019, том 55, № 4, с. 338–349
- 32.Исакова Е.А. Особенности воздействия нефти и нефтепродуктов на почвенную биоту // Colloquium-journal. 2019. N 12 (36). С. 4–6.
- 33.Кабиров Т.Р. Использование многоуровневой системы индикации биологической активности почв для оценки эффективности методов биорекультивации нефтезагрязненных территорий: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16, 03.00.23. – Уфа, 2009. – 16 с.
- 34.Курманбаев А.А., Айткельдиева С.А., Файзуллина Э.Р. Диагностическое значение микрофлоры почв для оценки состояния нефтезагрязненных почв // Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред: тезисы докладов международной конференции. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. – 118 с.
- 35.Корнейкова М.В., Евдокимова Г.А., Лебедева Е.В. Комплексы потенциально патогенных микроскопических грибов в антропогенно загрязненных почвах Кольского Севера // Микология и фитопатология. - 2012. - Т.46, №5. - С.323-328
- 36.Яковлева, Е.В. Полициклические ароматические углеводороды в системе почва-растение: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Яковлева Евгения Вячеславовна. – М., 2009. –24 с.
- 37.Чугунова М.В., Бакина Л.Г., Капелькина Л.П., Герасимов А.О. Особенности процессов естественной биodeградации нефти в основных типах почв северо-запада Российской Федерации // Биотехнология – от науки к практике: Мат. Всеросс. конф. В 2 т. Т. 1. – Уфа: Башкирский ГУ, 2014. – С. 57-61.
- 38.Федоренко В.Н., Сережкин И.Н., Ламова Я.А. и др. Свойства естественных углеводородокисляющих микробных сообществ для утилизации нефтяных загрязнений в Северных регионах // Биотехнология. – 2015. – № 6. – С. 72-78.
- 39.Сваровская Л.И., Иванов А.А., Юдина Н.В., Филатов Д.А. Стимулирующее влияние гуминовых кислот на оксигеназную активность микроорганизмов нефтезагрязненных почв // Биотехнология. -2007. - № 6. - С. 60-64.

40. Турова Т.П., Соколова Д.С., Семенова Е.М., Шумкова Е.С., Коршунова А.В., Бабич Т.Л. и др. Обнаружение генов биодegradации n-алканов *alkB* и *ladA* у термофильных углеводородоокисляющих бактерий родов *Aeribacillus* и *Geobacillus*. 2016. Микробиология 85, 693–707
41. Пирог Т.П., Шевчук Т.А., Клименко Ю.А. Интенсификация синтеза поверхностно-активных веществ при культивировании *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 на гексадекане / Прикладная биохимия и микробиология. - 2010. - Т. 46. - № 6. - С. 651-658.
42. Смирнова Т.С., Панина Ю.Ю. Мониторинг углеводородного загрязнения почвы посредством анализа ее ферментативной активности // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2015. N 12. С. 33–38
43. Nikitha T., Satyaprakash M., Satya Vani S. et al. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: their transport, fate and biodegradation in the environment // Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. – 2017. – V. 6, № 4. – P. 1627-1639.
44. Varjani S.J., Gnansounou E., Gurunathan B. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons from petroleum oil industry activities: effect on human health and their biodegradation // In: Waste bioremediation. Energy, environment and sustainability. – Springer, Singapore, 2018. – P. 185-199.
45. Alegbeleye, O.O. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) compounds: (acenaphthene and fluorene) in water using indigenous bacterial species isolated from the Diep and Plankenburg rivers, Western Cape, South Africa / O.O. Alegbeleye, B.O. Opeolub, V. Jackson // Braz. J. Microbiol. – 2017. – V. 48, № 2. – P. 314-325.
46. Тимергазина И.Ф., Переходова Л.С. К проблеме биологического окисления нефти и нефтепродуктов углеводородоокисляющими микроорганизмами // Нефтегазовая геология. Теория и практика. 2012. Т. 7. № 1. - http://www.ngtp.ru/rub/7/16_2012.pdf
47. Ming Chen, Piao Xu, Guangming Zeng, Chunping Yang, Danlian Huang, Jiachao Zhang. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavymetals by composting: Applications, microbes and future research needs // Biotechnology Advances 33, 2015. – P. 745 – 755
48. Сулейманов Р.Р., Шорина Т.С. Влияние нефтяного загрязнения на динамику биохимических процессов чернозема обыкновенного // Изв. Самарского науч. центра РАН. - 2012. - Т. 14. - № 1. - С. 240-243.
49. Баландина А.В, Еремченко О.З. Микробная ремедиация нефтезагрязненных агродерново-карбонатных почв и техногенных поверхностных образований в подзоне южной тайги: монография // Перм. гос. фарм. акад.; Перм. гос. нац. исслед. ун-т. – Пермь, 2016. – 100 с.
50. Ившина И.Б., Криворучко А.В., Куюкина М.С. и др. Биоремедиация нарушенных углеводородами и тяжелыми металлами почв с использованием *Rhodococcus*-биосурфактантов и иммобилизованных родококков // Аграрный вестник Урала. – 2012. – № 8 (100). – С. 65-68.

51. Лыонг Т.М., Нечаева И.А., Петриков К.В. и др. Бактерии-нефтедеструкторы рода *Rhodococcus* – потенциальные продуценты биосурфактантов // Известия вузов. Приклад. химия и биотехнология. – 2016. – № 16. – С. 50-60.
52. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Титок М.А., Филонов А.Е. Разработка консорциума термотолерантных бактерий как основы биопрепарата для ремедиации нефтезагрязненных грунтов и вод в жарком климате // Биотехнология. – 2016а. – № 1. – С. 53-64.
53. Исаева А.У., Мырхалыков Ж.У., Успабаева А.А., Ешибаев А.А. Особенности разработки биопрепаратов экологического действия для юга Казахстана // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – № 10-1. – С. 105-107
54. Пирог Т.П., Леонова Н.О., Шевчук Т.А. и др. Синтез фитогормонов бактериями *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, *Rhodococcus erythropolis* Имв Ас-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB В-7405 – продуцентами поверхностно-активных веществ // Вестник НАН Белоруссии. Биол. науки. – 2016. – № 1. – С. 90-95.
55. Джусупова, Д.Б. Биоремедиация объектов окружающей среды углеводородокисляющими микроорганизмами рода *Pseudomonas*: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.07, 03.00.16 / Джусупова Дария Бекайдаровна. – Алматы, 2010. – 40 с.
56. Ветрова А.А., Иванова А.А., Филонов А.Е. и др. Биодеструкция нефти отдельными штаммами и принципы составления микробных консорциумов для очистки окружающей среды от углеводородов нефти // Известия Тульского гос. ун-та. Естеств. науки. – 2013. – Вып. 2, ч. 1. – С. 241-257.
57. Ветрова А.А., Забелин В.А., Иванова А.А. и др. Биodeградация нефти консорциумом штаммов-нефтедеструкторов в лабораторных модельных системах // Юг России: экология, развитие. – 2018. – Т. 13, № 1. – С. 184-198
58. Kiraye, M. Bioremediation rate of total petroleum hydrocarbons from contaminated water by *Pseudomonas aeruginosa* case study: lake Albert, Uganda / M. Kiraye, W. John, K. Gabriel // J. Bioremed. Biodegrad. – 2016. – V. 7, № 2. – P. 335-339.
59. Ángeles, M.T. *In situ* biosurfactant production and hydrocarbon removal by *Pseudomonas putida* CB-100 in bioaugmented and biostimulated oil-contaminated soil / M.T. Ángeles, R.V. Refugio // Braz. J. Microbiol. – 2013. – V. 44, № 2. – P. 595-605.
60. Сулима, В.О. Использование азотфиксирующих микроорганизмов рода *Azotobacter* в процессах биоремедиации нефтезагрязненных почв / В.О. Сулима, А.А. Успабаева, А.У. Исаева // В мире научных открытий. – 2010. – № 4(17). – С. 22-23.
61. Bellenger, J.P. Vanadium requirements and uptake kinetics in the dinitrogen-fixing bacterium *Azotobacter vinelandii* / J.P. Bellenger, T. Wichard, A.M.L. Kraepiel // Appl. Environ. Microbiol. – 2008. – V. 74, № 5. – P. 1478-1484.
62. Özen, A.I. Defining the *Pseudomonas* genus: where do we draw the line with *Azotobacter*? / A.I. Özen, D.W. Ussery // Microb. Ecol. – 2012. – V. 63, № 2. – P. 239-248.

63. Неустроев М.П., Тарабукина Н.П., Неустроев М.М. и др. Способ очистки мерзлотных почв от нефти спорообразующими бактериями *Bacillus subtilis* // Патент РФ № 2446900. Заявл. 13.07.2010. Опубл. 10.04.2012. Бюл. № 10.
64. Плешакова Е. В., Белякова А. Ю., Деев Д. В. Особенности деградации углеводородов бактериями, выделенными из буровых шламов // Поволжский экологический журнал. 2017. № 2. С. 170 – 182
65. Barakat, Kh.M. Biosurfactant production by haloalkaliphilic *Bacillus* strains isolated from Red Sea, Egypt / Kh.M. Barakat, S.W.M. Hassan, O.M. Darwesh // Egypt. J. Aquatic Res. – 2017. – V. 43, № 3. – P. 205-211.
66. Kashi, M.H. Biodegradation of the most heavier fraction of crude oil, asphaltene, by *Bacillus toyonensis* BCT-7112 / M.H. Kashi, M.S. Tabatabaee, N.A. Soleimani // J. Chem. Health Risks. – 2018. – V. 8, № 1. – P. 65-74.
67. Саданов А.К., Айткельдиева С.А., Файзулина Э.Р., Курманбаев А.А., Ауэзова О.Н., Смирнова И.Э., Олейникова Е.А., Галимбаева Р.Ш. Консорциум штаммов *Arthrobacter globiformis* 24, *Arthrobacter terregens* П-1, *Arthrobacter* sp. К-3, *Candida tropicalis* ФС-4 АТ, используемый для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов // Патент РК №26078, 2012.
68. Жубанова А.А., Ерназарова А.К., Кайырманова Г.К. и др. Конструирование циано-бактериального консорциума на основе аксеничных культур цианобактерий и гетеротрофных бактерий для биоремедиации нефтезагрязненных почв и водоемов // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 4. – С. 588-595.
69. Mazumdar, A. Isolation of free living nitrogen fixing bacteria from crude oil contaminated soil / A. Mazumdar, M. Deka // Int. J. Bio-Technol. Res. – 2013. – V. 3, № 4. – P. 69-76.
70. Mazumdar A., Deka M., Hazarika D.J. Degradation of kerosene hydrocarbon by indigenous diazotrophic bacteria isolated from crude oil contaminated soil // Int. J. Bioassays. – 2015. – V. 4, № 8. – P. 4184-4188.
71. Мусаева Ж.К., Соколов В.В., Мусаев К.М. и др. Идентификация активных штаммов-нефтедеструкторов, выделенных из морской воды в районе порта Баутино // Естественные науки. – 2014. – № 4. – С. 88-95.
72. Исаченко А.И., Митрофанова Т.И., Шестакова О.О. и др. Штамм *Arthrobacter rhombi* ARC 16 ВКПМ Ас-1988 – деструктор нефти и нефтепродуктов / А.И. Исаченко, // Патент РФ № 2624063. Заявл. 23.03.2016. Опубл. 30.06.2017. Бюл. № 19.
73. Lee M., S.G. Woo, L.N. Ten Characterization of novel diesel-degrading strains *Acinetobacter haemolyticus* MJ01 and *Acinetobacter johnsonii* MJ4 isolated from oil-contaminated soil // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2012. – V. 28, № 5. – P. 2057-2067.
74. Pirog T., A. Sofilkanych, A. Konon et al. Intensification of surfactants' synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* K-8 on fried oil and glycerol containing medium // Food Bioprod. Proces. – 2013a. – V. 91, № 2. – P. 149-157.

75. Bao M., Y. Pi, L. Wang et al. Lipopeptide biosurfactant production bacteria *Acinetobacter* sp. D3-2 and its biodegradation of crude oil // *Environ. Sci. Process Impacts*. – 2014. – V. 16, № 4. – P. 897-903.
76. Pirog T.P., Shulyakova M.O., Nikituk L.V. et al. Industrial waste bioconversion into surfactants by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 // *Biotechnol. acta*. – 2017. – V. 10, № 2. – P. 22-33.
77. Шестаков А.И., Сережкин И.Н., Ламова Я.А. и др. Штамм *Nocardia coeliaca* ARC12 ВКПМ Ac-1990 - деструктор нефти и нефтепродуктов // Патент РФ № 2624067. Заявл. 07.12.2015. Оpubл. 30.06.2017б. Бюл. № 19.
78. Пирог Т.П., Панасюк Е.В., Антонюк Н.А. Влияние микробных ПАВ *Nocardia vaccini* IMB B-7405 на деструкцию нефти в воде // *Химия и технология воды*. – 2016. – Т. 38, № 5 (253). – С. 542-552.
79. Dastgheib SMM, Amoogzar MA, Khajeh K, et al. (2011) A halotolerant *Alcanivorax* sp. strain with potential application in saline soil remediation. *Appl Microbiol Biot* 90: 305–312.
80. Babu Z. Fathepure Recent studies in microbial degradation of petroleum hydrocarbons in hypersaline environments // *Front. Microbiol.*, 23 April 2014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00173>
81. Eman Koshlaf, Andrew S Ball. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments // *AIMS Microbiology*. 2017. Volume 3, Issue 1: 25-49. doi: 10.3934/microbiol.2017.1.25
82. Пунтус И.Ф., Рязанова Л.П., Звонарев А.Н. и др. Роль минеральных фосфорных соединений в процессе биодegradации нафталина бактериями *Pseudomonas putida* // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2015. – Т. 51, № 2. – С. 198-205.
83. Овчинникова А.А., Ветрова А.А., Филонов А.Е., Боронин А.М. Биодegradация фенантрена и взаимодействие *Pseudomonas putida* BS3701 и *Burkholderia* sp. BS3702 в ризосфере растений // *Микробиология*. – 2009. – Т. 78, № 4. – С. 484-490.
84. Astashkina A.P., Bakibayeva A.A., Plotnikova E.V et al. Study of the hydrocarbon-oxidizing activity of bacteria of the genera *Pseudomonas* and *Rhodococcus* // *Procedia Chemistry*. – 2015. – V. 15. – P. 90-96.
85. Ivshina I., Kostina L., Krivoruchko A. et al. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil spiked with model mixtures of petroleum hydrocarbons and heterocycles using biosurfactants from *Rhodococcus ruber* IEGM 231 // *J. Hazard. Mat.* – 2016. – V. 312. – P. 8-17.
86. Arenskötter M., Bröker D., Steinbuchel A. Biology of the Metabolically Diverse Genus *Gordonia* // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2004. – Vol. 70. – No. 6. – P. 3195-3204.
87. Xue Y, Sun X, Zhou P, Liu R, Liang F, Ma Y. *Gordonia paraffinivorans* sp. nov., a hydrocarbon-degrading actinomycete isolated from an oil-producing well. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2003; 53: 1643–1646.

88. Nicdao M.A.C., Rivera W.L. Two strains of *Gordonia terrae* isolated from used engine oil-contaminated soil utilize short- to long-chain n-alkanes // *Philippine Sci. Lett.* – 2012. – V. 5, № 2. – P.199-208
89. Худокормов А.А., Карасаева Э.В., Самков А.А., Волченко Н.Н. Деструкция углеводов различными морфотипами нефтеокисляющих актинобактерий // *Научный журнал КубГАУ, Кубань*, №92(08), 2013. С. 11-21.
90. "[Genus Gordonia](#)". *List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature*. Retrieved 26 June 2016.
91. Камалов А.М., Маркушева Т.В. Филогенетическое положение штамма-деструктора хлорароматических соединений семейства *Gordoniaceae* // *Universum: Химия и биология : электронный научный журнал* 2015. № 12 (19). URL: <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/2808>
92. Я. А. Делеган, А. А. Ветрова, М. И. Чернявская, М. А. Титок, А. Е. Филонов. Термотолерантные актиномицеты как агенты ремедиации нефтезагрязненных грунтов и вод в условиях жаркого аридного климата // *Известия Тульского государственного университета Естественные науки*. 2015. Вып. 4. С. 248–258
93. Андреева И.С., Емельянова Е.К., Загребельный С.Н., Олькин С.Е., Резникова И.К., Репин В.Е. Психротолерантные штаммы-нефтедеструкторы для биоремедиации почв и водной среды // *Биотехнология*. – 2006. – № 1. – С. 43-52.
94. Плешакова Е.В., Матора Л.Ю., Турковская О.В. Нефтеокисляющий штамм *Dietzia maris* и возможности его использования для биоремедиации загрязненной почвы // *Вестник МГОУ. Серия Естественные науки*. - 2010. - №4. -С. 82-89.
95. Natarajan S, Milne D, Jones AL, Goodfellow M, Perry J, Koerner RJ *Dietzia* strain X: a newly described Actinomycete isolated from confluent and reticulated papillomatosis. 2005. *Br J Dermatol* 153:825–827
96. Gharibzahedi, S.M.T., Razavi, S.H. & Mousavi, S.M. Characterization of bacteria of the genus *Dietzia*: an updated review. 2014. *Ann Microbiol* **64**, 1–11 <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0603-3>
97. Yumoto I, Nakamura A, Iwata H, Kojima K, Kusumoto K, Nodasaka Y, Matsuyama H *Dietzia psychralcaliphila* sp. nov., a novel, facultatively psychrophilic alkaliphile that grows on hydrocarbons. 2002. *Int J Syst Evol Microbiol* 52:85–90
98. Alonso-Gutiérrez J, Teramoto M, Yamazoe A, Harayama S, Figueras A, Novoa B. Alkane-degrading properties of *Dietzia* sp. H0B, a key player in the Prestige oil spill biodegradation (NW Spain). 2011. *J Appl Microbiol* 111:800–810
99. Bihari Z, Szvetnik A, Szabo Z, Blastyak A, Zombori Z, Balazs M, Kiss I. Functional analysis of long-chain n-alkane degradation by *Dietzia* spp. 2011. *FEMS Microbiol Lett* 316:100–107
100. Плешакова Е.В., Беляков А.Ю., Деев Д.В. Особенности деградации углеводов бактериями, выделенными из буровых шламов // *Поволжский экологический журнал*. 2017. № 2. С. 170-182

101. Ястребова О.В., Плотникова Е.Г. Галотолерантные бактерии-деструкторы полициклических ароматических углеводородов рода *Arthrobacter* // Вестник Пермского университета, Вып.5 (10), серия биология. 2007. – С. 100- 106
102. Shaopeng Yan, Qiuyu Wang , Lina Qu, Cong Li. Characterization of oil-degrading bacteria from oilcontaminated soil and activity of their enzymes // *Biotechnology & Biotechnological Equipment* №4, 2013. – P. 3932-3938
103. Патент № (19) KZ (13) A4 (11) 29026. Штамм бактерий *Arthrobacter* sp. 15Т, используемый для очистки почвы и воды от нефти и нефтепродуктов. Саданов А.К., Айткельдиева С.А., Файзулина Э.Р., Ауэзова О.Н., Татаркина Л.Г. № 2013/1881.1, 12.12.2013, 15.10.2014, бюл. №10
104. Neda Ali, Narjes Dashti, Majida Khanafer, Husain Al-Awadhi, Samir Radwan. Bioremediation of soils saturated with spilled crude oil // *Scientific Reports* | (2020) 10:1116 | <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57224-x>
105. Ерофеевская Л.А. Штамм бактерий *Microbacterium paraoxydans* ВКМ Ас-2619D – деструктор нефти и нефтепродуктов. Патент РФ на изобретение. № 2687155 Россия, МПК, С12N 1/20, С02F 3/34, В09С 1/10, С12R 1/07; 2018111145, заявлено 28.03.2018 г., опубликовано 07.05.2019 г. Бюл. № 13. Патентообладатель: ЯНЦ СО РАН (RU).
106. Santhakumar Muthukalam, Sivalingam Sivagangavathi, Dharmapal Dhrishya, Sadras Sudha Rani. Characterization of dioxygenases and biosurfactants produced by crude oil degrading soil bacteria / *Environmental Microbiology, Research Paper. Brazilian Journal of Microbiology. Volume 48, Issue 4, October–December 2017, Pages 637-647*
107. Хоменко Л.А., Ногина Т.М. Микробная деструкция минеральных (нефтяных) масел // *Мікробіологічний журнал*. – 2015. – Т. 77, № 6. – С. 70-81.
108. Потравный И. М., Апулу О. Г. Характеристика технологий по очистке загрязненных нефтепродуктами земель для обоснования природоохранных проектов / *Современные 152 проблемы управления проектами в инвестиционно-строительной сфере и природопользовании: материалы IX межд. научно-практ. конф.* – М.: РЭУ им. Г. В. Плеханова, 2019. – С. 357–362.
109. Биоэкономика в России: перспектива развития: монография / под ред. С. Н. Бобылева, П. А. Кирюшина, О. В. Кудрявцевой. – М.: Проспект, 2017. – 176 с.
110. Фокина Н.В., Мязин В.А., Губкина Т.Г. Исследование очистки почвы от нефти с использованием сорбентов различной модификации в условиях лабораторного опыта // *Экологические проблемы северных регионов и пути их решения: Мат. V Всеросс. науч. конф. с междунар. участием.* – Апатиты: КНЦ РАН, 2014. – С. 89-93.
111. Гафарова Е.В., Зарипова С.К. Влияние цеолитсодержащей породы и эспарцета на биологические параметры выщелоченного чернозёма, загрязненного смесью углеводородов // *Вестник СамГУ–Естественнонаучная серия.* – 2005. – №6 (40). – С. 146-156.

112. Месяц С.П., А.Б. Шемякина Активизация микробиологических процессов окисления мазутных загрязнений грунта // Вестник МГТУ. – 2009. – Том 12, №4 – С. 742-746.
113. Буланова А.В., Грецкова И.В., Муратова О.В. Исследование сорбционных свойств сорбентов, применяемых для очистки почв от нефтяных загрязнений // Вестник СамГУ–Естественнонаучная серия. – 2005. – №3 (37). – С. 150-158.
114. Стрижакова Е.Р., Васильева Г.К. Ускоренная биоремедиация почвы в присутствии сорбентов // III международная конференция «Международное сотрудничество в биотехнологии: Ожидания и реальность»: материалы конференции. – 2006. http://www.rusbio.biz/ru/nb2006_31.shtml
115. Киреева Н.А., Водопьянов В.В. Моделирование биodeградации нефти в почве микроорганизмами // II Международная научная конференция «Современные проблемы загрязнения почв». Том 2: сборник материалов. – М.: Изд-во МГУ, 2007. – С. 78-79.
116. Луценко, А.Н. О применении инновационных сорбентов и устройств для ликвидации разливов нефти и нефтепродуктов // Интернет-журнал «Технологии техносферной безопасности». – 2012. – №3 (43). – Режим доступа: <http://ipb.mos.ru/ttb/2012-3/2012-3.html>.
117. Янкевич М.И., Хадеева В.В., Мурыгина В.П. Биоремедиация почв: вчера, сегодня, завтра // Биосфера. – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 199-208.
118. Fester T., Giebler J., Wick L.Y. et al. Plant-microbe interactions as drivers of ecosystem functions relevant for the biodegradation of organic contaminants // Curr. Opin. Biotechnol. – 2014. – V. 27. – P. 168-175.
119. Al-Baldawi I.A., Sheikh S.R., Abdullah N. et al. Phytodegradation of total petroleum hydrocarbon (TPH) in diesel contaminated water using *Scirpus grossus* // Ecol. Engin. – 2015. – V. 74. – P. 463-473.
120. Lim M.W., Lau E.V., Poh P.E. A comprehensive guide of remediation technologies for oil contaminated soil – present works and future directions // Mar. Pollut. Bull. – 2016. – V. 109. – P. 14-45.
121. Lifshits, S.K. Increase in remediation processes of oil-contaminated soils / S.K. Lifshits, Y.S. Glyaznetsova, O.N. Chalaya, I.N. Zueva // Remediation. – 2017. – V. 28. – P. 97-104.
122. Егорова А.В., Мамонтова В.Н., Афти И.А. и др. Бактериальная деградация полициклических ароматических углеводородов в городских почвах // Известия СПбГТИ(ТУ). – 2014. – № 23. – С. 75-78.
123. Кузнецов, А.Н. Нефтяные компоненты в устьевой области р. Дон и в Азовском море (результаты многолетних исследований) / А.Н. Кузнецов, Ю.А. Федоров // Водные ресурсы. – 2014. – Т. 41, № 1. – С. 49-59.
124. Ульрих, Д.В. Фиторемедиация загрязненных почв и техногенных грунтов хвостохранилищ на территории меднорудных предприятий Южного Урала / Д.В. Ульрих, С.С. Тимофеева // Горный информ.-аналит. бюл. – 2016. – № 3. – С. 341-349.
125. Benson A., Ram A. G., John A., Joe M.M. Inoculation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-producing bacteria along with biosurfactant application

- enhances the phytoremediation efficiency of *Medicago sativa* in hydrocarbon-contaminated soils // *Bioremed. J.* – 2017. – V. 21, № 1. – P. 20-29.
126. Fatima, K. Plant-bacteria synergism: An innovative approach for the remediation of crude oil contaminated soils: Review / K. Fatima, A. Imran, M. Naveed, M. Afzal // *Soil Environ.* – 2017. – V. 36, № 2. – P.93-113.
127. Копщик, Г.Н. Проблемы и перспективы фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами (обзор литературы) / Г.Н. Копщик // *Почвоведение.* – 2014. – № 9. – С. 1113-1130.
128. Wang, Sh. The harm of petroleum-polluted soil and its remediation research / Sh. Wang, Y. Xu, Zh. Lin [et al.] // *AIP Conf. Proceed.* – 2017. P. 1859 – 1864.
129. Киреева, Н.А. Фиторемедиация как способ очищения почв, загрязнённых тяжёлыми металлами / Н.А. Киреева, А.С. Григориади, Ф.Я. Багаутдинов // *Теоретическая и прикладная экология.* – 2011. – № 3. – С. 4-10.
130. Megharaj, M. Bioremediation approaches for organic pollutants: a critical perspective / M. Megharaj, B. Ramakrishnan, K. Venkateswarlu [et al.] // *Environ. Int.* – 2011. – V. 37. – P. 1362-1375.
131. Киреева, Н.А. Влияние различных способов биоремедиации нефтезагрязненных почв на характеристику комплекса микромицетов / Н.А. Киреева, М.Д. Бакаева, Н.Ф. Галимзянова // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 2008. – № 1. – С. 63-68.
132. Chekroun K.B., Sánchez E., Baghour M. The role of algae in bioremediation of organic pollutants // *International Research Journal of Public and Environmental Health.* – 2014. – Vol.1. – No. 2. – P. 19-32.
133. Godleads Omokhagbor Adams, Prekeyi Tawari Fufeyin, Samson Eruke Okoro, Igelenyah Ehinomen. Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review // *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 2015, Vol. 3, No. 1. - P. 28-39
134. Попов, А.И. Биологическая рекультивация буровых площадок в Ненецком АО // *Антропогенная трансформация природной среды: материалы международной конференции.* Т.3. – Пермь: Пермский гос. ун-т, 2010. – С.245-247.
135. Smith E., Thavamani P., Ramadass K., Naidu R., Srivastava P., and Megharaj M. Remediation trials for hydrocarbon-contaminated soils in arid environments: evaluation of bioslurry and biopiling techniques. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 101, 2015. P. 56–65.
136. Hamdi H., Benzarti S., Manusadžianas L., Aoyama I., Jedidi N. Bioaugmentation and biostimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity under controlled conditions / H. Hamdi, // *Soil Biology and Biochemistry.* – 2007. – V. 39, № 8. – P. 1926–1935.
137. Chaudhary D.K., Bajagain R., Jeong S.W., Kim J. Biodegradation of diesel oil and n-alkanes (C₁₈, C₂₀, and C₂₂) by a novel strain *Acinetobacter* sp. K-6 in unsaturated soil // *Environmental Engineering Research* 2020. № 25(3). - P. 290-298

138. Lee S.-H., Oh B.-I., Kim J.-G. Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity // *Biores. Technol.* – 2008. – V. 99, No 7. –P. 2578–2587.
139. Agarry S., Latinwo G.K. Biodegradation of diesel oil in soil and its enhancement by application of bioventing and amendment with brewery waste effluents as biostimulation-bioaugmentation agents // *J. Ecologic. Engin.* – 2015. – V. 16, № 2. – P. 82-91.
140. Danjuma B. Y., Abdulsalam S. and Sulaiman A. D. I. Kinetic investigation of Escravos crude oil contaminated soil using natural stimulants of plantsources // *Int. J. Emerging Trends in Eng. & Dev.* – 2012. – Vol. 2. – No. 5. – P. 478-486.
141. Li P., Sun T., Stagnitti F., Zhang C., Zhang H., Xiong X., Allinson G., Ma X., Allinson M. Field-Scale Bioremediation of Soil Contaminated with Crude Oil // *Environmental Engineering Science.* – 2002. – Vol. 19. – No. 5.
142. Agbor R. B., Ekpo I. A., Osuagwu A. N., Udofia U. U., Okpako E. C. and Antai S. P. Biostimulation of microbial degradation of crude oil polluted soil using cocoa pod husk and plantain peels // *J. Microbiol. Biotechnol. Res.* – 2012. – Vol. 2. – No. 3. – P. 464-469
143. Tanee, F.B.G., Albert, E. Biostimulation Potential of Sawdust on Soil Parameters and Cassava (*Manihot esculenta*; Crantz) Yields in Crude Oil Polluted Tropical Soil // *Advances in Environmental Biology.* – 2011. – Vol. 5. – No. 5. – P. 938-945.
144. Agarry S.E., Jimoda L.A. Application of Carbon-Nitrogen Supplementation from Plant and Animal Sources in In-situ Soil Bioremediation of Diesel Oil: Experimental Analysis and Kinetic Modelling // *Journal of Environment and Earth Science.* – 2013. – Vol. 3. – No.7. – P. 51-62.
145. Nwadinigwe A.O., Onyeidu E.G. Bioremediation of Crude Oil-Polluted Soil Using Bacteria and Poultry Manure Monitored through Soybean Productivity // *Pol. J. Environ Stud.* – 2012. – Vol. 21. – No. 1. – P. 171-176
146. Галиулин Р.В., Галиулина Р.А., Башкин В.Н., Аكوпова Г.С., Листов Е.Л., Балакирев И.В. Сравнительная оценка разложения углеводов газового конденсата и нефти в почве под действием биологических средств // *Агрохимия.* – 2010 – № 10. – С. 52-58.
147. Смольникова В.В., Емельянов С.А., Дементьев М.С. Воздействие углеводов нефти на окружающую среду и способы очистки нефтезагрязненных субстратов // *Известия Самарского научного центра РАН.* – 2009. – т. 11, №1(6). – С. 1378-1380.
148. Киреева Н.А., Кабиров Т.Р., Григориади А.С., Онегова Т.С. /Детоксикация нефтешлама с использованием целлюлозосодержащих субстратов / *Вестник Башкирского университета.* – 2008. – Т. 13, №1. – С. 47-51.
149. Руденко, Е.Ю. Влияние отходов пивоварения на ферментативную активность нефтезагрязнённой чернозёмной почвы / *Теоретическая и прикладная экология.* – 2011. – № 3. – С. 60-64.

150. Колбасов, Г.А. Применение гуматов при рекультивации нефтезагрязнённых торфяных территорий / Г.А. Колбасов // *Естественные и технические науки*. – 2010. – № 2. – С. 212-216
151. Шигапов А.М. Применение природных органических сорбентов при ликвидации аварийных разливов нефти и нефтепродуктов / А.М. Шигапов, И.И. Гаврилин // *Комплексные проблемы техносферной безопасности: материалы Междунар. науч. - практ. конф.* Воронеж: ФГБОУ ВО «Воронежский государственный технический университет», 2015. Ч. IV. С. 150-155
152. Терещенко Н.Н., Лушников С.В. К вопросу о рациональном применении минеральных удобрений для ускорения микробиологической деструкции нефтяных углеводородов в почве. IV Международный симпозиум "Контроль и реабилитация окружающей среды". Материалы симпозиума. Томск, 2004. с.117-119.
153. Леднев А.В. Изменение свойств дерново-подзолистых суглинистых почв под действием загрязнения продуктами нефтедобычи и приемы их рекультивации: автореф. дис. ... доктора с-х. наук: 06.01.03 / Леднев Андрей Викторович. – Ижевск, 2008. – 43 с.
154. Басюл, Е.В. Методы очистки и рекультивации среды от нефтепродуктов // II Международная научная конференция «Современные проблемы загрязнения почв»: сборник материалов. Том 2. – М.: Изд-во МГУ, 2007. – С. 262-264
155. Хабибуллина Ф.М., Ибатуллина И.З. Трансформация сообщества микромицетов в торфяно-глеевых почвах Крайнего Севера при нефтяном загрязнении // *Теоретическая и прикладная экология*. - 2011. - № 3. - С. 76-86.
156. Баландина А.В., Садовникова Л.К. Биоремедиация нефтезагрязненных почв с помощью биопрепаратов // II Международная научная конференция «Современные проблемы загрязнения почв»: сборник материалов. – М.: Изд-во МГУ, 2007. – С. 260-262.
157. 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 Самарского научного центра РАН*. – 2008. – Т.10, №2. – С. 294-298.
158. Khan S., Afzal M., Iqbal S., Khan Q. M. Plant– bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils / S. Khan, // *Chemosphere*. – 2013. – V. 90, № 4. – P. 1317–1332.
159. Pimmata P. Comparative bioremediation of carbofuran contaminated soil by natural attenuation, bioaugmentation and biostimulation / P.Pimmata, A. Reungsang, P. Plangklang // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2013. – V. 85. – P. 196–204.
160. Simarro R., González N., Bautista L.F., Molina M.C. Assessment of the efficiency of in situ bioremediation techniques in a creosote polluted soil: Change

- in bacterial community // *Journal of hazardous materials*. – 2013. – V. 262. – С. 158–167.
161. Alkhatib M.F., Alam M.Z., Muyibi S.A., Husain I.A.F. An isolated bacterial consortium for crude oil biodegradation // *Afric. J. Biotechnol.* – 2011. – V. 10, № 81. – P. 18763-18767.
162. Ghazali F.M., Zaliha R.N., Rahman A., Salleh A.B., Basri M. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2004. – Vol. 54. – P. 61-67.
163. Williams J. Bioremediation of modelled petroleum-contaminated soils of the Niger Delta and the impact of zeolite augmentation // Thesis in partial fulfilment of the requirements of the Wolverhampton University for the degree of Master of Philosophy. – 2014.
164. Nwadinigwe A.O., Onyeidu E.G. Bioremediation of Crude Oil-Polluted Soil Using Bacteria and Poultry Manure Monitored through Soybean Productivity // *Pol. J. Environ. Stud.* – 2012. – Vol. 21. – No. 1. – P. 171-176
165. Тоганбай А.Н., Сарсенбаев С.О., Мусина У.Ш., Джамалова Г.А. Обзор способов биоремедиации нефтезагрязненных почв // *Научное обозрение. Реферативный журнал*. – 2018. – № 2. – С. 16-27;
166. Патент РК № 24879/15.11.2011 Саданов А.К., Айткельдиева С.А., Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А. Препарат «Бакойл – kz» для очистки почв от нефти и нефтепродуктов.
167. Патент № (19) KZ (13) В (11) 2609. Способ получения биологического препарата для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов. Молдагулова Н.Б., Сарсенова А.С., Аюпова А.Ж., Хасенова Э.Ж., Бердимуратова К.Т., Баякенов Д.А. 2017/0534.2, 16.08.2017, 12.02.2018, бюл. №6
168. Патент № (19) KZ (13) В (11) 32292. Способ биоремедиации нефтезагрязненных почв (варианты) Саданов А. К., Гаврилова Н. Н., Ратникова И. А. № 2015/0502.1, 07.04.2015, 15.08.2017, бюл. №15
169. Thapa B. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil / B. Thapa, A.K.C. Kumar, A. Ghimire // *Kathmandu university Journal of science, Engineering and technology*. – 2012. – V. 8, № 1. – С. 164-170.
170. Shankar S. Application of indigenous microbial consortia in bioremediation of oil-contaminated soils / S. Shankar, C. Kansrajh, M. G. Dinesh, R. S. Satyan, S. Kiruthika, A. Tharanipriya // *International Journal of Environmental Science and Technology*. – 2014. – V. 11, № 2. – С. 367–376.
171. Мукашева Т.Д., Шигаева М.Х., Атемова Г.Т, Биостимуляция как один из методов биоремедиации нефтезагрязненных почв // *Известия МОН и НАН РК. Серия биологическая и медицинская*. – 2001. – С. 20-27.
172. Roy A.S., Baruah R., Borah M., Singh A.K., Boruah H.P., Saikia D., Bora N. Bioremediation potential of native hydrocarbon degrading bacterial strains in crude oil contaminated soil under microcosm study // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2014. – V. 94, № 2. – P. 79–89.
173. Pimmata P. Comparative bioremediation of carbofuran contaminated soil by natural attenuation, bioaugmentation and biostimulation / P.Pimmata, A.

- Reungsang, P. Planklang // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2013. – V. 85. – P. 196–204.
174. Simarro R., González N., Bautista L.F., Molina M.C. Assessment of the efficiency of in situ bioremediation techniques in a creosote polluted soil: Change in bacterial community // *Journal of hazardous materials*. – 2013. – V. 262. – P. 158–167.
175. Khan S. Plant– bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils / S. Khan, M. Afzal, S. Iqbal, Q. M. Khan // *Chemosphere*. – 2013. – V. 90, № 4. – P. 1317–1332.
176. Anjana Sharma, Poonam Kumar, Meenal Budholia Rehman. Biodegradation of Diesel Hydrocarbon in Soil by Bioaugmentation of *Pseudomonas aeruginosa*: A Laboratory Scale Study // *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 2014, Vol. 2, No. 4. - P. 202-212.
177. Овсяникова В.С., Филатов Д.А., Алтунина Л.К., Сваровская Л.И. Биодеструкция углеводородов высоковязкой нефти почвенными микроорганизмами // *Химия в интересах устойчивого развития*. - 2014.- № 22. – С. 489 – 495.
178. Қазақстан табиғаты: Энциклопедия / Бас ред. Б.Ө. Жақып. - Алматы:"Қазақ энциклопедиясы" ЖШС, 2017. Т.3. - 304 бет. [ISBN 9965-893-64-0](#) (Т.3.), [ISBN 9965-893-19-5](#)
179. Практикум микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. –М.: Ademia, 2005, - С. 597.
180. Другов Ю.С. Родин А.А. Экологические анализы при разливах нефти и нефтепродуктов: практическое руководство. М: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. 270 с.
181. Мұнай мен газдың физикасы және химиясы: Жоғары оқу орындарына арналған оқулық – Атырау: 2017. – 250 б.
182. Alexieva Z., Gerginova M., Manasiev J., Zlateva P., Shivarova N., Krastanov A. Phenol and cresol mixture degradation by the yeast *Trichosporon cutaneum* // *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*. - 2008. - Vol. 35. - P.1297-1031
183. Лебедева Е.А. Охрана воздушного бассейна от вредных технологических и вентиляционных выбросов: Учебное пособие. - Н. Новгород: Нижегород. гос. архит.-строит. ун-т, 2010. - 196 с.
184. Микробиология: практикум / Л. С. Лавренчук, А. А. Ермошин; М-во науки и высш. образования РФ, Урал. федер. ун-т. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2019. – 107 с.
185. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т.: Пер. с англ./ Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – 368 с.
186. Егоров Н.С. Микробы антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности – М.: Высшая школа, 1965. – 176 с.
187. Wilson K. Preparation of Genomic DNK from Bacteria // *Current Protocols in Molecular Biology*. – 2001. – Vol. 56, № 1. – P. 2.4.1 -2. 4. 5.

188. Jill E. Clarridge III. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases // *Clinical Microbiology Reviews*, oct. 2004, p. 840–862
189. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. – М.: Химия, 1984. – с. 450
190. Шаповалова Е.Н., Пирогов А.В. Хроматографические методы анализа Методическое пособие для специального курса. Москва, 2007. – 203 с.
191. Петухова В.Н., Фомченко В.М., Чугунов В.А. Биотестирование почвы и воды, загрязненных нефтью и нефтепродуктами с помощью растений // *Прикладная микробиология и биохимия*. – 2000. – Т. 36, № 6. – С. 652-655
192. Чукпарова А.У. Интенсификация деградации нефтяных углеводородов с использованием монокультур и консорциумов микроорганизмов-нефтедеструкторов // *Вестник КазНУ. Серия биологическая*, №1 (47), 2011. – С. 100-104
193. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – М.: Колос, 1973. -327 с.
194. Спанкулова Г.А., Саданов А.К., Ауезова О.Н. Биоремедиация - мұнай және мұнай өнімдерімен ластанған топырақтардың қайта қалпына келтірудің негізі (әдеби шолу) // *ҚР ҰҒА Хабарлары*, № 4 /2015. Алматы қ. Б. 102-107.
195. Jiang, C. Y., Dong, L., Zhao, J. K., Hu, X., Shen, C., Qiao, Y., et al. (2016). High throughput single-cell cultivation on microfluidic streak plates. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 2210–2218. doi: 10.1128/AEM.03588-15
196. Guerra, A. B., Oliveira, J. S., Silva-Portela, R. C., Araujo, W., Carlos, A. C., Vasconcelos, A. T. R., et al. (2018). Metagenome enrichment approach used for selection of oil-degrading bacteria consortia for drill cutting residue bioremediation. *Environ. Pollut.* 235, 869–880. doi: 10.1016/j.envpol.2018.01. 014
197. Hazen, T. C., Dubinsky, E. A., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., Piceno, Y. M., Singh, N., et al. (2010). Deep-sea oil plume enriches indigenous
198. Yang, Y., Wang, J., Liao, J., Xie, S., and Huang, Y. (2015). Abundance and diversity of soil petroleum hydrocarbon-degrading microbial communities in oil exploring areas. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99, 1935–1946.
199. Fuentes, S., Barra, B., Caporaso, J. G., and Seeger, M. (2015). From rare to dominant: a fine-tuned soil bacterial bloom during petroleum hydrocarbon bioremediation. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 888–896.
200. Varjani, S. J., and Gnansounou, E. (2017). Microbial dynamics in petroleum oilfields and their relationship with physiological properties of petroleum oil reservoirs. *Bioresour. Technol.* 245, 1258–1265.
201. Tremblay J., Yergeau E., Fortin N., Cobanli S., Elias M., King T. L., et al. (2017). Chemical dispersants enhance the activity of oil-and gas condensate-degrading marine bacteria. *ISME J.* 11, 2793–2808. doi: 10.1038/ismej.2017.129
202. Спанкулова Г.А., Саданов А.К., Ауезова О.Н., Айткельдиева С.А. Выделение и отбор микроорганизмов-деструкторов нефти и НП // *Вестник НАН РК*, №3/2016 Алматы, Б. 56-60
203. Xu X, Liu W, Tian S, Wang W, Qi Q, Jiang P, Gao X, Li F, Li H and Yu H (2018) Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil

- Pollution Under Aerobic Conditions: A Perspective Analysis. *Front. Microbiol.* 9: 2885. doi: 10.3389/fmicb.2018.02885
204. Bagherzadeh-Namazi, Shojaosadati A., Hashemi-Najafabadi S. A., Biodegradation S. of Used Engine Oil Using Mixed and Isolated Cultures // *Int. J. Environ. Res.*, 2008. №2(4). P. 431-440.
205. Патент РФ № 2531231 Карасева Э.В., Самкова С.М., Самков А.А., Худокормов А.А. Карасев С.Г. Штамм бактерий *Gordona* sp. - деструктор нефтяных углеводородов Дата подачи заявки: 11.04.2013. Опубликовано: 20.10.2014 Бюл. № 29
206. Stroud JL, Paton GI, Semple KT. Microbe-aliphatic hydrocarbon interactions in soil: Implications for biodegradation and bioremediation. *J. Appl. Microbiol.* 2007;102:1239-1253.
207. Abbasian F, Lockington R, Mallavarapu M, Naidu R. A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2015;176:670-699.
208. Bajagain R, Park Y, Jeong SW. Feasibility of oxidation-biodegradation serial foam spraying for total petroleum hydrocarbon removal without soil disturbance. *Sci. Total Environ.* 2018;626:1236-1242.
209. Dhiraj Kumar Chaudhary, Rishikesh Bajagain, Seung-Woo Jeong, Jaisoo Kim. Biodegradation of diesel oil and n-alkanes (C18, C20, and C22) by a novel strain *Acinetobacter* sp. K-6 in unsaturated soil // *Environ. Eng. Res.* 2020; 25(3): 290-298 <https://doi.org/10.4491/eer.2019.119>
210. Gilles M., Vandamme P., De Vos P. *Taxonomy. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* New York: Springer Verlag, 2001. - V. 1. -P. 43–48.
211. Tindall B.J., Rossello-Mora R., Busse H.J. Notes on the characterization of prokaryote strains for taxonomic purposes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* - 2010. - Vol. 60, № 1. - P. 249-266.
212. Maszenan, A. M., Seviour, R. J., Patel, B. K., Schumann, P. & Rees, G. N. *Tessaracoccus bendigoensis* gen. nov., sp. nov., a gram-positive coccus occurring in regular packages or tetrads, isolated from activated sludge biomass. 1999. *Int J Syst Bacteriol* 49, 459–468.
213. Man Cai, Lu Wang, Hua Cai, Yan Li, Ya-Nan Wang, Yue-Qin Tang and Xiao-Lei Wu // *Salinarimonas ramus* sp. nov. and *Tessaracoccus oleagri* sp. nov., isolated from a crude oil-contaminated saline soil. 2011. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61, 1767-1775
214. Boonchan S., Britz M.L., Stanley G.A. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungalbacterial cocultures // *Appl. Environm. Microbiol.* 2000. Vol. 66, № 3. P. 1007–1017.
215. Hamzah A., C.W. Phan, N. F. Abu Bakar, K. K. Wong (2013) Biodegradation of crude oil by constructed bacterial consortia and the constituent single bacteria isolated from Malaysia, *Biorem. J.*, 17(1), 1–10.
216. Darsa K., A. Thatheyus (2014) Biodegradation of petroleum compound using *Pseudomonas aeruginosa*, *Open Acc. Lib. J.*, 1, 1–9 (doi: 10.4236/oalib.1100735).

217. Gulzhan Spankulova, Maria Gerginova, Nadejda Peneva, Zlatka Alexieva. Molecular identification of petroleum-degrading bacteria and characterization of their biodegradation potential related phenol // *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*. Tome 71, No 11, 2018.
218. Boczkaj G., Fernandes A. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes at basic pH conditions: a review. *Chem. Eng. J.* 2017; 320:608–633.
219. Fernandes A., Makoś P., Boczkaj G. Treatment of bitumen post oxidative effluents by sulfate radicals based advanced oxidation processes (S-AOPs) under alkaline pH conditions. *J. Clean. Prod.* 2018; 195:374–384.
220. Gałol M., Przyjazny A., Boczkaj G. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes based on cavitation – a review. *Chem. Eng. J.* 2018; 338:599–627. doi: 10.1016/j.cej.2018.01.049.
221. Aksu Z., Akpınar D., Kabasakal E., Köse B. Simultaneous biosorption of phenol and nickel (II) from binary mixtures onto dried aerobic activated sludge. *Process Biochem.* 1999; 35:301–308. doi: 10.1016/S0032-9592(99)00072-2.
222. Спанкулова Г.А., Саданов А.К., Алексиева З., Георгинова М., Пенюва Н. Изучение таксономических характеристик и возможности деструкции ароматических углеводородных соединений нефтеокисляющего штамма *Gardonia sp.* 12/5. // *Materialy XV Międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji, «Aktualne problemy nowoczesnych nauk - 2019» Przemysł: Nauka i studia. 07 -15 czerwca (июнь) 2019 Vol. 10. С. 9-16.*
223. Gulzhan Spankulova, Maria Gerginova, Nadejda Peneva, Zlatka Alexieva. Biodegradation of PAHs by bacterial strains isolated from the oil field Kumkol in Kazakhstan // *Book of Abstracts. VII International Conference on Environmental Industrial and Applied Microbiology - BMW2017, October 2017. Madrid (Spain).* P. 30
224. Mojiri A., Zhou J.L., Ohashi A., Ozaki N., Kindaichi T. Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments// *Sci. Total Environ*, 696 (2019), Article 133971, [10.1016/j.scitotenv.2019.133971](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133971)
225. Mangse G., Werner D., Meynet P., Ogbaga C.C. Microbial community responses to different volatile petroleum hydrocarbon class mixtures in an aerobic sandy soil // *Environ. Pollut.*, 264 (2020), Article 114738, [10.1016/j.envpol.2020.114738](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114738)
226. K. Shi, Q. Zhang, J.L. Xue, X. Chen, Y.Q. Chen, Y.L. Qiao, Y.P. Yang, J.K. Sun Study on the degradation performance and bacterial community of bioaugmentation in petroleum-pollution seawater// *J. Environ. Chem. Eng.*, 8 (2020), Article 103900, [10.1016/j.jece.2020.103900](https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103900)
227. Ветрова А.А. Биодеструкция нефти отдельными штаммами и принципы составления микробных консорциумов для очистки окружающей среды от углеводородов нефти. *Известия Тульского государственного университета Естественные науки*. 2013. Вып. 2. Ч.1. С. 241–257

228. Спанкулова Г.А., Саданов А.К., Ауезова О.Н. Ассоциации микроорганизмов для биоремедиации нефтезагрязненных почв // Научно-технический журнал «Нефть и газ», 1(115)2020, Алматы. С. 114-122.
229. Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П., Корнейкова М.В., Ахтулова Е.М., Михайлова И.В. Воздействие загрязнения почв дизельным топливом на растения и ризосферную микробиоту на Кольском Севере // Агрехимия, 2007. № 12. С. 49-55.
230. Lucian Constantin Dincă, Paola Grenni, Cristian Onet and Aurelia Onet. Fertilization and Soil Microbial Community: A Review // Appl. Sci. 2022, 12, 1198. <https://doi.org/10.3390/app12031198>
231. Fabianska M. Biodegradation of brown coals caused by fungi and bacteria // J. Planar Chromatography. 2015. V. 13. P. 20.
232. Вержичинская С.В. Химия и технология нефти и газа. М.: ИНФРА-М, 2007. 400 с.
233. Ветрова А.А., Забелин В.А., Иванова А.А. и др. Биодegradация нефти консорциумом гаммов-нефтедеструкторов в лабораторных модельных системах // ЮГ России: Экология, развитие Том 13 № 1. 2018. С. 184-198.
234. Aitkeleva S.A., Faizulina E.R., Tatarkina L.G., Auezova O.N., Spankulova G.A., Sadanov A.K. Degradation of petroleum hydrocarbons with thermotolerant microorganisms // *Rasāyan Journal of Chemistry*, Vol.13. No. 2. 2020. P. 1271-1282.
235. Булуктаев А. А. Фитотоксичность нефтезагрязненных почв аридных территорий (в условиях модельного эксперимента) // Russian Journal of Ecosystem Ecology. – 2019. – Vol. 4 (3). – DOI 10.21685/2500-0578-2019-3-5.

ҚОСЫМША А

Қызылорда облысының мұнай және мұнайөнімдерімен ластанған топырақтарынан бөліп алынған көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдердің нуклеотидті тізбегінің деректері

Rhodococcus sp. strain 1D/1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MF188988.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS MF188988 1371 bp DNA linear BCT 11-JUN-2017

DEFINITION Rhodococcus sp. strain 1D/1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION MF188988

VERSION MF188988.1

KEYWORDS .

SOURCE Rhodococcus sp.

ORGANISM [Rhodococcus sp.](#)

Bacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Nocardiaceae; Rhodococcus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1371)

AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A. and Alexieva,Z.

TITLE Molecular identification of petroleum-degrading bacteria and characterization of their biodegradation potential related mono- and poly-aromatic compounds

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 1371)

AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A. and Alexieva,Z.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (05-JUN-2017) General Microbiology, Institute of Microbiology - Bulg. Acad. Sci., Acad. G. Bontchev, Sofia 1113, Bulgaria

COMMENT ##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source

1..1371

/organism="Rhodococcus sp."

/mol_type="genomic DNA"

/strain="1D/1"

/isolation_source="The oil field Kumkol"

/db_xref="taxon:1831"

/country="Kazakhstan"

/collection_date="Mar-2015"

[rRNA](#)

<1..>1371

/product="16S ribosomal RNA"

ORIGIN

```
1 agcggtaag ctttcgggg tacacgagc gcaacgggt gagtaacacg tgggtgatct
61 gcctcgact ctgggataag cttgggaaac tgggtctaata accggatatg accacagcat
121 gcatgtgttg tgggtgaaa atttatcggg gcaggatggg cccggggcct atcagcttgt
181 tggtggggta atggcctacc aaggcgaaga cgggtagccg acctgagagg gtgaccggcc
241 acactgggac tgagacacgg cccagactcc tacgggaggc agcagtgggg aatattgcac
301 aatggggcga agcctgatgc agcagcggc cgtgagggat gaaggccttc gggttgtaaa
361 cctctttcag cagggacgaa gcgtgagtga cggtacctgc agaagaagca cgggctaact
421 acgtgcccag agcccggtta atactgagg tgcgagcgtt gtccggaatt actgggcgta
481 aagagtctgt agggggttg tcgcgtcgtt tgtgaaaacc cggggctcaa cttcgggctt
541 gcaggcgata cgggcagact tgagtgtttc aggggagact ggaattcctg gtgtagcggg
601 gaaatgcgca gatatacaaga aggaacaccg gtggcgaagg cgggtcttgg gatacaactg
661 acgtgagga gcgaaggcgt ggatagcaaa acaggattag ataccctggt agtccacgcc
721 gtaaagcgtg ggcgctaagg tgtgggttcc ttccacggga tctgtgccc agtcaacgca
781 ttaagcggcc cgcctgggga gtacggccgc aaggctaaaa ctcaaaggaa ttgacggggg
841 cccgcacaag cggcggagca tgtggattaa ttcgatgcaa gcggaagaac cttacctggg
901 tttgacatac accggaaaac cgtagagata cggtcccctt tgtggtcggg gtacaggtgg
961 tgatggctg tgctcagctc tgtcgtgag atgttgggtt aagtcgccga acgagcgcaa
1021 ccctgtctct atgttgccag cacgtaatgg tggggactcg taagagactg cgggggtcaa
1081 ctcgaggaaa ggtggggagc acgtcaagtc atcatgccc ttatgtccag ggtctcacac
1141 atgctacaat gccagtaga gaggcctgag agaccgtgag gtggagcgaa tcccttaaag
1201 ctggtctcag ttcgatcgg ggtctgcaac tcgaccctgt gaagtgggag tcgctagtaa
1261 tcgcagatca gcaacgctgc ggtgaatacg ttcccgggac ttgtacacac cgcccgtcac
1321 gtcatagaag tcggtaacac ccgaagccgg tggcctaacc ccttgtggga g
```

Сурет 1 А – GenBank дерекқорында тіркеу нөмірі - MF188988.1 бойынша тіркелген *Rhodococcus sp.* 1D/1 нуклеотидтер тізбегі, адресі бойынша: <https://www.ncbi.nlm.gov/nucleotide/MF188988.1>

Gordonia sp. strain 12/5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MF188989.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS MF188989 1365 bp DNA linear BCT 11-JUN-2017

DEFINITION *Gordonia* sp. strain 12/5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION MF188989

VERSION MF188989.1

KEYWORDS .

SOURCE *Gordonia* sp.

ORGANISM [Gordonia sp.](#)

Bacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Gordoniaceae; *Gordonia*.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1365)

AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A. and Alexieva,Z.

TITLE Molecular identification of petroleum-degrading bacteria and characterization of their biodegradation potential related mono- and poly-aromatic compounds

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 1365)

AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A. and Alexieva,Z.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (05-JUN-2017) General Microbiology, Institute of Microbiology - Bulg. Acad. Sci., Acad. G. Bontchev, Sofia 1113, Bulgaria

COMMENT ##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source

1..1365

/organism="Gordonia sp."

/mol_type="genomic DNA"

/strain="12/5"

/isolation_source="The oil field Kumkol"

/db_xref="taxon:84139"

/country="Kazakhstan"

/collection_date="Mar-2015"

[rRNA](#)

<1..>1365

/product="16S ribosomal RNA"

ORIGIN

```
1 gcccagcttg ctgggtactc gagtggcgaa cgggtgagta acacgtgggt gatctgcccc
61 tgacttttggg ataagcctgg gaaactgggt ctaataccgg atatgaccag ttggtgcatg
121 ccttctgggtg gaaagccttg tgcggttggg gatgggcccg cggcctatca gcttgttggg
181 ggggtaattgg cctaccaagg cgacgacggg tagccgacct gagagggtga tccggccacac
241 tgggactgag acacggccca gactcctacg ggaggcagca gtggggaata ttgcacaatg
301 ggcgcaagcc tgatgcagcg acgcccgtg agggatgacg gccttcgggt tgtaaacctc
361 tttcaccagg gacgaagctt ttgtgacggt acctggagaa gaagcaccgg ccaactacgt
421 gccagcagcc gcgtaatac gtaggggtgc agcgttgcc ggaattactg ggcgtaaaga
481 gctcgtaggg ggtttgtcgc gtcgtctgtg aaattctgca gcttaactgc aggcgtgcag
541 gcgatacggg cagacttgag tactacaggg gagactgaa ttctgtgtg agcggtgaaa
601 tgcgagata tcaggaggaa caccggtggc gaaggcgggt ctctgggtag taactgacgc
661 tgaggagcga aagcgtgggt agcgaacagg attagatacc ctggtagtcc acgcccataa
721 cgggtgggta ctagggtggg gggctcattt cacgagttcc gtgccgtagc taacgcatta
781 agtaccgccg ctggcgagta cggccgcaag gctaaaactc aaaggaattg acgggggcc
841 gcacaagcgg cggagcatgt ggattaattc gatgcaacgc gaagaacctt acctgggtt
901 gacatacacc agacgcccgt agagatagtc gttccctgt ggttgggtga caggtgggtg
961 atggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg agcgaaccc
1021 ttgtcctgta ttgccagcgg gttatgccgg ggacttgacg gagactgccg gggtaactc
1081 ggaggaaggt ggggatgacg tcaagtcac atgcccctta tgtccagggc ttcacacatg
1141 ctacaatggc cggtacagag ggctgcgata ccgtgaggtg gagcgaatcc cttaaagccg
1201 gtctcagttc ggatcggggg ctgcaactcg acccgtgaa gtcggagtcg ctagtaatcg
1261 cagatcagca acgctcgggt gaatacgttc ccggccttg tacacaccgc ccgtcacgct
1321 atgaaagtgc gtaacaccg aagccggtgg cctaaccctt gtgga
```

Сурет 2 А – GenBank дерекқорында тіркеу нөмірі - MF188989.1 бойынша тіркелген *Gordonia* sp. 12/5 нуклеотидтер тізбегі, адресі бойынша: <https://www.ncbi.nlm.gov/nucleotide/MF188989.1>

Dietzia sp. strain 12/7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MF188990.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS MF188990 1363 bp DNA linear BCT 11-JUN-2017
DEFINITION Dietzia sp. strain 12/7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION MF188990
VERSION MF188990.1
KEYWORDS .
SOURCE Dietzia sp.
ORGANISM [Dietzia sp.](#)
Bacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Dietziaceae; Dietzia.
REFERENCE 1 (bases 1 to 1363)
AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A.
and Alexieva,Z.
TITLE Molecular identification of petroleum-degrading bacteria and
characterization of their biodegradation potential related mono-
and poly-aromatic compounds
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 1363)
AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A.
and Alexieva,Z.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (05-JUN-2017) General Microbiology, Institute of
Microbiology - Bulg. Acad. Sci., Acad. G. Bontchev, Sofia 1113,
Bulgaria
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1363
/organism="Dietzia sp."
/mol_type="genomic DNA"
/strain="12/7"
/isolation_source="The oil field Kumkol"
/db_xref="taxon:1871616"
/country="Kazakhstan"
/collection_date="Mar-2015"
[rRNA](#) <1..>1363
/product="16S ribosomal RNA"
ORIGIN
1 cggtgaagcc ctttcggggg tacacgagtg gcgaacgggt gagtaacacg tgggtaatct
61 gccctgcact tcgggataag cctgggaaac cgggtctaata accggatatg agctcctgcc
121 gcatgggtgg ggttgaaaag tttttcggtg caggatgagt ccgcgcccta tcagcttggt
181 ggtggggtaa tggcctacca agcgcacgac ggtagccgg cctgagaggg tgatcggcca
241 cactgggact gagacacggc ccagactcct acgggagcca gcagtgggga atattgcaca
301 atgggcgaaa gcctgatgca gcgacgccgc gtgggggatg acggtcttcg gattgtaaac
361 tcctttcagt agggacgaag cgaagtgcac ggtacctgca gaagaagcac cggccaacta
421 cgtgccagca gcccggttaa tacgtagggt gcaagcgttg tccggaatta ctgggcgtaa
481 agagctcgta ggcggtttgt cacgctcgtc gtgaaatcct ccagctcaac tgggggcggt
541 cagcgatata ggcagactt gactactaca ggggagactg gaattcctgg tgtageggtg
601 aaatgcgcag atatcaggag gaacaccggt gccgaaggcg ggtctctggg tagtaactga
661 cgctgaggag cgaagcatg gggagcaaac aggattagat accctggtag tccatgccgt
721 aaacgggtgg cgctagggtg ggggtccttc cacggattcc gtgccgtagc taacgcatta
781 agcgcgccgc ctggggagta cggcgcaagg ctaaaactca aaggaattga cgggggcccg
841 cacaagcggc ggagcatgtg gattaattcg atgcaacgcg aagaacctta cctaggcttg
901 acatatacag gacgacggca gagatgtcgt ttcccttggt gcttgatac aggtggtgca
961 tgggtgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaacccc
1021 tgtctcatgt tgccagcacg ttatgggtgg gactcgtgag agactgccgg ggtcaactcg
1081 gaggaaggtg gggatgacgt caaatcatca tgccccttat gtctagggtt tcacacatgc
1141 tacaatggct agtacagagg gctgagagac cgcgaggtgg agcgaatccc ttaaagctag
1201 tctcagttcg gattggggtc tgcaactcga ccccatgaag tcggagtcgc tagtaatcgc
1261 agatcagcat tgctgcggtg aatacgttcc cgggccttgt acacaccgcc cgtcactgca
1321 tgaagtcgga taacaccgga agccgggtggc ctaacccttg tgg

Сурет 3 А – GenBank дереккөзінде тіркеу нөмірі - MF188990.1 бойынша тіркелген *Dietzia sp.* 12/7 нуклеотидтер тізбегі, адресі бойынша: <https://www.ncbi.nlm.gov/nucscore/MF188990.1>

Dietzia sp. strain 13/4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MF188991.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS MF188991 1368 bp DNA linear BCT 11-JUN-2017
DEFINITION Dietzia sp. strain 13/4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION MF188991
VERSION MF188991.1
KEYWORDS .
SOURCE Dietzia sp.
ORGANISM [Dietzia sp.](#)
Bacteria; Actinobacteria; Corynebacteriales; Dietziaceae; Dietzia.
REFERENCE 1 (bases 1 to 1368)
AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A.
and Alexieva,Z.
TITLE Molecular identification of petroleum-degrading bacteria and
characterization of their biodegradation potential related mono-
and poly-aromatic compounds
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 1368)
AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A.
and Alexieva,Z.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (05-JUN-2017) General Microbiology, Institute of
Microbiology - Bulg. Acad. Sci., Acad. G. Bontchev, Sofia 1113,
Bulgaria
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1368
/organism="Dietzia sp."
/mol_type="genomic DNA"
/strain="13/4"
/isolation_source="The oil field Kumkol"
/db_xref="taxon:[1871616](#)"
/country="Kazakhstan"
/collection_date="Mar-2015"
[rRNA](#) <1..>1368
/product="16S ribosomal RNA"

ORIGIN

```
1 gaacggtaag gcccttcg gggtagacga gtggcgaac ggtgagtaac acgtgggtaa
61 tctgccctgc acttcgggat aagcctggga aactgggtct aataccggat atgaactcct
121 gccgcatggt gggggttga aagtttttcg gtgcaggatg agcccgcgpc ctatcagctt
181 gttggtgggg taatggccta ccaaggcgac gacgggtagc cggcctgaga gggtagtcgg
241 ccacactggg actgagacac ggcccagact cctacgggag gcagcagtg ggaatattgc
301 acaatggcgg aaagcctgat gcagcgacgc cgcgtggggg atgacggctc tcgattgta
361 aaccccttcc agtagggacg aagcgcgaagt gacgggtacct gcagaagaag caccggctaa
421 ctacgtgcca gcagccgagg taatacgtag ggtgagcagc ttgtccggaa ttactggcgg
481 taaagagctc gtaggcggtt tgcacgctcg tctgtgaaat cctcggctt aaccgggggc
541 gtgcaggcga tacgggcaga cttgagtact acaggggaga ctggaattcc tgggtagcgc
601 gtgaaatgag cagatatcag gaggaacacc ggtggcgaag gcgggtctct gggtagtaac
661 tgacgctgag gagcgaagc atgggtagcg aacaggatta gataccctgg tagtccatgc
721 cgtaaaccgt gggcgctagg tgtggggtcc ttccacggac tccgtgccgt agctaacgca
781 ttaagcgcgc cgcctgggga gtacggccgc aaggctaaaa ctcaaaggaa ttgacggggg
841 cccgcacaag cggcggagca tgtggattaa ttcgatgcaa cgcaagaac cttacctagg
901 cttgacatat acaggacgac ggcagagatg tcgtttccct tgtggcttgt atacaggtgg
961 tgcattggtt tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttgggtt aagtcccgca acgagcgcga
1021 ccctgtctc atgttgccag cacgtaatgg tggggactcg tgagagactg ccgggggtcaa
1081 ctggaggaaa ggtggggatg acgtcaaatc atcatgcccc ttatgtctag ggcttcacac
1141 atgctacaat ggctagtaca gagggctcgc ataccgcgag gtggagcgaa tcccttaag
1201 ctgggtctcag ttcggattgg ggtctgcaac tcgaccccat gaagtcggag tcgtagtaaa
1261 tcgcagatca gcaacgctgc ggtgaatacg ttcccgggcc ttgtacacac cgcccgtcac
1321 gtcattgaaag tcggtaacac ccgaagccgg tggcctaacc cttgtgga
```

Сурет 4 А – GenBank дерекқорында тіркеу нөмірі - MF188991.1 бойынша тіркелген *Dietzia sp.* 13/4 нуклеотидтер тізбегі, адресі бойынша: <https://www.ncbi.nlm.gov/nucleotide/MF188991.1>

Tessaracoccus sp. strain 13/8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MF188992.1

[FASTA Graphics PopSet](#)

[Go to:](#)

LOCUS MF188992 1359 bp DNA linear BCT 11-JUN-2017
DEFINITION Tessaracoccus sp. strain 13/8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence.
ACCESSION MF188992
VERSION MF188992.1
KEYWORDS .
SOURCE Tessaracoccus sp.
ORGANISM [Tessaracoccus sp.](#)
Bacteria; Actinobacteria; Propionibacteriales; Propionibacteriaceae; Tessaracoccus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 1359)
AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A. and Alexieva,Z.
TITLE Molecular identification of petroleum-degrading bacteria and characterization of their biodegradation potential related mono- and poly-aromatic compounds
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 1359)
AUTHORS Spankulova,G., Gerginova,M., Peneva,N., Faizulina,E., Sadanov,A. and Alexieva,Z.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (05-JUN-2017) General Microbiology, Institute of Microbiology - Bulg. Acad. Sci., Acad. G. Bontchev, Sofia 1113, Bulgaria
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..1359
/organism="Tessaracoccus sp."
/mol_type="genomic DNA"
/strain="13/8"
/isolation_source="The oil field Kumkol"
/db_xref="taxon:1971211"
/country="Kazakhstan"
/collection_date="Mar-2015"
[rRNA](#)
<1..>1359
/product="16S ribosomal RNA"

ORIGIN

```
1 taaggcccct tcgggggtac acgagtggcg aacgggtgag taacacgtga gtaacctgcc
61 cttgactctg ggataacatc tggaaacagg tgctaatacc ggatatgaac cctggactca
121 tgtttggggt tggaaagctc cggcggctcat ggatggactc gcggcctatc agcttggtgg
181 tgaggtaatg gtcaccaag gcttcgacgg gtagccggcc tgagagggcg accggccaca
241 ttgggactga gatacggccc aaactcctac gggaggcagc agtggggaat attgcacaat
301 gggcgaaagc ctgatgcagc aacgccgcgt gcgggatgac ggccttcggg ttgtaaaccc
361 ctttcaccca tgacgaagct aacgtgacgg tagtgggaga agaagcaccg gctaactacg
421 tgccagcagc cgcggtgata cgtagggtgc gagcgttgtc cggatttatt gggcgtaaag
481 agcttgtagg cggtttgta cgtcgggagt gaaaactcag tgctcaacac tgagcctgct
541 tccgatacgg gcagacttga ggaaggtagg ggagatcgga attcctggtg gagcgggtga
601 atgcgcagat atcaggagga acaccggtgg cgaaggcgga tctctggacc tttcctgacg
661 ctgagaagcg aaagcgtggg gagcaaacag gcttagatac cctggtagtc cacgccgtaa
721 acggtgggta ctaggtgtgg gggacattcc acgttctccg tgccgcagct aacgcattaa
781 gtaccgccgc tggggagtac ggccgcaagg ctaaaactca aaggaattga cggggccccg
841 cacaagcggc ggagcatgcg gattaattcg atgcaacgcg aagaacctta cctggggttg
901 acatatgccg gaaacatcta gagataggtg cccctttttg gtcggtatac aggtggtgca
961 tggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaacctt
1021 cgtccaatgt tgccagcggg taatgcgggg gactcattgg agaccgccgg ggtcaactcg
1081 gaggaaggtg gggatgacgt caagtcatca tgccccttat gtccagggct tcacgcatgc
1141 tacaatggcc ggtacaaaga gctgcgagcc tgtgaggggt agcgaatctc agaaagccgg
1201 tctcagttcg gattggggtc tgcaactcga ccccatgaag tcggagtcgc tagtaatcgc
1261 agatcagcaa cgctgcgggt aatacgttcc cggggcttgt acacaccgcc cgtcaagtca
1321 tgaagtcggt taacaccgga agccgggtgc ccaacctta
```

Сурет 5 А – GenBank дерекқорында тіркеу нөмірі - MF188992.1 бойынша тіркелген *Tessaracoccus sp.* 13/8 нуклеотидтер тізбегі, адресі бойынша: <https://www.ncbi.nlm.gov/nucleotide/MF188992.1>

Ә ҚОСЫМШАСЫ

TIC: cal_10.D\data.ms

Peak #	Ret Time	Area	Compound	Percentage %
1	8,2	2695991	Cyclohexane, butyl-	0,25
2	8,3	4590871	Decane, 2-methyl-	0,43
3	8,8	2512855	Benzene, 1,2,4-trimethyl-	0,24
4	9,5	23263289	Undecane	2,19
5	9,6	326045	Cyclohexanone, 3-butyl-	0,03
6	11,1	8852524	Undecane, 2-methyl-	0,83
7	11,4	3387538	Undecane, 3-methyl-	0,32
8	11,6	4124801	trans-Decalin, 2-methyl-	0,39
9	12,3	27178005	Dodecane	2,55
10	12,4	5474561	Undecane, 2,6-dimethyl-	0,51
11	13,5	1553674	Cyclohexane, 2-butyl-1,1,3-trimethyl-	0,15
12	13,7	3267620	1-Decanol, 2-hexyl-	0,31
13	14,0	8075977	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	0,76
14	14,1	3155422	Cyclohexane, hexyl-	0,30
15	14,2	2798204	10-Methylnonadecane	0,26
16	14,9	2944084	Cyclododecane, ethyl-	0,28
17	15,2	35851790	Tridecane	3,37
18	15,4	3047345	6,10,13-Trimethyltetradecanol	0,29
19	16,0	1850497	Naphthalene	0,17
20	16,6	1853717	2,3-Dimethyldodecane	0,17
21	16,7	4747959	Tridecane, 2-methyl-	0,45
22	16,9	5522747	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	0,52
23	17,0	7927736	Dodecane, 1,1'-oxybis-	0,75
24	17,7	2755103	1H-Indene, 2-butyl-5-hexyloctahydro-	0,26
25	17,9	35265221	Tetradecane	3,32
26	18,0	1574057	Methyl tetrahydroionol	0,15
27	18,2	1915098	1,1'-Bicyclohexyl, 2-methyl-, cis-	0,18
28	18,5	1102313	Sulfurous acid, cyclohexylmethyl tridecyl ester	0,10
29	19,0	3169751	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,1,6-trimethyl-	0,30
30	19,3	1977639	Tetradecane, 4-methyl-	0,19
31	19,4	4536849	Tetradecane, 2-methyl-	0,43
32	19,6	4772687	Nonadecane, 9-methyl-	0,45
33	19,8	5846437	3-Hexen-1-ol, 2,5-dimethyl-, formate,(Z)-	0,55
34	19,8	2066345	Decahydro-4,4,8,9,10-pentamethylnaphthalene	0,19
35	20,2	2468275	Z-8-Hexadecene	0,23
36	20,5	40628434	Pentadecane	3,82
37	20,9	1989710	Oxalic acid, di(cyclohexylmethyl) ester	0,19
38	21,0	2902746	Decahydro-4,4,8,9,10-pentamethylnaphthalene	0,27
39	21,4	5936484	Tetradecane, 2,6,10-trimethyl-	0,56
40	21,6	1282679	Pentadecane, 5-methyl-	0,12
41	21,8	3078501	Pentadecane, 4-methyl-	0,29
42	21,9	5353231	Pentadecane, 2-methyl-	0,50
43	22,0	2549282	Naphthalene, 2,7-dimethyl-	0,24
44	22,1	3261179	Pentadecane, 3-methyl-	0,31

45	22,3	1762614	Cyclopentane, decyl-	0,17
46	22,4	4916430	n-Nonylcyclohexane	0,46
47	22,6	1652895	Naphthalene, 1,3-dimethyl-	0,16
48	22,7	3649012	Naphthalene, 1,7-dimethyl-	0,34
49	23,0	38809085	Hexadecane	3,65
50	23,5	2030444	Decahydro-8a-ethyl-1,1,4a,6-tetramethylnaphthalene	0,19
51	23,7	9788550	Pentadecane, 2,6,10-trimethyl-	0,92
52	23,8	3355247	Hexadecane, 7-methyl-	0,32
53	24,2	1550048	Hexadecane, 4-methyl-	0,15
54	24,3	5356113	Hexadecane, 2-methyl-	0,50
55	24,5	2887177	Pentadecane, 8-heptyl-	0,27
56	24,9	24679524	Hexadecane, 2,6,10-trimethyl-	2,32
57	25,1	2035161	Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-	0,19
58	25,3	44684604	Heptadecane	4,20
59	25,6	2334867	1-Tricosanol	0,22
60	25,8	2179381	Naphthalene, 1,6,7-trimethyl-	0,20
61	25,8	2854589	Hexadecane, 2,6,10-trimethyl-	0,27
62	26,1	3479201	Heptadecane, 8-methyl-	0,33
63	26,2	2820084	1-Tricosene	0,27
64	26,4	1388863	Heptadecane, 4-methyl-	0,13
65	26,5	4397997	Heptadecane, 2-methyl-	0,41
66	26,8	2732189	Heptadecane, 3-methyl-	0,26
67	27,0	1528193	Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-	0,14
68	27,1	1718569	Naphthalene, 2-methyl-1-propyl-	0,16
69	27,3	19563360	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	1,84
70	27,5	41121079	Octadecane	3,87
71	27,9	2324223	Heptadecane, 9-hexyl-	0,22
72	28,7	2845990	Octadecane, 2-methyl-	0,27
73	28,9	6540160	Tetracosane	0,61
74	29,4	1247445	1-Octadecanol	0,12
75	29,7	47276867	Nonadecane	4,44
76	30,3	2045165	Oxalic acid, cyclohexylmethyl decyl ester	0,19
77	30,7	2462675	Nonadecane, 4-methyl-	0,23
78	30,8	4951160	Nonadecane, 2-methyl-	0,47
79	31,0	2820620	Nonadecane, 2,3-dimethyl-	0,27
80	31,5	1086556	n-Nonadecanol-1	0,10
81	31,7	48502883	Eicosane	4,56
82	32,3	1951962	17-Pentatriacontene	0,18
83	32,4	1962506	1-Dodecanol, 2-octyl-	0,18
84	32,7	4703922	Eicosane, 2-methyl-	0,44
85	33,0	2019433	Eicosane, 3-methyl-	0,19
86	33,6	55906972	Heneicosane	5,26
87	33,7	1733332	Cyclohexane, tetradecyl-	0,16
88	34,1	2395783	Heneicosane, 11-decyl-	0,23
89	34,6	4601468	Heptacosane	0,43
90	34,9	1215587	Heneicosane, 3-methyl-	0,11
91	35,5	52998543	Docosane	4,98
92	35,7	1508499	n-Pentadecylcyclohexane	0,14

93	36,1	1640990	Docosane, 6-methyl-	0,15
94	36,4	3128275	2-Methyldocosane	0,29
95	36,7	2851576	Heneicosane, 11-decyl-	0,27
96	37,3	55614283	Tricosane	5,23
97	37,9	2734697	Phenanthrene, 2,7-dimethyl-	0,26
98	38,2	2763133	Tricosane, 2-methyl-	0,26
99	38,4	2640519	3-Methyltricosane	0,25
100	39,0	41937651	Tetracosane	3,94
101	39,9	2026997	Docosane, 11-decyl-	0,19
102	40,6	39477065	Pentacosane	3,71
103	40,8	2716842	Tetratetracontane	0,26
104	41,0	2181539	Eicosane, 2-cyclohexyl-	0,21
105	41,5	4257015	Nonacosane	0,40
106	41,7	2296386	Pentacosane, 13-undecyl-	0,22
107	42,2	28565724	Hexacosane	2,69
108	42,4	2069028	1-Heptacosanol	0,19
109	42,9	4531753	28-Nor-17 β (H)-hopane	0,43
110	43,2	2013696	Tetracosane, 5-ethyl-5-methyl-	0,19
111	43,7	25172160	Heptacosane	2,37
112	45,3	16943958	Octacosane	1,59
113	47,0	5830448	14-Norursane-3,12-diol	0,55
114	47,2	13875492	Nonacosane	1,30
115	49,6	7568527	triacontane	0,71
116	52,6	5117071	Hentriacontane	0,48
				100,00

Сурет 1 Ә – ГХ әдісімен анықталған Қызылорда облысы Құмкөл кен орнының шикі мұнайының алифатты компоненттері

Peak #	Ret Time	Area	Compound	Percentage %
1	20,375	777626	Pentadecane	0,43
2	22,839	1413230	Hexadecane	0,79
3	23,611	1084596	Pentadecane, 2,6,10-trimethyl-	0,60
4	24,816	3811297	Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	2,12
5	25,184	2530393	Heptadecane	1,41
6	27,182	3297177	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	1,83
7	27,414	3167607	Octadecane	1,76
8	28,892	1523694	Heptadecane, 9-hexyl-	0,85
9	29,542	4965730	Nonadecane	2,76
10	29,727	1767711	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2-phenyl-	0,98
11	30,738	8364243	Benzene, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)bis-, trans-	4,65
12	31,155	1205114	Benzoic acid, heptyl ester	0,67
13	31,573	5736651	Eicosane	3,19
14	31,627	1253089	Benzoic acid, tridecyl ester	0,70
15	32,564	1226577	Pentacosane	0,68
16	32,696	1069869	Eicosane, 2-methyl-	0,60
17	33,517	7594858	Heneicosane	4,23
18	34,577	1948106	Heptacosane, 1-chloro-	1,08
19	34,962	1208960	2,2',4,6'-Tetrachloro-1,1'-biphenyl	0,67
20	35,377	7840453	Docosane	4,36
21	35,997	1631303	1,1'-Biphenyl, 2,2',5,6'-Tetrachloro-	0,91
22	36,611	1549358	2,3,4',5-Tetrachloro-1,1'-biphenyl	0,86
23	37,161	7771896	Tricosane	4,32
24	37,526	1307788	1,1'-Biphenyl, 3,3',4,5'-tetrachloro-	0,73
25	37,663	3313347	1,1'-Biphenyl, 2,2',3,3',5-pentachloro-	1,84
26	38,289	2554327	1,1'-Biphenyl, 2,2',4,5,5'-pentachloro-	1,42
27	38,496	2076300	2,2',3,4,4'-Pentachloro-1,1'-biphenyl	1,16
28	38,874	6784919	Tetracosane	3,77
29	39,336	1624635	1,1'-Biphenyl, 2,2',3',4,6-Pentachloro-	0,90
30	40,075	2894094	2,3,3',5,6-Pentachloro-1,1'-biphenyl	1,61
31	40,521	6513261	Pentacosane	3,62
32	40,707	2514513	2,2',3,4',5,6-Hexachloro-1,1'-biphenyl	1,40
33	40,964	3962185	1,1'-Biphenyl, 2,3',4,4',5-pentachloro-	2,20
34	41,444	2329147	2,2',3,5,6,6'-Hexachloro-1,1'-biphenyl	1,30
35	42,108	5868139	Hexacosane	3,26
36	42,326	1972960	3,3',4,5,5'-Pentachloro-1,1'-biphenyl	1,10
37	42,724	7124768	28-Nor-17β(H)-hopane	3,96
38	42,847	2999880	1,1'-Biphenyl, 2,2',3,4',5,6-hexachloro-	1,67
39	43,639	4560515	Heptacosane	2,54
40	44,001	9453647	(2,3-Diphenylcyclopropyl)methyl phenyl sulfoxide, trans-	5,26
41	45,209	3848136	Octacosane	2,14
42	46,517	13854446	1-Propene, 3-(2-cyclopentenyl)-2-methyl-1,1-diphenyl-	7,71
43	46,881	16086257	Benzene, 1,1'-[2-methyl-2-(phenylthio)cyclopropylidene]bis-	8,95
44	47,103	3573013	Nonacosane	1,99
45	49,458	1792801	Tetratetracontane	1,00

Сурет 2 Ә – ГХ әдісімен мұнайдың ассоциация II (Ассоциация II + ОМТ (10 % мұнай)) биодеградациясынан кейінгі компоненттері.

TIC: maz_cal_10.D\data.ms

Peak #	Ret Time	Area	Compound	Percentage %
1	9,387	2925254	Undecane	0,66
2	12,25	3759748	Dodecane	0,84
3	13,924	1142933	Heptadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	0,26
4	15,079	4644343	Tridecane	1,04
5	15,218	1586026	Benzene, 1,2,3-trichloro-	0,36
6	16,826	1008368	Dodecane, 2,6,10-trimethyl-	0,23
7	17,802	5597900	Tetradecane	1,26
8	19,736	551262	1H-Indene, 1-ethylidene-	0,12
9	20,397	6869803	Pentadecane	1,54
10	22,862	7558594	Hexadecane	1,69
11	23,623	2395755	Pentadecane, 2,6,10-trimethyl-	0,54
12	24,827	5542981	Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	1,24
13	25,208	10425644	Heptadecane	2,34
14	26,129	958654	3-(2-Methyl-propenyl)-1H-indene	0,21
15	27,189	4312876	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	0,97
16	27,44	11273440	Octadecane	2,53
17	28,895	2066202	Octadecane, 3-methyl-	0,46
18	29,57	14238693	Nonadecane	3,19
19	30,629	1425912	Heptadecane, 9-hexyl-	0,32
20	30,73	1963994	Nonadecane, 2-methyl-	0,44
21	31,607	17843487	Eicosane	4,00
22	32,705	2014042	Eicosane, 2-methyl-	0,45
23	32,925	873787	Eicosane, 3-methyl-	0,20
24	33,555	22475070	Heneicosane	5,04
25	33,667	1660253	Cyclohexane, tetradecyl-	0,37
26	34,593	3128286	Heptacosane	0,70
27	34,971	1952155	1,1'-Biphenyl, 2,2',4,6-Tetrachloro-	0,44
28	35,418	23478862	Docosane	5,26
29	36,004	2722001	1,1'-Biphenyl, 2,2',5,6'-Tetrachloro-	0,61
30	36,084	1490719	2,2',3,6-Tetrachloro-1,1'-biphenyl	0,33
31	36,412	1841151	Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	0,41
32	36,622	2644298	2,3,3',6-Tetrachloro-1,1'-biphenyl	0,59
33	37,211	27907526	Tricosane	6,26
34	37,336	1673835	1,1'-Biphenyl, 2,3,4',6-tetrachloro-	0,38
35	37,535	2306293	1,1'-Biphenyl, 3,3',5,5'-tetrachloro-	0,52
36	37,676	5434611	2,2',3,4',5-Pentachloro-1,1'-biphenyl	1,22
37	37,834	3153968	Phenanthrene, 2,7-dimethyl-	0,71
38	38,153	1548905	Heneicosane, 11-decyl-	0,35
39	38,3	4271045	2,2',3,4,4'-Pentachloro-1,1'-biphenyl	0,96
40	38,369	2330198	2,2',3,4',5-Pentachloro-1,1'-biphenyl	0,52
41	38,741	2377305	1,1'-Biphenyl, 2,2',3,3',5-pentachloro-	0,53
42	38,925	25030731	Tetracosane	5,61
43	39,047	2186444	1-Tricosanol	0,49
44	39,349	3220097	2,2',3,5,6'-Pentachloro-1,1'-biphenyl	0,72
45	39,832	2913023	Tetratetracontane	0,65
46	40,085	5754798	1,1'-Biphenyl, 2',3,4,5,5'-Pentachloro-	1,29

47	40,577	27048446	Pentacosane	6,06
48	40,719	5509246	2,2',3,4,4',6'-Hexachloro-1,1'-biphenyl	1,24
49	40,982	7605699	1,1'-Biphenyl, 2,3,3',4,6-Pentachloro-	1,71
50	41,457	5911172	2,2',3,4',5,6'-Hexachloro-1,1'-biphenyl	1,33
51	41,655	2834813	Pentacosane, 13-undecyl-	0,64
52	42,163	25747165	Hexacosane	5,77
53	42,34	2850530	1,1'-Biphenyl, 2,3',4,4',5-pentachloro-	0,64
54	42,394	2559697	17-Pentatriacontene	0,57
55	42,649	2730251	Cyclohexane, nonadecyl-	0,61
56	42,863	6893458	1,1'-Biphenyl, 2,2',4,4',5,5'-hexachloro-	1,55
57	43,209	2809232	Tetracosane, 5-ethyl-5-methyl-	0,63
58	43,697	24862432	Heptacosane	5,57
59	44,041	3960791	Tetratetracontane	0,89
60	44,242	2497920	Cyclohexane, eicosyl-	0,56
61	44,523	1612388	Hexacosane, 13-dodecyl-	0,36
62	45,273	19093310	Octacosane	4,28
63	47,185	15839342	Nonacosane	3,55
64	49,549	14323303	Triacontane	3,21
65	52,531	8858903	Hentriacontane	1,99

100,00

Сурет 3 Ә – ГХ анықтаған мазуттың компоненттері

TIC: gul_13.D\data.ms

Peak #	Ret Time	Area	Compound	Percentage %
1	12,859	273555	Acetophenone	0,15
2	16,354	66094	Ethanone, 1-(3-methylphenyl)-	0,04
3	16,805	43524	Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-	0,02
4	17,769	310034	Tetradecane	0,17
5	19,018	338225	Hexadecane	0,19
6	19,305	98525	Tetradecane, 4-methyl-	0,05
7	19,547	97632	Tetradecane, 3-methyl-	0,05
8	20,365	1471594	Pentadecane	0,82
9	20,9	92020	Decahydro-4,4,8,9,10-pentamethylnaphthalene	0,05
10	21,397	256299	Benzene, (2,2-dichloro-1-methylcyclopropyl)-	0,14
11	21,542	111383	Pentadecane, 5-methyl-	0,06
12	21,686	235421	Octadecane	0,13
13	21,817	204878	Pentadecane, 2-methyl-	0,11
14	22,051	184452	Pentadecane, 3-methyl-	0,10
15	22,83	2484737	Hexadecane	1,38
16	23,602	1061356	Pentadecane, 2,6,10-trimethyl-	0,59
17	24,806	3496869	Hexadecane, 2,6,10-trimethyl-	1,94
18	25,176	3769336	Heptadecane	2,09
19	26,015	603512	Heneicosane	0,33
20	26,109	387316	1-Tricosanol	0,21
21	26,474	383756	Heptadecane, 9-hexyl-	0,21
22	26,7	349064	Heptadecane, 3-methyl-	0,19
23	27,175	2938190	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	1,63
24	27,406	4431409	Octadecane	2,46
25	27,823	561674	Heptafluorobutyric acid, n-octadecyl ester	0,31
26	28,023	391096	Benzene, 1,1'-(1,3-propanediyl)bis-	0,22
27	28,642	498850	Octadecane, 2-methyl-	0,28
28	28,877	1364530	5-Ethyl-5-methylnonadecane	0,76
29	29,303	618662	9-Nonadecene	0,34
30	29,458	482997	Dodecylcyclohexane	0,27
31	29,533	6871023	Nonadecane	3,81
32	29,717	1699648	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2-phenyl	0,94
33	29,996	722819	Benzoic acid, tetradecyl ester	0,40
34	30,727	8271918	Benzene, 1,1'-(1,2-cyclobutanediyl)bis-, trans-	4,59
35	31,14	584145	Benzoic acid, heptyl ester	0,32
36	31,411	856097	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1-phenyl-	0,47
37	31,564	7852288	Eicosane	4,35
38	32,08	510213	1-Dodecanol, 2-octyl-	0,28
39	32,202	788762	Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	0,44
40	32,681	1011603	Eicosane, 2-methyl-	0,56
41	32,902	1037196	Eicosane, 3-methyl-	0,58
42	33,509	9472332	Heneicosane	5,25
43	33,641	906265	Cyclohexane, tetradecyl-	0,50
44	34,569	1784412	5-Butyl-5-ethylheptadecane	0,99
45	34,951	1016288	1,1'-Biphenyl, 2,2',3,5'-tetrachloro-	0,56
46	35,368	10164275	Docosane	5,64

47	35,988	1524423	1,1'-Biphenyl, 2,2',5,6'-Tetrachloro-	0,85
48	36,39	906708	Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	0,50
49	36,599	1307043	2,3,4,6-Tetrachloro-1,1'-biphenyl	0,72
50	37,154	9509052	Tricosane	5,27
51	37,313	627737	2,3',4,5'-Tetrachloro-1,1'-biphenyl	0,35
52	37,511	632258	1,1'-Biphenyl, 3,3',4,4'-tetrachloro-	0,35
53	37,652	2480606	1,1'-Biphenyl, 2,2',3,5,5'-pentachloro-	1,38
54	38,118	695522	Tricosane, 2-methyl-	0,39
55	38,277	1993337	2,2',3,4,4'-Pentachloro-1,1'-biphenyl	1,11
56	38,695	1230536	2,2',3,4,6'-Pentachloro-1,1'-biphenyl	0,68
57	38,864	7899091	Tetracosane	4,38
58	39,323	1097396	1,1'-Biphenyl, 2,2',3',4,6-Pentachloro-	0,61
59	39,659	528996	1,1'-Biphenyl, 2,2',3,3',6-pentachloro-	0,29
60	40,063	2084809	2,3,3',4,5-Pentachloro-1,1'-biphenyl	1,16
61	40,512	7426175	Pentacosane	4,12
62	40,696	1732033	1,1'-Biphenyl, 2,2',3,4',5',6-hexachloro-	0,96
63	40,952	2580744	2,3',4',5',6-Pentachloro-1,1'-biphenyl	1,43
64	41,428	1425325	2,2',3,5,6,6'-Hexachloro-1,1'-biphenyl	0,79
65	41,62	1061849	Pentacosane, 13-undecyl-	0,59
66	42,097	6563016	Hexacosane	3,64
67	42,315	1653389	2,3,3',4,5'-Pentachloro-1,1'-biphenyl	0,92
68	42,837	2255015	2,2',3,4,4',6'-Hexachloro-1,1'-biphenyl	1,25
69	43,628	5712943	Heptacosane	3,17
70	43,989	8794437	(2,3-Diphenylcyclopropyl)methyl phenyl sulfoxide, trans-	4,88
71	45,193	4168938	Octacosane	2,31
72	46,502	14145236	1-Propene, 3-(2-cyclopentenyl)-2-methyl-1,1-diphenyl-	7,84
73	46,967	5196686	Benzene, 1,1'-[2-methyl-2-(phenylthio)cyclopropylidene]bis-	2,88
74	49,345	2078132	1,3,5,7,9,11,13,15,17,19,21,23-Cyclotetracosadodecaene	1,15
75	49,43	1880815	Tetratetracontane	1,04
				100,00

Сурет 4 Ә - ГХ әдісі бойынша мазуттың ассоциация II (ассоциация II + ОМТ мазут 5%) биодеградациядан кейін анықталған компоненттері

Б ҚОСЫМШАСЫ

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ

РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**ПАТЕНТ
PATENT**

№ 34047

ӨНЕРТАБЫҚА / НА ИЗОБРЕТЕНИЕ / FOR INVENTION



(21) 2018/0724.1

(22) 10.10.2018

Қазақстан Республикасы Өнертабыстары мемлекеттік тізілімінде тіркеу күні / Дата регистрации в Государственном реестре изобретений Республики Казахстан / Date of the registration in the State Register of Inventions of the Republic of Kazakhstan: 11.12.2019

(54) Тотырасты жарнай және жарнай өнімдерінен тазарту үшін қолданылған *Gordonia* sp. 12/5 бактерия штаммы
Штамм бактерия *Gordonia* sp. 12/5, используемый для очистки почв от нефти и нефтепродуктов
Strain of *Gordonia* sp bacteria 12/5 used to clean the soil from oil and oil products

(73) Спанкулова Гүлжан Абиқұлқызы (KZ); Саданов Аманкелді Құрманович (KZ); Файзулина Эльмира Рамазановна (KZ); Ауэзова Ольга Николаевна (KZ)
Spankulova Gulzhan Abikulkyzy (KZ); Sadanov Amankeldy Kurbanovich (KZ); Fairuzina Elmira Ramazanovna (KZ); Auezova Olga Nikolayevna (KZ)

(72) Спанкулова Гүлжан Абиқұлқызы (KZ) Spankulova Gulzhan Abikulkyzy (KZ)
Саданов Аманкелді Құрманович (KZ) Sadanov Amankeldy Kurbanovich (KZ)
Файзулина Эльмира Рамазановна (KZ) Fairuzina Elmira Ramazanovna (KZ)
Ауэзова Ольга Николаевна (KZ) Auezova Olga Nikolayevna (KZ)



ЭІПҚ қол қойысты
Подписано ЭИП
Signed by EIS

Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық интеллектуалды меншік институты» РМҚ директоры
Директор ИТИ «Национальный институт интеллектуальной собственности» РНП
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

This PDF document was edited with **Icecream PDF Editor**.
Upgrade to PRO to remove watermark.