

С.В. Приходько, О.С. Бондар, І.М. Курмакова, О.П. Третяк

Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка,
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів, 14013, Україна,
тел.: +38 (04622) 3 21 06, e-mail: kurgmakova@mail.ru

РІСТ КОРОЗІЙНО НЕБЕЗПЕЧНИХ БАКТЕРІЙ ЗА ПРИСУТНОСТІ ПЕСТИЦИДУ 2,4-Д

Експериментально доведено, що корозійно небезпечні бактерії, зокрема сульфатвідновлювальні, залізовідновлювальні, денітрифікувальні – резистентні до пестициду 2,4-Д, що обумовлює ріст за його присутності як планктонних клітин, так і клітин у складі біоплівки. Визначено зростання сульфатвідновлювальної активності бактерій, що може підсилювати корозійну агресивність ґрунту при застосуванні препаратів з діючою речовиною – 2,4-дихлорфеноксоцтова кислота.

Ключові слова: корозійно небезпечні бактерії, біоплівка, біокорозія, пестицид 2,4-Д.

Застосування різноманітних засобів захисту рослин призводить до змін у складі мікробних угруповань ґрунту, які існують у природних екосистемах як специфічно організовані прикріплені до субстратів біоплівки [1, 2]. Їх перебудова відбувається із переважним розвитком мікроорганізмів, резистентних до полютантів, зокрема пестицидів [3]. До складу корозійного мікробного угруповання біоплівки, сформованої на металевій поверхні, входять сульфатвідновлювальні (СВБ), залізовідновлювальні (ЗВБ), денітрифікувальні (ДНБ) бактерії та ін. [4]. Саме сульфатвідновлювальні бактерії вважаються головним чинником процесу біокорозії сталі, яка є причиною більше половини усіх пошкоджень підземних газопроводів. Розвиток корозійно небезпечної мікрофлори під впливом пестицидів вивчено не достатньо, хоча встановлено, що техногенний пресинг на ґрунтову екосистему веде до порушення мікробної сукцесії [5–7], при високих рівнях техногенних забруднень можлива трансформація мікробних угруповань в корозійно активні [1], деякі пестициди, зокрема Лінурон, стимулює швидкість біопошкодження сталі у ґрунті [8]. При цьому особливості зміни чисельності бактерій у біоплівці, яка формується на поверхні сталі під дією пестицидів, практично не вивчено, хоча це питання є важливим для забезпечення техногенної безпеки різноманітних металевих споруд технологічного призначення.

До 19 різних препаратів, які застосовуються в агропромисловому комплексі, входить 2,4-дихлорфеноксоцтова кислота (2,4-Д) у вигляді



солі або ефіру. У ґрунті вона розкладається через 280–300 діб (норма внесення 222–300 кг/га) за участю мікроорганізмів родів *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Nocardia* [9].

Мета роботи — дослідження впливу пестициду 2,4-Д на чисельність корозійно небезпечних бактерій за умов біокорозії маловуглецевої сталі.

Матеріали і методи

Лабораторний модельний експеримент проводили у герметичних скляних ємностях (100 мл), заповнених середовищем Постгейта „В” із внесенням 10 мл суспензії мікробного угруповання (3-х добова культура з наступною чисельністю бактерій в інокуляті: СВБ — $5 \cdot 10^5$ кл/мл, ЗВБ — 10^4 кл/мл, ДНБ — 10^5 кл/мл), в які занурювали зразки сталі СтЗпс (24 см²). Концентрація 2,4-Д (10% розчин бутилового ефіру 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти) — 1 г/л. Облік бактерій на поверхні сталі проводили на 9, 24, 48, 72, 168, 240 та 336 годину експозиції. Бактерії біоплівки знімали ультразвуком (25 кГц, прилад УЗМ-003/н). Кількість бактерій у змиві визначали методом граничних десятикратних розведень при висіві відповідної суспензії на поживні середовища: СВБ — Постгейта „В”, ЗВБ — Каліненка, ДНБ — Гільтая [10]. Культивування проводили при температурі 28 ± 2 °С. Чисельність мікроорганізмів на рідких поживних середовищах визначали за допомогою таблиць Мак-Креді [11].

Концентрацію біогенного сірководню визначали методом йодометричного титрування за загальноприйнятою методикою [12]. Відносна похибка представлених результатів при $n=3$ не перевищує 5%.

Результати та їх обговорення

Процес мікробної корозії сталі визначається якісним та кількісним складом мікроорганізмів агресивного угруповання біоплівки. Результати дослідження формування біоплівки за присутності 2,4-Д та у контролі представлені на рис. 1–2.

Основну роль у формуванні корозійної біоплівки відіграють сульфат-відновлювальні бактерії. Характер динаміки їх чисельності у біоплівці за присутності 2,4-Д та контролі різний (рис. 1–2). З пестицидом максимум спостерігається на 168 год, а в контролі чисельність СВБ зростає протягом перших 48 годин та з 168 по 240 год з досягненням максимальної кількості. За присутності пестициду як і у контролі СВБ зафіксовані вже на 9 год експозиції. У перших двох точках чисельність бактерій в досліді з пестицидом практично не відрізняється від контролю. Після 48 год експозиції з 2,4-Д чисельність СВБ у біоплівці менша на 2 порядки порівняно з контролем. Зростання кількості СВБ за дії 2,4-Д в 21,7 разу та на 3 порядки зафіксоване на 72 та 168 год експерименту, відповідно. При експозиції 240 год кількість СВБ у досліді з пестицидом виявляється меншою у 216 разів, а в кінці експерименту (через 336 год) чисельність бактерій у контролі та в досліді з 2,4-Д практично однакова.



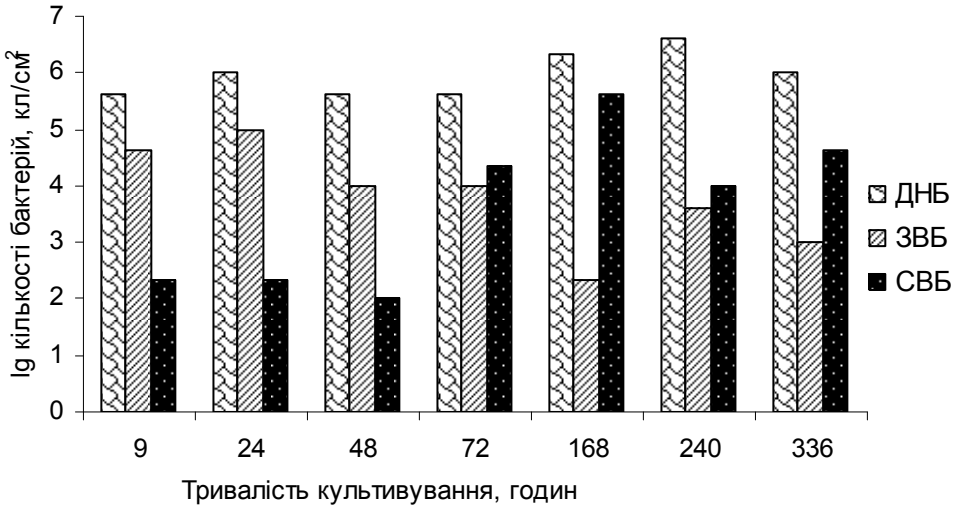


Рис. 1. Динаміка кількості бактерій у біоплівці на поверхні маловуглецевої сталі за присутності 2,4-Д

Fig. 1. Dynamics of bacteria quantity in a biofilm on the surface of light carbon steel in the presence 2,4-D

Встановлено незначний вплив пестициду 2,4-Д на чисельність залізо-відновлювальних та денітрифікувальних бактерій у біоплівці: в різних контрольних точках значення знаходяться в межах одного порядку.

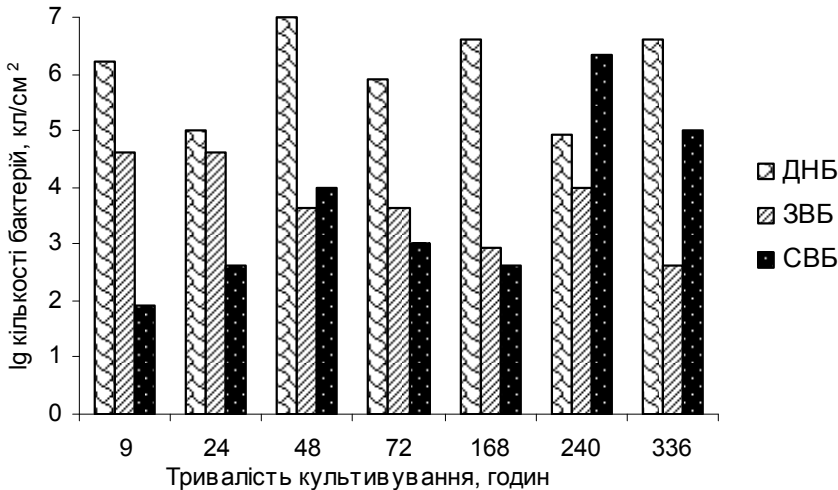


Рис. 2. Динаміка кількості бактерій у біоплівці на поверхні маловуглецевої сталі (контроль)

Fig. 2. Dynamics of bacteria quantity in a biofilm on the surface of light carbon steel (control)

Отже, компоненти корозійного мікробного угруповання біоплівки, а саме сульфатвідновлювальні, залізовідновлювальні та денітрифікувальні бактерії, резистентні до 2,4-Д, що обумовлює їх розвиток у біоплівці. При цьому найбільший вплив пестициду виявлено на сульфатвідновлювальні бактерії — найбільш агресивну складову угруповання.

Одночасно з дослідженням формування біоплівки на поверхні сталі оцінювалася чисельність вільноплаваючих сульфатвідновлювальних бактерій та їх метаболічна активність, що визначає агресивність середовища. Пестицид змінює чисельність СВБ у суспензії при експозиції 72, 240 та 330 год, а при тривалості експерименту 168 год чисельність бактерій у контролі та в досліді з 2,4-Д однакова. Зменшення кількості бактерій за дії 2,4-Д на 72 год становить 2 порядки, а на 336 год їх кількість знижується в 1,7 разу. За наявності 2,4-Д встановлено стимулювання росту вільноплаваючих сульфатвідновлювальних бактерій на 240 год експерименту (рис. 3). Це може бути пояснено здатністю зазначених мікроорганізмів використовувати діючу речовину пестициду як джерело живлення та енергії, що узгоджується з результатами [14].

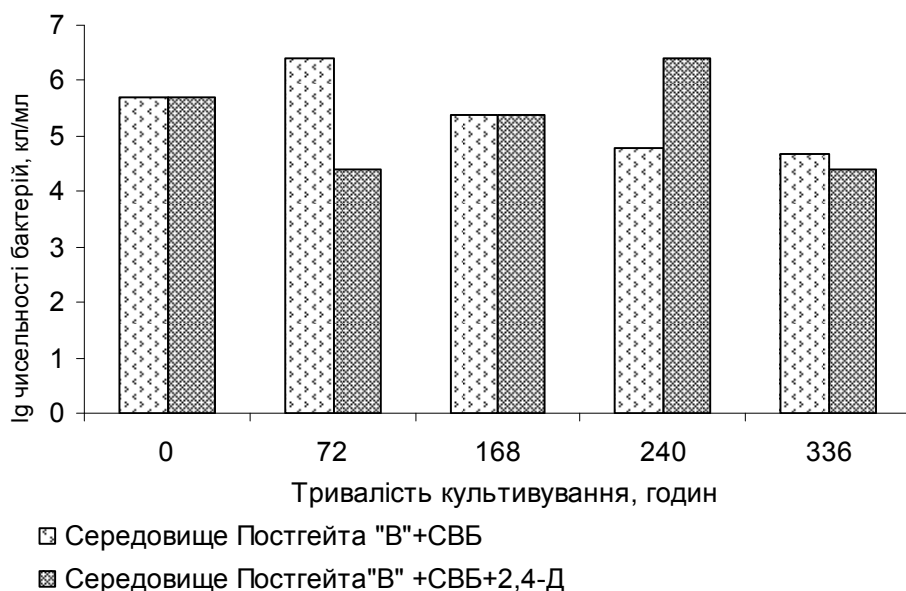
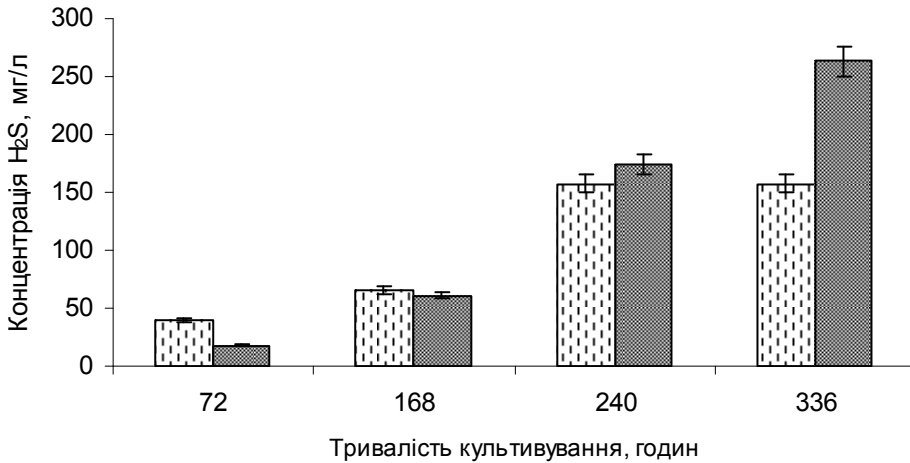


Рис. 3. Динаміка кількості вільноплаваючих сульфатвідновлювальних бактерій без пестициду та за присутності 2,4-Д

Fig. 3. Dynamics of quantity of free-floating sulphatereducing bacteria without pesticide and in the presence 2,4-D

Показником метаболічної активності сульфатвідновлювальних бактерій є продукування біогенного сірководню — основного метаболіту бак-

терій зазначеної фізіологічної групи. Динаміку накопичення сірководню без пестициду та за присутності 2,4-Д за умов мікробної корозії сталі СтЗпс наведено на рис. 4. Показано, що 2,4-Д уповільнює продукування сірководню у 2,2 разу на 72 год та практично не впливає на цей показник на 168 год, що узгоджується зі зміною чисельності вільноплаваючих сульфатвідновлювальних бактерій. Збільшення часу експерименту призводить до стимулювання сульфатвідновлювальної активності бактерій: накопичення біогенного сірководню незначно зростає на 240 год, та у 1,7 разу — на 336 год. При цьому кількість вільноплаваючих СВБ у контролі становить $5 \cdot 10^4$ кл/мл, в досліді з 2,4-Д — $2,5 \cdot 10^4$ кл/мл, що вказує на зростання фізіологічної активності бактерій та їх адаптацію до бутилового ефіру 2,4-дихлорфеноксоцтової кислоти.



□ Середовище Постгейта "В"+СВБ ■ Середовище Постгейта "В"+СВБ+2,4-Д

Рис. 4. Вплив 2,4-Д на концентрацію сірководню за умов мікробної корозії сталі, індукованої сульфатвідновлювальними бактеріями

Fig. 4. Influence of 2,4-D on concentration of sulphide hydrogen subjected to the conditions of microbe steel corrosion induced by sulphatereducing bacteria

Таким чином, сульфатвідновлювальні бактерії резистентні до пестициду 2,4-Д, що обумовлює ріст як планктонних клітин, так і клітин у складі біоплівки. Відмічено зростання сульфатвідновлювальної активності бактерій за ґрунту при застосуванні пестицидів з діючою речовиною — 2,4-дихлорфеноксоцтова кислота. Тому в подальшому доцільно дослідити вплив зазначених пестицидів на біокорозію сталі у ґрунті та склад біоценозів, які тривалий час знаходилися під пресингом ксенобіотиків, зокрема пестицидів та продуктів їх природної деградації.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Андреюк К.І., Козлова І.П., Коптева Ж.П., Піляшенко-Новохатний А.І., Заніна В.В., Пуриш Л.М.* Мікробна корозія підземних споруд. — Київ: Наук. думка, 2005. — 259 с.
2. *Lewandowski Z.* Structure and function of bacterial biofilms // *Biofilms: recent advances in their study and control / Ed. by L.V. Evans.* — Haywood: Haywood Acad. publ., 2000. — P. 2—17.
3. *Андреюк К.І., Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф. та ін.* Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження — К.: Обереги, 2001. — 240 с.
4. *Пуриш Л.М., Асауленко Л.Г.* Динаміка сукцесійних змін у сульфидогенній мікробній асоціації за умов формування біоплівки на поверхні сталі // *Мікробіол. журн.* — 2007. — Т. 69, № 6. — С. 19—25.
5. *Благодатская Е.В., Ананьева Н.Д.* Оценка устойчивости микробных сообществ в процессе разложения поллютантов в почве // *Почвоведение.* — 1996. — № 1. — С. 1341—1346.
6. *Wardle D.A., Parkinson D.* Interactions between microclimatic variables and the soil microbial biomass // *Biology and Fertility of Soils.* — 1990. — Vol. 9. — P. 273—280.
7. *Zokwood J.P.* Species: would any of them be missed? // *Curr. Biol.* — 1994. — Vol. 4—5. — P. 455—457.
8. *Смикун Н.В.* Розвиток корозійно небезпечної мікрофлори ґрунту під впливом деяких пестицидів // *Мікробіол. журн.* — 2008. — № 6, т. 70. — С. 74—87.
9. *Патика В.П., Макаренко Н.А., Моклячук Л.І. та ін.* Агроекологічна оцінка мінеральних добрив та пестицидів. — К.: Основа, 2005. — 300 с.
10. *Романенко В.И., Кузнецов С.И.* Экология микроорганизмов пресных водоемов. — Ленинград: Наука, 1974. — 196 с.
11. *Руководство к практическим занятием по микробиологии: Практ. пособие / Под ред. Н.С. Егорова.* — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. — 215 с.
12. *Васильев В.П.* Аналитическая химия. Гравиметрические и титрометрические методы анализа. — М.: Высшая школа, 1989. — 320 с.
13. *Деденко Л.Р., Керженцев И.В.* Математическая обработка и оформление результатов экспериментов. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1977. — 112 с.
14. *Жарикова Н.В., Журенко Е.Ю., Коробов В.В. и др.* Биоразнообразие бактерий — деструкторов хлорированных феноксикислот // *Вестник ОГУ.* — 2009. — № 6. — С. 121—123



С.В. Приходько, Е.С. Бондарь, И.Н. Курмакова, А.П. Третьяк

Черниговский национальный педагогический университет имени Т.Г. Шевченко,
ул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернигов, 14013, Украина,
тел.: +38 (04622) 3 21 06, e-mail: kurmakova@mail.ru

РОСТ КОРРОЗИОННО ОПАСНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИСУТСТВИИ ПЕСТИЦИДА 2,4-Д

Реферат

Показано влияние пестицида 2,4-Д на формирование биопленки бактериями коррозионного микробного сообщества в процессе разрушения стали. Экспериментально доказано, что коррозионно опасные бактерии, в том числе сульфатвосстанавливающие, железовосстанавливающие, денитрифицирующие, резистентны к пестициду 2,4-Д, что обуславливает рост в его присутствии как планктонных клеток, так и клеток в составе биопленки. Установлено увеличение сульфатвосстанавливающей активности бактерий в присутствии пестицида, что может усиливать коррозионную агрессивность почвы при применении препаратов с действующим веществом — 2,4-дихлорфеноксисукусная кислота.

К л ю ч е в ы е с л о в а : коррозионно опасные бактерии, биопленка, биокоррозия, пестицид 2,4-Д.

S.V. Prichodko, E.S. Bondar, I.N. Kurmakova, A.P. Tretyak

Chernigov National Pedagogical University of T.G. Shevchenko,
53, Getman Polubotok str., Chernigov, 14013, Ukraine,
tel.: +38(04622) 3 21 06, e-mail: kurmakova@mail.ru

GROWTH OF CORROSIVE DANGEROUS BACTERIA IN THE PRESENCE OF THE 2,4-D PESTICIDE

Summary

The influence of the 2,4-D pesticide on forming of a biofilm by bacteria of corrosive microbial community in the process of destruction of steel is shown. It is experimentally proved that corrosive dangerous bacteria, including sulphate-reducing, iron-reducing, denitrifying bacteria are resistant to the 2,4-D pesticide, that stipulate their development in biofilm and free-floating cells. The increase of sulphate-reducing activity of bacteria in presence of pesticide is determined, that fact can strengthen the aggressiveness of medium at application of preparations with the effective matter — 2,4-dichlorophenoxyacetic acid.

Key words : corrosive dangerous bacteria, a biofilm, biocorrosion, the 2,4-D pesticide.

