НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ВІРУСОЛОГІЇ
ім. Д. К. ЗАБОЛОТНОГО

На правах рукопису

ОЛІФЕРЧУК
Вікторія Петрівна

ЗАСТОСУВАННЯ МІКРОМІЦЕТІВ У БІОЛОГІЧНІЙ ОЧИСТЦІ СТІЧНИХ ВОД ПІДПРИЄМСТВА ТОЧНОГО МАШИНОБУДУВАННЯ

03.00.07 — мікробіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ — 1995 р.

Робота виконана у відділі систематики та фізіології мікроміцетів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України

Науковий керівник - доктор біологічних наук
Жданова Н.М.

Офіційні опоненти - доктор біологічних наук
Соломко Е.Ф.

- кандидат біологічних наук
Громозова О.В.

Провідна організація - Інститут екології Карпат НАН України

Захист відбудеться " 19 " квітня 1995 р. о " 10 " годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 016.06.01 по присудженню наукового ступеня доктора біологічних наук у Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України (252143, Київ 143, вул. Заболотного, 154, Інститут мікробіології і вірусології НАН України, зал засідань)

З дисертацією можна ознайомитися в науковій бібліотеці Інституту мікробіології та вірусології НАН України

Автореферат розісланий "15" березня 1995р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук Л.М. Пуриш

ВСТУП

АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ. Грунтові мікроскопічні гриби (мікроміцети) складають постійний компонент різноманітних біоценозів у всіх їх ланцюгах, а зокрема у кругообігу речовин в природі, взаємозв'язку з твердою, рідкою та газоподібною фазами грунту.

Екологічні дослідження останнім часом проводяться для визначення видового складу біогеоценозів, встановлення серед них домінуючих видів, вивчення характеру та причин формування консортивних зв'язків, сукцесій популяцій і фізіолого-біохімічних основ цих процесів.

Мікроміцетам властива значна поліморфність. Вони здатні до заселення різноманітних субстратів та трансформації ряду органічних та мінеральних сполук. Гіфам міцеліальних грибів притаманна поглинаюча та адсорбційна функції, внаслідок чого вони здатні до накопичення іонів важких металів, радіонуклідів, багатьох ароматичних сполук (Жданова и др., 1986,1988,1990 а,б; Жолкевич, Жданова, 1993; Azora et al., 1992; Pott et al., 1989). Крім цього, серед видів, котрі пристосувалися до екстремальних умов існування, можуть бути індикатори на різноманітні види забруднення (Марфенина, 1994; Baath, 1989).

В останні роки основним джерелом забруднення водойм, які приводять до погіршення якості води і порушення нормальних умов життєдіяльності гідробіонтів, є викиди промислових стічних вод. Проблема очистки промислових стоків і підготовки води для технічного і господарського використання з кожним роком набуває все більшого значення. Складність такої очистки пов'язана з домішками стічних водах, кількість і склад яких постійно змінюється внаслідок появи нових виробництв і зміни існуючих технологій.

Застосування мікроскопічних грибів для деструкції різноманітних ксенобіотиків та акумуляції іонів важких металів із стічних

вод промислових підприємств дедалі зростає (Жданова, 1988, 1990; Василевская, 1988; Бобров, 1982), що призводить, крім того, до зниження капітальних та експлуатаційних витрат при технологічному процесі очистки. Тому однією з проблем є пошук мікроміцетів - активних деструкторів органічної та іонної компоненти промстоків.

Таким чином, дослідження у цьому напрямку актуальні як у прикладному, так і в фундаментальному аспектах. В основу нашої праці покладено екологічний принцип. Застосування методів математичної екології, а саме, методу кореляційних плеяд та методу головних компонент дало можливість більш грунтовно аргументувати відбір активних видів мікроміцетів. Види грибів для очистки виділялись із екстремальних за умовами існування екотопів.

МЕТА І ЗАВДАННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ. Мета роботи - спрямований екологічний підбір активних видів мікроміцетів, які здатні до ефективної трансформації та адсорбції сполук у стічних водах підприємства точного машинобудування та вивчення технологічних особливостей застосування їх в очисних спорудах.

Для виконання роботи необхідно було здійснити наступні завдання:

1. Вивчити видовий склад мікроміцетів заводського відстійника на грунту на території заводу.

2. Виявити гриби, які активно очищають промстоки.

3. Розробити методику збагачення відстійника заводу активними видами грибів.

4. Модифікувати методи концентрування вилучених металів на цеоліті та провести регенерацію біомаси.

ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ, ЯКІ ВИНОСЯТЬСЯ НА ЗАХИСТ:

1. Еколого-систематичний аналіз біоти грунтових мікроміцетів, які вилучені з техногенних екотопів.

2. Обгрунтування та створення штучної групи мікроміцетів, здатної активно трансформувати хімічні сполуки промстоків.

3. Впровадження на заводі точного машинобудування технології очистки стічних вод з використанням міцеліальних грибів.

НАУКОВА НОВИЗНА. Вперше використано екологічний підхід для направленого підбору ефективних видів-біодеструкторів органічних речовин та сорбентів іонів важких металів у стічних водах. Впроваджено не тільки поодинокі види-деструктори, а й їх групи, які за короткий період часу активно трансформують промстоки.

В екстремально забруднених промстоками місцях виявлено явище меланізації мікобіоти за рахунок збільшення в ній меланінвмісних видів мікроміцетів. Встановлені види-біоіндикатори забруднення територій підприємства точного машинобудування.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ. Створено і випробувано групу з шести видів мікроміцетів, в основному меланінвмісних, яка протягом 1.5 року використовується в очисних спорудах виробництва точного машинобудування. Модифіковано метод концентрування важких металів на цеоліті, які адсорбовані на біомасі. Опрацьовано метод багаторазової регенерації біомаси для подальшого її використання в процесі очистки. За допомогою групи мікроміцетів - активних сорбентів та трансформаторів іонної та органічної компоненти промстоків - очищено близько 500 тисяч літрів стічної води. Вдвоє скорочено технологічний процес заводської очистки.

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ. Матеріали дисертації доповідались і обговорювались на: міжнародній науково-практичній конференції " Актуальные вопросы охраны окружающей среды от антропогенного воздействия", (Кременчуг, 1994р.); міжнародній конференції " Урбанізація як фактор змін біогеоценотичного покриву" (Львів, 1994р.); на засіданні відділу біологічної очистки стічних вод підприємств

Інституту водного господарства (Словакія, м. Ліптовскі Мікулаш, 1994 р.); засіданні Львівського відділення Мікробіологічного товариства України (1994 р.); засіданні секції мікології Українського Ботанічного товариства (1995 р.).

ПУБЛІКАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ РОБОТИ. Основні положення роботи викладені у 8 друкованих працях.

СТРУКТУРА ТА ОБСЯГ РОБОТИ. Дисертаційна робота надрукована на 137 сторінках, включаючи ілюстративний матеріал. Робота складається з вступу, огляду літератури, 8 розділів, висновків, списку літератури. Робота ілюстрована 15 таблицями та 15 рисунками. Бібліографічний покажчик містить 264 джерела, в тому числі 131 іноземних авторів.

ЗМІСТ РОБОТИ

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Наведені сучасні дані з питань деструктивної та комулятивної здатності міцеліальних грибів по відношенню до нафтопродуктів та іонів важких металів, а також окреслені можливості пошуку та застосування їх активних видів для очистки стічних вод промислових підприємств.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Об'єктами наших досліджень були природні ізоляти мікроміцетів, виділені із очисних споруд Львівського заводу кольорових телевізорів "Електрон-Рясне". Стічні води підприємства містять органічні домішки у вигляді нафтопродуктів та іони важких металів (^{+3}Fe, ^{+2}Cu, ^{+2}Ni, ^{+3}Cr, ^{+2}Cd, ^{+2}Pb).

Зразки грунту та води відбирались протягом 1990-1993 рр. посезонно (в квітні, липні та жовтні). Відбір грунту проводили

відстані 1, 5, 250 м та 3 км від джерела забруднення за напрямком переважаючих західних вітрів. Джерелом забруднення вважали відстійник, що знаходився на території заводу. Контрольними були грунтові зразки, які відбирались на відстані 15-20 км в протилежного боку від напрямку переважаючих вітрів.

Грунтові проби відбирали у поверхневому шарі на глибині 0-5 см та 8-10 см, і проби води у поверхневому шарі (0 - 50 см).

Для виділення мікроміцетів використовували метод послідовних розведень грунтових суспензій з посівом їх на агаризовані середовища: підкислений сусло-агар та середовище Чапека з додаванням стрептоміцину. Для кожного з відібраних видів розраховували частоту стрічання (Одум, 1986). Посів проводили окремо з кожної проби в трикратній повторності.

Ідентифікацію грунтових мікроміцетів проводили на основі їх морфолого-фізіологічних особливостей, керуючись відомими вітчизняними та зарубіжними визначниками (Пидопличко, 1977; Билай и др., 1988; Ellis, 1971,1976; Salata, 1974, 1985; Bogowska, 1986; Domsch, Gams, Anderson, 1980). Отримані під час роботи активні в очистці види мікроміцетів зберігали на агаризованій стічній воді.

Кількість грибних діаспор / 1г сухого грунту розраховували за апробованим методом (Звягинцев, 1966).

Для порівняння ступеня схожості біоти мікроміцетів грунту різних екотопів використовували коефіцієнт схожості Сьоренсена-Чекановського (Звягинцев, 1978).

При відборі грибів, котрі активно очищали промислові стоки, враховували відомості про їх екологічну значимість, токсичність, здатність викликати алергічні реакції, інтенсивність спороношення.

Визначення активних видів грибів - деструкторів нафтопродуктів проводили за показником БПК (біологічного поглинання кисню, мг O_2/л). Аналіз стічної води по значенню БПК проводили через 7, 14, 21 та 28 діб. Накопичення біомаси грибів визначали апробованим методом (Методи експериментальної мікології, 1989).

Імобілізацію грибних культур здійснювали на крупнопористому носії (смужки породону) шляхом одночасного внесення в середовище Чапека носія та суспензії конідій. Вирощування грибів на носії здійснювали в колбах на качалках (160 об/хв.) протягом 5-7 діб. Ступінь очистки стічної води окремими мікроміцетами визначали, розташовуючи смужки носія в ємкостях із стічною водою протягом 7-12 діб.

Визначення адсорбційної активності імобілізованої біомаси грибів проводили атомно-абсорбційним методом (Карякин, Грибовская, 1987) на спектрометрі С 115 М 1.

Адсорбційну активність відібраних видів грибів визначали за схемою: кількість іонів важких металів у стічній воді - кількість іонів важких металів після експозиції імобілізованих на пористому носію грибів.

Кореляцію між частотою стрічання грибів, віддаленістю від джерела забруднення та сезонністю визначали за методом кореляційних плеяд (Терентьев, 1957; Борисова, 1986; Мутинская, 1993).

Види-біоіндикатори на хімічне забруднення іонами важких металів та нафтопродуктами встановлювали використовуючи факторний аналіз (метод головних компонент) (Андрукович, 1973).

Статистичну обробку отриманих результатів та всі необхідні для цього розрахунки виконували на ЕОМ СМ - 4 за програмою, розробленою в Інститут мікробіології та вірусології НАН України.

Регенерацію грибної біомаси проводили методом струшування її у розчині (0.25%) кальцинованої соди. Концентрування вилучених із біомаси металів проводили на модифікованій H^+формі цеоліту.

1. КОМПЛЕКСИ ГРУНТОВИХ МІКРОМІЦЕТІВ, ЩО СФОРМУВАЛИСЬ У ТЕХНОГЕННИХ ЕКОТОПАХ

Протягом 1990-1993рр. було відібрано 351 зразок грунту та води. У чисту культуру виділено більш як 1000 ізолятів грибів, які

після ідентифікації віднесені до 118 видів, 41 роду, 7 порядків, 3 класів. Найбільш багатий за видовим складом підвідділ Deuteromycotina, до якого віднесені 2 класи (Caelomycetes і Hyphomycetes). Останній був представлений 75 видами в 27 родів та 3 родин.

Серед представників порядку Moniliales переважали види (61) родини Moniliaceae. Серед них домінували види роду Penicillium (28 видів). До родини Dematiaceae належало 24 види, а до порядку Celomycetes - 8 видів дейтеромiцетів. Із класів Zygomycetes та Ascomycetes виявлено відповідно 11 та 2 види.

У відстійнику та грунті на території заводу спостерігалось збільшення у мікобіоті меланінвмісних видів родів Aureobasidium, Torula, Humicola, Arthrinium, Cladosporium та інш. Крім того, зменшувалась кількість грибних пропагул /гр грунту.

Проведено екологічний моніторинг мікобіоти у відстійнику та в грунті на території заводу "Електрон", а також у лісі на відстані 20 км від нього. Використовуючи методи математичної екології, побудовані кореляційні плеяди та дендрограми групової схожості, які дозволили виявити структуру та видовий склад угруповань досліджених екотопів (рис. 1, 2, 3).

Кореляційний аналіз біоти мікроміцетів по роках (1991-1993) показав, що в стічній воді відстійника сформувались складноорганізовані комплекси в основному з меланінвмісних видів (рис.1), які віднесені до високоорганізованих структур типу "вірка", "вірка-сітка", "конверт", тричленних та лінійних (рівні значимості r= 1,0; 0,95; 0,87). Структурними родами для складних плеяд серед меланінвмісних були види родів: Aureobasidium, Cladosporium, Humicola, Torula, Ulocladium, Alternaria, Chaetomium, Coniothyrium та інш. Крім меланінвмісних у плеяди входили також світлоабарвлені види родів Fusarium, Verticillium, Gliocladium, Tricho-

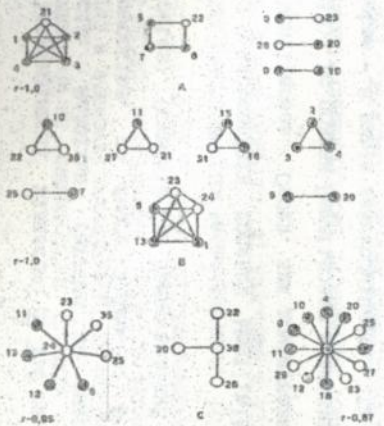

рис. 8. Графові комплекси, виявлені у ценозі тонкого мохнаторудоння (при r=1,0; 0,95; 0,87)

А - 1990-1991р.; Б - 1991-1992р.; С - 1992-1993р.

Види графів:

1.Aureobasidium 2.Torula 3.Cladosporium 4.Humicola
5.Ulocladium 6.Alternaria 7.Phoma 8.Chaetomium
9.Myrothecium 10.Arthrinium 11.Coniochaeta 12.Diplodia
13.Botrytis 14.Pestalosiella 15.Pycnostysanus 16.Dendrohyozat
17.Phomopsis 18.Curvularia 19.Materella (d) 20.Rhizopus
21.Acremonium 22.Fusarium 23.Verticillium 24.Trichoderma
25.Penicillium 26.Aspergillus 27.Oidium 28.Arthrobotrys
29.Sclerotium 30.Monilinella 31.Mucor 32.Trichothecium
33.Scopulariopsis 34.Oospora 35.Monilia 36.Gliocladium

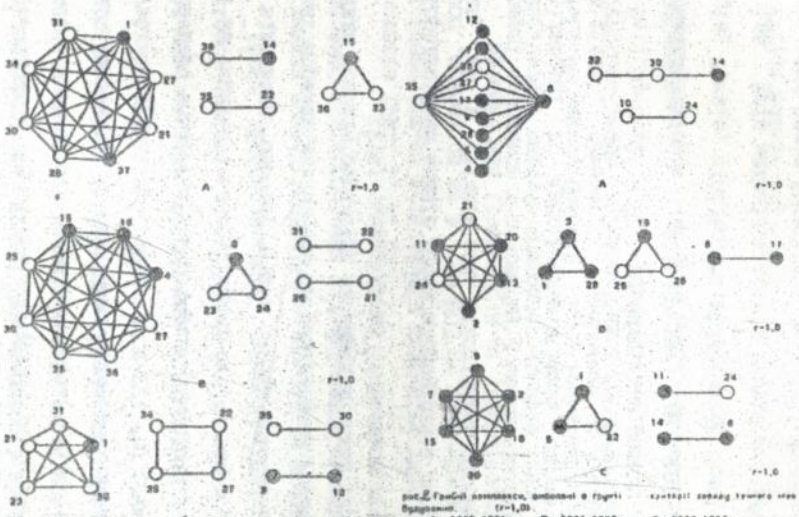

рис.9. Графові комплекси, виявлені у грунті кучерявої зонтики при будуванні. (r=1,0)

А - 1990-1991р. Б - 1991-1992р. С - 1992-1993р.

Назви родів див. рис.8.

Тут, і на рис.8 і 9:

● - нерозгалужені види мікроміцетів

○ - розгалужені види мікроміцетів

рис.8. Графові комплекси, виявлені у грунті під дерево-чагарниковим ценозом (r=1,0)

А - 1990-1991р. Б - 1991-1992р. С - 1992-1993р.

Назви родів див. рис.8.

На території заводу існували складні стабільні грибні комплекси, що описувались плеядами типу "ліхтарик", "зірка-сітка" і тричленною (г - 1,0). У складі таких плеяд також переважали меланінвмісні гриби, а одна з них повністю складалася з представників родини Dematiaceae (рис.2).

На відміну від грибних угруповань, що сформувались у верхній товщі стічної води відстійника, грибні комплекси грунту на території заводу були більш складно організованими.

На території лісосмуги (контроль) були також виявлені стабільні грибні комплекси. Кореляційні плеяди (на рівні г-1,0) належали до типів "зірка-сітка", "сітка", тричленної та лінійних (рис.3). Грибні комплекси лісового біогеоценозу характеризувались переважанням світлозабарвлених видів родів Mucor, Fusarium, Aspergillus, Trichoderma, Verticillium, Gliocladium, Acremonium, Mortierella та інш. Тільки незначна кількість меланінвмісних видів грибів входила до структури кореляційних плеяд лісового екотопу (рис.1,2,3).

З урахуванням сезонів встановлено, що найбільш стабільні грибні комплекси формувались у відстійнику в літні та осінні місяці.

Для грунту на території заводу замкнені плеяди типу "ліхтарик" і "зірка-сітка" виявили в літній час, весною та восени. Мікроміцети з лісового дерново-підзолистого грунту (контроль) утворювали складноорганізовані комплекси також у літньо-осінній період року (рис.3).

Формування в забруднених металами і ксенобіотиками екотопах стабільних грибних комплексів мікроміцетів з переважанням меланінвмісних видів обумовлено, на нашу думку, довготривалою (понад 30 років) дією виробництва. Наслідок такого посиленого негативного впливу проявився в кількісному та якісному збідненні видового

складу мікроміцетів, та структурній перебудові мікобіоти за рахунок заміщення світлозабарвлених видів, що переважали в цьому регіоні,- меланінвмісними резистентними видами грибів.

Таке явище в екології отримало назву промислового меланізму, і ми розповсюджуємо його на біоту грунтових мікроміцетів в місцях посиленого забруднення промисловими стічними водами.

2. ЗДАТНІСТЬ МІКРОМІЦЕТІВ ДО ТРАНСФОРМАЦІЇ НАФТОПРОДУКТІВ

Відбір грибних культур проводили за їх здатністю до утилізації із стічної води органічних сполук (нафтопродуктів). Спершу вивчено ті гриби, котрі виділені безпосередньо із відстійника та грунту біля нього і тому були резистентні до цих умов. З їх числа виключили види Rhisopus nigricans, Mucor species та деякі види роду Penicillium, які хоч і займали домінуюче положення (за частотою стрічання) і входили до складу кореляційних плеяд та дендрограм групової схожості, але мали інтенсивне спороутворення, і тому не були відібрані для подальшої роботи.

Здатність до трансформації нафтопродуктів у стічних водах проявили 32 види 24 родів грибів. Помітне зниження БПК стічної води спостерігали вже на 14 добу росту грибів, а на 28 - повне її очищення. Практично всі досліджені нами види були здатні засвоювати органічну компоненту промстоків, але в різній мірі. Серед світлозабарвлених видів мікроміцетів найменш активним був Penicillium verrucosum v. cyclopium, (кінцеве БПК 50 0.5 мг O_2/л), найбільш активним - Verticillium luteo-album (кінцеве БПК 2.5 мг O_2/л). Проміжне положення (10-15 мг O_2/л) за цим показником займали види родів: Oidium, Gliocladium та P. roseo-purpureum, Paecilomyces lilacinus, Fusarium oxysporum.

Значно більшу активність мали меланінвмісні види види - Torula herbarum і Mycelia sterilia (dark), які очищали воду до значень

ВПК - 0.1-0.05 мг O_2/л. Переважна більшість меланінвмісних дейтеромiцетів: Aspergillus niger, Rhisopus nigricans, Ulocladium sp., Arthrobotrys oligospora та інш. очищали стічну воду через 28 діб до значень ВПК 3-20 мг O_2/л. Накопичення біомаси мікроміцетами в контролі було вищим (2.5-7.5 г/л), ніж у досліді (1.2 - 5.9 г/л). Порівняння ступеня очистки стічної води за показником ВПК та коефіцієнтом К (відношення ВПК до величини грибної біомаси) показало, що активні за цією ознакою види утворювали значну біомасу в умовах досліду. Крім цього, виявлена помітна різниця в інтенсивності очистки стічних вод меланінвмісними та світлозабарвленими видами мікроміцетів. Активність перших, як мінімум, на порядок перевищувала відповідну світлозабарвлених, виділених із несприятливих за умовами існування екотопів.

На наступному етапі ми змінили спосіб внесення грибної біомаси в стічну воду. Для цього біомасу грибів імобілізували на крупнопористому носії - поролоні. І в цьому випадку найбільшу активність проявили меланінвмісні види мікроміцетів.

Для подальших дослідів були використані 12 видів 11 родів грибів, які проявили високу активність при очистці стічної води у стаціонарних умовах (табл.1).

Імобілізовані на пористому носії гриби на 21 добу експозиції практично повністю споживали органічні домішки стоків. Швидкість трансформації органічних сполук із стічної води суттєво збільшувалась порівняно з неімобілізованими, причому цей ефект досягали внесенням меншої кількості грибної біомаси (в середньому 2-2,5 г/л) проти 5-7 г/л у випадку неімобілізованих грибів. Повністю засвоювали органічні домішки із стічної води на 14 добу два штами A. pullulans 107 та 213, високоактивними були C. cladosporioides, T. herbarum, Mycelia sterilia (dark). Менш інтенсивно очищали стічну воду A.alternata, A.oligospora, A. phaeospermum.

Таблиця 1.

Ступінь очистки стічної води мікроміцетами залежно від способу їх внесення.

Види	БПК (мг O_2 /л)		
	14 діб	14 діб	21 доба
	Суспензія конідій	Імобілізована культура	
A.pullulans 107	51.3	0	0
A.pullulans 213	93	0	0
C.cladosporioides	80.2	0.1	0
T.herbarum	48	0.4	0
M.sterilia (darc)	51	2.3	0
G.catenulatum	65	7.1	0
C.herbarum	60	13	0
V.luteo-album	84	15.6	0.5
A.alternata	54.2	30	0.03
A.oligospora	68	41	4.8
A.phaeospermum	64	51	3.7

На нашу думку, вирішальним моментом посилення біологічної активності відібраних культур грибів в умовах очистки слід вважати спосіб внесення їх у стічну воду. Очевидно, що імобілізовані культури грибів мають безумовну перевагу в застосуванні, особливо в умовах крупномасштабної очистки.

Для ефективної трансформації органічної компоненти промстоків в роботі були застосовані штучні комплекси мікроміцетів, що були перевірені на інтенсивність зниження показника БПК: 1. Ulocladium sp., Arthrinium phaeospermum, Humicolsa grisea. 2. Arthrobotrys oligospora, Chaetomium globosum, Pycnostysanus resinae, Paecilomyces lilacinus. 3. Aspergillus niger, Mortierella ramanniana. 4. Cladosporium cladosporioides, Gliocladium catenulatum, Alternaria alternata, Aureobasidium pullulans, Torula herbarum. 5. Mycelia st.(dark), Verticillium luteo-album.

Кожен з них імобілізували на пористому носії. Після внесення імобілізованої мікробної біомаси у відповідну кількість стічної води, нами проводився контроль зниження БПК протягом трьох тижнів. Найбільшою активністю при цьому відзначались комплекси 1 і

4. Перший з них очищав органічну частину стоків через 21 добу на 98%, а четвертий - на 99%. Дещо нижчою була активність комплексів 2 та 5, яка становила, відповідно, 64 та 59 %. Найменш активним в деструкції вуглеводнів нафти був комплекс 3 (48 %).

3. АДСОРБЦІЯ МІКРОМІЦЕТАМИ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

При відборі грибних культур за їх здатністю до накопичення іонів важких металів (^{+3}Fe, ^{+2}Cu, ^{+2}Ni, ^{+3}Cr, ^{+2}Pb, ^{+2}Cd) використовували види, об'єднані сильними кореляційними зв'язками і ті, що активно трансформували нафтопродукти та їх похідні.

Перш за все визначили здатність до адсорбції важких металів у окремих видів грибів (табл.2). Широку адсорбуючу активність практично по відношенню до всіх досліджених іонів важких металів в стічній воді мала Humicola grisea. Після 21 доби культивування у воді залишалися тільки сліди ^{+2}Ni і ^{+2}Cd. Решта іонів повністю сорбувалась або засвоювалась цим грибом. Майже таку ж високу активність проявила Torula herbarum, після чого у воді залишалися лише слідові кількості ^{+3}Fe і ^{+2}Cu. З двох штамів A. pullulans найбільш активним виявився штам 107, дещо нижчу активність мав штам 231. До цієї ж групи віднесено P.ochro-chloron (мідний гриб), C.cladosporioides і Paecilomyces lilacinus.

Значно меншу адсорбційну активність проявили Alternaria alternata, Aspergillus niger, Chaetomium globosum, Coniothyrium sporulosum, Arthrobotrys oligospora, Pycnostysanus resinae, Mortierella ramanniana, Verticillium luteo-album, Gliocladium catenulatum (табл.2).

Деякі із згаданих видів проявили певну специфічність до наявного набору металів у стічній воді. Так, C.globosum відносно слабо сорбував ^{+3}Fe і ^{+2}Cd, Ulocladium sp. - ^{+2}Ni, а A.phaeospermum ^{+2}Ni і ^{+2}Cd.

Таблиця 2.

Адсорбція іонів важких металів із стічних вод деяними мікроміцетами через 21 добу (залишковий вміст металів у стічних водах, мг/л)

Назва грибів	^{+3}Fe	^{+2}Cu	^{+2}Ni	^{+3}Cr	^{+2}Pb	^{+2}Cd
1. Torula herbarum (Pers.) Lk Gray	сліди	сліди	0	0	0	0
2. Myc. sterilia (d)	0.018	0.013	сліди	0	0	0
3. Aureobasidium pullulans d By Arnaud 107	сліди	сліди	0	0	0	0.015
4. Cladosporium herbarum (Pers.) Lk: Gray	0.03	0.05	сліди	0	0	сліди
5. Chaetomium globosum Kunze; Steud	12.15	сліди	сліди	0	0	0.115
6. A. pullulans d By Arnaud 213	0.050	0.021	0.03	0	0	сліди
7. Alternaria alternata (Fr.) Keissi.	18.15	15.21	0.311	0	0	0.05
8. Cladosporium cladosporioides (Fres.) de Vries	сліди	0.02	0	0	0	0
9. Ulocladium sp.	0.03	0.08	0.320	сліди	0	0
10. Arthrinium phaeospermum (Cda) M.B.Ellis	0.012	0.30	0.315	0	0	0.150
11. Coniothyrium fuskelii (Thom) Samson	5.0	2.30	0.015	0	0	0.140
12. Arthrobotrys oligospora Fres	8.0	5.0	1.0	0	0	сліди
13. Humicola grisea Trearn	0	0	0.05	0	0	0.01
14. Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson.	0.02	0.05	0.03	0	0	0
15. Penicillium ochrochloron Biour	0	0	0	0.05	0.03	0.05
16. Aspergillus niger V.Tiegh	11.20	14.18	1.115	0	0	0.140
17. Pycnostysanus resinae (Fries) Lind.	20.11	18.30	0.312	сліди	0	0.217
18. Mortierella ramanniana (Moller) Linnem.	13.20	15.18	0.211	сліди	0.01	0.220
19. Verticillium luteo-album (Lk: Fries) Subram	14.10	12.11	0.311	сліди	0.02	0.212
20. Gliocladium catenulatum Gilm. et Abbott	21.05	10.15	0.300	0	0	0.110
Початкова концентрація металів	25.48	18.43	8.40	0.986	1.60	0.80

Відзначено більш високу адсорбційну активність меланінвмісних видів порівняно із світловабарвленими. Вони досить активно сорбували всі іони в стоках.

Більшу ефективність с істки досягали, формуючи штучні угруповання мікроміцетів.

Для створення комплексів, які могли бути застосованими на очисних спорудах, ми виключали з раніше створених види, які за нашими даними не проявили високої активності в адсорбції іонів важких металів (табл.3). Це: Pycnostysanus resinae, V.luteo-album, G.catenulatum, A.alternata. Найвищу сорбційну активність мали комплекси 1 і 4-ий - 98-99% відповідно. Менш активно очищали стоки 2 і 3-ій комплекси (52 і 40 % відповідно) (табл.3).

Таблиця 3.

Активність адсорбції іонів важких металів групами мікроміцетів.

Комплекси мікроміцетів	Адсорбція (%)
1. Ulocladium sp., Arthrinium phaeospermum, Humicola grisea	98
2. Arthrobotrys oligospora, Chaetomium globosum, Paecilomyces lilacinus	52
3. Aspergillus niger, Mortierella ramanniana.	40
4. Cladosporium cladosporioides, Aureobasidium pullulans, Torula herbarum, Mycelia sterilia (dark).	99

Порівняння рівнів адсорбції іонів важких металів із промислових стоків окремими штамами і групами спеціально підібраних видів показує переваги останнього способу очистки. Застосування спеціально підібраних штучних комплексів для очистки стічних вод підприємства помітно прискорювало час очистки та її якість.

Таким чином, у лабораторних умовах з використанням окремих видів та їх груп був вдвічі скорочений тридцятиденний процес очистки заводських стоків від іонів важких металів та нафтопродуктів.

4. ОЧИСТКА СТОКІВ ШТУЧНО ПІДІБРАНИМИ ГРУПАМИ МІКРОМІЦЕТІВ У НАПІВВИРОБНИЧИХ ТА ВИРОБНИЧИХ УМОВАХ

У напіввиробничій споруді (V-250 л) для очистки стоків ми використали таку групу мікроміцетів: Ulocladium sp., Arthrinium phaeospermum та Humicola grisea. В експериментах підтверджена ефективність очистки стічної води за допомогою грибної біомаси.

Група грибів, імобілізованих на пористому носії, протягом 14 діб повністю очищала стічну воду від нафтопродуктів і на 95-100% - від іонів металів (табл.4).

Таблиця 4.

Ефективність очистки промислових стічних вод у напіввиробничих умовах (вибіркові дані).

Дата	Вихідна та кінцева концентрації ВПК мгО$_2$/л	Концентрація металів у стоках до і після очистки (мг/л)					
		^{+3}Fe	^{+2}Cu	^{+2}Ni	^{+3}Cr	^{+2}Pb	^{+2}Cd
1.IX-14.IX 1992	252 / 0	24.20	24.31	2.31	0.09	0.156	0.548
		0.01	0.03	0.05	0	0	0.04
15-30 IX 1992	234 / 0	21.18	20.11	1.35	0.15	0.21	0.614
		0.03	0.01	0.01	0	0	0.01
1.I - 14.I 1993	412 / 0	21.15	19.75	1.15	0.40	0.30	0.984
		0	0	0.01	0	0	0
1.IV-14.IV 1993	254 / 0	19.14	21.15	3.21	1.76	0.67	0.787
		сліди	сліди	0	0	0	0
15-30 IV 1993	268 / 0	23.15	21.13	1.45	0.67	0.89	0.957
		0.07	0.01	сліди	0	0	0
1-14 VII 1993	415 / 0	14.17	20.23	3.56	0.56	0.34	0.54
		сліди	сліди	0	0.1	0.001	0
15-30 VII	321 / 0	21.17	19.24	12.10	0.24	0.09	0.02
		0.01	0.03	сліди	0	0	0

Примітка. Знаменник - вихідні, та чисельник - залишкові концентрації іонів важких металів у стічних водах підприємства.

На наступному етапі було проведено регенерацію грибної біомаси для подальшого її застосування. Перш за все була здійснена десорбція з грибної біомаси іонів важких металів. Для встановлення оптимальних умов середовища проведено контроль цього процесу при чотирьох значеннях pH. Найбільш ефективно десорбція проходила при pH - 8, при чому це було притаманне всім металам. Потім підлужнену воду (бл), що містила іони металів, десорбованих з біомаси,

пропускали через фільтр, де між двома прокладками з льняної тканини містилося 0.5 см цеоліту в H^+ - формі. Процес очистки був обмежений адсорбційною ємкістю грибної біомаси на 14 добу, після чого біомаса вимагала регенерації. П'ятиразова регенерація біомаси майже не впливала на якість очистки.

Для очистки стічної води у відстійнику, об'єм якої становив 1750 л, застосовували: Cladosporium cladosporioides, Aureobasidium pullulans, Torula herbarum.

Досліди проводяться з вересня 1992р. у напіввиробничих, та з квітня 1993р. у виробничих умовах і тривають зараз. Протягом цих років вихідна концентрація БПК в стічній воді коливалась у межах 240 - 441 мг O_2/л (табл.4). За 14 діб експозиції імобілізованої на паролоні біомаси грибів цей показник знижувався до нуля.

За 14 діб концентрація заліза у стічній воді знижувалась з 21-27 мг/л до 0.03 - 0; вміст ^{+2}Cu - з 18-24 мг/л - 0.01 - 0; вміст ^{+2}Ni - з 1.5-2.7 до слідових кількостей, а іони тривалентного хрому, кадмію та свинцю - повністю адсорбувались грибною біомасою.

Таким чином, за допомогою комплексного екологічного підходу до проблем очистки стічних вод підприємства точного машинобудування одержано штами мікроміцетів, які довго зберігались в активному стані і ефективно очищали стоки від нафтопродуктів та іонів важких металів. Застосування цеолітів дозволяє сконцентрувати іонну компоненту стічних вод.

Застосовані нами в очистці групи грибів проявили свою активність тільки у стічних водах, де були присутні нафтопродукти та іони важких металів. Активність цих видів у стоках іншого складу потребує досліджень.

Робота виконана при безпосередній участі автора. У напіввиробничій споруді та відстійнику дослідження проводили із співробітниками лабораторії контролю та якості води заводу кольорових телевізорів "Електрон-Рясне". Досліди по концентруванню важких металів на цеоліті виконували з участю працівника кафедри аналітичної хімії ЛДУ Лебединець Л.О. Екологічний аналіз даних по мікобіоті мікроміцетів здійснювали із застосуванням методів математичної екології. Програми, якими ми користувались, були ство-

рені керівником служби ЕОМ Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України Садовніковим Ю.С.

5. ЗАСТОСУВАННЯ ФАКТОРНОГО АНАЛІЗУ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ВИДІВ-БІОІНДИКАТОРІВ

Важливим аспектом даної роботи був направлений пошук видів - біоіндикаторів антропогенного забруднення.

У нашій роботі був застосований метод головних компонент (кореляційний аналіз) що дозволило одержати значення факторних навантажень для окремих видів. Надалі ми використовували лише ті види, для яких величини факторних навантажень були понад 0,7. Такий підхід був обумовлений тим, що коефіцієнт детермінації r^2, котрий є похідним від коефіцієнту кореляції, достовірний в діапазоні значень 0,5 і вище. Величина факторних навантажень 0,7 означає, що вклад кожного з видів мікроміцетів у різноманітність (дисперсію) грибної біоти більш, ніж на 50% обумовлений тими факторами, котрі вивчалися. Значення факторних навантажень видів і відповідно їх вклад у дисперсію мікобіоти, могло наростати від 0,7 до 1,0. Серед видів, виділених з грунту на території заводу, такі значення мав 21 вид; з відстійника 22, та з контрольного грунту - 18 видів.

Відібрані види, порівнювали з їх активністю щодо трансформації органічних речовин та адсорбції іонів важких металів у промстоках. Найвищу активність за цими ознаками проявили тільки меланінвмісні види родів Aureobasidium, Ulocladium, Humicola. Cladosporium, Torula, Arthrinium. Поруч з тим, ми вважали, що до потенційних біоіндикаційних видів мали увійти такі, котрі зустрічались лише в забруднених екотопах: Phoma pomorum, Ulocladium consortiale, Humicula grisea, Torula herbarum, Arthrinium phaeospermum, Myrothecium verrucaria, Rhisopus nigricans, Trichoderma viride, Arthrobotrys oligospora, Verticillium

catenulatum, Scopulariopsis sp.

Таким чином оцінювали види, що постійно зустрічались в забрудненому грунті, активно трансформували промстоки та мали високі факторні навантаження (- 0,7 - 1,0). Інші, хоч і виділялись з цих екотопів, мали досить слабку активність. За існуючими уявленнями, біоіндикаторами високого ступеня забруднення повинні бути види, котрі постійно зустрічались та достовірно впливали на видову різноманітність мікроміцетів.

Види C.cladosporioides і A.pullulans проявили неспецифічне відношення до хімічного забруднення грунтів. Аналогічно реагують вони і на радіоактивне забруднення (Жданова и др., 1994). Про це свідчила висока, але практично однакова частота їх стрічання у чистих і забруднених грунтах, що є показником високої стійкості C.cladosporioides і A.pullulans до негативного впливу. Саме тому ми виключили їх із списку біоіндикаторних видів.

Таким чином, показниками посиленого забруднення промстоками підприємств точного машинобудування ми пропонуємо вважати: Ulocladium consortiale, Humicola grisea, Torula herbarum. і Arthrinium phaeospermum. Для остаточного висновку щодо цього необхідно проводити подальші спостереження.

ВИСНОВКИ

1. Проведено мікологічний аналіз та виділені мікроміцети з відстійника та забруднених грунтів на території заводу точного машинобудування, котрі після ідентифікації віднесені до 118 видів 42 родів.
2. У грунті на території заводу і у відстійнику виявлено явище меланізації біоти мікроміцетів, котре трактується нами як промисловий меланізм, і є показником несприятливого екологічного стану екотопу. Про це свідчать кореляційні плеяди,

в котрих серед структурних родів переважали меланінвмісні.

3. У процесі спрямованого скринінгу в середовища виділені види, які активно трансформують нафтопродукти та інші органічні речовини промстоків, а також види, що активно сорбують іони важких металів (^{+3}Fe ^{+2}Cu ^{+2}Ni ^{+3}Cr ^{+2}Pb ^{+2}Cd)

4. Створено штучні комплекси мікроміцетів, які активно очищають промстоки у напіввиробничих та виробничих умовах. Процент очистки відносно нафтопродуктів становить 100%, а відносно іонів металів - 98 %).

5. Розроблено спосіб внесення грибної біомаси в очисні ємкості шляхом імобілізації на пористому носії.

6. Модифікована методика регенерації грибної біомаси, що дозволяє сконцентрувати важкі метали на цеоліті, і таким чином замкнути цикл очистки.

7. За допомогою факторного аналізу (методу головних компонент) виявлені види-біоіндикатори, а саме Ulocladium consortiale, Humicola grisea, Torula herbarum і Arthrinium phaeospermum, що є показниками забруднення довкілля іонами важких металів та нафтопродуктамти

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. **Олиферчук В.П., Сухомлин М.Н., Жданова Н.Н.** Адсорбция некоторыми микромицетами ионов тяжелых металлов из стоков предприятия точного машиностроения // Микробиологический журнал.- 1994.- 56, N6. -С.65-70.

2. **Жданова Н.Н., Олиферчук В.П.** Использование некоторых почвенных микромицетов для очистки промышленных сточных вод // Микробиологический журнал.-1993. -55, N3. -С.67-73.

3. **Олиферчук В.П.** Екологічні особливості мікроміцетів-біоіндикаторів в техногенних ландшафтах /Паркові ландшафти: інтродукція,

архітектурні та біолого-екологічні аспекти функціонування // Тез. допов. наук. конференції. Біла Церква.- 1993, с.60.

4. **Оліферчук В.П., Жданова Н.М.** Характеристика структури комплексу мікроміцетів грунту в умовах антропогенного забруднення //Тез. доп. міжнородної конференції "Урбанізація як фактор змін біогеоценотичного покриву".- Львів, 1994. -С.52-53.

5. **Оліферчук В.П., Лебединец Л.О., Жданова Н.Н.** Почвенные микромицеты как очистители сточных вод промышленных предприятий //Тез. докладов международной научно-практической конференции "Актуальные вопросы охраны окружающей среды от антропогенного воздействия ". Кременчуг, 1994.-С.33-34.

6. **Сухомлин М.Н., Оліферчук В.П., Суковата Л.О.** Использование грибов и почвенных беспозвоночных для биоиндикации промышленных загрязнений //Тез. докладов международной научно-практической конференции "Актуальные вопросы охраны окружающей среды от антропогенного воздействия ". Кременчуг, 1994.-С.80-81.

7. **Оліферчук В.П.** Использование микромицетов почвы для биоиндикации // Материалы украинского микробиологического съезда. Одесса, 1993.-263с. // Микробиологический журнал.- 1994, N3.-С.83.

8. **Оліферчук В.П., Лебединец Л.О., Сухомлин М.Н.** Концентрирование тяжелых металлов, полученных из биомассы микромицетов с помощью цеолитов // Микробиологический журнал.- 1995, N3.- С.85-90.

Олиферчук В.П.

Применение микромицетов в биологической очистке сточных вод предприятия точного машиностроения

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.07 - микробиология, - Киевский институт микробиологии и вирусологии им.Д.К.Заболотного НАН Украины, Киев, 1995.

РЕЗЮМЕ

Из экстремальных по условиям существования экотопов (отстойник завода точного машиностроения и почва на територрии завода) были выделены виды микромицетов - активных деструкторов органических соединений и трансформаторов ионов тяжелых металлов. Показано, что искусственно созданные группы грибов применимы для очистки сточных вод даного предприятия. Разработаны и апробированы конкретные технологические решения. На основании экспериментальных исследований, с применением методов математической экологии оценена экологическая ситуация и установлены виды-биоиндикаторы загрязнения ионами металлов и нефтепродуктами.

Ключові слова: кореляційний аналіз, факторний аналіз, деструктори, нафтопродукти, важкі метали, очистка, стічні води, явище промислової меланізації біоти мікроміцетів.

Oliphercluk V.P.

Use of mycromycetes in the biological purification of waste waters of the exact engineering enterprise

The Candidate Thesis for a Master's Degree, the Speciality 03.00.07. - Microbiologia - Instituty of microbiology and virysologi Ucrainian National Academy of Science, Kiev, 1995.

SUMMERY

The species of micromycetes that active destroy the organic combination and transform ions of heavy metals were picked out extreme ecotopes concerning conditions of the existence отстойник of the exact engineering enterprise and the soil at the factory area. Mushrooms artificially created were used for the waste waters purification of this enterprise. Concrete technological decisions were elaborated and approved. The methods of mathematic's ecology were used for the ecological situation estimate and the definition of the bioindicator species.

Вилер

Підписано до друку 06. 03. 95. Формат паперу 60×84 1/16. Папір письмовий. Друк офсетний. Обсяг видання в умовно-друк. листах 1,0. Умовних фарбо-відбитків 1,0. Зам. 185. Тираж 100. Безкоштовно.

ЕДД УНДІПП, Львів, вул. Володимира Великого, 4.