

22.Syrlybekkyzy S., Sulejmanova N.SH., Kenzhetaev G.ZH., K voprosu ispareniya toksichnyh vod i vliyaniya tekhnogennogo ob"ekta na sostoyanie pribrezhnoj zony Kaspiya/S. Syrlyabekkyzy//Vestnik KazNU. Seriya ehkologicheskaya №1/1(43). – Almaty. 2015. – 287-292 s.

23.CHujkov YU.S. Informacionnyj otchet o vypolnenii rasporyazheniya Glavy administracii oblasti ot 24.09.93 g. "O neotlozhnyh merah po obespecheniyu radiacionnoj bezopasnosti na territorii Astrahanskoj oblasti". - V.kn.: Ob"ekt "Vega" (informacionnye materialy). - Astrahan', 1994, s. 60-66.

24.CHujkov YU.S., Dosmuhamedova G.G. Ob"ekt «Vega» i posledstviya yadernyh vzryvov v mirnyh celyah. (Obzor). zh. Astrahanskij vestnik ehkologicheskogo obrazovaniya. 2005-2006. № 1-2 (8-9). 2006. s. 46-71.

25.CHujkov YU.S. Vozvrashchayas' k problemam Kaspiya. CHast' 1. // Astrahanskij vestnik ehkologicheskogo obrazovaniya. № 1 (17). 2011. s. 43-87.

26.CHujkov YU.S. Vozvrashchayas' k problemam Kaspiya (Obzor). CHast' 2. /Astrahanskij vestnik ehkologicheskogo obrazovaniya. 2015. № 4 (34). S. 44-67.

27.SHametov A.K., Kozhahmetova A.N., Bigaliev A.B., Bigalieva R.K., Bekmanov B.O. Molekulyarno-genetricheskie issledovaniya gryzunov iz zony hvostohranilishcha Koshkar-ata/A.K. SHametov//Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. – 2015. – № 2-1. – 203-220s.

28.SHametov A.K., Kozhahmetova A.N., Bigaliev A.B. Rekognoscirovochnoe i radioehkologicheskoe obsledovanie ob"ektov okruzhayushchej srede hvostohranilishcha Koshkar – ata/A. K. SHametov//Fundamental'nye issledovaniya №14, 2014 g. – 1938-1941 s.

29.SHarkov A.A. Geologicheskij fenomen uranovo-redkometall'nyh mestorozhdenij. / Priroda, 2015, № 2, s. 21-30.

30.Kadyrzhanov K.K., Kuterbekov K.A., Akhmetov E.Z., Lukashenko S.N., Dzhazairov-Kakhramanov V. // 1st Int. Eurasia Conf. on Nuclear Science and its Application, Turkey.2000. P. 665 – 673.

УДК 502.654/.654:631.6

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТА-НЕФТЕДЕСТРУКТОРА И ЭНДОТРОФНЫХ ГРИБОВ НА ЭТАПЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ

**Лямзин Владимир Иванович, Бухарина Ирина Леонидовна, Здобяхина Ольга Владимировна, Исламова Надежда Александровна, Загребина Вероника Сергеевна
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет» v-lyamzin@mail.ru**

нефтяное загрязнение почв, биопрепарат, биоремедиация, эндотрофные грибы, биологический этап рекультивации.

*В статье приводятся результаты лабораторных экспериментов по исследованию влияния биопрепарата и эндотрофных грибов на эффективность разложения нефти в почве. Результаты показали, что в контрольном варианте с 5% уровнем загрязнения почв нефтью без использования мелиорантов объем нефти к концу эксперимента составил $13,958 \pm 3,768$ г/кг, а в варианте с совместным внесением биопрепарата, растений и эндотрофных грибов рода *Glomus*— $7,000 \pm 1,890$ г/кг, что примерно в 2 раза меньше. В варианте с 10 % уровнем загрязнения почв нефтью и использованием лишь биопрепарата-нефтедеструктора содержание нефти составило $10,936 \pm 2,964$ г/кг, что достоверно почти в 2 раза меньше показателя контрольного варианта без использования мелиорантов. Полученные результаты указывают на эффективность совместного действия биопрепарата, фиторемедианта и эндотрофных грибов на этапе биологической рекультивации нефтезагрязненных земель при 5 % уровне загрязнения почв нефтью.*

RESEARCH OF THE EFFECTIVENESS OF THE JOINT APPLICATION OF THE BIOLOGICAL PRODUCT AND ENDOTROPHIC FUNGI AT THE STAGE OF BIOLOGICAL RECOVERY OF OIL CONTAMINATED SOILS

**Lyamzin Vladimir Ivanovich, Bukharina Irina Leonidovna, Zdobyakhina Olga Vladimirovna, Islamova Nadezhda Aleksandrovna, Zagrebina Veronika Sergeevna
Udmurt State University v-lyamzin@mail.ru**

oil pollution, biological product, bioremediation, fungi, biological stage of remediation.

*The article presents the results of laboratory experiments on the effect of biological product and endotrophic fungi on the efficiency of petroleum decomposition in soil. The results showed that in the control variant with 5 % contamination of soils with oil products without the use of ameliorants, the volume of oil products by the end of the experiment was $13,958 \pm 3,768$ g/kg, and in the variant with combined application of biological product, plants and endotrophicfungi of the genus *Glomus*, $7,000 \pm 1,890$ g/kg, 2 times less. In the variant with a 10% level of soil contamination with oil and use of the biologic product only, the oil content was $10,936 \pm 2,964$ g / kg, which is almost 2 times less than the control variant without the use of ameliorants. The obtained results indicate the effectiveness of the combined effect of the biological product, phytoremedian and endotrophic fungi at the stage of biological remediation of oil contaminated lands at a 5% level of soil contamination with oil.*

Загрязнение земель нефтью и нефтепродуктами, особенно в регионах интенсивной разработки месторождений углеводородного сырья, является одной из серьезных экологических проблем. Нефтяное загрязнение оказывает отрицательное воздействие на химические, физические, биологические свойства почв. Под влиянием компонентов нефти изменяется численность полезных почвенных микроорганизмов, уменьшается активность окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов, ухудшаются агрофизические, агрохимические свойства почвы, снижается обеспеченность почвы подвижными формами азота и фосфора [1].

Экологический ущерб от загрязнения почв нефтью весьма велик — от снижения качества и продуктивности почв до вывода земель из сельскохозяйственного оборота. Создается опасность загрязнения подземных и поверхностных вод в результате попадания нефти в водоносные горизонты, реки и водоемы [3].

В настоящее время успешно развиваются технологии биоремедиации нефтезагрязненных территорий. Биоремедиационные мероприятия по очистке нефтезагрязненных земель включают два подхода к биодеградации нефтяных углеводородов: стимуляцию нефтеокисляющего биоценоза путем создания оптимальных условий для его развития; введение в загрязненную экосистему активных углеводородоокисляющих микроорганизмов наряду с созданием условий обеспечения их жизнедеятельности. В первом варианте технологии очистки предусматривают активизацию процесса самоочистки почвы, что способствует полному разрушению загрязнителя и является экономически целесообразным. Второй вариант предусмотрен при низкой активности естественного биоценоза, когда окисление нефтепродуктов идет крайне медленно. В этом случае повышение численности углеводородоокисляющих микроорганизмов обеспечивают за счет использования биопрепаратов. Данный метод наряду с преимуществом (экологически чистый, экономически выгоден) имеет и ряд ограничений [4].

Микроорганизмы, разрушающие нефтепродукты, проявляют свою максимальную эффективность лишь в определенном диапазоне условий окружающей среды, при воздействии ряда почвенных и климатических факторов. Такими условиями являются температура, pH почвенного раствора, уровень влажности почвы, наличие необходимого количества минеральных компонентов, степень аэрации почвы [5]. Зачастую эти факторы не соответствуют оптимальным для функционирования углеводородоокисляющих микроорганизмов условиям. Многофакторность условий окружающей среды ограничивает эффективность применения биопрепарата [6].

В таких условиях становится необходимым увеличение внесения стартовых количеств не только биопрепарата, но и минеральных компонентов, проведение дополнительных мероприятий по аэрации и увлажнению загрязненной почвы. По этим причинам биологический метод рекультивации нефтезагрязненных земель становится малоэффективным и затратным. Возможным решением этой проблемы может быть совместное использование популяций микроскопических грибов, что повысит эффективность очистки земель от нефтепродуктов [2].

Микроскопические грибы имеют преимущества перед бактериями в некоторых почвенных средах. Они способны развиваться и расти в широком диапазоне температуры и кислотности почвы, а также, когда уровень влажности почвы является весьма низким для большинства бактерий, они способны разлагать органические остатки и тем самым увеличивать количество азота в почве [7].

Также выявлена положительная роль микроскопических грибов в деградации полициклических ароматических углеводородов, являющихся составной частью нефти и одним из стойких органических загрязнителей. Устойчивость микоризы к полициклическим ароматическим углеводородам и изменение скорости их деградации способствует приобретению растениями питательных веществ, что отражается на формировании растительного покрова на загрязненной почве [8].

Целью нашего исследования явилось изучение эффективности совместного применения биопрепарата-нефтедеструктора и эндотрофных грибов на этапе биологического восстановления нефтезагрязненных земель.

Исследование было проведено методом многофакторного эксперимента, моделирующего биологический этап восстановления нефтезагрязненных земель в лабораторных условиях. Для этого была разработана схема вегетационного эксперимента с использованием нефтезагрязненной почвы, биопрепарата-нефтедеструктора «МикрозимПетроТрит», фиторемедианта мятлика лугового (*Poa patrisis* L.) и эндотрофных грибов рода *Glomus*. Все варианты опыта закладывались в 4-х кратном повторении (табл.1).

Опытные делянки представляли собой контейнеры, содержащие по 0,5 кг почвенного грунта, в который согласно схеме эксперимента была внесена нефть массой 25 и 50 г (соответственно 50 и 100 г/кг), моделирующая загрязнение 5 и 10 % соответственно. Согласно схеме эксперимента был внесен биопрепарат в виде водной суспензии из расчета 1 и 1,5 г на 1 кг почвы с 5 и 10 % загрязнением нефтью соответственно. Спустя 10 дней в соответствующие варианты опыта были посеяны семена мятлика лугового. После прорастания семян спустя 7-10 дней в соответствующие варианты опыта были внесены эндотрофные грибы в виде подготовленного почвенно-корневого спорowego инокулюма. Для производства инокулюма были использованы почвы и корни растений, в которых методом анализа ДНК (в корнях) и методом мокрого посева спор обнаружены

арбускулярные микоризные грибы рода *Glomus*. Растения, из корней которых выделены грибы, произрастали в условиях длительного загрязнения почв тяжелыми металлами.

Таблица 1

Схема эксперимента

Фактор А — содержание нефти в почве	Фактор В — биоремедиант
A1— содержание нефти, 5% от массы почвы (50 г/кг)	¹ В0 — Без внесения биопрепарата (Контроль)
A2—содержание нефти, 10% от массы почвы (100 г/кг)	В1 — Биопрепарат «Микрозим Петро Трит»
	В2— Мятлик луговой (<i>Poa pratensis</i>) — фиторемедиант
	В3 —Фиторемедиант + грибы-эндифиты рода <i>Glomus</i>
	В4— Биопрепарат «Микрозим Петро Трит» + фиторемедиант + грибы-эндифиты рода <i>Glomus</i> .

Лабораторный эксперимент проводился в контролируемых условиях среды в климатической камере BINDERKBWF. С 08.00 до 18.00 часов был установлен дневной режим: температура +23 °С, максимальное освещение 15000 лк и вентиляция. С 18.00 до 08.00 установлен ночной режим: температура +18 °С, отсутствие освещения. Увлажнение почв в вариантах опыта осуществлялось через регулярный полив дистиллированной водой. В вариантах опыта, не содержащих растения, производилось регулярное рыхление (аэрация) почвы.

По завершении эксперимента был проведен анализ почвы на содержание нефти. Также определялось значение рН почвенного раствора, биологическая масса растений, а также методом микроскопирования была определена степень развития микоризной инфекции в корневой системе растений. Обработка результатов эксперимента проведена с использованием статистического пакета Statistica 6.0 методами описательной статистики.

Результаты исследования, моделирующего 5 и 10 % загрязнение почвы нефтью, показали, что в варианте с 5 % содержанием нефти и без внесения мелиорантов (вариант контроля) содержание нефти после 6 месяцев проведения эксперимента составило 13,958 ± 3,768 г/кг. Содержание нефти в варианте опыта, содержащем биопрепарат-нефтедеструктор + растения + грибы, составило 7,000 ± 1,890 г/кг, что достоверно меньше на 6,958 г/кг, чем в контрольном варианте (рис.1).

Достоверной разницы между содержанием нефти в почвах контрольного варианта и в других вариантах опыта не выявлено (рис.1).

Содержание нефти определялось гравиметрическим методом по методике ПНД Ф 16.1:2.2.2.2.3:3.64-10 в аккредитованной лаборатории Центра лабораторного анализа и технических измерений.

По окончании эксперимента в контрольном варианте с 10 % загрязнением почвы нефтью содержание нефти составило 22,000 ± 5,940 г/кг. Достоверная разница в содержании нефти по сравнению с контрольным вариантом выявлена лишь в варианте с использованием биопрепарата, где содержание нефти составило 11,036 ± 2,980 г/кг, что достоверно почти в 2 раза меньше показателя контрольного варианта (рис.2).

Результаты измерения биомассы растений, используемых в качестве фиторемедиантов, в варианте с 5 % загрязнением нефтью и использованием совокупности растения + грибы показали, что значение биомассы составило 0,78 ± 0,08 г (абсолютно сухая масса), и это достоверно больше на 0,15 г, чем в варианте, содержащем в качестве ремедианта лишь растения. Наибольшее значение биомассы растений выявлено в варианте, включающем совокупность биопрепарат-нефтедеструктор + растения + грибы, и составило 0,94 ± 0,16 г, что достоверно больше на 0,31 г, чем в варианте с фиторемедиантом.

Результаты измерения биомассы растений в вариантах с моделированием 10% загрязнения почв нефтью показали, что наибольшее значение биомассы растений установлено в варианте с использованием фиторемедианта, и составило 0,57 г, что достоверно на 0,43 г больше, чем в варианте с использованием совокупности фиторемедиант + грибы, и достоверно больше на 0,56 г, чем в варианте с совокупностью биопрепарат-нефтедеструктор + фиторемедиант + грибы.

Полученные результаты показали эффективность совместного применения биопрепарата-нефтедеструктора, эндотрофных грибов рода *Glomus* и фиторемедианта на этапе биоремедиации нефтезагрязненных земель с 5% загрязнением нефтью. Содержание нефти в этом случае к концу опыта составило 7,000±1,890 г/кг, что почти в 2 раза меньше, чем в контрольном варианте. Биомасса растений в этом варианте составила 0,94 ± 0,16 г, что достоверно почти в 1,5 раза превышает показатель варианта эксперимента с использованием фиторемедианта. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что эндотрофные грибы усиливают выносливость растений и действие

¹ Варианты A1B0 и A2B0 были использованы в качестве контрольных вариантов

бактериального препарата и оказывают достоверное влияние на эффективность деструкции нефти в почве.

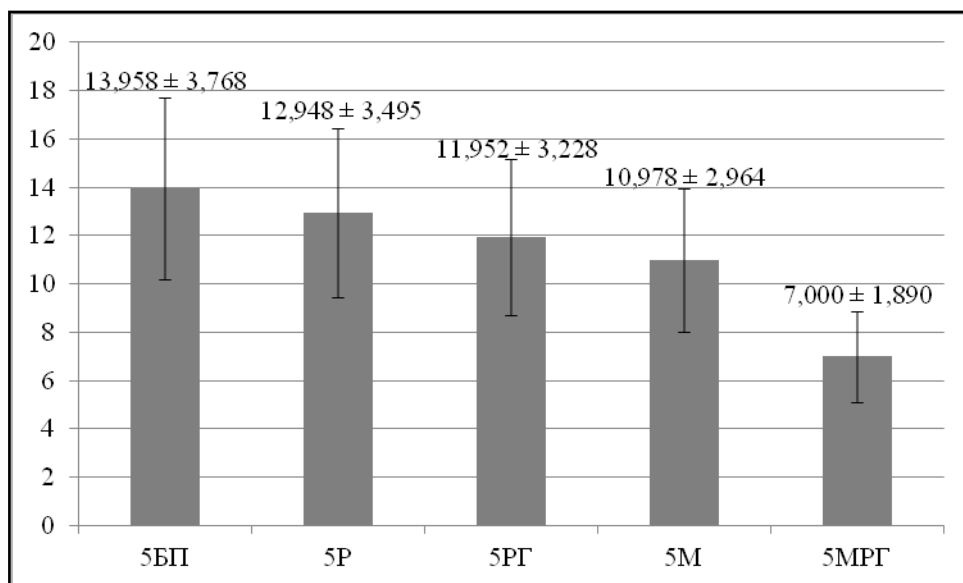


Рис. 1. Содержание нефти (г/кг) после окончания эксперимента в вариантах опыта с 5% загрязнением почвы нефтью: BP — контрольный почвенный вариант, не содержащий мелиорантов; P—высаженные растения мятлика лугового (*Poa pratensis*); Г—эндотрофные грибы рода *Glomus*.

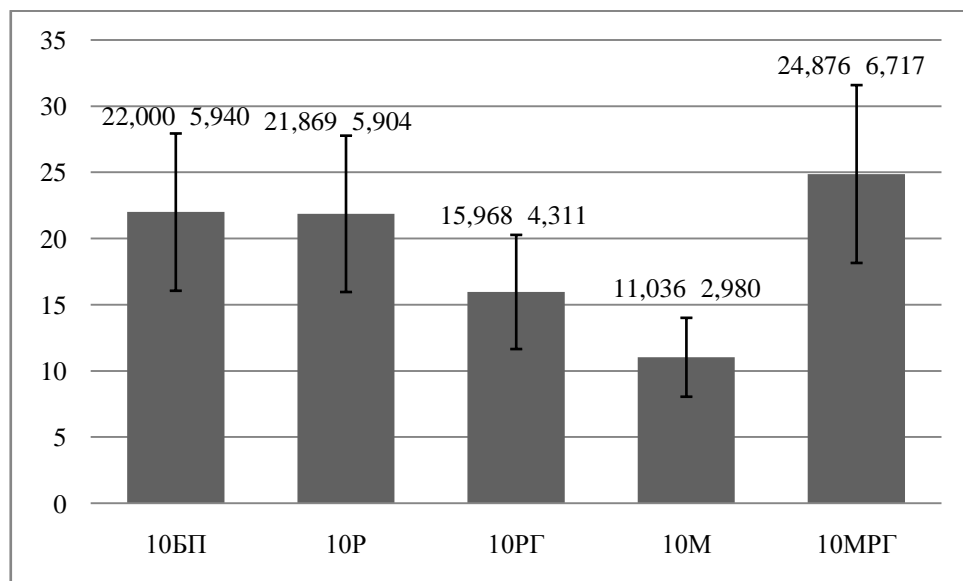


Рис. 2. Содержание нефти (г/кг) после окончания эксперимента в вариантах с 10% загрязнением почвы нефтью

При высоком 10% уровне загрязнения почвы нефтью достоверное снижение нефти в почве после шести месяцев эксперимента было установлено лишь в варианте с использованием бактерий биопрепарата-нефтедеструктора «Микрозим Петро Трит».

Дальнейшие исследования, основанные на проведении многофакторного эксперимента, моделирующего биологический этап восстановления нефтезагрязненных земель разных типов почв, как в лабораторных, так и полевых условиях, позволят определить степень эффективности применения консорциума микроорганизмов и высших растений в деструкции нефти в зависимости от почвенных условий.

Литература

1. Курицын А.В., Курицына Т.В., Катаева И.В. Биоремедиация нефтезагрязненных грунтов на технологических площадках // Известия Самарского научного центра Российской академии наук.—т. 13. — №1(5). — 2011. — С. 1271—1273.

2. Лямзин В.И., Бухарина И.Л., Исламова Н.А., Здобяхина О.В. Роль микроскопических грибов в восстановлении нефтезагрязненных земель // Биологическая рекультивация нарушенных земель: Материалы X всерос. науч. конф. с междунар. участием, Екатеринбург, 4—7 сентября 2017 г. — Екатеринбург: Изд-во УГЛТУ, 2017. — С. 179—185.
3. Пиковский Ю.И., Геннадиев А.Г., Чернянский С.С., Сахаров Г.Н. Проблема диагностики нормирования загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами // Почвоведение. — 2003. — № 9. — С. 1132—1140.
4. Rogozina E.A., Andreeva O.A., Zharkova S.I., Martynova D.A. Сравнительная характеристика отечественных биопрепаратов, предлагаемых для очистки почв и грунтов от загрязнения нефтью и нефтепродуктами // Нефтегазовая геология. Теория и практика. — 2010. — Т.5. — № 3. — С. 52—59.
5. Янкевич М.И., Хадеева В.В., Мuryгина В.П. Биоремедиация почв: вчера, сегодня, завтра // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». — 2015. — т. 7. — № 2. — С. 199—208.
6. Christofi N., Ivshina I.B., Kuykina M.S. Biological treatment of crude oil contaminated soil in Russia // Contaminated Land and Groundwater. Future Directions. — London: Geological Society Engineering Geology Publications, 1998. — Vol. 14. — P. 45—51.
7. Hoorman, J. The role of soil fungus // Fact Sheet Agriculture and Natural Resources. — Ohio: The Ohio State University Extensions, 2011. — P. 1—6.
8. Mathur N., Singh J., Bohra S. Arbuscular Mycorrhizal Fungi: A Potential Tool for Phytoremediation // Journal of Plant Sciences. — 2007. — Vol. 2. — P. 127—140.

References

1. Kuritsyn A.V., Kuritsyna T.V., Kataeva I.V. Bioremediatsiya neftezagryaznennykh gruntov na tekhnologicheskikh ploshchadkakh [Bioremediation of oil-contaminated soils on the process areas]. *Izvestiya of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2011, vol. 13, no 1(5), pp. 1271—1273 (in Russian).
2. Lyamzin V.I. Bukharina I.L., Islamova N.A., Zdobiyakhina O.V. Rol' mikroskopicheskikh gribov v vosstanovlenii neftezagryaznennykh zemel' [The role of microscopic fungi in the bioremediation of oil contaminated soils]. *Biologicheskaya rekul'tivatsiya narushennykh zemel': Materialy X vseros. nauch. konf. s mezhdunar. uchastiyem, Yekaterinburg, 4—7 sentyabrya 2017* [Biological recultivation disturbed lands: Proceedings of the 10th All-Russian Science Conference with international participation, Yekaterinburg, September 4—7, 2017]. Yekaterinburg, Ural Forest Engineering University, 2017, pp. 179—185 (in Russian).
3. Pikovskiy Yu.I., Gennadiyev A.G., Chernyanskiy S.S., Sakharov G.N. Problema diagnostiki normirovaniya zagryazneniya pochv nef'tyu i nefteproduktami [The problem of diagnostics and standardization of the levels of soil pollution by oil and oil products]. *Pochvovedeniye*, 2003, no. 9, pp. 1132—1140 (in Russian).
4. Rogozina E.A., Andreeva O.A., Zharkova S.I., Martynova D.A. Sravnitel'naya kharakteristika otechestvennykh biopreparatov, predlagayemykh dlya ochistki pochv i gruntovot zagryazneniya nef'tyu i nefteproduktami [Comparative characteristics of national biological products proposed for soil purification from oil and oil products pollution]. *Neftegazovayageologiya. Teoriya i praktika*, 2010, vol. 5, no 3, pp. 52—59 (in Russian).
5. Yankevich M.I., Khadeeva V.V., Murygina V.P. Bioremediatsiya pochv: vchera, segodnya, zavtra [Bioremediation of soils: yesterday, today, tomorrow]. *Mezhdistsiplinarnyy nauchnyy i prikladnoy zhurnal «Biosfera»*, 2015, vol. 7, no. 2, pp. 199—208 (in Russian).
6. Christofi N., Ivshina I. B., Kuykina M. S. Biological treatment of crude oil contaminateds oil in Russia // Contaminated Landand Groundwater. Future Directions. — London: Geological Society Engineering Geology Publications, 1998. — Vol. 14. — P. 45—51.
7. Hoorman, J. The role of soil fungus // Fact Sheet Agriculture and Natural Resources. — Ohio: The Ohio State University Extentions, 2011. — P. 1—6.
8. Mathur N., Singh J., Bohra S. Arbuscular Mycorrhizal Fungi: A Potential Tool for Phytoremediation // Journal of Plant Sciences. — 2007. — Vol. 2. — P. 127—140.