

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «АЛЬБИТ» НА ПРОЦЕСС РЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ АГРОДЕРНОВО-КАРБОНАТНОЙ ПОЧВЫ

Баландина А.В.¹, Еремченко О.З.², Кузнецов Д.Б.¹

¹Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь, e-mail: denis.pfa@gmail.com;

²Пермский государственный университет, Пермь, e-mail: eremch@psu.ru

Несмотря на множество работ по восстановлению почв, обилию созданных биопрепаратов, проблема восстановления дерново-карбонатных почв, подверженных загрязнению в районах нефтедобычи, сохранила свою актуальность. В условиях подзоны южной тайги Предуралья исследованы процессы деструкции нефти, изменение микробиологической активности на начальном этапе ремедиации нефтезагрязненных агродерново-карбонатных почв. Показано, что скорость деструкции нефти зависела от исходной микробиологической активности почвы, определялась дозой нефти. Прослежена динамика восстановления численности основных углеводородокисляющих родов бактерий на фоне использования препарата «Альбит». По скорости деструкции нефти и восстановлению микробиоты агродерново-карбонатной почвы доказана эффективность препарата «Альбит» на всех испытанных уровнях загрязнения нефтью.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, дерново-карбонатные почвы, углеводородокисляющие бактерии, деструкция нефти, препарат «Альбит», ремедиация почв.

EFFECT OF PREPARATION «ALBUM» ON BACTERIAL FLORA AND REMEDIATION PROCESS AGRORENDZINA

Balandina A.V.¹, Eremchenko O.Z.², Kuznecov D.B.¹

¹Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, e-mail: denis.pfa@gmail.com;

²Perm of state University, Perm, e-mail: eremch@psu.ru

The processes of degradation of the oil in a southern taiga subzone, changes in microbiological and biochemical activity of oil-contaminated soils at. The analysis of changes in the properties of oil-contaminated soil at which showed that the rate of oil degradation determined by the dose of pollutant and source of soil microbial activity. In spite of a lot of work to restore the soil, abundance of established biologics problem remediation rendzina exposed to oil-contaminated oil production areas in the Pre-Ural region, has remained. The dependence of changes in species composition between soil bacterial flora, the level of oil pollution and the use of the drug «Albit». The efficiency of the use of the drug «Albit» in the level of oil pollution in the 5, 10 and 20 l / m² in the oil-producing regions Pre-Ural region. Effects of the drug «Albit» is regarded as the main factor activation native hydrocarbons oxidizing bacterial flora of oil pollution and the recovery process agrorendzina.

Keywords: soil bacterial flora, oil pollution, hydrocarbon-oxidizing bacteria, the rate of degradation, agrorendzina.

В научной литературе имеются сведения о составе почвенных углеводородокисляющих бактериях, о трансформации микробных сообществ при загрязнении нефтью почв [2]. Наиболее активные естественные углеводородокисляющие бактериальные штаммы относятся к родам: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Nocardia*, *Brevibacterium*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Sphaerotilus*. Среди актиномицетов внимание привлекает многочисленный род *Streptomyces* [7]. В загрязненных почвах увеличивалась встречаемость фитотоксичных, фитопатогенных и потенциально патогенных для человека видов (*Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Trichoderma viride* и др.) [6].

Изменение свойств почв и скорости деструкции при нефтяном загрязнении определяются не только дозой поллютанта, но и в значительной степени исходной микробиологической активностью почвы. В условиях подзоны южной тайги исследованы процессы деструкции нефти, изменение микробиологической и биохимической активности дерново-подзолистых почв при нефтезагрязнении [5]. Не все микроорганизмы, выделяемые из почв загрязненных нефтью, являются углеводородокисляющими. Определенные виды микроорганизмов окисляют углеводороды до промежуточных продуктов, последние могут служить источником питания для других групп микроорганизмов [8]. Как биосистема комплекс почвенных микроорганизмов динамичен; состав биоценозов, его структура изменяются не только в результате нефтяного загрязнения, но и непрерывно в ходе длительного и сложного процесса биологического разложения углеводородов [3].

Несмотря на множество работ по восстановлению почв, обилию созданных биопрепаратов, вне внимания исследователей осталась проблема ремедиации агродерново-карбонатных почв, подверженных загрязнению в районах нефтедобычи предуральяского региона.

Методика полевых опытов. Мелкоделяночные полевые опыты проведены на территории опытного участка в Ильинском районе Пермского края. Объектом исследований были агродерново-карбонатные глинистые почвы, которые сформировались на пермских карбонатных породах. Эти почвы занимают 288 тыс. га, 1,8 % территории Пермского края; распаханно 203 тыс. га дерново-карбонатных почв. Редкие почвы на пермских породах рекомендованы для включения в Красную книгу почв Пермского края [1].

Нефть из расчета 5, 10 и 20 л/м² внесли в почву во второй половине мая 2007 г. Через неделю после загрязнения был внесен препарат «Альбит» в виде суспензии из расчета 50, 100 и 200 л/га (соответственно увеличению уровня загрязнения нефтью). Рыхление слоя 0-20 см проводили один раз в неделю в течение двух месяцев, одновременно поливали дозой 20 л/м². Агрехимические свойства и остаточное количество нефти в почве определили через 70 дней после начала ремедиации. Отбор почвенных проб для учета численности микроорганизмов произведен через 7 дней после загрязнения и через 35, 70 дней после внесения ремедиантов.

Методы лабораторных исследований. Содержание углеводородов нефти определили методом жидкостной хроматографии (ГОСТ 13379-82), содержание углерода органических соединений – ГОСТ 23740-79. Для определения численности и таксономического состава комплекса углеводородокисляющих бактерий применяли метод посева на агаризированную глюкозо-пептонно-дрожжевую среду и среду Чапека с гексадеканом [4]. Посевы проводили стандартным способом из тысячного разведения в 5 кратной повторности после

предварительной обработки на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-1 (22 кГц; 0,44 А; 2 мин).

Посевы инкубировали при комнатной температуре 3-7 суток, затем проводили подсчет и микроскопирование выросших колоний. Идентификацию микроорганизмов до рода проводили на основании изучения культуральных и микроморфологических признаков [9].

Результаты исследования и их обсуждение

Благодаря применению препарата «Альбит» за период около двух месяцев количество углеводородов в нефтезагрязненной почве снизилось на варианте 5 л/м² нефти на 50 %, на варианте 10 л/м² – на 40 %, на варианте 20 л/м² – на 55 % относительно контрольного загрязненного варианта (рис. 1). Процесс деструкции нефти отражает также динамика содержания органического углерода.

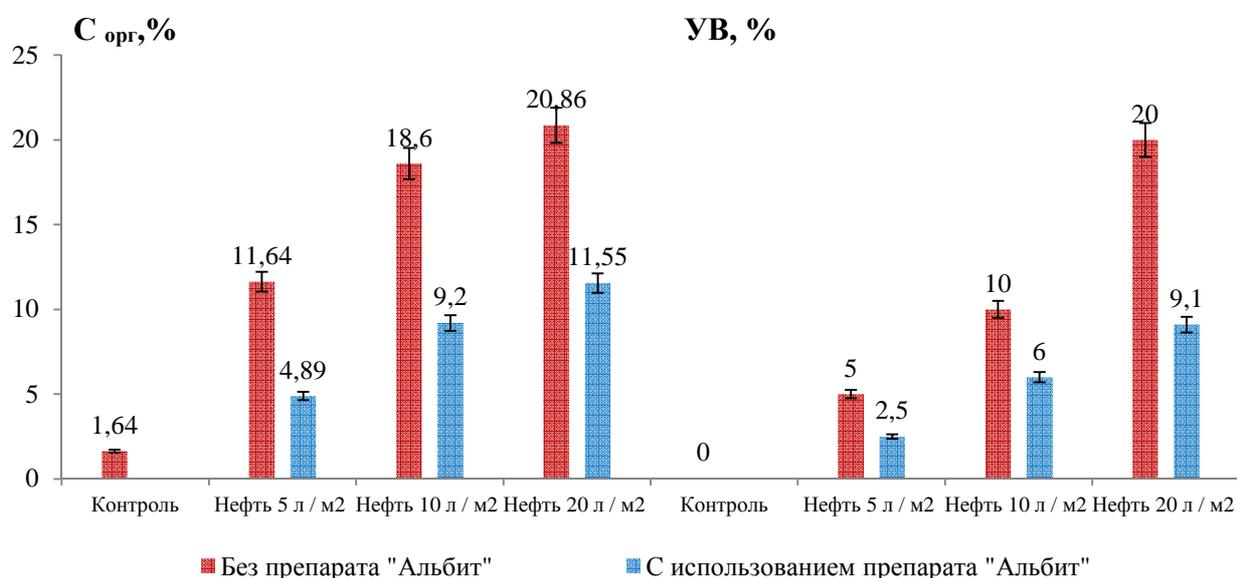


Рис. 1. Количество общего органического углерода и углеводородов в нефтезагрязненной агродерново-карбонатной почве (после 70 дней ремедиации)

Биопрепарат «Альбит» не содержит живые клетки микроорганизмов, вероятно, его действие на нефтезагрязненную почву обусловлено активизацией аборигенной ассоциации микроорганизмов.

Установлена таксономическая структура и численность колониобразующих единиц (КОЕ) сообщества углеводородокисляющих микроорганизмов в незагрязненной агродерново-карбонатной почве. Ассоциация бактерий включала следующие роды: *Rhodococcus* (10^8 КОЕ/г почвы) = *Agrobacterium* (10^8) > *Bacillus* (10^7) > *Pseudomonas* (10^6) = *Clavibacter* (10^6) > *Xanthomonas* (10^5). Через неделю после разлива нефти в микробоценозе агродерново-карбонатной почвы не обнаружены КОЕ бактерий родов *Pseudomonas*,

Rhodococcus, *Bacillus* и *Agrobacterium*. Численность родов *Clavibacter* и *Xanthomonas* составила всего 10^2 КОЕ/г почвы (рис. 2,3,4).

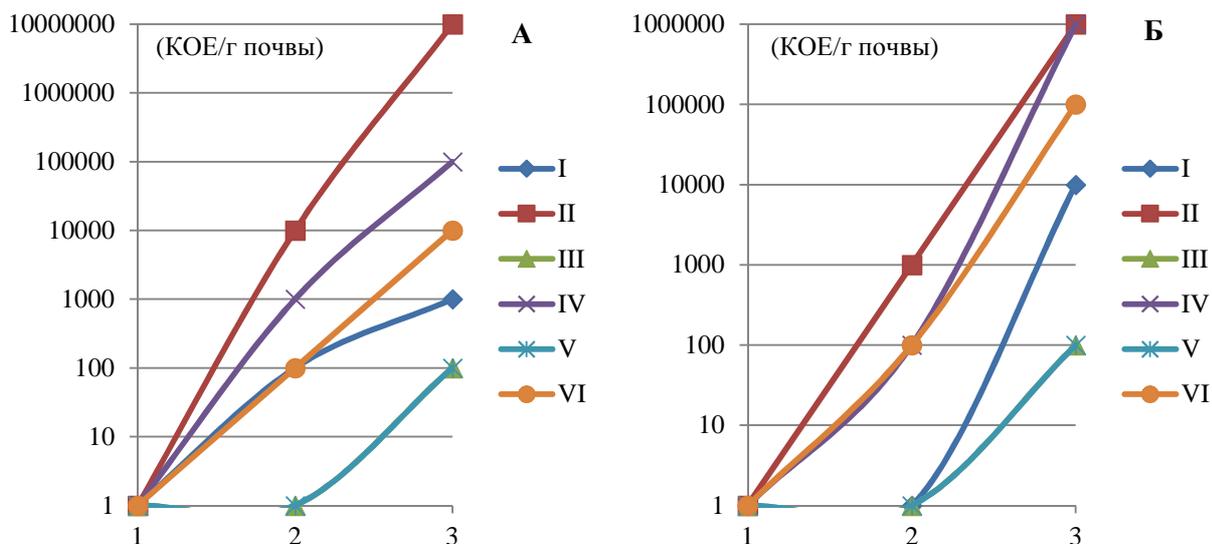


Рис. 2. А – численность *Pseudomonas* (КОЕ/г почвы), Б – численность *Rhodococcus* (КОЕ/г почвы) в агродерново-карбонатной почве: 1 – через 7 дней после разлива, 2 – через 35 дней после начала ремедиации, 3 – через 70 дней после начала ремедиации; I – Нефть 5 л / м², II – Нефть 5 л / м² + «Альбит», III – Нефть 10 л / м², IV – Нефть 10 л / м² + «Альбит», V – Нефть 20 л / м², VI – Нефть 20 л / м² + «Альбит»

Через 35 дней с начала ремедиации в верхнем слое загрязненной почвы также присутствовали бактерии *Clavibacter* и *Xanthomonas* (рис. 3Б, рис. 4А), при меньшей дозе загрязнения (5 л/м²) появились *Agrobacterium* (10^4 КОЕ/г) (рис. 4Б) и *Pseudomonas* (10^2 КОЕ/г) (рис. 2А).

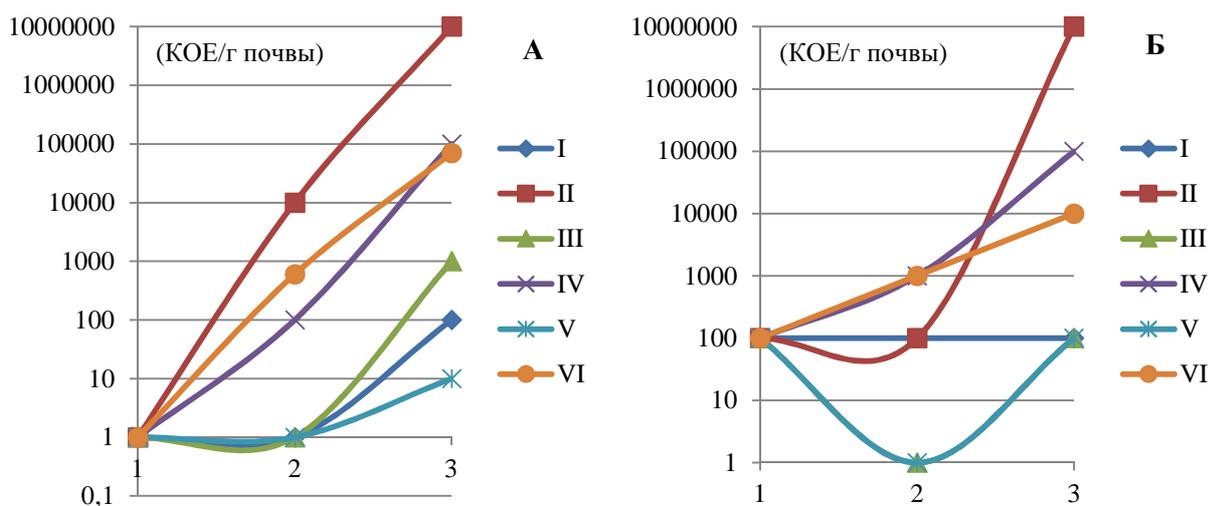


Рис. 3. А – численность *Bacillus* (КОЕ/г почвы), Б – численность *Xanthomonas* (КОЕ/г почвы) в агродерново-карбонатной почве: 1 – через 7 дней после разлива, 2 – через 35 дней после начала ремедиации, 3 – через 70 дней после начала ремедиации; I – Нефть 5 л / м², II –

Нефть 5 л / м² + «Альбит», III – Нефть 10 л / м², IV – Нефть 10 л / м² + «Альбит», V - Нефть 20 л / м², VI – Нефть 20 л / м² + «Альбит»

Применение препарата «Альбит» существенно изменило структуру и численность бактериального сообщества. Через 35 дней ремедиации на его фоне в почве отмечены все характерные для незагрязненной почвы роды бактерий; с увеличением дозы загрязнения численность КОЕ, как правило, снижалась на 1-2 порядка. Усиление токсичности нефти не сказалось на *Xanthomonas* (рис. 3Б).

Через 70 дней в нефтезагрязненной почве присутствовали все группы микроорганизмов, но их численность не превышала 10² – 10⁴ КОЕ/г почвы на вариантах без применения препарата. Под воздействием «Альбита» отмечены существенные изменения в ассоциации микроорганизмов. Численность бактерий на варианте с дозой нефти 5 л/м² возросла до 10⁵–10⁷ КОЕ/г почвы, была понижена на вариантах с дозой нефти 10 и 20 л/м², соответственно 10⁴–10⁶ и 10³–10⁵ КОЕ/г почвы.

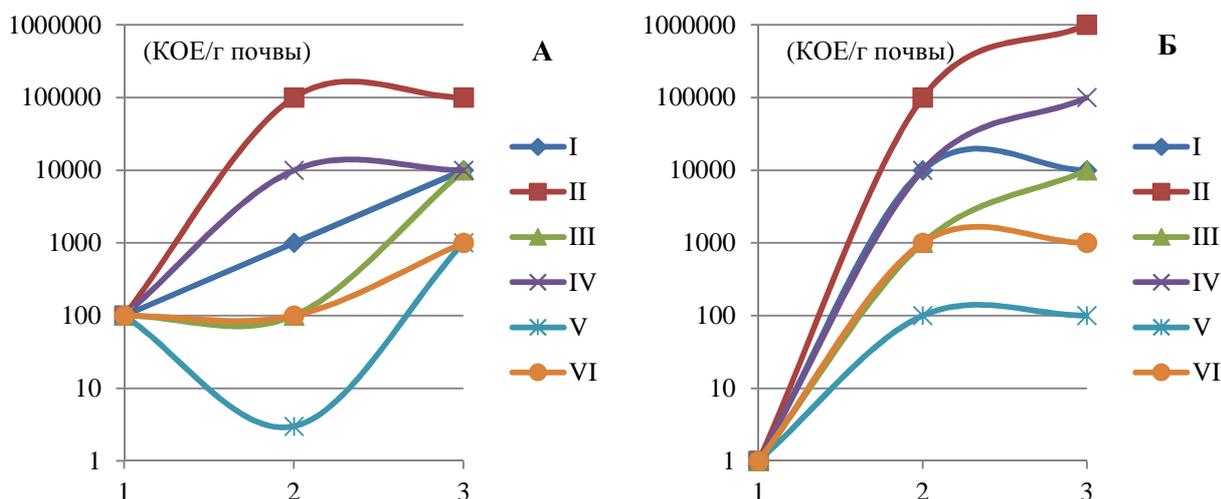


Рис. 4. А – численность *Clavibacter* КОЕ/г почвы), Б – численность *Agrobacterium* (КОЕ/г почвы) в агродерново-карбонатной почве: 1 – через 7 дней после разлива, 2 – через 35 дней после начала ремедиации, 3 – через 70 дней после начала ремедиации; I – Нефть 5 л / м², II – Нефть 5 л / м² + «Альбит», III – Нефть 10 л / м², IV – Нефть 10 л / м² + «Альбит», V – Нефть 20 л / м², VI – Нефть 20 л / м² + «Альбит»

Заключение. Опыты по ремедиации загрязненной нефтью агродерново-карбонатной почвы показали, что препарат «Альбит» активизирует аборигенную углеводородоокисляющую бактериальную флору и ускоряет процесс деструкции нефти. Ремедиация с применением биопрепарата рекомендуется для восстановления нефтезагрязненных почв, очистки почвогрунтов на территориях добычи нефти и складирования нефтепродуктов (нефтебазы, шламовые амбары и др.).

Список литературы

1. Еремченко О.З., Филькин Т.Г., Шестаков И.Е. Редкие и исчезающие почвы Пермского края. – Пермь, 2010. – С. 92.
2. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. – М.: Изд-во МГУ, – 1991. – 304 с.
3. Звягинцев Д.Г., Чернов И.Ю. Диагностические признаки различных уровней загрязнения почв нефтью // Почвоведение. – 1989. – № 1. – С. 72-78.
4. Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н. Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. – М.: МАКС пресс, 2003. – С. 120.
5. Оборин А.А., Хмурчик В.Т., Илларионов С.А. Нефтезагрязненные биогеоценозы. – Пермь, 2008. – 511 с.
6. Рафикова Г.В. Сравнительная характеристика микобиот почв разных типов при загрязнении нефтью и биорекультивации// Автореф. Дис ... канд. биол. наук. – Уфа, 2009. – 23 с.
7. Сидоров Д.Г., Борзенков И.А., Мелехина Е.И. Очистка почвы от загрязнения с использованием микробиологического препарата в условиях полевого эксперимента // Тезисы докл. 3 Межд. конф. «Освоение Севера и проблемы рекультивации». — Сыктывкар, 1996. – С. 174-175.
8. Хабибуллина Ф.М. Почвенная микобиота естественных и антропогенно нарушенных экосистем северо-востока европейской части России: Автореф. дис. докт. биол. наук. – Сыктывкар, 2009. – 40 с.
9. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П. Определитель бактерий Берджи. в 2-х томах. – М.: Мир, 1997. – 800 с.

Рецензенты:

Ростова Н.Б., д.фарм.н., профессор, ГБОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия Росздрава, г. Пермь;

Гейн В.Л., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой физико-органической химии, ГБОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия Росздрава, г. Пермь.