

*Ерофеевская Лариса Анатольевна*

научный сотрудник

Институт проблем нефти и газа СО РАН

г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

## **ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ РЕАБИЛИТАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ В УСЛОВИЯХ ХОЛОДНОГО КЛИМАТА**

*Аннотация:* в данной статье представлены результаты микробиологических исследований почв аварийных объектов нефтегазового комплекса Якутии. Автором установлено, что в процессе самовосстановления почвы недостаточно очистились от углеводородного загрязнения и находятся в экологической напряженности. Признаками деградации земель служат изреженность или отсутствие растительного покрова, фитотоксичность, изменения физико-химических свойств почвы: образование глыбистости почвенной структуры, гидрофобность, засоленность, высокие значения рН, недостаток подвижного фосфора, азота нитратов, азота аммиака, фитотоксичность.

*Ключевые слова:* нефть, микрофлора, бактерии, грибы, экологическая безопасность, нефтепродукты, деградация, микроорганизмы, экология, биопрепараты, почва, углеводородное загрязнение.

Нефтегазовая отрасль Республики Саха (Якутия) развивается в условиях легко ранимой и с трудом восстанавливаемой природной среды. Проблема восстановления нарушенных экосистем в результате аварийных разливов нефти и нефтепродуктов в регионе актуальны и связаны, главным образом, с природно-климатическими условиями. Самоочищение нарушенных экосистем здесь идет не месяцы и не годы, а многие десятки лет. Причиной этому служат наличие многолетнемерзлых почвогрунтов, низкие температуры, слабая минерализация органических веществ, короткий вегетационный период, нарушение биологической активности почв.

Одним из экологически обоснованных и наиболее эффективных методов восстановления почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами в настоящее время признан микробиологический метод, основанный на активации почвенных микроорганизмов, способных к утилизации нефтяных углеводородов. Для мерзлотных почв Якутии выбор нефтедеструкторов, эффективно работающих в климатических условиях севера, требует специальных исследований и мониторинга за процессами трансформации и биологической деструкции нефтезагрязнений.

*Цель работы:* исследовать влияние почвенного микробиоценоза на деградацию нефтезагрязнения в условиях холодного климата.

*Материалы и объекты исследований:*

- нефтезагрязненные и условно чистые почвы и грунты;
- почвенные микроорганизмы.

*Методы исследований.*

Пробы техногеннозагрязненных и фоновых почв отбирали на глубине 0–10 см, 10–20 см, в некоторых точках – 40, 60, 100 см, в соответствии с нормативными требованиями [1], исходя из того, чтобы каждый образец представлял собой часть почвы, типичной для генетических горизонтов.

Культивирование и определение нефтеокисляющей активности УОМ осуществляли методом жидких накопительных культур в мезофильном и психрофильном режимах на минеральной среде Мюнца [2, с. 1024–1030]. Посевы инкубировали в термостатированных качалочных установках «УВМТ-12–250». Рост УОМ оценивали методом предельных разведений с последующим подсчётом выросших колоний.

Натурные эксперименты по самоочищению мерзлотных почв от нефти и НП проводили в условиях открытой экосистемы в опытных участках, разбитых на аварийных площадках НГК Якутии.

Битумоиды из проб почв извлекали методом экстракции [3].

Биотестирование почвенных образцов на фитотоксичность проведено с использованием стандартной методики [4].

Исследования проведены на территориях НГК Якутии.

*Результаты и обсуждения:*

Микробиологические исследования позволили выяснить динамику развития количественного и родового состава углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) на опытных участках и их способность к деструкции нефти. Исследования показали, что общая численность почвенных микроорганизмов по мере деструкции нефтепродуктов (НП) увеличивалась на несколько порядков и составляла в начале экспериментов в среднем не менее 1 млрд кл/г АСВ.

Численность олигонитрофильных бактерий, способных расти в условиях незначительного количества связанного азота в окружающей среде, в опытных полях была ниже, чем в фоновых почвах и составляла в условно – чистых почвах не менее 3 млн кл/г АСВ, в нефтезагрязнённых почвах не более 35 тыс. кл/г АСВ. При этом, с глубиной их численность возрастала.

Гетеротрофы, использующие для своего питания готовые органические вещества, были обнаружены в большом количестве и главным образом в верхнем горизонте и лесных подстилках (рис. 1).

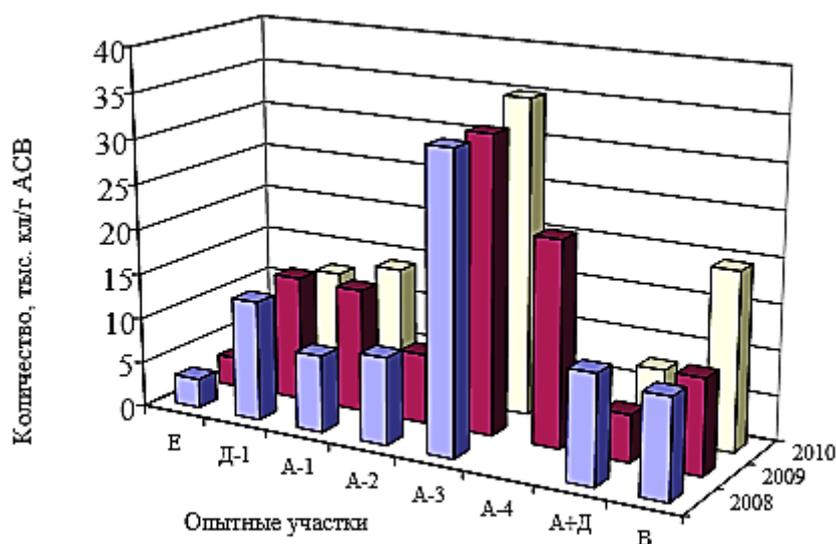


Рис. 1. Численность олигонитрофильных микроорганизмов в нефтезагрязненных почвах опытных участков

Численность УОМ в фоновых почвах практически не изменялась на протяжении всего периода наблюдений. Однако в опытных делянках с различными вариантами активации почвенной микрофлоры через неделю после внесения аборигенных УОМ наблюдалось снижение численности, как бактерий, так и грибов. Вероятно, это было связано, с адаптацией вносимых в опытные участки микробных культур, поскольку, через год количество микрофлоры увеличивалось во всех опытах и оставалось стабильным в течение всей продолжительности постановки экспериментов (рис. 2).

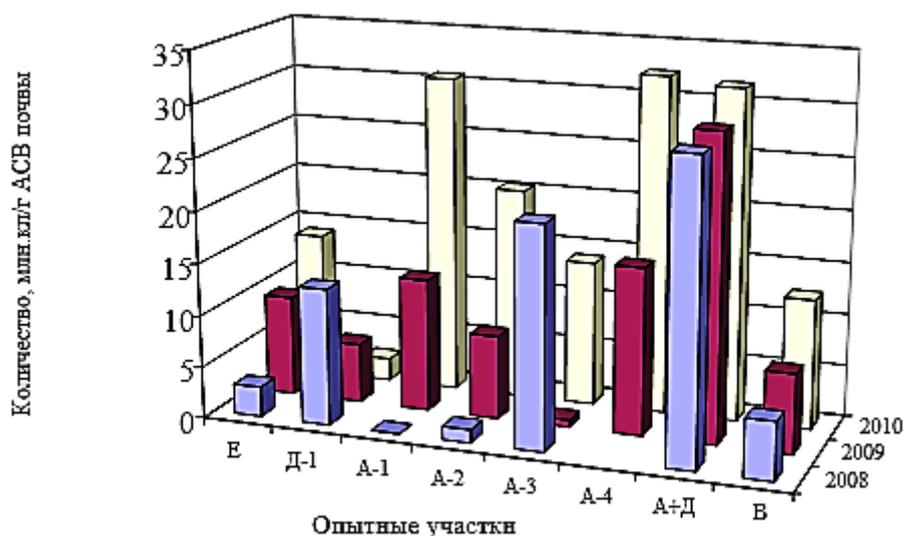


Рис. 1. Численность углеводородокисляющих микроорганизмов в нефтезагрязненных почвах опытных участков

Исследования показали, что большинство аборигенных бактерий и грибов, выделенных из нефтезагрязнённых мерзлотных почв Якутии, обладали активностью, по отношению к сырой нефти и зимнему дизельному топливу. При этом на участке, загрязнённом сырой нефтью, показатель деструкции загрязнений в течение 1 вегетационного периода соответствовал значениям 54,28 – 76,70%.

Наибольшую активность проявили неферментирующие углеводородокисляющие бактерии рода *Pseudomonas*. Деструкция дизельного топлива под действием УОМ за 1 северное лето составила 91,71%.

После приемов микробиологической очистки почв от нефтезагрязнений, в экспериментальные участки был проведён высеv растений. В качестве фитомелиорантов испытаны овёс обыкновенный (*Avena sativa*) и пырейник сибирский (*Elymus sibiricus*).

Установлено, что рост и развитие *Avena sativa* напрямую связаны с механическим составом почвы и видом загрязняющего вещества. Так, семена овса, посеянные в супесчаные почвы, загрязнённые сырой нефтью, на территории Амгинской нефтебазы, взошли практически на всех участках, однако в начале фазы колошения, остановились в своем развитии, пожелтели и засохли. Колосья не оформились. Снижение надземной массы к осени составило не менее 50–60% от контроля без внесения нефти.

Всхожесть овса в глинистой почве, загрязнённой зимним дизельным топливом, на территории ДЭС с. Чапчылган составил 0%. Полное отсутствие всходов отмечено и в болотистой почве. В то время, как в контрольной условно-чистой таёжно-торфяной почве всхожесть овса составила не менее 80%.

*Elymus sibiricus* в экспериментах был более толерантным к загрязнению нефтепродуктами, чем *Avena sativa*, и взошёл на всех опытных площадках.

При норме высева семян 20 г на 1 кв. м., всходы пырейника сибирского за 1,5 месяца составили не менее 90%. Растения росли интенсивно и к следующему сезону набирали большую биомассу, приближаясь по этому показателю к растениям, выращенным в фоновых почвах.

Исследованиями установлено, что колонизация микроорганизмами околокорневой системы *Elymus sibiricus* выше, чем у овса. Численность ризосферных микроорганизмов, в т. ч. азотфиксирующих, была выше в опытных делянках, обработанных биопрепаратами на основе монокультур бактерий рода *Pseudomonas* и *Bacillus*, в сравнении с участками, обработанными смесью бактерий и грибов. Вероятно, здесь срабатывал эффект симбиоза и бактериофагии, что требует дополнительных исследований, поскольку в почвогрунтах, не загрязнённых нефтепродуктами, количество ризосферной микрофлоры было выше, чем в контрольной почве (таб. 1).

Колонизация ризосферы *Elymus sibiricus*

Вариант опыта	Количество микроорганизмов, млн. г/АСВ	
	в почве	в ризосфере
Смесь УОМ на вермикулите	175,0	2,4
Смесь УОМ на цеолите	4,2	4,7
Смесь УОМ без сорбентов	589,1	1,8
Смесь УОМ без сорбентов	571,3	67,1
<i>Aspergillus</i>	624,7	2,9
<i>Bacillus</i>	97,8	1042,3
<i>Pseudomonas</i>	2,5	528,4
Промышленный биопрепарат «Деворойл»	2,5	21,3

Таким образом, установлено, что районированный сорт травянистого растения Пырейник сибирский (*Elymus sibiricus*) – нефтеустойчивое и быстронакапливающее вегетативную массу растение и может рассматриваться как потенциальный фиторемедиатор нефтезагрязнённых мерзлотных почв.

В результате проведенных опытов выделены бактерии, которые в определенной степени стимулируют рост растений, на нефтезагрязненной почве.

Работа в этом направлении должна быть продолжена с целью накопления фактического материала, необходимого для разработки эффективной системы биоремедиации нефтезагрязнённых мерзлотных почв в условиях Якутии с применением микробно-растительных систем.

Установлена высокая эффективность восстановительных работ при внесении УОМ и одновременном высевании районированных травянистых растений, главным образом, пырейника сибирского (*Elymus sibiricus*), который может рассматриваться как потенциальный фиторемедиатор нефтезагрязнённых мерзлотных почв.

Исследования показали, что метод биоремедиации нефтезагрязнённых мерзлотных почв с применением УОМ и одновременном высевании районированных травянистых растений в условиях Якутии является перспективным для проведения биорекультивации нефтезагрязненных мерзлотных почв на различных объектах нефтегазового комплекса.

Научная работа выполнена в рамках госбюджетного научного проекта VII.59.2.4.: «Геолого-геохимические условия и история формирования месторождений нефти и газа в Лено-Вилуйском осадочном бассейне» на 2010–2012 гг.

### *Список литературы*

1. ГОСТ 17.4.4.02–84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализов.

2. Керстен Д.К. Морфологические и культуральные свойства индикаторных микроорганизмов нефтегазовой съемки // Микробиология. – 1963. – №5. – С. 1024–1030.

3. РД 39–0147098–90. Инструкция по контролю за состоянием почв на объектах предприятий Миннефтегазпрома.

4. ГОСТ Р ИСО 22030–2009. Качество почвы. Биологические методы. Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений.