

**Удмуртская Республика
Автономное образовательное учреждение Удмуртской Республики
«Региональный образовательный центр одаренных детей»
Муниципальное автономное общеобразовательное учреждение
«Лицей № 25»**

Номинация «Ландшафтная экология и геохимия»

**ПРИМЕНЕНИЕ ВЕРМИКУЛИТА И ГУМИНОВОГО УДОБРЕНИЯ
В РЕКУЛЬТИВАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ**

Работу выполнила:
Школьникова Софья,
обучающаяся АОУ УР «РОЦОД»

Научные руководители:
Каргапольцева Ирина Анатольевна,
Пономарева Наталья Леонидовна,
педагоги дополнительного
образования АОУ УР «РОЦОД»

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. МЕТОДЫ РЕКУЛЬТИВАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ	5
ГЛАВА 2. МЕТОДИКИ И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	10
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	14
3.1. Показатели биологических свойств контрольного образца почвы	14
3.2. Влияние нефтяного загрязнения на биологические свойства почвы	14
3.3. Влияние внесения вермикулита в нефтезагрязненную почву на фитотоксичность и целлюлазную активность почвы	16
3.4. Влияние внесения гуминового удобрения в нефтезагрязненную почву на фитотоксичность и целлюлазную активность почвы	17
ВЫВОДЫ	19
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	20
ПРИЛОЖЕНИЯ	22

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время нефть и нефтепродукты признаны приоритетными загрязнителями окружающей среды. Основную техногенную нагрузку при добыче нефти испытывает почва - биологически активная среда, насыщенная большим количеством микроорганизмов (Аренс и др., 1999).

Нефтяная отрасль Удмуртии занимает одно из ведущих мест в экономике региона, пятая часть бюджета Удмуртии формируется за счет поступления денежных средств от деятельности нефтяных компаний. На долю Удмуртской Республики приходится около 2 % добытой по России нефти. На территории Удмуртской Республики нефть добывается на территории 20 из 25 административных районов (в основном на территории Игринского, Якшур-Бодьинского и Каракулинского районов). К 2000 году на территории Удмуртской Республики насчитывалось 118 месторождений нефти (Нефть Удмуртии..., 2000). Территорию республики пересекают 4 магистральных нефтепровода: Сургут - Полоцк, Холмогоры - Клин, Киенгоп - Набережные Челны, Ножовка - Мишкино - Киенгоп общей протяженностью 1182 км (Эксплуатация нефтяных и газовых скважин, 1989).

Нефтяной фонтан – самая опасная ЧС при разработке месторождений. В настоящее время в России только на месторождениях Западной Сибири прорывы нефтепроводов случаются до 300 официально регистрируемых аварий с выбросом нефти в почвогрунт и акваторию свыше 10 тыс. т в каждом случае (Молотков, 2005). Только за лето 2017 года в Удмуртии в СМИ опубликовали сообщения о 5 зафиксированных случаях разлива нефти, в т. ч. в окрестностях СНТ «Полянка» по Нылгинскому тракту. В июле 2018 года в результате порыва нефтепровода на Чутырском месторождении произошло загрязнение почвенного покрова нефтью. Поэтому исключительную актуальность приобретает проблема рекультивации нефтезагрязненных почв.

Биологические свойства почвы характеризуются наличием в них не только различных микроорганизмов, но и процессами роста растений и разложением отмерших растений (Биологические свойства почв, 2017). Таким образом, очень важным является изучение загрязнения нефтепродуктами почвы на целлюлазную активность почвы, которая обуславливается жизнедеятельностью микроорганизмов по разложению целлюлозы, и на фитотоксичность почвы, которая отражает влияние загрязнения почвы на прорастание и рост растений.

В литературных данных были найдены факты применения вермикулита и гуминового удобрения в улучшении агрохимических свойств почвы и каталазной активности (Иванова и др., 2006; Желтобрюхов, 2013; Желтобрюхов, Колодницкая, 2015). Работ по влиянию вермикулита и гуминового удобрения на улучшения целлюлазной активности почвы и фитотоксичности почвы не найдено.

Цель: изучить возможность применения вермикулита и гуминового удобрения в рекультивации нефтезагрязненных почв

Задачи:

1. Оценить целлюлазную активность почвы и фитотоксичность в контрольном (незагрязненном) образце почвы.
2. Оценить влияние загрязнения почвы нефтяной водной эмульсией на изменение целлюлазной активности почвы и её фитотоксичность.
3. Определить влияние внесения вермикулита на изменение целлюлазной активности нефтезагрязненной почвы и её фитотоксичность.

4. Оценить влияние внесения гуминового удобрения на изменение целлюлазной активности нефтезагрязненной почвы и её фитотоксичность.

Гипотеза: при нефтяном загрязнении почвы биологические свойства почвы ухудшаются, внесение вермикулита и гуминового удобрения позволит улучшить свойства почвы.

Объект исследования: нефтезагрязненные и не загрязненные (контрольные) образцы почвы.

Предмет исследования: эффективность использование вермикулита и гуминового удобрения для рекультивации нефтезагрязненных почв.



Рис. 1. План исследования

ГЛАВА 1. МЕТОДЫ РЕКУЛЬТИВАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

Естественное самоочищение природных объектов от нефтяного загрязнения – длительный процесс. В связи с этим, разработка способов очистки почвы от загрязнения углеводородами нефти – одна из важнейших задач при решении проблемы снижения антропогенного воздействия на окружающую среду.

Рекультивация земель – это комплекс мероприятий, направленных на восстановление продуктивности и хозяйственной ценности нарушенных и загрязненных земель. Задача рекультивации – снизить содержание нефтепродуктов и находящихся с ними других токсичных веществ до безопасного уровня, восстановить продуктивность земель, утерянную в результате загрязнения (Реймерс, 1990). В настоящее время разработан ряд методов ликвидации нефтяных загрязнений почвы, включающие механические, физико-химические, биологические методы (табл. 1, приложение 1).

Физико-химические методы. До недавнего времени наиболее распространенным и дешевым методом ликвидации нефтяного загрязнения было простое сжигание. Этот способ неэффективен и вреден по двум причинам: 1) сжигание возможно, если нефть лежит на поверхности густым слоем или собрана в накопители, пропитанные ею почва или грунт гореть не будут; 2) на месте сожженных нефтепродуктов продуктивность почв, как правило, не восстанавливается, а среди продуктов сгорания, остающихся на месте или рассеянных в окружающей среде, появляется много токсичных, в частности канцерогенных веществ (Гриценко, Аكوпова, 1997).

Очистка почв и грунтов в специальных установках путем пиролиза или экстракции паром дорогостояща и малоэффективна для больших объемов грунта. Требуются большие земляные работы, в результате чего нарушается естественный ландшафт, а после термической обработки в очищенной почве могут остаться новообразованные полициклические ароматические углеводороды – источник канцерогенной опасности (Пиковский, 1993).

Землевание замедляет процессы разложения нефтяных углеводородов, приводит к образованию внутрипочвенных потоков нефти, пластовой жидкости и загрязнению грунтовых вод. Складирование загрязненной почвы создает очаги вторичного загрязнения.

Качественное удаление нефтяных загрязнителей при высоких уровнях загрязнения зачастую не обходится без применения различного рода сорбентов. Среди возможного сырья для производства сорбентов наиболее привлекательными являются естественное органическое сырье и отходы производства растительного происхождения. К такому сырью относятся торф, сапропели, отходы переработки сельскохозяйственных культур и др.

На базе такого сырья разработаны, например, такие сорбенты, как «Сорбест», «РС», «Лессорб» и др. (Колесниченко, 2004).

Существует технология очистки почв путем промывания их поверхностно-активными веществами (ПАВ). Этим способом можно удалить до 86% нефти и нефтепродуктов. Применять его в широких масштабах вряд ли целесообразно, так как ПАВ сами загрязняют среду и рожают проблему их сбора и утилизации (Пиковский, 1993).

Биологические методы. Существующие механические, термические и физико-химические методы очистки почв от нефтяных загрязнений дорогостоящи и эффективны только при определенном уровне загрязнения (как правило, не менее 1% нефти в почве), часто связаны с дополнительным внесением загрязнения и не обеспечивают полноты очистки. В настоящее время наиболее перспективным методом для очистки нефтезагрязненных почв, как в экономическом, так и в экологическом плане является биотехнологический подход, основанный на использовании различных групп микроорганизмов, отличающихся повышенной способностью к биодеградации компонентов нефти и нефтепро-

дуктов (Логинов и др., 2000). Способность утилизировать трудноразлагаемые вещества антропогенного происхождения (ксенобиотики) обнаружена у многих организмов. Это свойство обеспечивается наличием у микроорганизмов специфических ферментных систем, осуществляющих катаболизм таких соединений. Поскольку микроорганизмы имеют сравнительно высокий потенциал разрушения ксенобиотиков, проявляют способность к быстрой метаболической перестройке и обмену генетическим материалом, им придается большое значение при разработке путей биоремедиации загрязненных объектов.

Под термином «биоремедиация» принято понимать применение технологий и устройств, предназначенных для биологической очистке почв, т.е. для удаления из почвы уже находящихся в ней загрязнителей (Биология. Большой энциклопедический..., 1999). Биоремедиация включает в себя два основных подхода:

1. биостимуляция – активизация деградирующей способности аборигенной микрофлоры внесением биогенных элементов, кислорода, различных субстратов;
2. биодополнение – интродукция природных и генноинженерных штаммов-деструкторов чужеродных соединений.

Биостимуляция *in situ* (биостимуляция в месте загрязнения). Этот подход основан на стимулировании роста природных микроорганизмов, обитающих в загрязненной почве и потенциально способных утилизировать загрязнитель, но не способных делать это эффективно из-за недостатка основных биогенных элементов (соединений азота, фосфора, калия и др.) или неблагоприятных физико-химических условий. В этом случае в ходе лабораторных испытаний с использованием образцов загрязненной почвы устанавливают, какие именно компоненты и в каких количествах следует внести в загрязненный объект, чтобы стимулировать рост микроорганизмов, способных утилизировать загрязнитель (Логинов и др., 2000).

Биостимуляция *in vitro*. Отличие этого подхода в том, что биостимуляция образцов естественной микрофлоры загрязненной почвы проводится сначала в лабораторных или промышленных условиях (в биореакторах или ферментерах). При этом обеспечивается преимущественный и избирательный рост тех микроорганизмов, которые способны наиболее эффективно утилизировать данный загрязнитель. «Активизированную» микрофлору вносят в загрязненный объект одновременно с необходимыми добавками, повышающими эффективность утилизации загрязнителя (Логинов и др., 2000).

Существующие два пути интенсификации биодеградации ксенобиотиков в окружающей среде – стимуляция естественной микрофлоры и интродукция активных штаммов, не только не противостоят, но и дополняют друг – друга (Коронелли, 1996).

Биореккультивация нефтезагрязненных почв – это многостадийный биотехнологический процесс, включающий физико-химические методы детоксикации загрязнителя, применение органических и минеральных добавок, использование биопрепаратов (Бельков, 1995).

Основными факторами, влияющими на ход биоразрушения органических загрязнителей, являются их химическая природа (которая обуславливает возможные пути биотрансформации), концентрация и взаимодействие с другими загрязнителями (на уровне их непосредственного взаимодействия или взаимного влияния на трансформацию).

К неблагоприятным физико-химическим условиям, лимитирующим деградацию микроорганизмами ксенобиотиков в окружающей среде, можно отнести низкую или чрезмерную влажность почвы, недостаточное содержание кислорода, неблагоприятную температуру и pH, низкую концентрацию или доступность ксенобиотиков, наличие альтернативных, более предпочтительных субстратов и т.д.. Среди биологических факторов

отмечены поедание интродуцируемых микроорганизмов простейшими, обмен генетической информацией в популяции, физиологическое состояние и плотность интродуцируемой микробной популяции. Некоторые из перечисленных проблем могут быть решены путем создания генетически сконструированных штаммов-деструкторов и их консорциумов, усовершенствования методов интродукции, оптимизации условий существования природных микробных популяций.

Таким образом, интродукция микроорганизмов приводит к положительным результатам только при создании соответствующих условий для развития внесенной популяции, для чего необходимо знать физиологические особенности интродуцента, а также учитывать складывающиеся микробные взаимодействия.

Способность усваивать углеводороды нефти присуща микроорганизмам, представленным различными систематическими группами. К ним относятся различные виды микромицетов, дрожжей и бактерий. Наиболее активные деструкторы нефти встречаются среди бактерий. Они характеризуются способностью к усвоению широкого спектра углеводов, включая и ароматические, обладают высокой скоростью роста и, следовательно, представляют большой практический интерес.

Углеводородокисляющая группа микроорганизмов природного происхождения таксономически очень разнообразна. Наиболее активные 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*. Из дрожжей выделяют род *Candida* и *Torulopsis* (Сидоров и др., 1997).

Постоянными и доминирующими компонентами естественных биоценозов нефтяных загрязнений являются родококки, их основная экологическая функция – аккумуляция газообразных n-алканов, жидких углеводородов нефти и трансформация их в биомассу. Бактерии этого рода отличаются высокой жизнестойкостью при действии неблагоприятных факторов – низкой температуры, солнечного ультрафиолета, длительного отсутствия питательных веществ. Естественная нефтеокисляющая микрофлора нефтезагрязненной тундровой почвы представлена главным образом бактериями *R. erythropolis*. В связи с этим понятен интерес к родококкам – деструкторам нефти (Коронелли, 1996).

Т. В. Коронелли с соавт. (1996) с целью выбора штамма, сохраняющего в наибольшей степени углеводородокисляющую активность при низких температурах, провели скрининг всей коллекции углеводородокисляющих бактерий (роды *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*) в агаризованной среде с парафином при температуре плюс 6°C. Отобранные таким образом 17 штаммов выращивали в жидкой среде с нефтью при плюс 8°C. Через 14 суток определяли концентрацию нефтяных углеводородов методом ИК-спектроскопии. Оказалось, что 12 штаммов использовали от 13 до 36% внесенной нефти, два штамма – 5-6%, а три были неэффективными. Все 12 штаммов являлись представителями рода *Rhodococcus*: 11 принадлежали к виду *R. erythropolis*; один – к виду *R. maris*.

Немалый интерес представляют спорообразующие бактерии, так как они наиболее устойчивы к различным неблагоприятным воздействиям окружающей среды.

В настоящее время активно ведётся поиск микроорганизмов, разрушающих нефть, в особенности при низких температурах. Активные формы микроорганизмов выделяются из разнообразных водных и почвенных экосистем, особенно загрязнённых углеводородами или нефтью, а также из микрофлоры нефти и пластовых вод нефтяных месторождений.

Выбор активного микроорганизма-деструктора углеводородных загрязнений должен производиться с учетом ряда требований. При поиске микроорганизма-деструктора необходимо учитывать, что вносимая в почву микробная биомасса не должна быть чужеродной для почвенной микрофлоры. Еще одним важным требованием к вносимым в почву микроорганизмам является их непатогенность. В связи с тем, что технология микробиологической очистки загрязненных почв предусматривает аэробные условия, необходимо вести выбор микроорганизма-деструктора среди аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Микробные клетки могут подвергаться воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, следовательно, микроорганизм-деструктор должен обладать высокой жизнестойкостью.

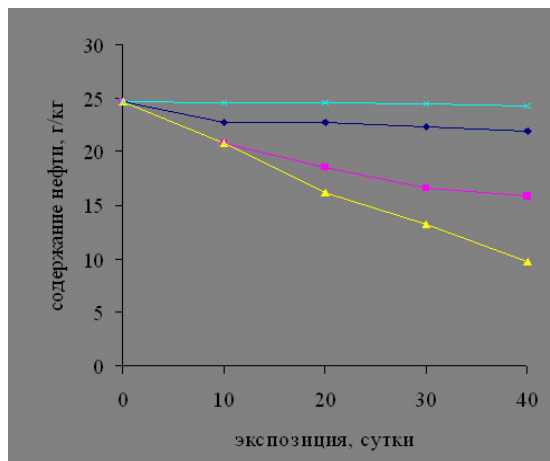
В настоящее время предложено большое количество различных коммерческих микробиологических препаратов как отечественного, так и импортного производства. Ряд из них нашел широкое применение на практике (Деворойл, Дестройл, Путидойл и т.п.)

Институтом Микробиологии АН России совместно с Научно – производственным предприятием «Биотехинвест» разработан микробиологический препарат «Деворойл». Препарат предназначен для биodeградации нефти и нефтепродуктов при загрязнении почв, водоемов, поверхностей акваторий, а также внутренних поверхностей танков нефтеналивных судов и прочих резервуаров.

Микробиологический препарат «Деворойл» состоит из тщательно подобранного сообщества δ гледородооксиляющих бактерий и дрожжей. В состав ассоциации входят вегетативные клетки непатогенных штаммов культур родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas* и *Yarovvia*. Бактерии способны окислять нефтяные *n*-алканы длиной цепи $C_9 - C_{30}$ и ароматические углеводороды. Удачно подобранная ассоциация микроорганизмов дает препарату множество принципиальных преимуществ.

Также для ликвидации нефтяных загрязнений почвы используется препарат «Дестройл». Коммерческий препарат, выпускаемый Бердским заводом биологических препаратов, полученный на основе выделенной из природы микробной культуры *Acinetobacter sp.* Обладает высоковыраженной активностью в отношении углеводородов нефти и нефтепродуктов, вызывая в них глубокие необратимые процессы деградации до остаточных продуктов, относящихся к экологически нейтральным соединениям.

Ученые Иркутского Государственного Университета (Стом, Матвеева и др., 2006) проводили исследования. В лабораторных условиях изучали влияние дождевых червей и нефтеразрушающего микробиологического препарата, а также их бинарной смеси на образцы нефтезагрязненной почвы (рис.1). При использовании такого подхода предполагалось увеличение скорости и степени биотрансформации нефтепродуктов, восстановление структуры почвы, устранение необходимости дополнительной аэрации и повторного внесения препарата. Источником микроорганизмов в их опыте служил микробиологический препарат «Дестройл», рекомендованный для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов. В качестве дождевых червей использовали красный калифорнийский гибрид дождевого червя *Eisenia foetida*. В работе использовали дерново-подзолистую почву, в которую добавляли нефть Марковского месторождения Иркутской области (из расчета 25 г нефти на 1 кг почвы). Варианты опыта: 1 – вносили микробиологический препарат «Дестройл» (0,5 г на 100 г нефтезагрязненной почвы), 2 – помещали дождевых червей (5 особей по 60-70 см), 3 – добавляли «Дестройл» совместно с дождевыми червями. Контролем служила нефтезагрязненная почва, в которую не добавляли ни червей, ни «Дестройл» (рис.1).



– дождевые черви –■– микробиологический препарат
 микробиологический препарат и дождевые черви контроль

Рис. 2. Влияние различных биодеструкторов на содержание нефти в почве

Согласно рис. 2 добавление в почву червей, а еще в большей степени микробиологического препарата существенно активизировало процессы элиминирования нефти в исследуемых образцах. По мере увеличения продолжительности экспериментов наблюдали все более значительное снижение содержания нефти при совместном действии красного калифорнийского гибрида и препарата «Дестройл» по сравнению с действием биодеструкторов порознь. В вариантах с добавлением червей отмечалось повышение структурированности почвы, ее скважности. Это, без сомнения, должно повышать аэрацию и улучшать водный режим почвы (Орлов, 1978), тем самым, способствуя физико-химическим и микробиологическим процессам разрушения нефти.

Одним из этапов рекультивации нефтезагрязненных почв является фиторемедиация. Так, посев на нефтезагрязненную почву люцерны и других бобовых культур, трав с разветвленной корневой системой способствует ускорению разложения углеводородов (Алиев и др., 1977). Положительное воздействие посевов сельскохозяйственных растений, и в частности многолетних трав, объясняется тем, что своей развитой корневой системой они способствуют улучшению газовой воздушного режима загрязненной почвы, обогащают почву азотом и биологически активными соединениями, выделяемыми корневой системой в почву в процессе жизнедеятельности растений. Все это стимулирует рост микроорганизмов и соответственно интенсифицирует разложение нефти и нефтепродуктов.

ГЛАВА 2. МЕТОДИКИ И МАТЕРИАЛЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проводился в 2019 г. в лаборатории экологии и природопользования УдГУ. Почва для опыта была отобрана в смешанном лесу рядом с садогородами д. Хохряки Завьяловского района Удмуртии. Согласно литературным данным, почвы относятся к среднедерново-подзолистым (Ковриго, 2000). Отбор проб почвы проводился в соответствии с (ГОСТ 17.4.3.01-83, ГОСТ 17.4.4.02-84, СанПиН 2.1.7.1287-03) с глубины 0-0,3 м методом «конверта» (рис. 3). Отобранные образцы почвы транспортировались в одноразовых контейнерах.

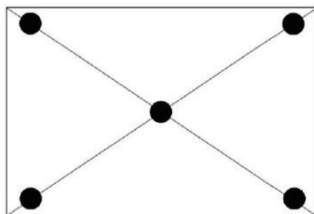


Рис. 3. Отбор смешанной пробы для эксперимента методом конверта

Для загрязнения была выбрана сырая товарная нефть, добытая на территории Удмуртской Республики на Мишкинском месторождении нефти.

Постановка эксперимента. Почву просушивали, тщательно очищали от корней и других растительных остатков, прочих включений. Высушенные пробы растирали и просеивали через сито с диаметром отверстий 2 мм. Далее отбирались навески по 100 г. и помещались в лабораторную ёмкость (Рылова, 2007) (рис. 4).



Рис. 4. Постановка эксперимента

Всего было проведено 4 серий эксперимента, один из которых контроль, в 3-х кратной повторности.

Гуминовое удобрение и вермикулит добавлялись в нефтезагрязненную почву в целях разработки рекомендаций по снижению экологического риска и разработки методов рекультивации нефтезагрязненных почв.

Вещества вносили в следующих концентрациях: нефть – 4 мл/100г почвы, вермикулит 3 г размером меньше 3 мм и больше 2 мм, гумусовое удобрение: 0,05% раствор удобрения гумми-30 вносили в объеме 10 мл/100 г почвы (рис. 5).

Схема опыта приводится на рис. 6.



Рис. 5. Добавление вермикулита и нефти в почву

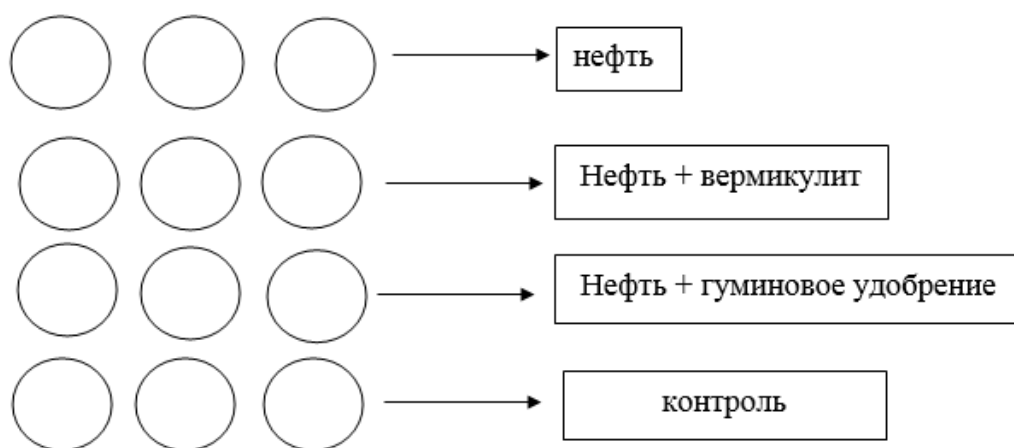


Рис. 6. Схема опыта

Оценка состояния почвы по целлюлазной активности

Целлюлоза один из самых распространенных в природе растительных полимеров. Почва содержит значительное количество целлюлозосодержащих растительных субстратов. Целлюлазный комплекс почвы осуществляет гидролиз целлюлозы до глюкозы в несколько этапов. Трансформация клетчатки в почве имеет большое значение и тесно связана с процессами гумусообразования, возникновением почвенной структуры.

Разложение клетчатки осуществляется целлюлозоразрушающими микроорганизмами и связано с условиями их нормального функционирования. Жизнедеятельность микроорганизмов в почве осуществляется в основном на почвенных частицах, в определенных микроразонах, в которых представлены клетки, ресурсы и микробные метаболиты (Гельцер, 1990).

Определение интенсивности разложения целлюлозы проводилось следующим образом: некрашеную льняную ткань диаметром примерно 5 см взвесили на весах с точностью до 1 мг и определили ее начальный вес (рис. 7-8). Полученные значения записывались в лабораторный журнал (M1) (рис. 8). В почву раскладывали почвенные пробы одинаковой массой. Ткань закапывалась на глубину 1 см (рис. 9). Ткань оставлялась в почве на 1 месяц. Почву поливали дистиллированной водой по мере ее высыхания. Через месяц полностью осторожно извлекли, отмыли от почвы, высушили и взвесили.



Рис. 7. Приготовление льняной ткани



Рис. 8. Взвешивание льняной ткани



Рис. 9. Закладка льняной ткани в почву

Полученные значения записывались в лабораторный журнал (M2). Рассчитывали убыль массы ткани за месяц в процентах и по этому показателю судили об интенсивности процесса разрушения клетчатки, используя оценочную шкалу в таблице 2, приложение 2 (Экологическое почвоведение, 2002). Опыт одновременно повторили в 3-х повторностях в одинаковых условиях.

Оценка фитотоксичности почвы

Фитотоксичность почвы оценивалась при помощи кресс-салата (рис. 10). В каждую пробу с почвой высевалось по 30 семян кресс-салата (рис. 11). Нормой считается прорастание 90-95 % семян в течение 3-4 суток.



Рис. 10. Семена тест-объекта (кресс-салата)

В зависимости от результатов опыта субстратам присваивают один из четырех уровней загрязнения:

1. *Загрязнение отсутствует.* Всхожесть семян достигает 90-100%, сходь дружные, проростки крепкие, ровные. Эти признаки характерны для контроля, с которым следует сравнивать опытные образцы.
2. *Слабое загрязнение.* Всхожесть 60-90%. Проростки почти нормальной длины, крепкие, ровные.
3. *Среднее загрязнение.* Всхожесть 20-60%. Проростки по сравнению с контролем короче и тоньше. Некоторые проростки имеют уродства.

4. *Сильное загрязнение.* Всхожесть семян очень слабая (менее 20%). Проростки мелкие и уродливые (Ашихмина, Зубкина, 2000).



Рис. 11. Посадка семян тест-объекта (кресс-салата)

При проведении опыта производилось измерение энергии прорастания и всхожесть семян кресс-салата, а также длины корня и стебля кресс-салата, биомассы тест-объектов (рис. 12-13).



Рис. 12. Проростки тест-объекта (кресс-салата)



Рис. 13. Измерение длины и биомассы проростков

Данные по измерению параметров тест-объекта представлены в таблице 3, приложение 2.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Показатели биологических свойств контрольного образца почвы

Средняя энергия прорастания семян кресс-салата в контрольной (незагрязненной) почве – 25% (табл. 4, рис. 14).

Под энергией прорастания подразумевается способность семян к дружному прорастанию, определяемая процентом нормально проросших за определенное время (меньше, чем при определении всхожести) семян. Семена с низкой энергией имеют длительный период прорастания, а за это время может измениться и температурный режим, и режим влажности. Исходя из этого, при выборе семян для посева предпочтение отдается семенам

с высокой энергией прорастания, потому что они обеспечивают оптимальную густоту стояния посевов (Алексеев, 2008).

Контрольный (незагрязненный) образец почвы характеризуется средней фитотоксичностью. Средняя всхожесть семян тест-объекта (кресс-салата) в контроле – 46 % (табл. 4, рис. 15).

Всхожестью семян называется количество нормально проросших семян в пробе, взятой для анализа, выраженной в процентах. Определяют лабораторную всхожесть семян, представляющую процент всхожих семян к общему числу по данной пробе, определенный при проращивании в лабораторных исследованиях; оранжерейную всхожесть, характеризующую всхожесть семян при посеве их в почву, взятую с поля, в условиях лаборатории или защищенного грунта; полевую всхожесть - процент всхожих семян в пробе, определенный в полевых условиях (Алексеев, 2008).

Средняя длина корня кресс-салата в контрольном образце почвы – 3,4 см, стебля – 3,9 см, средняя биомасса кресс-салата – 43,2 мг (табл. 4, рис. 16-18).

Таблица 4.

Показатели кресс-салата, выращенного в контрольном образце почвы

Средняя энергия прорастания (%)	Средняя всхожесть (%)	Средняя длина корня (см)	Средняя длина стебля (см)	Средняя биомасса проростков (мг)
25	46	3,4	3,9	43,2

Средняя целлюлазная активность контрольного образца почвы – 78,6 % (табл. 5). Контрольный образец почвы отличается высокой целлюлазной активностью (приложение 2, табл. 2).

Таблица 5.

Показатели целлюлазной активности контрольного образца почвы (%)

1 повторность контроля	2 повторность контроля	3 повторность контроля	Среднее
78	82	76	78,6

3.2. Влияние нефтяного загрязнения на биологические свойства почвы

Средняя энергия прорастания семян кресс-салата в нефтезагрязненной почве – 11% (рис. 14, табл. 6), что в 2,2 раза меньше по сравнению с контрольным образцом.

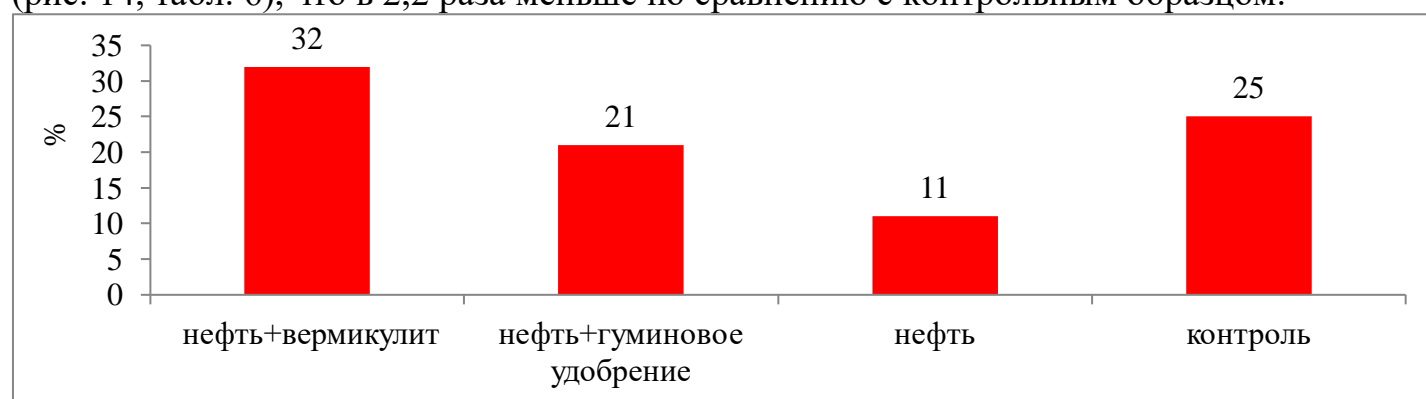


Рис. 14. Средняя энергия прорастания семян кресс-салата (%)

Таблица 6.

Показатели кресс-салата, выращенного в нефтезагрязненной почве

Средняя энергия прорастания (%)	Средняя всхожесть (%)	Средняя длина корня (см)	Средняя длина стебля (см)	Средняя биомасса проростков (мг)
11	25	3,12	3,36	31,8

Нефтезагрязненная почва характеризуется средней фитотоксичностью. Средняя всхожесть семян тест-объекта в нефтезагрязненной почве – 25 % (табл. 6, рис. 15), что в

1,84 раза меньше по сравнению с контрольным образцом. Проростки имеют уродства, искривлены, листья кресс-салата желтеют.

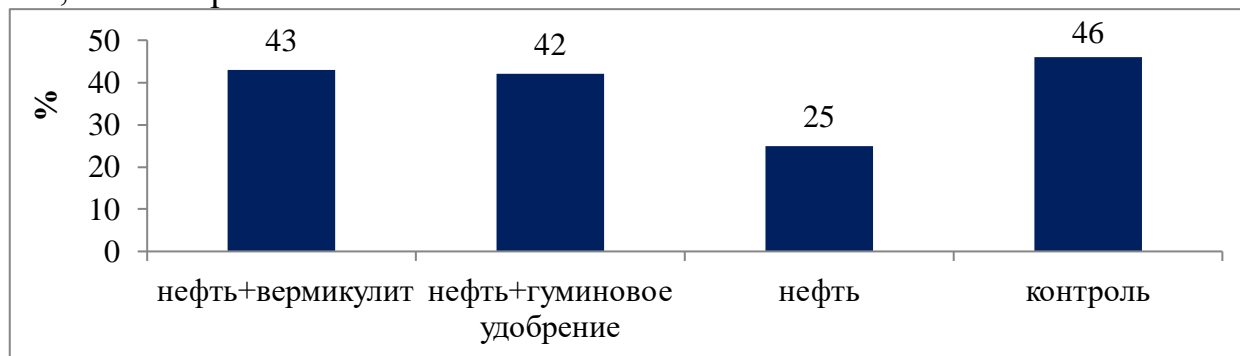


Рис. 15. Средняя всхожесть семян кресс-салата (%)

Средняя длина корня кресс-салата в нефтезагрязненной почве – 3,12 см (рис. 16), это в 1,08 раз ниже средней длины корня в контроле. Средняя длина стебля – 3,36 см (рис. 17), что в 1,16 раз ниже средней длины стебля кресс-салата в контроле.



Рис. 16. Средняя длина корня кресс-салата (см)

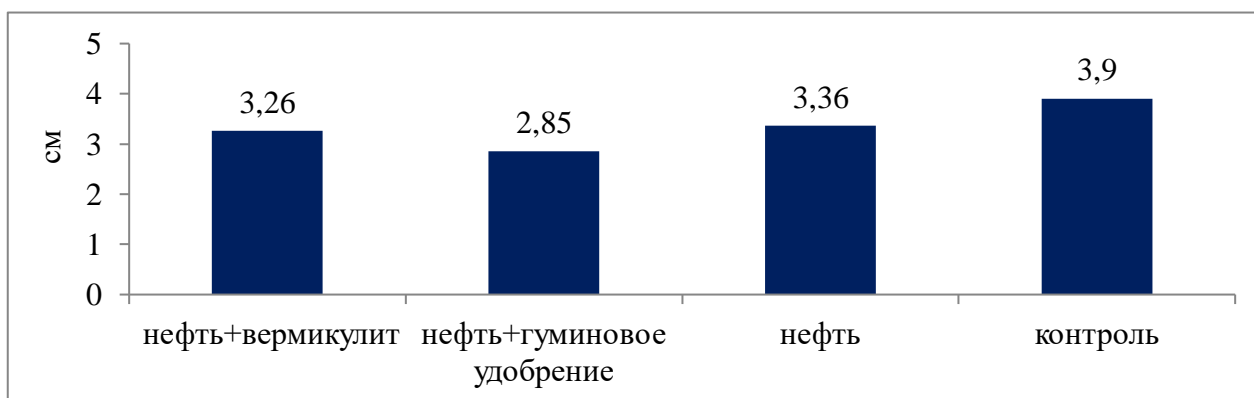


Рис. 17. Средняя длина стебля (см)

Средняя биомасса кресс-салата в нефтезагрязненной почве – 31,8 мг, что в 1,3 раза меньше по сравнению со средней биомассой тест-объекта в незагрязненной почве (табл. 6, рис. 18).

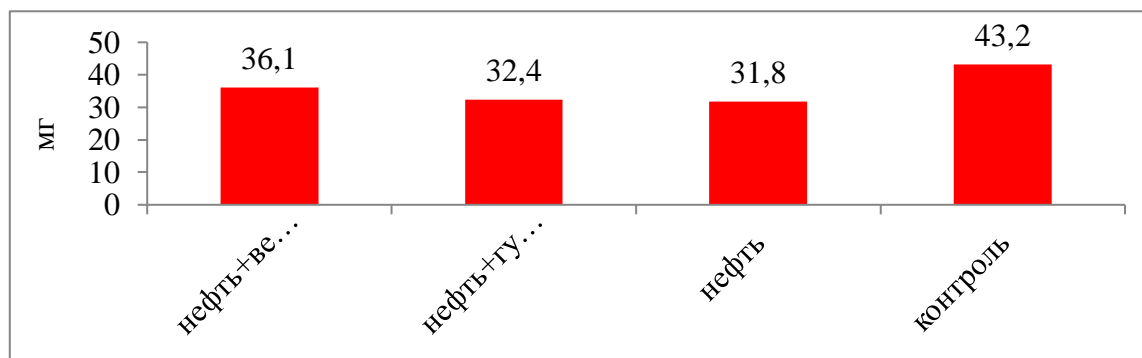


Рис. 18. Средняя биомасса кресс-салата (мг)

Средняя целлюлазная активность нефтезагрязненной почвы – 45 % (табл. 7), что в 1,74 раз меньше по сравнению с контролем. Нефтезагрязненная почва характеризуется средней целлюлазной активностью (приложение 2, табл. 2). Таким образом, при загрязнении почвы нефтью целлюлазная активность почвы снижается.

Таблица 7.

Показатели целлюлазной активности нефтезагрязненной почвы (%)

1 повторность контроля	2 повторность контроля	3 повторность контроля	Среднее
48	41	46	45

3.3. Влияние внесения вермикулита в нефтезагрязненную почву на фитотоксичность и целлюлазную активность почвы

Для разработки рекомендаций по снижению экологического риска мы решили оценить возможность применения вермикулита и гуминового удобрения в рекультивации нефтезагрязненных почв.

Вермикулит представляет собой минеральный компонент, который относится к группе гидрослюдов. Он образуется в земной коре и поэтому его смело можно отнести к органическому и экологически чистому веществу. Вермикулит, который нашёл себя в сфере растениеводства, после его добычи предварительно обрабатывается под воздействием высоких температур. Такая обработка позволяет его подсушить и сделать сыпучим с чешуйчатой структурой. Для выращивания растений этот компонент подходит из-за большого количества природных элементов роста. К ним можно отнести: магний, окиси кальция, калий, железо, кремний, алюминий. Поверхность вермикулита имеет чешуйчатую структуру, которая позволяет сохранять большое количество воздуха необходимого для жизни растений. Субстрат помогает повысить показатели аэрации в почве. Точнее говоря, грунт перестаёт слёживаться и покрываться твёрдой коркой, которую нужно прокапывать, что значительно повышает проницаемость влаги. В сфере растениеводства также может использоваться и вспененный вермикулит, положительно влияющий на корневую систему (Вермикулит для растений..., 2019).

Главные свойства субстрата – это свойства поглощать и отдавать влагу, когда это нужно корневой системе. Благоприятные условия, постоянная подача влаги и воздуха способствует быстрому росту растений и их приживаемости на новом месте. Коэффициент поглощения влаги вермикулитом достигает почти 400 мл воды на 100 г материала. Такие свойства позволяют выращивать растения и с помощью гидропоники.

Основные свойства вермикулита:

- высокая влагопоглотительная способность;
- низкая гигроскопичность;

- не разлагается, имеет низкий уровень стираемости;
- предотвращает развитие процессов гниения;
- повышенные теплоизоляционные свойства;
- химическая инертность;
- способность выступать разрыхлителем почвы;
- воздухопроницаемость (Вермикулит для растений..., 2019).

При внесении вермикулита в нефтезагрязненную почву средняя энергия прорастания семян кресс-салата составляет 32 % (рис. 14, табл. 8), что в 2,9 раза выше по сравнению с нефтезагрязненным образцом почвы и в 1,28 раз выше контроля.

Таблица 8.

Показатели кресс-салата, выращенного в нефтезагрязненной почве с добавлением вермикулита

Средняя энергия прорастания (%)	Средняя всхожесть (%)	Средняя длина корня (см)	Средняя длина стебля (см)	Средняя биомасса проростков (мг)
32	43	2,13	3,26	36,1

При внесении вермикулита в нефтезагрязненную почву средняя всхожесть семян тест-объекта составляет 43 % (табл. 8, рис. 15), что в 1,72 раза выше по сравнению с нефтезагрязненным образцом и в 1,06 раза ниже по сравнению с контролем.

Средняя длина корня кресс-салата в нефтезагрязненной почве с внесением вермикулита – 2,13 см, это в 1,46 раз ниже средней длины корня в нефтезагрязненном образце и в 1,59 раз ниже контроля (табл. 8, рис. 16).

Средняя длина стебля в нефтезагрязненной почве с внесением вермикулита составляет 3,26 см, что чуть ниже средней длины стебля кресс-салата в нефтезагрязненном образце и в 1,19 раз ниже, чем в контроле (табл. 8, рис. 17).

Средняя биомасса кресс-салата в нефтезагрязненной почве с внесением вермикулита составляет 36,1 мг, что в 1,1 раз выше по сравнению со средней биомассой тест-объекта в нефтезагрязненной почве (табл. 8, рис. 18) и в 1,19 раз ниже по сравнению со средней биомассой в контрольном образце.

Средняя целлюлазная активность нефтезагрязненной почвы с внесением вермикулита – 51,3 % (табл. 9), что выше по сравнению с нефтезагрязненной почвой без внесения вермикулита. Почва характеризуется средней целлюлазной активностью (приложение 2, табл. 2). Таким образом, при внесении вермикулита в нефтезагрязненную почву ее целлюлазная активность повышается по сравнению с нефтезагрязненной почвой.

Таблица 9.

Показатели целлюлазной активности в нефтезагрязненной почве с добавлением вермикулита, %

1 повторность контроля	2 повторность контроля	3 повторность контроля	Среднее
52	48	54	51,3

3.4. Влияние внесения гуминового удобрения в нефтезагрязненную почву на фитотоксичность и целлюлазную активность почвы

При внесении гуминового удобрения в нефтезагрязненную почву средняя энергия прорастания семян кресс-салата составляет 21 % (рис. 14, табл. 10), что почти в 2 раза выше по сравнению с нефтезагрязненным образцом почвы и в 1,19 раз ниже контроля.

Таблица 10.

Показатели кресс-салата, выращенного в нефтезагрязненной почве с добавлением гуминового удобрения

Средняя энергия прорастания (%)	Средняя всхожесть (%)	Средняя длина корня (см)	Средняя длина стебля (см)	Средняя биомасса проростков (мг)
21	42	3,28	2,85	32,4

При внесении гуминового удобрения в нефтезагрязненную почву средняя всхожесть семян тест-объекта составляет 42 % (табл. 10, рис. 15), что почти в 2 раза выше по сравнению с нефтезагрязненным образцом и немного ниже по сравнению с контролем.

Средняя длина корня кресс-салата в нефтезагрязненной почве с внесением гуминового удобрения – 3,28 см, это на 0,16 см меньше средней длины корня в нефтезагрязненном образце и на 0,12 меньше средней длины корня в контроле (табл. 10, рис. 16).

Средняя длина стебля в нефтезагрязненной почве с внесением гуминового удобрения составляет 2,85 см, что в 1,17 раз ниже средней длины стебля кресс-салата в нефтезагрязненном образце и в 1,36 раз ниже, чем в контроле (табл. 10, рис. 17).

Средняя биомасса кресс-салата в нефтезагрязненной почве с внесением гуминового удобрения составляет 32,4 мг, что на 0,6 мг больше по сравнению со средней биомассой тест-объекта в нефтезагрязненной почве (табл. 10, рис. 18) и на 4,8 мг больше по сравнению со средней биомассой кресс-салата в контрольном образце почвы.

Средняя целлюлазная активность нефтезагрязненной почвы с внесением гуминового удобрения – 55,6 % (табл. 11, рис. 19), что выше по сравнению с нефтезагрязненной почвой без внесения гуминового удобрения. Почва характеризуется средней целлюлазной активностью (приложение 2, табл. 2). Таким образом, при внесении гуминового удобрения в нефтезагрязненную почву ее целлюлазная активность повышается по сравнению с нефтезагрязненной почвой.

Таблица 11.

Показатели целлюлазной активности в нефтезагрязненной почве с добавлением гуминового удобрения

1 повторность	2 повторность	3 повторность	Среднее
56	54	57	55,6

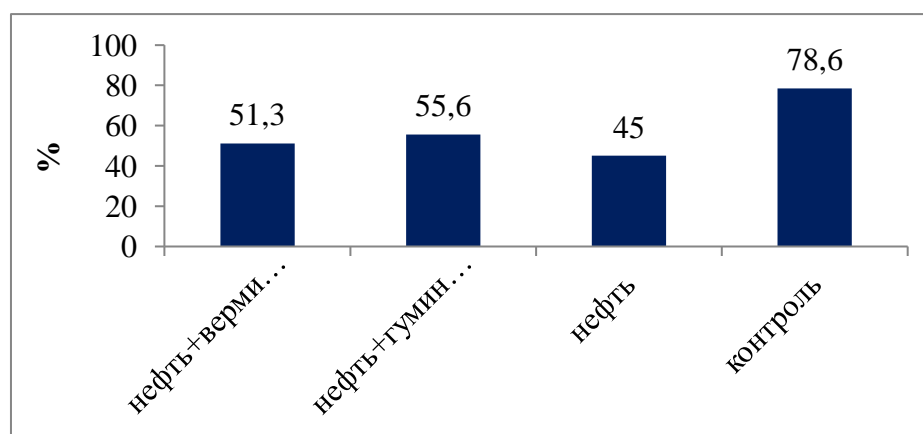


Рис. 19. Изменение средней целлюлазной активности почвы

Таким образом, при загрязнении почвы нефтью её целлюлазная активность падает, при добавлении вермикулита и гуминового удобрения она возрастает по сравнению с нефтезагрязненной почвой на 6,3 % при добавлении вермикулита и на 10,6 % при добавлении гуминового удобрения.

ВЫВОДЫ

1. Средняя энергия прорастания семян кресс-салата в контрольной (незагрязненной) почве – 25%. Контрольный (незагрязненный) образец почвы характеризуется средней фитотоксичностью. Средняя всхожесть семян тест-объекта (кресс-салата) в контроле – 46 %. Средняя длина корня кресс-салата в контрольном образце почвы – 3,4 см, стебля – 3,9 см, средняя биомасса кресс-салата – 605 мг.

2. При загрязнению почвы нефтью в почти в 2 раза уменьшается энергия прорастания семян тест-объекта, их всхожесть и средняя общая биомасса кресс-салата. Также незначительно уменьшается средняя длина корня и стебля тест-объекта. При этом проростки имеют уродства, искривлены, листья кресс-салата желтеют. Нефтезагрязненная почва характеризуется средней фитотоксичностью.

3. При добавлении вермикулита и гуминового удобрения в нефтезагрязненную почву повышается энергия прорастания и всхожесть семян тест-объекта, увеличивается средняя биомасса кресс-салата. Вермикулит положительно действует на увеличение средней длины стебля кресс-салата, а при добавлении гуминового удобрения увеличивается длина корня проростка.

4. При загрязнении почвы нефтью её целлюлазная активность падает, при добавлении вермикулита и гуминового удобрения она возрастает по сравнению с нефтезагрязненной почвой на 6,3 % при добавлении вермикулита и на 10,6 % при добавлении гуминового удобрения.

Таким образом, выдвинутая нами гипотеза нашла своё подтверждение. То есть при нефтяном загрязнении почвы биологические свойства почвы ухудшаются, внесение вермикулита и гуминового удобрения позволит улучшить свойства почвы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акульшин А.И., Бойко В.С., Зарубин Ю.А. Эксплуатация нефтяных и газовых скважин: Учебник для техникумов. Город: Недра, 1989, – 480 с.
2. Алиев С.А., Гвозденко Д.В., Бабаев М.П., Гаджиев Д.А. Рекомендации по рекультивации нефтезагрязненных земель / Баку: Элм, 1981. – 26 с.
3. Аренс В.Ж., Саушин А.З., Гридин О.М. Очистка окружающей среды от углеводородных загрязнений. - М.: Интербук, 1999. - 180с.
4. Ашихмина Т.Я. Зубкина Н.Б. Экологический мониторинг: учебн. - методическое пособие / под ред. Т.Я. Ашихминой – М, 2000 – 231 с.
5. Бельков В.В. Биоремедиация; принципы, проблемы, подходы // Биотехнология. 1995. № 3¹. – С.20-27.
6. Биологические свойства почвы, 2017 [Электронный ресурс] <https://www.activestudy.info/biologicheskie-svojstva-pochvy/> (дата обращения 20.11.2019)
7. Биология. Большой энциклопедический словарь / Гл. ред. М.С. Гиляров. 3-е изд. М.: Большая Российская энциклопедия, 1999. – 864с.
8. Вермикулит для растений. Для чего нужен, как применять и сколько стоит вермикулит [Электронный ресурс] <https://cadiogorod.ru/vermikulit-dlya-rastenij-dlya-chego-nuzhen-kak-primenyat-i-skolko-stoit-vermikulit/>
9. Гельцер О.Г. Показатели биологической активности в почвенных исследованиях // Почвоведение, 1990. № 9. – С. 47-59.
10. ГОСТ 17.4.3.01-83 Почвы. Общие требования к отбору проб
11. ГОСТ 17.4.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа.
12. Гриценко А.И., Акопов Г.С., Максимов В.М. Экология. Нефть и газ. М.: Наука, 1997. – 598с.
13. Желтобрюхов В.Ф. Рекультивация нефтезагрязненных земель с применением препаратов на основе минералов природного происхождения // Астраханский вестник экологического образования, 2013. – С. 98-102.
14. Желтобрюхов В.Ф., Колодницкая Н.В. Сравнительный анализ препаратов, предназначенных для восстановления нефтезагрязненных земель // Астраханский вестник экологического образования, 2015. – С. 185-187.
15. Иванова Л.А., Котельников В.В., Быкова А.Е. Физико-химическая трансформация минерала вермикулита в субстрат для выращивания растений // Вестник МГТУ, том 9, №5, 2006. – С. 883-889
16. Ковриго В.П. Почвоведение с основами геологии. - М.: Колос, 2000. – 415 с.
17. Колесниченко А.В. Процессы биодegradации в нефтезагрязненных почвах. М.: «Промэкобезопасность», 2004. – 194с.
18. Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов в окружающей среде (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 1996. № 6. – С.579-585.
19. Логинов О.Н. Силищев Н.Н, Бойко Т.Ф., Галимзянова Н.Ф. Биотехнологические методы очистки окружающей среды от техногенных загрязнений. Уфа: Гос. изд. научно-тех. литературы «Реактив», 2000. – 100с.
20. Молотков И.В. Рекультивация нефтезагрязненных почв // Нефть. Газ. Промышленность. 2005. С.307-311
21. Нефть Удмуртии. Ижевск. Издательский дом «Удмуртский университет», Н. Л. Коток, 2000, – 208 с.

22. Пиковский Ю.И. Природные и техногенные потоки углеводородов в окружающей среде. М.: Изд-во МГУ, 1993. – 208 с.
23. Реймерс Н.Ф. Природопользование // Словарь-справочник. М.: Мысль, 1990. – 637с.
24. Рылова Н.Г. Методические указания к практическим занятиям по курсу «Почвоведение» Ижевск: изд. Удмуртский государственный университет, 2007. – 44 с.
25. СанПиН 2.1.7.1287-03 «Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почв». «Методические рекомендации по выявлению деградированных и загрязненных земель».
26. Сидоров Д.Г., Борзенков И.А., Ибатулин Р.Р., Милехина Е.И., Полевой эксперимент по очистке почв от нефтяного загрязнения с использованием углеводородокисляющих микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. 1997. Т.33, №5. – С.497-502.
27. Стом Д.И., Потапов Д.С., Балаян А.Э., Матвеева О.Н., Баранская В. К. трансформация нефти в простейшие трофические цепи // Проблемы систематики, экологии и токсикологии беспозвоночных. Иркутск: Изд-во ИГУ, 2000. – С.90-95.
28. Экологическое почвоведение: Лабораторные занятия для студентов-экологов (бакалавров): Метод. указания / Сост. И.Н. Волкова, Г.В. Кондакова; Яросл. гос. ун-т. - Ярославль, 2002. – 35 с.

Методы ликвидации нефтяных загрязнений почвы (Колесниченко, 2004).

Методы	Способы ликвидации	Особенности применения
Механические Физико-химические	Обваловка загрязнения, откачка нефти в ёмкости	Первичные мероприятия при крупных разливах при наличии соответствующей техники и резервуаров (проблема очистки почвы при просачивании нефти в грунт не решается).
	Замена почвы	Вывоз почвы на свалку для естественного разложения.
	Сжигание	Экстренная мера при угрозе прорыва нефти в водные источники. В зависимости от типа нефти и нефтепродукта уничтожается от 50 до 70% разлива, остальная часть просачивается в почву. Из-за недостаточно высокой температуры в атмосферу попадают продукты возгонки и неполного окисления нефти; землю после сжигания необходимо вывозить на свалку.
	Промывка почвы	Проводится в промывных барабанах с применением ПАВ, промывные воды отстаиваются в гидроизолированных прудах или ёмкостях, где впоследствии проводятся их разделение и очистка. Разновидность промывки почвы на месте
	Дренирование почвы	с помощью дренажных систем; может сочетаться с использованием нефтеразлагающих бактерий.
	Экстракция растворителями	Обычно проводится в промывных барабанах летучими растворителями с последующей отгонкой их остатков паром
	Сорбция	Разливы на сравнительно твёрдой поверхности (асфальт, бе-

Оценочная шкала интенсивности разрушения клетчатки

Убыль массы, (%)	Интенсивность разрушения клетчатки
Менее 10	Очень слабая
10 – 30	Слабая
30 – 50	Средняя
50 – 80	Сильная
Более 80	Очень сильная

Таблица 3

Влияние внесения вермикулита и гуминового удобрения в нефтезагрязненную почву на показатели тест-объекта

№ пробы		Энергия прорастания (шт)	Средняя всхожесть (шт)	Средняя длина корня (см)	Средняя длина стебля (см)	Общая биомасса кресс-салата (г)
1	нефть+вермикулит	9	12	2,3	5,23	0,371
2	нефть+вермикулит	8	12	2,63	2,54	0,483
3	нефть+вермикулит	12	15	1,46	2,03	0,388
4	нефть+гуминовое удобрение	4	10	3,15	2,65	0,331
5	нефть+гуминовое удобрение	13	20	3,88	2,6	0,602
6	нефть+гуминовое удобрение	2	8	2,81	3,31	0,303
7	нефть	5	9	2,72	2,5	0,240
8	нефть	2	5	2,7	4,2	0,171
9	нефть	3	9	3,94	3,38	0,366
10	контроль	4	10	3,9	4,15	0,496
11	контроль	8	16	2,88	3,44	0,659
12	контроль	11	16	3,5	4,13	0,661