

На правах рукописи

НИКИФОРОВ АРТУР СЕРГЕЕВИЧ

**БИОРЕМЕДИАЦИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЛУГОВЫХ ПОЧВ ЮГА
ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ**

03.02.08 – Экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

Тюмень 2021

Работа выполнена на кафедре техносферной безопасности Института сервиса и отраслевого управления ФГБОУ ВО «Тюменский индустриальный университет»

**Научный
руководитель:**

кандидат биологических наук, доцент
Сивков Юрий Викторович

**Официальные
оппоненты:**

Андроханов Владимир Алексеевич,
доктор биологических наук, вр.и.о. директора
ФГБУН «Институт почвоведения и агрохимии
СО РАН», заведующий лабораторией
рекультивации почв

Околелова Алла Ароновна, доктор
биологических наук, профессор кафедры
промышленной экологии и безопасности
жизнедеятельности ФГБОУ ВО
«Волгоградский государственный технический
университет»

**Ведущая
организация:**

**ФГБОУ ВО «Пермский государственный
национальный исследовательский
университет»**

Защита состоится «20» апреля 2021 г. в 14-00 часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.114.02 в Государственном аграрном университете Северного Зауралья по адресу: 625003, г. Тюмень, ул. Республики, 7, зал заседаний Ученого совета.

Телефон/факс: 8(3452) 29-01-52, e-mail: dissgausz@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Государственного аграрного университета Северного Зауралья.

Автореферат разослан «18» февраля 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор сельскохозяйственных наук

Г.Ш. Турсумбекова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Почва является материальной основой устойчивого экономического и социального развития и одним из самых ценных природных ресурсов для нашей страны. На сегодняшний день вовлечены в сельскохозяйственный оборот и интенсивно используются все черноземы юга Тюменской области, поэтому возникла необходимость изыскания почв, наиболее близких к ним по плодородию с учетом региональных особенностей. К таким почвам относятся луговые почвы, площадь которых составляет около 1 млн. га юга Тюменской области, или 40 % от площади высокоплодородных почв (Ренев и др., 2017).

В то же время, на территории Тюменской области располагаются объекты нефтегазовой отрасли. Разливы нефти в процессе разведки, разработки, сбора, переработки, хранения и сбыта нефтепродуктов, аварий, неправильных операций и технического обслуживания оборудования могут вызвать серьёзные экологические проблемы для почвы, грунтовых вод и воздуха. Кроме того, за последние несколько десятилетий технологии нефтедобывающей отрасли развиваются недостаточными темпами. Соответствующие природоохранные меры и системы оценки несовершенны. Устаревшие технологии борьбы с загрязнением и восстановления нарушенных земель приводят к большому количеству серьёзно загрязнённых почв.

Потенциальная опасность, которую нефтяные углеводороды представляют для человека и окружающей среды, обуславливает актуальность исследования процессов их биodeградации и биотрансформации в загрязнённой почве для разработки методов биоремедиации таких почв до уровней, обеспечивающих их безопасное использование в сельскохозяйственных и других целях.

Цель исследований – разработка способов повышения эффективности применения биопрепаратов для ремедиации нефтезагрязнённых луговых почв в условиях юга Тюменской области.

Задачи исследований:

- определить влияние применения различных компонентных составов для биоремедиации нефтезагрязнённых луговых почв;
- оценить влияние мелиорантов на динамику численности углеводородокисляющей микрофлоры нефтезагрязнённых почв;
- провести анализ изменения агрохимических свойств луговых почв в процессе микробной биоремедиации;
- выявить методом биотестирования уровень токсического воздействия применяемых схем биоремедиации на растения.

Научная новизна. Впервые в условиях северной лесостепной подзоны юга Тюменской области изучены способы повышения эффективности микробной биоремедиации нефтезагрязнённых луговых почв. Установлено, что применение биопрепаратов в сочетании с гуматами и сорбентом способствует интенсификации микробной биodeградации нефтезагрязнения

почвы за счёт активного роста углеводородоокисляющих микроорганизмов. Предлагаемые в работе методы биостимуляции углеводородоокисляющей микрофлоры способствуют улучшению агрохимических свойств и снижению остаточного содержания нефти. Определены границы устойчивости *Secale cereale* L. к нефтезагрязнению.

Практическая значимость работы. Разработаны рекомендации по биоремедиации почв, загрязненных нефтью в условиях юга Тюменской области на примере луговых почв. Основные результаты работы апробированы в образовательном процессе кафедры техносферной безопасности ФГБОУ ВО «Тюменский индустриальный университет» в рамках освоения дисциплины «Рекультивация и ландшафтный дизайн», а также при проектировании и непосредственном проведении восстановительных работ нефтезагрязненных участков компании ООО «Научно-исследовательский институт экологии нефтегазовой промышленности» и могут быть использованы в производственной деятельности природоохранных организаций при планировании и проведении биоремедиации нефтезагрязненных луговых почв.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Применение биопрепаратов в сочетании с мелиорантами способствует интенсификации микробной биodeградации нефтезагрязнения почвы за счёт активного роста углеводородоокисляющих микроорганизмов, а также поддержания их жизнеспособности в процессе биоремедиации.

2. Предлагаемые методы биостимуляции углеводородоокисляющей микрофлоры способствуют улучшению агрохимических свойств почвы и снижению остаточного содержания нефтепродуктов в нефтезагрязненных луговых почвах на 93-95 %.

3. Остаточное содержание нефтепродуктов ниже 2,28 г/кг не оказывает существенное влияние на всхожесть семян *Secale cereale* L. в нефтезагрязненной почве.

Апробация работы и публикации. Результаты исследований были представлены на I Всероссийской научно-практической конференции «Техносферная безопасность. Современные реалии» (Махачкала, 2020); национальной научно-практической конференции «Нефть и газ: технологии и инновации» (Тюмень, 2019); Международной научно-практической конференции «Арктика: современные подходы к производственной и экологической безопасности в нефтегазовом секторе» (Тюмень, 2019) и др.

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 2 – в изданиях индексируемых Scopus и Web of Science.

Личный вклад автора. Диссертационная работа является результатом самостоятельных исследований автора. Соискателем разработана программа и методика исследований; проведены лабораторные и полевые эксперименты; произведен отбор почвенных и растительных образцов, статистически обработан и проанализирован экспериментальный материал,

проведена апробация результатов исследования, подготовлены публикации, написана диссертация.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения и списка литературы. Текст изложен на 142 страницах машинописного текста; содержит 9 таблиц, 26 рисунков, 5 приложений. Список литературы содержит 266 источников, в том числе 111 – на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. Обзор литературы

В главе представлен обзор публикаций отечественных и зарубежных авторов о свойствах нефти и нефтепродуктов как загрязнителей окружающей среды, процессах трансформации в почве этих загрязнителей; описаны факторы, определяющие экологические последствия нефтезагрязнения почв и современные способы их восстановления; дана оценка роли растительности и почвенной микробиоты в ремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами.

ГЛАВА 2. Объекты и методы исследований

Работы по изучению экологического состояния луговых почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, и разработке мероприятий по их биоремедиации проводились в 2015-2019 гг. в лабораторных и полевых условиях.

Объектом исследования послужили луговые почвы зоны северной лесостепи юга Тюменской области, расположенные в 30 км южнее г. Тюмень.

В результате изучения морфологических характеристик почва исследуемой территории была охарактеризована как луговая среднemosная малогумусная среднесуглинистая. Почвообразующими породами являются суглинки и глины. Исследуемая почва характеризуется высоким содержанием гумуса 5-7%; содержание подвижного фосфора по методу Кирсанова среднее и варьирует в пределах 53-68 мг/кг; содержание калия низкое и составляет порядка 51-70 мг/кг; содержание нитратов менее 2,8 мг/кг. Реакция среды в верхней части профиля нейтральная pH_{KCl} 6,5. Фоновое содержание нефтепродуктов составляет 40 мг/кг.

Программа исследований включала три этапа: лабораторный, полевой мелкоделяночный эксперимент и вегетационный эксперимент по оценке фитотоксичности почвы.

Лабораторный этап включал исследования по выбору нефтедеструктора и микробиологические исследования по оценке эффективности применения различных мелиорантов. Микробиологические исследования проводились по следующей схеме:

- 1) Контроль (с внесением нефти до 5% загрязнения);
- 2) Нефть+ бакпрепарат (вариант П1);
- 3) Нефть + бакпрепарат+ известь (вариант П2);
- 4) Нефть + бакпрепарат+ известь + сорбент (вариант П3);

5) Нефть + бакпрепарат+ известь + гумат калия (вариант П4).

Полевой мелкоделяночный эксперимент проводился в двух направлениях: первое заключалось в постановке модельного эксперимента с исследованием процессов естественного самоочищения нефтезагрязненной почвы (опыт проведен в 2016-2019 гг.), а второе – в применении технологии биоремедиации (опыт проведен в 2017-2019 гг.).

В первом случае, на реперных участках площадью 1 м² были смоделированы разливы товарной нефти в количестве 10 (У1) и 20 (У2) л/м², взятой с магистрального нефтепровода Шаим-Тюмень. Опыт был заложен в четырёхкратной повторности.

На втором этапе проведен мелкоделяночный полевой эксперимент по изучению методов биоремедиации по схеме, аналогичной лабораторным микробиологическим исследованиям в четырёхкратной повторности. Реперные участки размерами 1×1 м были предварительно подготовлены: удалена растительность и проведено дискование. На подготовленные участки нефть и рабочие водные суспензии биопрепаратов были внесены в почву методом дождевания и проведено рыхление для равномерного распределения их в верхнем слое (20 см).

При планировании опытов предполагался одинаковый уровень загрязнения нефтью на всех исследуемых площадках, равный 5,0 % от массы почвы. Количество, внесенного бакпрепарата определялось в соответствии с нормами расхода, определёнными производителем и составило 0,03 л/м². Препарат разбавлялся водой, таким образом, и в таком соотношении, чтобы полученный раствор равномерно орошал весь запланированный объём. Количество вносимой извести определялось в соответствии с рекомендациями Чиждова Б.Е. (2000) и на основании кислотности солевой вытяжки исследуемой почвы. Норма составила 0,1 кг/м². Сорбент С-Верад (модифицированный вермикулит) вносился в количестве 0,1 кг на 1 м². Количество гумата калия составило 30 мл/м², разведённых в соотношении 1:300 с водой. Контролем являлась нефтезагрязненная почва без применения добавок.

Отбор почвенных проб осуществлялся в соответствии с требованиями ГОСТ 17.4.4.02-2017. Лабораторные анализы отобранных образцов почв проводились в лаборатории кафедры техносферной безопасности Тюменского индустриального университета и лаборатории агрохимии и физических свойств почв Государственного аграрного университета Северного Зауралья по следующим показателям: общий азот (ГОСТ 26107-84); обменный аммоний (ГОСТ 2626489-85); нитратный азот (ГОСТ 26951-86); рН (ГОСТ 26483-85); массовая доля органического вещества (ГОСТ 26213-91); валовый фосфор и калий (ГОСТ 26261-84); подвижные фосфор и калий (ГОСТ 26204-91); содержание нефтепродуктов (ПНДФ 16.1:2.2.22-98).

Микробиологические исследования проводились в аккредитованной лаборатории по рекомендациям, разработанным В.И. Романенко, С.И. Кузнецов (1974) и Д.Г. Звягинцевым и др. (1980).

В вегетационном опыте для оценки фитотоксичности почвы в качестве тест-объекта применялась рожь озимая (*Secale cereale L.*). Основными параметрами, которые оценивались в процессе биотестирования на фитотоксичность, были фитомасса, всхожесть и энергия прорастания семян. Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью программы MathCAD 15. Для проверки статистически значимых различий между выборками использовался *t*-критерий Стьюдента.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ БИОПРЕПАРАТА

3.1. Обоснования выбора биопрепарата

Лабораторный эксперимент проводился с биопрепаратами «Дестройл» и «Бак-Верад» по определению эффективности их работы на основании изменения площади нефтяного пятна на поверхности воды в чашках Петри. Результаты эксперимента, проведенного в трёхкратной повторности, показали большее (в 2,04 раза) снижение площади нефтяного пятна с Бак-Верадом (11,16 см²), чем Дестройлом (5,46 см²), на основании чего был выбран препарат «Бак-Верад» для проведения дальнейших исследований.

3.2. Микробиологические исследования эффективности применения схем биоремедиации

На первом этапе микробиологических исследований была изучена микрофлора бактериального препарата «Бак-Верад». Наиболее внешне опознаваемыми были три культуры родов *Bacillus*, *Rhodococcus* и *Pseudomonas*. Остальные бактерии биопрепарата имели плохо узнаваемые колонии, внешне неотличимые от микрофлоры исходной почвы – грязно-белые, округлые, среднего размера, поэтому определить их динамику численности в почве отдельно от аборигенной микрофлоры не представлялось возможным.

На протяжении опыта менялась, как численность почвенной микрофлоры, так и соотношение видов в ней и содержание бактерий, внесенных с биопрепаратом (рис. 1).

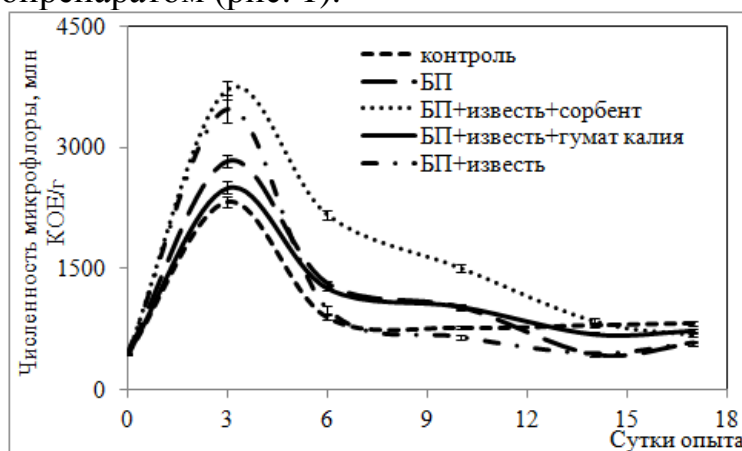


Рис. 1 – Влияние мелиорантов разного состава на динамику численности микрофлоры при биodeградации нефтезагрязнения в луговой почве

Динамика роста численности микрофлоры во всех вариантах опыта представляла собой классическую S-образную кривую с экспоненциальной фазой до 3 суток, снижением численности после шести суток и выходом на плато на 10-14 сутки. Рост общего количества микрофлоры отмечен сразу после внесения нефти и мелиорантов, без периода адаптации (либо этот период был пропущен и пришелся на 1-2 суток). С 0,5 млрд. КОЕ/г в начале эксперимента за трое суток численность достигла 2,3-3,7 млрд. КОЕ/г в разных вариантах. С шестых суток отмечено снижение численности. Такая закономерность была общей, как в контроле, так и в опытных вариантах, однако для варианта с биопрепаратом, сорбентом и известью отмечена устойчивая повышенная численность почти на всем протяжении опыта. В варианте с биопрепаратом, а также при его сочетании с известью и гуматом калия, численность микрофлоры ненамного превышала контрольную, а к концу опыта разница между вариантами сглаживалась.

Оценка численности трех культур, внесенных с биопрепаратом, показала их разное поведение в почве (рис.2).

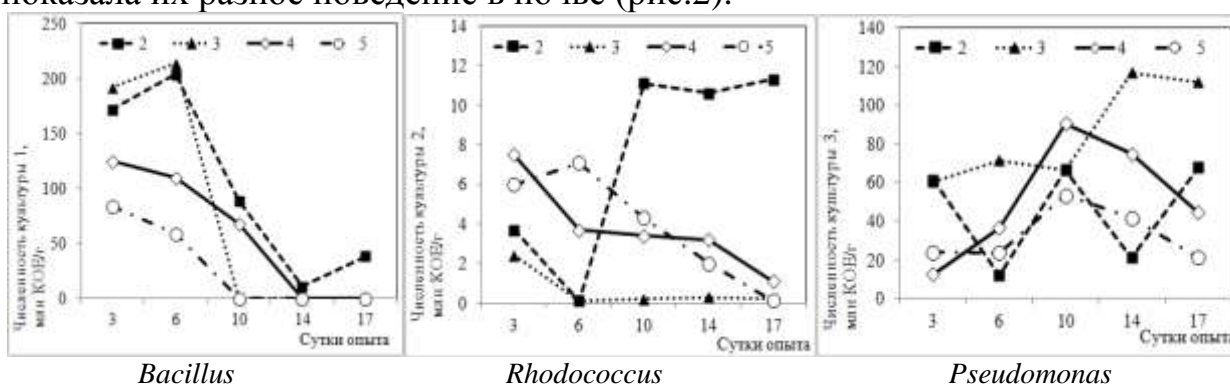


Рис. 2 – Изменение численности бактерий трех культур из биопрепарата в разных вариантах опыта: 2 – биопрепарат, 3 – биопрепарат + известь + сорбент, 4 – биопрепарат + известь + гумат калия, 5 – биопрепарат + известь

Динамика численности углеводородоокисляющей микрофлоры (УОМ) на среде Мюнца также представляла собой S-образную кривую с периодом экспоненциального роста с 0 до 3-6 суток и последующим плавным отмиранием культуры (рис. 3).

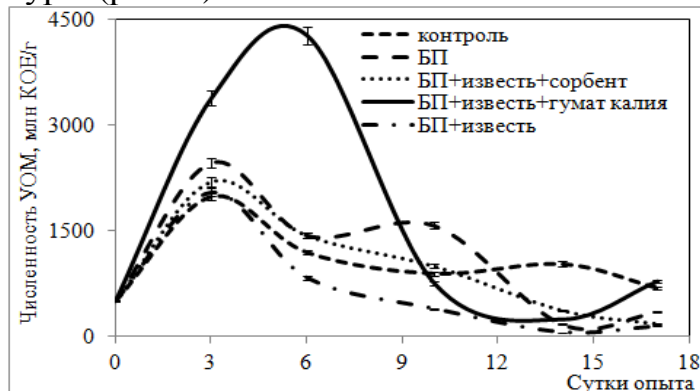


Рис. 3 – Динамика численности углеводородоокисляющей микрофлоры при биодеградациии нефтезагрязнения в луговой почве

Однако для каждого варианта были свои закономерности: аборигенная углеводородокисляющая микрофлора в контроле имела сглаженную форму кривой с двумя максимумами на 3 и 14 сутки. В варианте с биопрепаратом без добавок кривая численности УОМ имела 3 максимума – на 3, 10 и 17 сутки. Численность УОМ в вариантах с добавлением сорбента и извести, либо только извести, не превышала контрольные данные на всем протяжении опыта. Значимо отличался вариант с добавлением извести и гумата калия, в котором численность УОМ была в 2-3 раза выше, чем в других вариантах.

Таким образом, наиболее активный рост почвенной микрофлоры отмечен в вариантах с добавлением жидкого биопрепарата, извести и сорбента, либо гумата калия. Максимальной численности микрофлора в образцах достигала на 3-6 сутки после внесения нефти и мелиорантов.

3.3. Полевые исследования естественных процессов трансформации нефтезагрязнения в луговых почвах

Исследование проводилось с целью изучения процессов естественного самоочищения нефтезагрязненной луговой почвы юга Тюменской области в течение трехлетнего периода на искусственно созданных нефтеразливах.

Результаты проведения лабораторных исследования отобранных образцов почв представлены на рисунке 4.

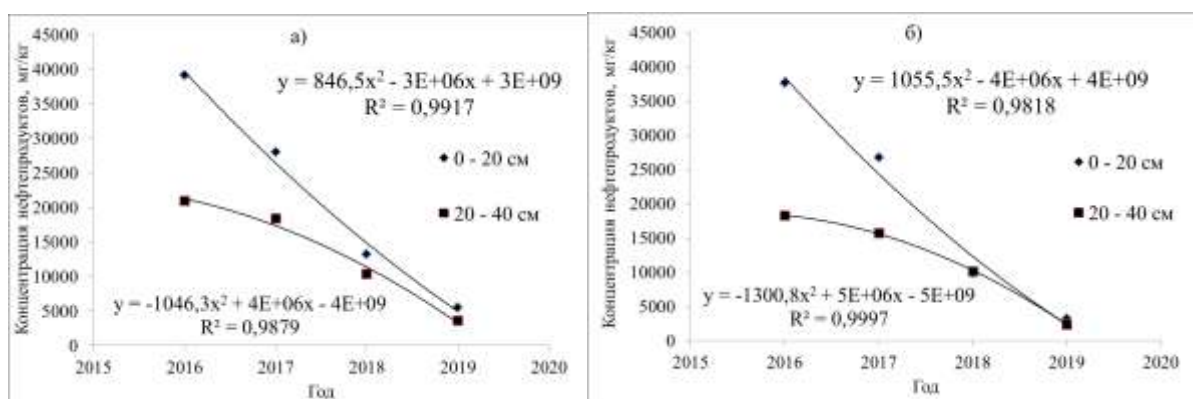


Рис. 4 – Динамика снижения остаточного содержания нефтепродуктов в процессе естественного самоочищения исследуемых почв на различной глубине:

а) площадка У1; б) площадка У2

Результаты анализа образцов почвы показывают незначительное снижение концентрации нефтепродуктов через год после начала эксперимента: 28,5-28,8 % в верхнем (0-20 см) слое и 12,3-13,9 % в нижнем (20-40 см). Снижение остаточного содержания нефтепродуктов, по всей видимости, связано с процессами физико-химического выветривания. Эти результаты подтверждают то, что естественной микрофлоре необходимо значительное время для адаптации к ксенобиоту. В нижнем горизонте (20-40 см) степень биодеструкции нефтепродуктов ниже, чем в верхнем, что связано с формированием условий близких к анаэробным.

Основное снижение остаточного содержания нефтепродуктов на исследуемых участках произошло в 2018 и 2019 гг. К концу вегетационного периода 2018 г. степень нефтедеструкции составила в среднем 66,2 %

варианте У1 и 73,8 % в варианте У2. В 2019 г. общее снижение содержания нефтепродуктов составило в среднем 86,0 и 91,5 % для вариантов У1 и У2 соответственно. В нижних горизонтах снижение содержания нефтепродуктов происходило медленнее в сравнении с верхними. Наибольшее снижение наблюдалось на участке У2 и составило 87 %.

Результаты исследования показали, что процесс естественного восстановления загрязненных нефтью почв носит длительный характер и нуждается в проведении восстановительных работ.

3.4. Полевые исследования биodeградации нефтезагрязнения в луговых почвах в процессе биоремедиации

При проведении исследований отбор проб производился дважды за вегетационный период с 2017 по 2019 гг. Кроме того, в первый год проводили отбор образцов почвы для определения содержания нефтепродуктов на 7, 12, 25 и 40 сутки от начала эксперимента.

Исследование процесса биоремедиации, проведенного на нефтезагрязненных луговых почвах, показало снижение остаточного содержания нефтепродуктов до 95 %. В первый год эксперимента отмечается большая потеря углеводов в течение первой недели после начала опыта – от 15,60 до 43,08 %. Помимо положительного эффекта от действия применяемых опытных вариантов, на начальном этапе значительную роль играют процессы улетучивания легких фракций нефти.

Основное различие между изучаемыми методами биоремедиации имело место в течение следующих 5 недель, когда биостимуляция приводила к значительному снижению нефтепродуктов (рис. 5).

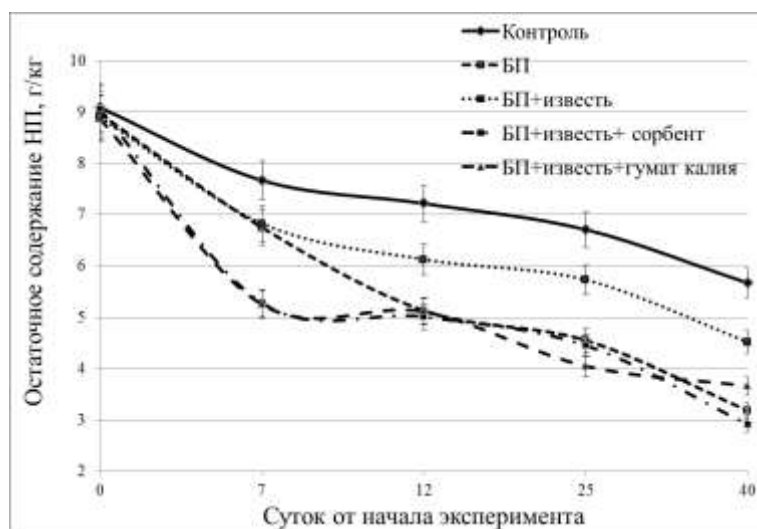


Рис. 5 – Изменение остаточного содержания нефтепродуктов в почве исследуемых участков в первый год эксперимента

Сводные данные по снижению нефтепродуктов в луговых почвах на протяжении всего периода исследований приведены в таблице 1.

Данные, приведенные в таблице 1, показывают, что биodeградация была наиболее интенсивной в первые два сезона. К концу второго сезона снижение нефтезагрязнения почвы составило от 67,31 до 74,88 % для

участков, на которых применялась микробная биоремедиация, и 56,33 % – на контрольном варианте.

Таблица 1 – Содержание нефтепродуктов в почве исследуемых участков, г/кг

Варианты	Начало эксперимента (июнь 2017 г.)	Конец вегетации			Снижение содержания нефтепродуктов, %
		2017 г.	2018 г.	2019 г.	
Контроль	9,09±0,23	5,67±0,17	3,97±0,18	2,54±0,10	75,36
Уч. П1	8,97±0,19	3,18±0,12	2,68±0,07	1,45±0,10	83,80
Уч. П2	8,90±0,12	4,52±0,14	2,28±0,12	1,19±0,04	86,62
Уч. П3	9,06±0,13	2,64±0,12	2,28±0,08	0,46±0,02	94,98
Уч. П4	8,87±0,08	3,66±0,18	2,33±0,07	0,61±0,02	93,14
НСР ₀₅	0,48	0,44	0,34	0,20	-

Результаты эксперимента показали, что наибольшей эффективностью биодеструкции нефти обладают следующие варианты опытов: «Бак-Верад+известь+сорбент» и «Бак-Верад+известь+гумат калия». К концу эксперимента снижение концентрации углеводородов нефти на данных участках составило 95 % (0,46 мг/кг) и 93 % (0,61 мг/кг) соответственно. В связи с тем, что в Российской Федерации ПДК для нефти в почве не разработаны, данные уровни загрязнения в соответствии с классификацией Ю.И. Пиковского (1993) можно отнести к повышенному фону – для участка П3 и умеренному загрязнению (низкому) – для участка П4, что позволяет предложить данные восстановительные комплексы в качестве эффективной схемы биоремедиации нефтезагрязнённых луговых почв юга Тюменской области.

3.5. Исследование агрохимических показатели луговых почв в процессе биоремедиации

Основные результаты изменения рН почвы и доли органического вещества исследуемых почв в процессе биоремедиации приведены на рисунке 5.

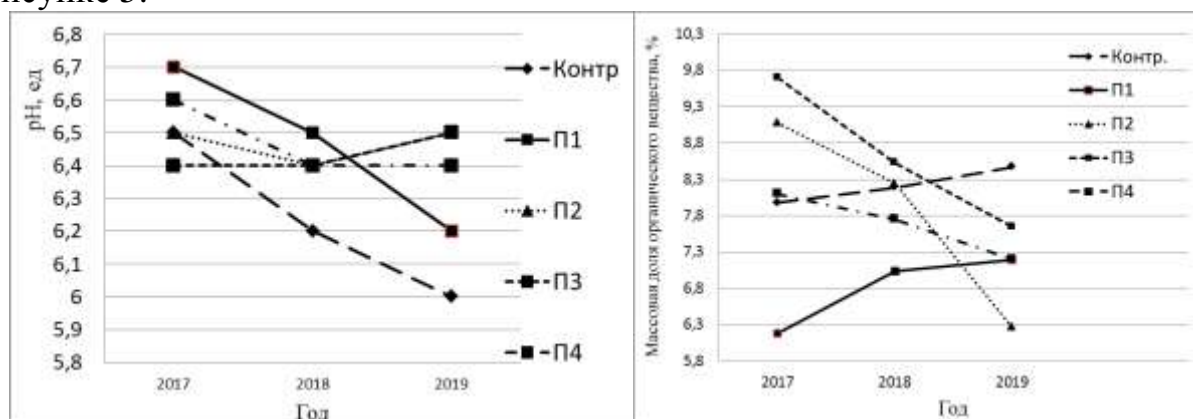


Рис. 5 – Динамика изменения рН почвы и доли органического вещества

рН нефтезагрязненных участков, на которых не проводилась корректировка кислотности (нефтезагрязненный контроль и участок П1), оказался ниже, чем у фоновых незагрязненных почв и показал снижение на 0,5 единиц. Это говорит о том, что загрязнение нефтью приводит к снижению

значения pH почвы. На участках, где применялась коррекция кислотности, pH нефтезагрязненной почвы не изменился и сохранился на уровне 6,5 ед., что является характерной для луговых почв Тюменской области (Каретин, 1982; Ренев и др., 2017).

Хотя нефть оказывает непосредственное влияние на понижение pH, более вероятно, что причиной снижения является образование органических кислот за счет микробного метаболизма.

Органическое вещество. Результаты, полученные в ходе анализа массовой доли органического углерода, показывают, что общая концентрация органического углерода увеличивается в процессе загрязнения нефтью и нефтепродуктами. После загрязнения нефтью на всех участках содержание органического углерода в почве выросло на 31,25-59,54 % по сравнению с незагрязненной почвой. Это связано с тем, что наличие нефтяных углеводородов приводит к увеличению содержания углерода в почве.

Применение восстановительных комплексов на участках П2, П3 и П4 привело к снижению количества органического углерода в нефтезагрязненных почвах. В конце эксперимента, на всех участках, кроме контроля и участка П1, значения органического углерода были ниже, чем исходные (11-31 %), демонстрируя, таким образом, эффективность работы микроорганизмов по биоразложению углеводородов нефти.

Основные результаты изменения содержания питательных веществ в исследуемых почвах приведены на рисунке 6.

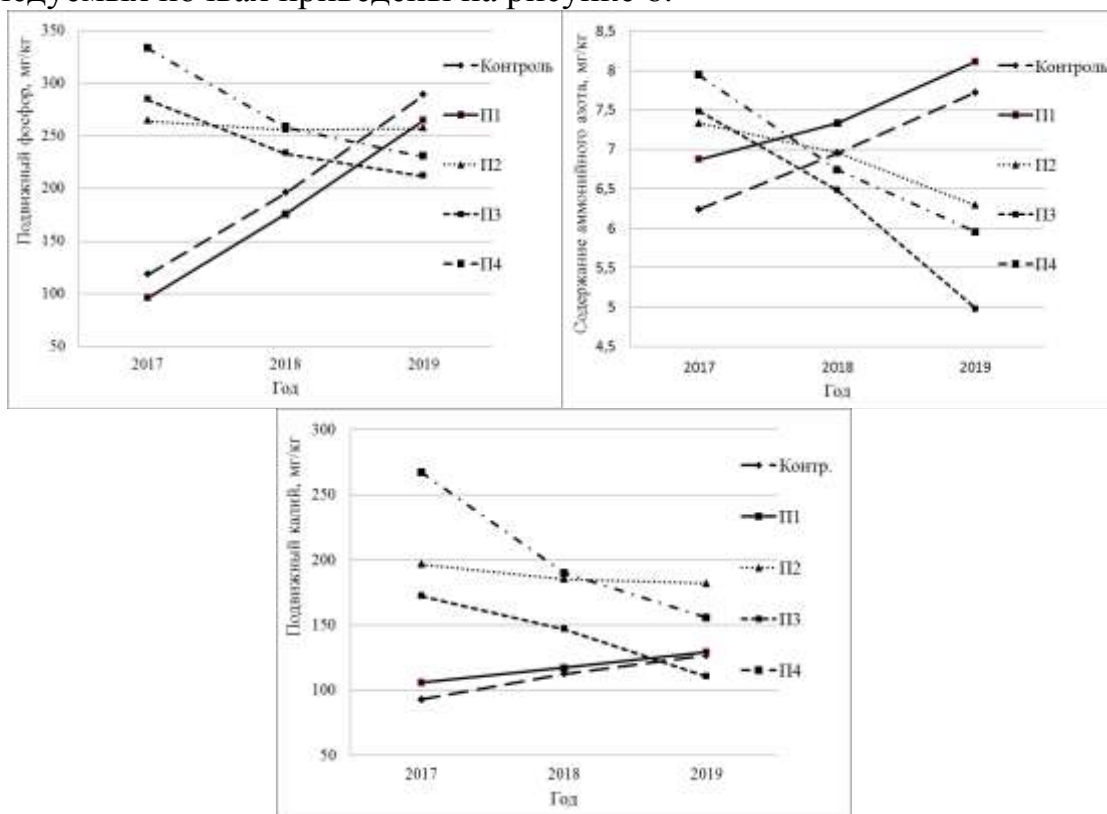


Рис. 6 – Динамика изменения содержания питательных веществ в исследуемых образцах почвы

Фосфор. На всех участках, кроме контрольного и участка П1, наблюдалось снижение количества подвижного фосфора. Наибольшее снижение значения доступного фосфора наблюдалось на участках П3 и П4 – 30,86 и 25,61 % от исходного содержания соответственно. Участок П2 показал минимальное снижение (2,73 %).

Снижение содержания подвижного фосфора на участках П3 и П4 может быть вызвано двумя причинами. Во-первых, нефтяные углеводороды в сырой нефти увеличивают концентрацию углерода в почве, что может повлиять на равновесие питательных веществ в почве. Во-вторых, микроорганизмы в почве могут использовать значительные количества доступного фосфора для разложения углеводов, присутствующих в почве. Однако на участке П2 при одинаковом исходном нефтезагрязнении снижения содержания фосфора не наблюдается.

На контрольном и на участке П1 наблюдается увеличение количества фосфора в среднем на 160 %. Это может быть связано с тем, что, недоступные формы фосфора в почвах могут медленно высвобождаться в подвижную форму при снижении рН почвы.

Азот. В результате проведенных исследований отмечается снижение содержания аммонийного азота на участках с применением мелиоративных добавок. Процессы, влияющие на изменение содержания азота, аналогичны процессам, влияющим на изменение подвижного фосфора. Применение восстановительного комплекса приводит к снижению содержания аммонийного азота на 14,2 % для участка П2, 25,1 % для участка П4 и 33,4 % для участка П3. Снижение содержания аммонийного азота на данных участках, по всей видимости, связано с активизацией жизнедеятельности микроорганизмов. На контрольном нефтезагрязнённом участке и участке П1 наблюдается увеличение содержания аммонийного азота.

Калий. Согласно результатам динамики изменения содержания подвижного калия, на всех участках наблюдается увеличение содержания калия после загрязнения нефтью и последующее уменьшение его содержания в процессе биоремедиации. По аналогии с фосфором, снижение калия может быть связано с его утилизацией растениями и почвенными микроорганизмами.

Таким образом, результаты исследований агрохимических свойств луговых почв позволяют сделать выводы, что применение мелиорантов в процессе микробной биоремедиации способствует созданию либо поддержанию благоприятных почвенных условий для жизнедеятельности бактерий-нефтедеструкторов.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ФИТОТОКСИЧНОСТИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ БИОРЕМЕДИАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

На первом этапе эксперимента фитотоксичность оценивалась в лабораторных условиях. Для постановки эксперимента использовались

вегетационные сосуды емкостью 2000 мл. Посев семян производился в почву, отобранную на 12 и 40 суток от начала полевого эксперимента, описанного в пункте 3.3. Для каждого участка отбиралось по 100 семян, которые были предварительно проверены визуально, чтобы убедиться, что они были однородного размера и не повреждены. Всхожесть семян *Secale cereale* L. в луговой почве, которая использовалась в качестве фона, составила 92-94%.

Результаты проведенных исследований показали, что образцы почвы через 12 суток после постановки эксперимента, имеющие остаточное содержание нефтепродуктов от 5,01 до 7,22 г/кг, оказывают ингибирующее влияние на семена ржи, снижая скорость прорастания семян и роста растений и смещая фазы развития проростков. Это характеризуется низкими значениями *энергии прорастания* – на контроле она составила 1%, тогда как *всхожесть семян* – 12%. Наибольшие значения всхожести семян наблюдались в вариантах П3 и П4 – 40 и 45% соответственно, однако энергия прорастания в образце П4 в 2,8 раза выше, чем в образце П3.

В образцах почвы через 40 суток после начала эксперимента остаточное содержание нефтепродуктов варьировало от 2,64 до 5,67 г/кг. Такое снижение уровня нефтезагрязнения оказало положительное влияние на показатели роста семян, особенно на энергию прорастания. В варианте П4 данный показатель вырос в среднем с 14 до 38 %, а в варианте П3 – с 5 до 16 %. Наибольшее увеличение всхожести (с 40 до 52 %) произошло в варианте П3. В сосудах П2 и контрольном варианте достоверного изменения показателей роста выявлено не было. В вариантах П1 наблюдалось снижение всхожести с 27 до 11 %.

Также необходимо отметить различия в параметрах проростков. В обоих тестах средняя высота coleoptили была ниже, чем на незагрязненной почве, однако различалась для разных схем биоремедиации. Наименьшая высота проростков наблюдалась на контрольном варианте и составляла в среднем 2,5 см. Средняя высота coleoptили для схем П3 и П4 составила 4,9 и 5,6 см соответственно, что в среднем на 34,7 и 25,3 % ниже, чем на чистой почве.

Данные о влиянии нефтезагрязненных почв на результаты энергии прорастания и всхожести семян на исследуемых схемах в лабораторных условиях приведены в таблице 2.

На основании результатов лабораторных исследований был поставлен полевой вегетационный опыт. Фитотоксичность нефтезагрязненной почвы оценивали по всхожести и величине надземной биомассы растений. Посев семян озимой ржи был осуществлен в начале августа для оценки полевой всхожести с последующей зимовкой и определением фитомассы на стадии колошения.

В полевом эксперименте были получены результаты, аналогичные результатам лабораторных исследований. На процент всхожести семян ржи существенно повлияло содержание нефтепродуктов. Отмечается обратная зависимость всхожести семян от концентрации углеводов нефти.

Сильная отрицательная корреляция между всхожестью семян ржи и содержанием нефтепродуктов также была установлена в работах Т.Г. Кольцовой с соав. (2014, 2015).

Таблица 2 – Энергия прорастания и всхожести семян *Secale cereale* L. в лабораторных условиях, %

Вариант	Время, прошедшее после разлива			
	12 суток		40 суток	
	энергия прорастания	всхожесть	энергия прорастания	всхожесть
Фон	92	94	88	92
Контроль	1	12	5	16
П1	4	27	4	24
П2	10	25	8	28
П3	5	40	16	52
П4	14	45	38	56
НСР ₀₅	0,16	4	1	6

Всхожесть семян на участках П3 и П4 исследуемых почв существенно не отличалась от фона. Интересно отметить, что остаточное содержание нефтепродуктов, которое не оказывало существенного влияния на всхожесть семян озимой ржи, варьировало от 2,28 до 2,55 г/кг.

Отбор растений проводился на стадии колошения. Растения были собраны и высушены при 70 °С в течение 3 дней для определения массы сухого вещества. Количество растений, достигших стадии колошения, на незагрязненной почве составило 57 % от взошедших семян, на остальных участках не превышало 30 %. Наибольшая средняя масса растения наблюдалась в вариантах П3 и П4 и составила в среднем 1,61 и 1,55 г/растение соответственно. Наименьшее значение средней массы растения (1,22 г/растение) соответствовала контрольному варианту. Результаты полевого вегетационного эксперимента приведены на рисунке 6.

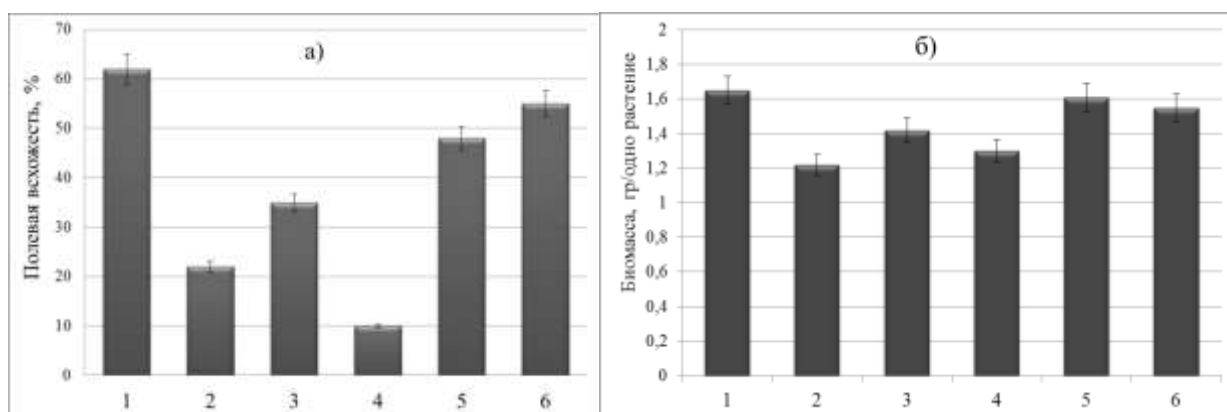


Рис.6 – Средняя полевая всхожесть (а) и средняя масса растений ржи озимой (б): 1 – фон; 2 – контроль; 3 – участок П1; 4 – участок П2; 5 – участок П3; 6 – участок П4.

Результаты проведенных экспериментов подтверждают токсическое влияние нефтезагрязнения почвы на показатели роста и развития растений.

Также необходимо отметить различия в параметрах проростков. Во всех тестах средняя высота coleoptilia была ниже, чем на незагрязнённой почве, однако различалась для разных схем биоремедиации.

Были экспериментально определены границы устойчивости *Secale cereale* L. к нефтезагрязнению. Остаточное содержание нефтепродуктов, которое не оказывало существенного влияния на всхожесть семян озимой ржи, варьировало от 2,28 до 2,55 г/кг.

Наименьшая фитотоксичность наблюдалась в вариантах опыта с применением гумата калия и модифицированного вермикулита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований по биоремедиации нефтезагрязненных луговых почв юга Тюменской области можно сделать следующие выводы:

1. В процессе естественного самоочищения луговые почвы имеют длительный период адаптации к нефтезагрязнению, о чем свидетельствует незначительное снижение концентрации нефтепродуктов в течение 12 месяцев после начала эксперимента (28,5-28,8 %). Наибольшее снижение остаточного содержания нефтепродуктов на исследуемых участках произошло только на третий (66,2 и 73,8 %) и четвертый (86,0 и 91,5 %) годы.

2. Наиболее активный рост почвенной микрофлоры отмечен в вариантах с внесением биопрепарата, извести и сорбента, либо гумата калия. Максимальной численности микрофлора луговой почвы достигала на 3-6 сутки после внесения нефти и мелиорантов.

3. Биоремедиация нефтезагрязненных луговых почв с использованием микробиологического препарата «Бак-Верад» в сочетании с различными добавками способствовали статистически достоверному снижению в них нефтепродуктов на 75 % (с 9,06 до 2,28 мг/кг) уже на второй год эксперимента и улучшению агрохимических свойств. Максимальная убыль углеводов по итогам трёхлетнего эксперимента составила 95 % на участке ПЗ (биопрепарат+известь+сорбент).

4. pH нефтезагрязненных участков, на которых не проводилась корректировка кислотности (контроль и вариант П1), показал статистически достоверное снижение на 0,5 единиц. Это говорит о том, что загрязнение нефтью приводит к снижению значения pH данных типов почв.

5. На протяжении трех лет исследования в вариантах с внесением биопрепарата, извести и сорбента, либо гумата калия наблюдалось снижение содержания аммонийного азота на 33,4 и 25,1 %, подвижного фосфора на 30,9 и 25,6 % и подвижного калия на 35,7 и 41,7% соответственно. По аналогии с питательными веществами произошло снижение массовой доли органического вещества на 21,1 и 11,1 %. Данное снижение связано с активизацией жизнедеятельности углеводородоокисляющих микроорганизмов.

6. Нефтезагрязнение почвы оказало токсическое влияние на показатели

роста и развития растений (*Secale cereale* L.): среднее значение энергии прорастания на контрольном варианте составляло 1%, а всхожесть семян – 12%. Применение мелиоративных схем привело к снижению фитотоксичности нефтезагрязненных почв. Наибольшие значения показателей энергии прорастания и всхожести семян отмечено в опытах с гуматом калия (16 и 52%) и вермикулитом (38 и 46%) на 40 сутки от начала эксперимента.

7. Остаточное содержание нефтепродуктов, которое не оказывало существенного влияния на всхожесть семян озимой ржи, варьировало от 2,28 до 2,55 мг/кг.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в изданиях, индексируемых Scopus, Web of Science:

1. Nikiforov A. Analysis of ecological condition of taiga topsoil during commercial development // Y. Sivkov, A. Nikiforov. // Journal of Ecological Engineering. – 2018. – V. 19. – Issue 1. – P. 163-169.

2. Nikiforov A. Study of oil migration processes in meadow soils. / Y. Sivkov, A. Nikiforov, N. Fefilov // Journal of Ecological Engineering. – 2019. – V. 20. – Issue 5. – P. 23-26.

Статьи в изданиях, рекомендуемых ВАК:

3. Никифоров А.С. Исследования эффективности применения биодеструкторов нефти в лабораторных условиях / Ю.В. Сивков, А.С. Никифоров // Естественные и технические науки. – 2019. – № 12. – С.103-105.

4. Никифоров А.С. Исследование эффективности биоремедиации нефтезагрязнённых луговых почв юга тюменской области / А.С. Никифоров, Ю.В. Сивков // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2020. – № 2. – С. 41-46.

5. Никифоров А.С. Исследование естественного самоочищения нефтезагрязненных почв юга Тюменской области / А.С. Никифоров, Ю.В. Сивков // Агрохимический вестник. – 2020. – № 5. – С. 75-79.

6. Никифоров А.С. Влияние мелиорантов на динамику численности углеводородоксилирующей микрофлоры нефтезагрязненных почв / А.С. Никифоров, Ю.В. Сивков // Проблемы региональной экологии. – 2020. – №6. – С. 14-20.

Статьи в других изданиях:

7. Никифоров А.С. Алгоритм ликвидации аварийного разлива нефти и нефтепродуктов / А.Ю. Шулегин, Ю.В. Сивков, А.С. Никифоров // Техносферная безопасность. Современные реалии: сборник материалов I Всероссийской научно-практической конференции (21-22 ноября 2019 г., Дагестанский государственный технический университет). – Махачкала: ДГТУ. – 2020. – С. 18-21.

8. Никифоров А.С. Факторы, влияющие на процессы биodeградации

нефти / А.С. Никифоров, Ю.В. Сивков // Нефть и газ: технологии и инновации: материалы Национальной научно-практической конференции: – Т. 2. – Тюмень: ТИУ. – 2019. – С. 32-34.

9. Никифоров А.С. Изменение реакции почвенной среды под воздействием нефтяного загрязнения / А.С. Никифоров, Ю.В. Сивков // Арктика: современные подходы к производственной и экологической безопасности в нефтегазовом секторе: материалы Международной научно-практической конференции: в 2 т. – Том 2. – Тюмень: ТИУ. – 2019. – С. 212-216.

10. Никифоров А.С. Влияние нефтезагрязнения на содержание органического вещества в почве // Экология. Риск. Безопасность: материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Курган: Изд-во Курганского гос. ун-та. – 2020. – С. 119-120.