

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«ПЕРМСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**А. В. Баландина, О. З. Еремченко**

**МИКРОБНАЯ РЕМЕДИАЦИЯ  
НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ АГРОДЕРНОВО-  
КАРБОНАТНЫХ ПОЧВ И ТЕХНОГЕННЫХ  
ПОВЕРХНОСТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ  
В ПОДЗОНЕ ЮЖНОЙ ТАЙГИ**

МОНОГРАФИЯ



Пермь 2016

УДК 631.4  
ББК 40.3  
Б20

**Баландина А. В.**

**Б20** Микробная ремедиация нефтезагрязненных агродерново-карбонатных почв и техногенных поверхностных образований в подзоне южной тайги: монография / А. В. Баландина, О. З. Еремченко; Перм. гос. фарм. акад.; Перм. гос. нац. исслед. ун-т. – Пермь, 2016. – 100 с.

ISBN 978-5-7944-2844-5

Изучены агрохимические и микробиологические свойства нефтезагрязненных агродерново-карбонатных почв и техногенных поверхностных образований на фоне внесения биопрепаратов. На начальном этапе ремедиации нефтезагрязненных почв под действием биопрепаратов ускорились процессы деструкции нефти, одновременно отмечен рост численности углеводородокисляющих бактерий. Состояние почвы и ТПО позволило сформировать покров из сеяных злаков.

Издание предназначено для биологов, географов, геологов, специалистов в области экологии и охраны окружающей среды, учителей, студентов, получающих образование естественнонаучного профиля.

**УДК 631.4**  
**ББК 40.3**

*Печатается по решению кафедры физиологии растений и микроорганизмов Пермского государственного национального исследовательского университета и кафедры микробиологии Пермской государственной фармацевтической академии*

*Рецензенты:* д-р биол. наук, ведущий науч. сотр. Института почвоведения и агрохимии СО РАН **В. С. Артамонова**; канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотр. Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН **Д. О. Егорова**

ISBN 978-5-7944-2844-5

© Баландина А. В., 2016  
© Еремченко О. З., 2016  
© ПГФА, 2016  
© ПГНИУ, 2016

## Содержание

Введение .....	4
<b>Глава 1. Нефть: состав, свойства, влияние на природные объекты .....</b>	<b>6</b>
1.1. Компоненты нефти и их влияние на живые организмы .....	6
1.2. Микробиологическая активность нефтезагрязненных почв .....	9
1.3. Ферментативная активность почв, загрязненных нефтью .....	12
1.4. Показатели химического состояния почв, загрязненных нефтью .....	13
1.5. Критерии оценки степени загрязнения нефтью почвы и ее восстановления .....	16
<b>Глава 2. Методы восстановления нефтезагрязненных почв .....</b>	<b>19</b>
2.1. Агрофизические способы очистки почвы от нефтяных загрязнений .....	19
2.2. Биологическая рекультивация загрязненных нефтью почв .....	20
2.3. Комбинированные биотехнологии рекультивации загрязненных почв от нефти и нефтепродуктов .....	24
2.4. Химические методы очистки почв от нефти .....	26
2.5. Восстановление почв, загрязненных нефтью, с помощью биогумуса .....	27
<b>Глава 3. Условия, материалы и методы исследований .....</b>	<b>32</b>
3.1. Природные условия территории исследований .....	32
3.2. Методы проведения полевых опытов .....	37
3.3. Характеристика препаратов, использованных в ремедиации .....	42
3.4. Методы лабораторных исследований .....	43
<b>Глава 4. Исследования по ремедиации агродерново-карбонатной почвы .....</b>	<b>45</b>
4.1. Изменение свойств почвы на фоне применения биопрепаратов, удобрений и извести .....	45
4.2. Изменение свойств почвы на фоне применения препарата «Альбит» и штаммов <i>Phoma euryrena</i> и <i>Cephaliphora tropica</i> .....	51
4.3. Результаты исследований по ремедиации ТПО. Изменение агрохимических свойств ТПО .....	66
4.4. Биохимическая активность ТПО .....	68
4.5. Изменение микробиологических свойств ТПО .....	71
Заключение .....	75
Список используемой литературы .....	77
Приложения .....	87

## Введение

Нефтяная промышленность признана загрязнителем природной среды, наносящим ущерб биосфере. Отдельные территории вследствие разливов нефти приближаются по состоянию к районам экологического бедствия. Создается угроза устойчивой, часто необратимой, трансформации компонентов природной среды при нарушении нормального функционирования экосистем и ухудшения процессов жизнедеятельности растений, животных, человека.

Нефтезагрязнение сопровождается изменением физических, химических и биологических свойств почв (Пиковский, 1988; Звягинцев, 1989; Солнцева, 1998; Артамонова, 2002; Назарько, 2008; Оборин и др., 2008; Лысак, 2010). Естественное самоочищение почв от загрязнения нефтью и нефтепродуктами может длиться десятилетиями. Традиционные методы восстановления нефтезагрязненных почв (сжигание, закапывание) являются не только малоэффективными, но и экологически вредными. При сжигании нефтепродуктов страдает растительность и животное население; в результате пиролиза нефти и ее компонентов образуются токсичные полициклические ароматические углеводороды. Засыпка нефтяных пятен резко снижает скорость деструкции нефти, создает неблагоприятную анаэробную обстановку и т. д. Поэтому особую актуальность приобретает поиск безопасных для окружающей среды и человека средств и методов биологической ремедиации загрязненных нефтью почв.

Изменение свойств почвы при нефтезагрязнении и скорость деструкции нефти определяются не только дозой поллютанта, но и в значительной степени исходной микробиологической активностью почвы. В условиях подзоны южной тайги исследованы процессы деструкции нефти, изменение микробиологической и биохимической активности почв при нефтезагрязнении. Не смотря на множество работ по восстановлению почв, обилию созданных биопрепаратов (Ившина и др., 1996; Илларионов, 1996; Кристофи и др., 1996; Красавин и др., 2006; Оборин и др., 2008), вне внимания исследователей осталась проблема ремедиации дерново-карбонатных почв, подверженных нефтезагрязнению в районах нефтедобычи предуральяского региона.

В антропогенно нарушенных ландшафтах, в том числе, на территориях добычи, хранения нефти и нефтепродуктов, почвы часто

механически разрушены, на их месте сформированы техногенные поверхностные образования (ТПО). ТПО отличаются особыми свойствами, пониженной биологической активностью и специфическим сообществом микроорганизмов, особенно на фоне загрязнения поллютантами. При рекультивации нефтезагрязненных ТПО первоочередной задачей становится повышение численности и активности углеводородокисляющих микроорганизмов, которые ликвидируют токсический эффект нефти и создадут благоприятные условия для развития растительности.

Целью наших исследований было изучение агрохимических и микробиологических свойств нефтезагрязненных агродерново-карбонатных почв и техногенных поверхностных образований на фоне внесения биопрепаратов. Объектами исследований в данной работе служили нефтезагрязненные агродерново-карбонатные глинистые почвы и техногенные поверхностные образования подзоны южной тайги.

# ГЛАВА 1. НЕФТЬ: СОСТАВ, СВОЙСТВА, ВЛИЯНИЕ НА ПРИРОДНЫЕ ОБЪЕКТЫ

## 1.1. КОМПОНЕНТЫ НЕФТИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ

Нефть – это жидкий полимер, состоящий из большого числа углеводородов разнообразного строения и высокомолекулярных смолисто-асфальтеновых веществ. В нем растворено некоторое количество воды, солей, микроэлементов. Нефть представляет собой смесь около 1000 индивидуальных веществ, из которых большая часть (80–90 %) – жидкие углеводороды с числом атомов углерода в молекуле от 1 до 40 и гетероатомные органические соединения преимущественно сернистые, азотистые и кислородные, содержание которых в нефти не более 4–5 %. Остальные компоненты – растворенные углеводородные газы с числом атомов углерода в молекуле от 1 до 4, их содержание в нефти колеблется от десятых долей до 4 %; вода (от следов до 10 %); минеральные соли (хлориды); растворы солей органических кислот, а также механические примеси. Средний элементный состав нефти (в %): С – 83–87; Н – 12–14; S – 0,5–6,0; N – 0,02–1,7; О – 0,005–3,6.

Нефти всех месторождений мира отличает, с одной стороны, огромное разнообразие видов, с другой – единство ее состава и структуры, сходство по некоторым параметрам. Элементарный состав разнообразных индивидуальных представителей нефти во всем мире изменяется в пределах 3–4 % по каждому элементу (табл. 1).

Главные нефтеобразующие элементы – углерод, водород, азот, сера, кислород. Десятые и сотые доли процента нефти составляют многочисленные микроэлементы, набор которых в любой нефти примерно одинаков.

*Классификация нефти по углеводородному составу*

Свойства нефти и групповой состав	Классы нефти, %			
	метановые	метано- нафтеновые	нафтеновые	нафтеново- ароматические
	(А1)	(А2)	(Б2)	(Б1)
Метановые	40–55	20–40	5–15	0–10
Нафтеновые	35–45	45–60	50–60	46–60
Ароматические	5–10	10–25	20–30	20–35
Выход бензиновых фракций при 200 °С	30–45	25–35	10–25	5–15

В биогеохимическом воздействии нефти на экосистемы участвует множество углеводородных и не углеводородных компонентов, в том числе минеральные соли и микроэлементы. Многие исследователи (Пиковский, 1981; Оборин, 1984; Оборин и др., 2008) отмечают, что легкая фракция нефти оказывает сильное токсическое действие на микробные сообщества и почвенных животных.

С содержанием легкой фракции коррелируют другие характеристики нефти: углеводородный состав, количество смол и асфальтенов. С уменьшением содержания легкой фракции ее токсичность снижается, но возрастает токсичность ароматических соединений, относительное содержание которых растет.

К циклическим углеводородам нефти относятся нафтеновые и ароматические. О токсичности нафтенов сведений не имеется, они даже могут оказывать стимулирующее действие на живые организмы. Ароматические углеводороды – наиболее токсичные компоненты нефти (Петров, 1984; Оборин и др., 2008).

Смолы и асфальтены – высокомолекулярные не углеводородные компоненты нефти, содержащие основную часть микроэлементов нефти, в том числе почти все металлы. Вредное экологическое влияние смолисто-асфальтеновых компонентов на почвенные экосистемы заключается не в химической токсичности, а в значительном изменении водно-физических свойств почвы.

Сернистые соединения (сероводород, меркаптаны, сульфиды, дисульфиды, тиофены, тиофаны, свободная сера) оказывают вредное влияние на живые организмы. Особенно сильным токсическим действием обладают сероводород и меркаптаны.

Токсичные действия одних компонентов могут быть нейтрализованы другими, поэтому токсичность нефти не определяется токсичностью отдельных соединений, входящих в ее состав. Поэтому, оценивая последствия влияния нефти на экосистемы, учитывают влияние комплекса соединений в целом (Гайнутдинов, 1979; Фроловская, 1981; Пиковский, 1988).

Попадая на земную поверхность, нефть оказывается в качественно новых условиях существования: из анаэробной обстановки с очень замедленными темпами геохимических процессов она попадает в аэрируемую среду, в которой огромную роль играют биогеохимические факторы, и прежде всего геохимическая деятельность микроорганизмов (Савкина и др., 1979).

Загрязнение почвы нефтью приводит к резкому изменению ее свойств: почва становится гидрофобной, в связи, с чем резко меняются ее агрофизические и особенно водно-физические свойства. Резко нарушается соотношение углерода и азота, уменьшается содержание доступных растениям питательных веществ (нитратного азота, подвижного фосфора, обменного калия). Эти изменения, а также непосредственное токсическое воздействие поллютантов на растения являются причиной гибели и снижения продуктивности сельскохозяйственных культур на загрязненных почвах (Кромка, 1991; Костина, 1993; Салангинас, 2003; Оборин и др., 2008). Особенно сильным фитотоксическим влиянием обладают легкие фракции нефти.

Вредное влияние тяжелых фракций нефти обусловлено образованием механического барьера между семенами, корневой системой и окружающей средой, затрудняющего водно-воздушный и пищевой режимы. Почвенная биота также испытывает значительное угнетение. Действие нефти на живые организмы почвы в значительной степени определяется ее концентрацией. В низких концентрациях нефть оказывает стимулирующее действие на почвенную биоту, так как она является энергетическим субстратом для большой группы микроорганизмов и содержит вещества, стимулирующие рост и развитие растений (Розанова, 1980; Хазиев, 1981).

Сильное загрязнение почвы нефтью сопровождается острым токсическим действием нефти на живые организмы, особенно в первоначальный период после загрязнения.

Было сформулировано положение о том, что независимо от природы загрязняющего агента изменения микробиоты почвы в ответ на

возрастающие антропогенные нагрузки выражаются в последовательной смене адаптивных зон. Под адаптивной зоной понимается интервал концентраций изучаемого агента, определяющий совокупность изменений активно функционирующего в почве микробного сообщества. Каждая из выделенных зон соответствует определенному уровню антропогенной нагрузки.

Низкому уровню загрязнения нефтью (зона гомеостаза) соответствуют флуктуационные изменения микробной системы почв, которые затрагивают только интенсивность микробиологических процессов, но не имеют негативных последствий для почвенной микробиоты.

Средний уровень загрязнения (зона стресса) приводит к возникновению сукцессионных изменений, которые выражаются в перераспределении доминирования в составе функционирующих в почве микроорганизмов и обладают последствием даже при элиминировании нагрузки. Это сопровождается устойчивыми нарушениями нормального функционирования микроорганизмов. Нефтяное загрязнение вызывает долговременный отрицательный эффект. Губительно влияя на первичную продуктивность и консументы, нефтяное загрязнение нарушает сложившиеся трофические связи зрелой экосистемы, обуславливает упрощение структуры геобиоценоза, сдвиг равновесия (Баталь, 1980).

## **1.2. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ**

В условиях практически полной подавления функциональной активности почвенной флоры и фауны определяющая роль в деградации нефтепродуктов принадлежит микроорганизмам. Разложение углеводов в почве обеспечивается, прежде всего, деятельностью углеводородоокисляющих микроорганизмов, способных в конструктивном и энергетическом обмене оксигенировать углеводородные субстраты, минерализовывать до углекислоты и воды или превращать в соединения, утилизируемые другими группами микроорганизмов.

В настоящее время установлено, что эти микроорганизмы расселяются повсюду, особенно много их там, где в почве имеются газообразные или жидкие углеводороды (Ильин, 1982).

Клетки бактерий, окисляющих газообразные углеводороды, потребляют за час от  $27 \times 10^{-13}$  до  $5 \times 10^{-12}$  мл пропана и метана. Развитие углеводородоокисляющих микроорганизмов может быть настолько

интенсивным, что весь мигрирующий углеводородный поток полностью уравнивается окислительной активностью бактерий, создающей над нефтяной или газовой залежью мощный бактериальный фильтр.

Большинство исследований (Исмаилов, 1985; Пиковский, 1985; Калачникова, 1987; Лебедева, 1988, Оборин и др., 2008) свидетельствуют о том, что почвенные микроорганизмы отвечают на нефтяное загрязнение повышением валовой численности и усилением активности. Прежде всего, увеличивается численность и активность углеводородоокисляющих микроорганизмов, ответственных за подготовительный метаболизм. Численность этих микроорганизмов в загрязненной почве достаточно высока – порядка  $10^{14}$  и  $10^{16}$  клеток на грамм почвы.

Обнаружено увеличение количества узкоспециализированных форм микроорганизмов: окисляющих газообразные углеводороды, твердые парафины, ароматические углеводороды (*Arthrobacter*, *Bacillus*, *Nocardia*, *Candida*, *Brevibacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Sporobolomyces*, *Torulopsis*, *Trichosporon*).

При нефтезагрязнении изменяется численность и других микроорганизмов: актиномицетов, целлюлозоразрушающих микроорганизмов, нитрифицирующих бактерий, грибов (Исмаилов, 1988, Артамонова, 2002; Назарько, 2008; Хабибуллина, 2009).

Численность и видовой состав углеводородоокисляющих бактерий и грибов зависят от конкретных природных условий и типов почв. Группой немецких исследователей из нефтезагрязненных почв и грунтовых вод выделено 1366 чистых культур бактерий, однако, в каждой экологической нише доминировали определенные виды. В нефтезагрязненных почвах Франции наиболее активные деструкторы принадлежат родам *Penicillium* и *Aspergillus*. Из дерново-подзолистой и тундровой почв, загрязненных нефтью, выделено 56 монокультур. Наибольшее количество видов принадлежало к роду *Rhodococcus*, остальные – представители таких родов, как *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Bacillus* (Оборин и др., 2008).

Дерново-подзолистые почвы подзоны южной тайги характеризуются достаточно богатым и разнообразным микробоценозом, в котором доминируют бактерии – гетеротрофы. После загрязнения в первые дни резко снижена микробиологическая и биохимическая активность почвы, окисление нефти идет за счет физико-химических фак-

торов. Через несколько дней активно развиваются углеводородокисляющие бактерии, их содержание превышает фоновый уровень в период до 2 лет. Грибы и актиномицеты также осуществляют деструкцию органических соединений, наиболее часто способность усваивать углеводороды встречается у представителей родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor* и др. Второй этап деградации нефти в Предуралье длится 2–3 года и характеризуется увеличением общей численности грибов, актиномицетов, споровых и неспорообразующих бактерий. В конце этапа снижается общая численность микроорганизмов, в почве остаются в основном сложные полициклические и гетероциклические соединения, обладающие канцерогенными свойствами (Оборин и др., 2008).

В научной литературе встречаются сведения о подавлении активности почвенной микрофлоры при нефтяном загрязнении (Самсонова, 1982). Засоление почвы нефтезагрязненными водами тормозит развитие бактерий, растущих на МПА и крахмальном агаре, грибов, актиномицетов, азотобактера, аммонификаторов. Нефтяное загрязнение снижает видовое разнообразие микроорганизмов за счет отбора немногочисленных видов с повышенной метаболической активностью (Костина, 1993; Великанов, 1997, Лысак, 2010). Поэтому повышение биогенности нефтезагрязненных почв, увеличение катаболической активности может быть обусловлено увеличением численности микроорганизмов и изменением структуры комплекса почвенных организмов.

Одна из важнейших функций микробных сообществ – гидролиз наиболее распространенного в почвах биополимера – целлюлозы. В нефтезагрязненной почве происходит регрессия активности целлюлозоразлагающих микроорганизмов. Одной из причин этого может быть низкое содержание подвижных соединений азота в загрязненной почве. Слабая активность этих микроорганизмов связана также с неблагоприятным водно-воздушным режимом и низким содержанием свежих растительных остатков (Кромка, 1991).

В почве загрязненной нефтью обнаруживаются почти все группы микроорганизмов, участвующие в окислительно-восстановительной трансформации азота. Различный уровень активности микроорганизмов, осуществляющих круговорот азота, обусловлен микроразнообразием физико-химических условий – нефть, пропитывая почвенные частицы, ухудшает доступ кислорода (Евдокимова, 1993). Понижение

концентрации кислорода благоприятствует развитию анаэробных микроорганизмов, развитие аэробной микрофлоры, например грибов, затормаживается.

В почве загрязненной нефтью в процессе разложения нефтеуглеводородов (особенно парафинов) создаются условия, лимитирующие рост и развитие нитрифицирующих бактерий.

Конечно, не все микроорганизмы, выделяемые из почв, загрязненных нефтью, являются углеводородокисляющими. Определенные виды микроорганизмов окисляют углеводороды до промежуточных продуктов, последние могут служить источником питания для других групп микроорганизмов. Как биосистема комплекс почвенных микроорганизмов динамичен; состав биоценозов, его структура изменяются не только в результате нефтяного загрязнения, но и непрерывно в ходе длительного и сложного процесса биологического разложения углеводородов. Другими словами, биодegradация углеводородов, протекающая в пространстве и во времени, определяет и направленность микробных сукцессий.

### **1.3. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ**

Будучи неклеточными соединениями белковой природы, ферменты почв иммобилизованы почвенными коллоидами, что обеспечивает их активность. Углеводороды нефти могут снижать емкость их иммобилизации, что в большей степени уменьшает их устойчивость к воздействию и каталитическую активность.

Нефтяные углеводороды, обуславливая микробную сукцессию, определенным образом влияют на биохимические процессы почв. Знание почвенных биохимических процессов дает возможность сознательно управлять биогенностью почвы.

При внесении в почву 100–200 т/га нефти росту численности микроорганизмов соответствовало повышение активности каталазы. Повышение вносимой в почву нефти до 400–1000 т/га вызывало снижение активности этого фермента, а также активности гидролитических и окислительных почвенных ферментов. Интенсивность дыхания почв была прямо пропорциональна численности микроорганизмов и активности почвенных ферментов (Гаджиева, 1988).

По мере снижения скорости биологического разложения, связанной со снижением легкоразлагаемых углеводородов, каталазная ак-

тивность снижается, в процессе самоочистки приближается к таковой в незагрязненной почве. Нефтяные углеводороды полностью подавляют дегидрогеназную активность почвы. Через 3 месяца после загрязнения, несмотря на то, что около 45–50 % нефти подвергается разложению, дегидрогеназная активность еще не восстанавливается (Хазиев, 1988).

В круговороте углерода в биогеоценозе особую роль играют почвенные гидролазы гликозидов, особенно инвертаза. В наиболее загрязненной почве она значительно снижается. Ее снижение может быть связано с низкой активностью целлюлозоразлагающих микроорганизмов и снижением в почве содержания дисахаридов, а также ингибированием роста растений как основных источников этого фермента (Мукатанов, 1980). Отмечено также снижение протеолитической активности почв. Все процессы в почве, в том числе микробиологические и ферментативные, взаимосвязаны, взаимообусловлены и тесно скоординированы таким образом, чтобы обеспечить жизнедеятельность экосистемы, находящейся в состоянии динамического развития (Самосова, 1979).

Изменение количественного и качественного состава органических веществ почвы в результате поступления нефти и нефтепродуктов ведут к нарушению исторически сложившихся в естественных условиях взаимоотношений в системе почвенные животные – растительность – почвенные микроорганизмы. Это способствует глубокому изменению отдельных звеньев биоценозов, созданию новой экологической обстановки с соответствующим количественным составом и общим числом живых организмов в почве (Сапожников, 1996).

#### **1.4. ПОКАЗАТЕЛИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЮ**

Подщелачивание в верхних горизонтах почв наблюдается при свежем нефтяном загрязнении и засолении нефтепромысловыми сточными водами (НСВ), что обусловлено, по всей видимости, развитием осолонцевания почв вследствие внедрения ионов натрия в почвенный поглощающий комплекс. В почвах под влиянием НСВ отмечалось резкое увеличение содержания обменного натрия и формирование техногенных солонцов и солончаков (Гайнутдинов, 1979; Солнцева, 1998; Сулейманов, 2010).

В почвах, загрязненных нефтью, ухудшается азотный режим, уменьшается содержание подвижных фосфора и калия. Изменения, происходящие при загрязнении нефтепродуктом, в первую очередь связаны с нарушением водно-воздушного режима в результате заполнения порового пространства нефтепродуктами, склеивания структурных отдельностей и образования битуминозной корки. В результате первичные окислительные условия в почвах меняются на окислительно-восстановительные и восстановительные. Возникновение анаэробно-биозиса приводит к подавлению нитрификации и усилению аммонификации (Солнцева, 1998; Салангинас, 2003; Оборин и др., 2008).

На местах разрывов нефтепроводов накопление аммиачной формы азота наблюдается уже в верхних горизонтах, при этом содержание нитратного азота уменьшается иногда до следовых количеств. При сильном засолении почвы НСВ на фоне загрязнения нефтепродуктами происходит накопление как аммиачного, так и нитратного азота. На участках с относительно давним загрязнением, а также при слабом засолении содержание подвижных форм азота уменьшается. В суперквальных ландшафтах, как правило, накапливается большое количество нитратного азота и подвижного фосфора по всему профилю, что обусловлено как внутрпочвенными, так и миграционными процессами, в том числе привносом с сельскохозяйственных угодий. При загрязнении почв нефтепродуктом на фоне слабого и среднего засоления отмечается некоторое уменьшение количества подвижных фосфатов в почвах. Уменьшение содержания подвижных фосфатов при загрязнении нефтепродуктом объясняют иммобилизацией неорганического фосфора микроорганизмами и образованием фосфористого водорода. Кроме этого, вероятно, уменьшается переход  $P_2O_5$  в вытяжку в результате гидрофобизации почвенных частиц вследствие обволакивания их нефтяной пленкой. При очень сильном засолении, независимо от уровня загрязненности нефтепродукта, содержание подвижных фосфатов может и увеличиваться (Евдокимова, Мозгова, 1993).

Накопление аммонийного азота в загрязненных почвах связано с процессом разложения органического вещества, в том числе привнесенных с НСВ нефтепродуктов, и с торможением процесса нитрификации, т. е. высокоминерализованные растворы, являются своеобразными ингибиторами нитрификации. Механизмы их действия на процессы нитрификации разнообразны (Никитин, 1986). Они могут блокиро-

вать активный центр ферментов, участвующих в процессах трансформации азота, или же избирательно подавлять жизнедеятельность нитрифицирующих микроорганизмов, осуществляющих в одних случаях первый, а в других – второй этап нитрификации. В результате обеспечивается временная консервация в почве азота в аммонийной форме. Это подтверждается кинетическими характеристиками скорости минерализации почвенного азота и процесса нитрификации при различных уровнях засоления почвы.

Под влиянием НСВ изменяется и содержание подвижного фосфора в почве. Эти изменения связаны, прежде всего, с возрастанием подвижности фосфатов в условиях сдвига реакции среды в кислую сторону на начальных этапах эксперимента. Однако к его концу содержание подвижного фосфора уменьшается и наиболее значительно – на фоне 2 и 4 %-ого засоления почвы.

Содержание подвижного калия под влиянием НСВ увеличивается практически сразу же, независимо от степени засоления почвы. Абсолютные значения его показателей превышают содержание в незагрязненной почве на 12–14 %.

Закономерности распределения содержания углерода в загрязненных нефтью почвах имеют свои особенности в различных элементарных ландшафтах: элювиальном, трансэлювиальном и супераккумулятивном (Пиковский, 1981). В элювиальных элементах ландшафта максимальное накопление нефтепродукта наблюдается в гумусово-аккумулятивном горизонте, где количество привнесенного углерода составляет 3,34 %. Несмотря на рыхлое сложение черноземов типичных и в связи с этим глубокое просачивание нефтепродукта, отмечается некоторая внутрипочвенная неоднородность распределения загрязнителя. Так, в подпахотном слое на глубине 40–60 см происходит накопление содержания углерода: по сравнению с контролем его содержание возрастает на 1,1 %, а в выше- и нижележащих слоях – всего на 0,41 и 0,43 %.

В трансэлювиальных ландшафтах с небольшими уклонами и на выровненных пространствах нефтепродукт растекается медленнее и распространяется на меньшей площади, но концентрация загрязнителя в таких случаях значительно выше. Так, на месте прорыва 2-месячной давности на выровненном участке, содержание углерода в пахотном слое чернозема типичного, составило 11,2 %, в 10 м от него – 10,04 % против 2,27 % в незагрязненной почве, количество привне-

сенного углерода достигает 8–9 %, в то время как на склоне (15°–20°) эта величина не превышает 3 %. Ввиду небольшого срока, прошедшего после загрязнения, существенное повышение содержания органического углерода охватывает только иллювиальный горизонт. При старых загрязнениях (2–3 года) на пологих склонах наблюдается глубокое проникновение углерода нефтепродукта. При этом в верхних горизонтах его содержание постепенно уменьшается.

В супераквальных элементах ландшафта стекающие с водоразделов нефтепродукты вместе с аллювиальными и делювиальными наносами аккумулируются в профиле и проникают на большую глубину. Признаки загрязнения в виде темной окраски и характерного запаха наблюдаются на глубине 140–160 см.

Содержание углерода в гумусово-аккумулятивных горизонтах при недавних загрязнениях на выровненных задернованных участках, как правило, на 5–8 % выше, чем в незагрязненных почвах. Со временем максимум накопления привнесенного углерода смещается вниз по профилю, но и через 20–30 лет в верхних слоях обнаруживается 2–3 % привнесенного углерода.

## **1.5. КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ НЕФТЬЮ ПОЧВЫ И ЕЕ ВОССТАНОВЛЕНИЯ**

Процессы самоочищения почв, загрязненных нефтью, – сложное природное явление с участием физико-химических процессов и процессов, осуществляемых микроорганизмами и животными, а также растениями. Процесс самоочищения земель, загрязненных нефтью, тесно связан с ландшафтно-климатическими условиями местности. Процесс самоочищения условно разбит на несколько этапов, каждый из которых характеризуется изменениями, происходящими с углеводородами нефти и почвенным биоценозом.

До сегодняшнего дня отсутствуют научно-обоснованные и утвержденные государственные стандарты на допустимое содержание нефти и ее компонентов в почвах (ПДК). Ю. И. Пиковский (1988) предложил следующие критерии экологической оценки нефтяного загрязнения и эффективности рекультивации:

1) интенсивность, загрязнения, оцениваемая в весовых процентах содержания нефтепродуктов в органогенном почвенном горизонте. До 10 % – слабая степень; от 10 до 40 % – средняя степень; более 40 % – сильная степень загрязнения;

2) давность загрязнения (загрязненные нефтепродуктом участки делятся на очень свежие – до 1 года момента аварии, свежие – 1–3 года и старые – более 3 лет). О глубине естественной биологической деградаци (К<sub>i</sub>) экстрагированных нефтепродуктов судят по коэффициенту биодеградаци и степени биологического окисления (КО) нефти. Нефтяные продукты, выделенные из почв свежих разливов, имеют значения К<sub>i</sub> от 0,7 до 4,0–6,0 и КО от 10 до 75 %. Высокие концентрации остаточных нефтепродуктов (более 25 %), представленных асфальтено-смолистыми фракциями и не содержащими парафиновых углеводородов, говорят о низкой скорости протекания процессов естественной рекультиваци почв (Полянский, 2001).

Для оценки степени воздействия источника загрязнения или загрязнителя на окружающую среду, используют также нормативы допустимости этого воздействия: предельно допустимый выброс, предельно допустимая экологическая нагрузка, предельно допустимая концентрация вредного вещества в среде и некоторые другие.

Эффективность рекультивационных работ должна оцениваться по состоянию живого надпочвенного покрова (например, численность различных групп микроорганизмов в почве может служить показателем активности процессов самоочищения почвы от нефтяных загрязнений, а изменение соотношения их численности и динамика микробиологических процессов – индикатором состояния микробиоценоза почвы при загрязнении ее нефтью) и концентрации остаточного нефтепродукта. Рекультивацию можно считать завершенной после создания густого и устойчивого травостоя, при этом концентрация остаточных нефтепродуктов со значениями КО > 90 % не должна превышать в среднем по участку 8,0 весовых % в органогенных и 1,5 % в минеральных и смешанных грунтах (Звягинцев, 1989).

Биологическая активность – важный показатель, отражающий интенсивность метаболических процессов в почве. Не будучи прямыми факторами урожая, показатели биологической активности характеризуют условия, благоприятные или неблагоприятные для питания растений (Балаян, 1993). Этот фактор тоже имеет большое значение при определении степени загрязненности почв.

*Целлюлозолитическая активность почвы* – показатель, характеризующий способность почвы к разрушению органического материала, поступающего в почву в виде растительных остатков. Чем он выше, тем быстрее в почве разлагаются корневые и наземные части рас-

тений. При этом освобождаются элементы питания, необходимые растениям (Звягинцев, 1991).

Каталазная активность – один из показателей биологической активности почвы, отражающий интенсивность и направленность биохимических процессов в ней. Каталазу синтезируют практически все живые организмы, поэтому данный фермент всегда можно обнаружить в почве, что также можно использовать при оценке загрязненности почв нефтепродуктами (Звягинцев, 1991).

Выше было показано, что почвенная микрофлора может служить критерием степени загрязнения почв нефтепродуктами. Почвенные бактерии изменяют количественный и видовой состав в зависимости от степени загрязнения их мест обитания. Однако, это не единственные представители микрофлоры почв, активно реагирующие на загрязнение почв нефтью и нефтепродуктами. Так, в этом отношении стоит упомянуть о таких почвенных представителях, как грибы; их численность является надежным показателем степени угнетения почвенной экосистемы (Полянский и др., 2001; Хабибуллина, 2009). Для установления ингибирующего действия нефти на микробные сообщества можно использовать такие показатели, как длина грибного мицелия, численность грибных спор, профильное распределение микромицетов, жизнеспособность грибных спор, соотношение спор грибов и дрожжеподобных клеток.

По А. М. Полянскому и др. (2001), степень загрязнения нефтью максимальна, если в верхних горизонтах почв зафиксированы уменьшение длины грибного мицелия; численность грибных спор и, соответственно, биомассы грибов ниже на порядок и более; отличный от нормального характер профильного распределения микромицетов; снижение доли жизнеспособных гиф не только в верхних, но и в нижних горизонтах.

## **ГЛАВА 2. МЕТОДЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ**

Нефть и нефтепродукты являются одними из основных загрязнителей среды, оказывающих токсическое действие на живые организмы (Звягинцев, 1989).

Для оздоровления загрязненных почв необходимо создание эффективных технологий их очистки. На настоящий момент применяются весьма разнообразные технологические приемы, включающие механические, химические и биологические методы для осуществления поставленных целей.

### **2.1. АГРОФИЗИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ОЧИСТКИ ПОЧВЫ ОТ НЕФТЯНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ**

В целях восстановления почв, поврежденных действием нефти и нефтепродуктов, применяют рыхление, дискование и глубокую вспашку (Голованов, 1999). Рыхление почв создает оптимальный водный, газо-воздушный и тепловой режимы, что положительно влияет на микробиологическую и ферментативную активность, способствует улучшению условий жизнедеятельности аэробных микроорганизмов, которые, в свою очередь, являются основными деструкторами углеводов (Назаров, 1998).

S. Fann с сотрудниками (1998) для повышения эффективности очистки от нефтяных загрязнений предлагают нефть, поникшую на глубину в почву, выдувать горячим воздухом. Рекомендуются нефть вымывать потоками воды в направлении, обратном проникновению загрязнения, и отсасывать с помощью вакуума в емкость для сбора (Фозекош, 1999; Смирнов, 2000).

Предложен способ восстановления экологически чистого грунта путем промывки его горячей (70–90°C) водой и отстоя в специально изготовленной установке (Соколов, 1999; Головин, 2001). Однако, способы очистки, основанные на промывке и продувке загрязненных поверхностей, нередко нарушают плодородный способ почв, чем наносят ей еще больший ущерб. Известны способы и устройства для очистки загрязненной поверхности, которые эффективны при очистке твердой поверхности от разлившейся нефти без существенного нарушения растительного покрова, однако они малоэффективны для рекультивации почв, загрязненных нефтью на некоторую глубину.

Извлечение проникшей на глубину почвы нефти затруднено при очистке загрязненных участков. К тому же из практики известно, что таких загрязнений значительно больше, чем поверхностных загрязнений почв и растительного покрова.

Предлагают использовать для очистки нефтезагрязненной почвы хлопковые отходы прядильного производства, которые формируют в маты (Севастьянов, 1995). Разработаны и испытаны методы борьбы с нефтяными загрязнениями с применением измельченного и термообработанного торфа (Алексеева, 2000); лессорба - продукта термической обработки мха и древесины (Чугунов, 2000); постоянного электрического тока (Королев, 1998; Muller, 1999); хитина (Richmond, 2001) и ультразвука (Ившина, 1996); обработку почвы агентом-рыхлителем и птичьим пометом (Шулаева, 2004); использование гранулированного низинного торфа, насыщенного нефтеокисляющими микроорганизмами с места аварии (Алексеева, 2004).

## **2.2. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕКУЛЬТИВАЦИЯ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ ПОЧВ**

Биологические методы очистки от нефтяных загрязнений сейчас становятся все предпочтительнее, по сравнению с другими. Они направлены на мобилизацию естественных природных деструкторов нефти, что позволяет не усиливать нагрузку на поврежденные почвы. Не перечисляя всего их многообразия, скажем, что, например, в настоящее время существует три основных направления биологической очистки почв (по Bourguin, 1990):

1) биологическая обработка твердой фазы, заключающаяся в обеспечении оптимальных условий для развития собственной почвенной микрофлоры;

2) биологическая обработка в реакторах, предусматривающая обработку загрязненной почвы в виде пульпы в биореакторе, в котором обеспечивается за счет перемешивания контакт микроорганизмов с водонерастворимыми загрязнителями, и создаются условия для осуществления процесса микробной деградации;

3) биологическая обработка *in situ*, основанная на внесении в почву микроорганизмов – деструкторов загрязнения.

## *Деструкция нефти почвенными микроорганизмами*

Большая роль среди естественных механизмов самоочищения почв от загрязнения нефтью принадлежит микроорганизмам (Паничкина, 1997).

Свойства этих микроорганизмы используются в рекультивации почв, загрязненных нефтью.

В качестве деструкторов нефти применяют различные бактерии, использующие углеводороды нефти в качестве субстрата питания. Сюда относятся бактерии рода *Acinetobacter Valentis* (Капотина, 2001); штамм АДН-1 (представитель рода *Acinetobacter*), растущий за счет использования алканов неочищенной нефти (Frailt, 1998); штамм *Acinetobacter calcoaceticus* (Saccettu, 1998); штамм бактерий *Acinetobacter* sp. АЗ (Desai Anjana, 1996); штамм бактерий *Acinetobacter oleovorum* ВСБ-712 (Янкевич, 2006).

Из нефти нефтепровода «Дружба» выделили штамм бактерий *Rhodococcus species* MFN Ас-1558, который утилизирует нефть в широком диапазоне температур, и уже на 5-е сутки нефтепродукты утилизируются на 75–95 % (Кристофи и др., 1996); *Rhodococcus erythropolis* ВКПМ Ас-1667, выделенный из нефтезагрязненной почвы, обладал высокой скоростью утилизации нефти (Быков, 2005). Штамм *Kurthia zopfii* 7-204 способен окислять трудно окисляемые ароматические углеводороды, штамм стабилен и устойчив при непрерывном процессе очистки (Бирюков, 2006).

Нефтеутилизирующими свойствами обладал штамм бактерий *Pseudomonas alcaligenes* В-1 В-7529 (Акимова, 1998); загрязненную почву обрабатывали бакпрепаратом со штаммами *Pseudomonas fluorescens* КО (ВНИИСХМ Д-619) и *Pseudomonas aeruginosa*, в качестве наполнителя служили отходы бурого угля КОА-3(ННИИСХМ Д-609) (Красавин, 2006). *Pseudomonas fluorescens* В-6844 в составе биопрепарата «Центрин» активно утилизирует углеводороды нефти (Харченко, 2006); *Pseudomonas graminis* ВКПМ В-8615 штамм выделен из воды, загрязненной нефтью (Власов, 2005); штамм бактерий *Pseudomonas alcaligenes* MEV, *Pseudomonas putida* 9 обладал свойствами влиять на нефтяное загрязнение не только в почве, но и на поверхности воды (Воробьева, 1998). Выделенный из ризосферы пшеницы, консорциум штаммов микроорганизмов *Bacillus brevis* и *Arthrobacter species* использовали для очистки воды и почвы от нефти и нефтепродуктов (Логинов, 2004). Для очистки почвы от нефтяных загрязнений

применили нефтеокисляющий штамм *Phodococcus erythropolis* 1339 D, способный расти в среде с сульфидами (Monticello, 1997; Абдрахманова, 1998). Мезофильные сульфидвосстанавливающие штаммы Нхд3 и Рдн3, восстанавливают сульфат до сульфида (Widdel, 1998). Из нефтяных месторождений Вьетнама (Helga et al, 1995) выделили 4 штамма галофильных (*Desulfovibrio* sp.) сульфатредуцирующих бактерий. Штамм *Arthrobacter* sp. МИГИ-89, ВКПМ-1576 используется для разложения сырой нефти и нефтепродуктов (Лукашина, 1999), наиболее активно потребляя тяжелые фракции нефти. Для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов используется штамм *Arthrobacter* sp. ОС-1 (Лаврикова, 1997), депонированный под № Ас-1556 со степенью биодegradации нефти в течение 30 дней – 98–99 %. Большую роль в деструкцию нефти и нефтепродуктов вкладывают цианобактерии рода *Oscillatoria Vaucher* 1803 (Шадрина, 2001); бактерии *Thiobacillus*, переносящие электроны с серы и азота (Kourachov, 2000).

Эффективным считается способ очистки почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами путем введения в загрязненные участки питательных веществ и спор активного нефтеусваивающего штамма микромицетов, например, штамм *Mycobacterium species* ЦКМ В-65Б (Чолоденко, 1997), некоторых (например, *Fusarium* sp.) плесневых грибов (Ягофарова, 1998); использование штамма гриба *Aspergillus niger* S-1. В качестве торфяного наполнителя использовали верховой сфагновый мох или верховой слаборазложившийся сфагновый торф (Чиркунов, 2007).

Некоторые авторы указывают на то, что лучшие результаты по очистке почв, загрязненных нефтью, можно добиться, если в почву не вносить углеводородокисляющую микрофлору, а создавать оптимальные условия для функционирования микробного биоценоза почвы загрязненных нефтью, участвующего в деструкции нефти (Иларионов, 2001).

Выяснено, что наиболее эффективным является использование не чистых, а смешанных культур нефтеокисляющих микроорганизмов, что расширяет диапазон окисляемых нефтепродуктов (Никитина, 1996).

Для деструкции нефти и нефтепродуктов применяют консорциум штаммов бактерий *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes faecalis* (Цупрун, 1996), которые характеризуются высокой окислительной способностью, устойчивостью в длительном

непрерывном и периодическом процессе; ассоциацию микроорганизмов *Rhodococcus opacus* 7Ф, *Rhodococcus opacus* 29Ф, *Rhodococcus erythropolis* 5Д и *Rhodococcus ruber* 1В, усваивающих минеральные формы азота (Самсонова, 2000); консорциум дрожжей *Candida maltosa* штаммов ВКПМ У-2256 и У-2257 (Авчиева, 1997); нистатин-резистентные культуры *Candida lipolytica*, *Cladosporium resinae* (Паников, 1998); консорциум штаммов микроорганизмов-деструкторов: *Alcaligenes denitrificans*, *Bacillus species*, *Pseudomonas putida*, *Aeromonas species* (Старовойт, 1996), предназначенный для очистки почв, почвогрунтов, вод от нефти, нефтепродуктов и остаточной замазученности. Из прибрежной зоны юга Дальнего Востока выделен консорциум штаммов микроорганизмов – деструкторов: *Aeromonas species*, *Alcaligenes dendritificans*, *Atrhrobacter species* для очистки почв, почвогрунтов, вод от нефти, нефтепродуктов и остаточной замазученности (Голодяев, 1996).

На основе микроорганизмов-деструкторов разработаны многочисленные биопрепараты. Биопрепараты для очистки объектов окружающей среды от нефти и нефтепродуктов включают аэробные нефтеокисляющие бактерии, минеральные биодобавки и наполнитель.

В биопрепаратах в качестве аэробных нефтеокисляющих бактерий может содержаться, например, консорциум мезофильных бактериальных штаммов *Pseudomonas putida* ПИ Ко-1, *Pseudomonas fluorescens* ПИ-896, *Micrococcus species* ГИ Ку-1 и консорциум психрофильных бактериальных штаммов *Pseudomonas putida* ПИ ЛБХ-8, *Xanthomonas species* ГИ ЛБХ-7 (Чумакова, 1999).

Заслуживает рассмотрения отечественный биодеструктор «Дизойл» (Шишова, 1999), который очищает территории, загрязненные нефтепродуктами на основе непатогенных штаммов дрожжей, причем количество нефтепродуктов в почве снижается на 60–78 %.

Разработаны биопрепараты «Нафтокс» (Орлова, 1999); «Родер» (Калюжный, 1999, 2001; Murugina, 2000), состоящий из высокоактивных сапрофитных и непатогенных бактерий; биопрепарат «Родотрин» (Барахнина, 1999); бактериальный препарат «Десна», содержащий группы микроорганизмы, таких как азотобактер (Нульга, 1998); препарат «Путидойл» с бактериальным штаммом *Pseudomonas putida*-360 (Зинчук, 1998); препарат «Биодеструктор» (Акопова, 1999, 2000; Капотина, 2001); биопрепарат «Деворойл» (Сидоров, 1996); «Руден», представляющий собой биомассу психрофильных бактерий рода

*Rhodococcus* (Янкевич, 1996); препарат «Биосэт», включающий три вида микроорганизмов и пероксид кальция (Пономарева, 1998); био-препарат для рекультивации территорий и акваторий, загрязненных нефтепродуктами, на основе способности альгобактериальных сообществ к деструкции нефти (Петровичева, 1998); биопрепарат-нефтедеструктур с культурой бактерий *Bacillus cereus* 3К и с удобрением в виде птичьего помёта, содержащего микроорганизмы *Clavibakter, michiganes, Bacillus amylooligoglutaceens, Micrococceus varians* (Архипенгко, 2007).

Для биодegradаций нефтяных загрязнений успешно применяют поверхностно-активные вещества, выделенные из микроорганизмов (Москвиченко, 1995; Иванов, 1996; Лапин, 1998; Infante, 1999; Xia, 2000).

Разработан способ биологической очистки, который позволяет предотвращать распространение загрязнения на прилегающую территорию (Никитина, Голодяев, 1996). На определенном расстоянии от места загрязнения возводят биологический барьер, в котором происходит утилизация нефтепродуктов нефтеокисляющими микроорганизмами. Построение биологического барьера позволяет сохранить микробоценоз, присущей данной территории, и сохранить почвы для использования в хозяйстве.

### **2.3. КОМБИНИРОВАННЫЕ BIOTEХНОЛОГИИ РЕКУЛЬТИВАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ ОТ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ**

А. В. Ладыгиным (1999) был разработан и испытан сорбент для очистки природных вод и почвы от нефтяных загрязнений «Москат». Сорбент содержит алюмосиликатный носитель и микроорганизмы *Rhodococcus sp.* штамм № 30, отличающийся тем, что в качестве носителя содержит термообработанный перлит или вермикулит, и дополнительно аммиачную селитру и суперфосфат.

Другие технологии включают биохимическое разложение нефти и нефтепродуктов рыхлением почвы с последующим нанесением методом распыления инокулятов природных нефтеокисляющих штаммов бактерий либо природных ассоциаций микроорганизмов (Дубровиченко, 1998; Липкер, 1998; Развага, 1998; White, 1998).

В. М. Кондрашенко с сотрудниками (1999), предложен комплексный процесс разделения фаз в специальном биореакторе в присут-

ствии воды, воздуха и микробного сообщества, являющегося активным катализатором процесса флотационного отделения нефти и нефтепродуктов от грунта. Внесенный в биореактор загрязненный грунт, благодаря придонной аэрации и перемешиванию, находится в псевдооживленном слое, что увеличивает поверхность фаз и способствует ускорению процесса отделения нефти и нефтепродуктов.

При засолении нефтепромысловыми пластовыми водами В.В. Севастьяновым (1995) предложен способ, который включает поэтапную, в течение нескольких лет агротехническую и фитомелиоративную очистку земель путем влагозадержания и влагонакопления, внесения химического мелиоранта, посева солеустойчивых трав. В течение каждого года проводят ряд соответствующих технологических операций, включающих агротехнические и фитомелиоративные мероприятия в определенной последовательности. Полный цикл очистки загрязненных земель способствует рассолонцеванию и рассолению загрязненных земель с вытеснением из почвенно-поглощающего комплекса обменного натрия с заменой его кальцием (Ермолаев, 1992).

Другие авторы (Дудкин, 1992; Кирилова, 1998) считают, что одним из самых эффективных способов мелиорации является посев люцерны и других бобовых культур, а также многолетних трав с разветвленной корневой системой, что создает благоприятный воздушный режим почв, обогащает почву азотом и биологически активными соединениями, ускоряющими процесс очистки.

Нефтяное пятно фиксировали сорбирующим материалом – торфом, содержащим нефтеразлагающие микроорганизмы и элементы минерального питания, оригинальность способа в том, что его можно использовать в зимний период (Радченко, 2004).

По мнению Е. А. Спиридовича и Н. Б. Пыстиной (1996), для биологической рекультивации лучше всего использовать овсяницу красную и овечью, вейник гренландский и лапландский, мятлик альпийский, арктический и луговой; луговик дернистый и сизый. Д. С. Дзыбов (1996) особо подчеркивает необходимость применения для биологической рекультивации растений местной интродукции, и не рекомендует культурные сорта из других, даже близких регионов. Рекультивация почв в природных условиях Крайнего Севера осуществляется на фоне известкования, внесения минеральных удобрений, обработки загрязнённых участков биопрепаратом со штаммом *Bacillus cereus* 3К (Алексеев, 2006).

Для очистки и рекультивации загрязненных нефтепродуктами почв разработана комплексная биотехнология «Сойлекс», включающая последовательное использование ряда биопрепаратов (Бойкова, 1997), содержащих консорциум мезофильных бактериальных штаммов *Pseudomonas putida* ПИ К-1, *Pseudomonas fluprescens* ПИ-896, *Micrococcus species* ПИ К-1 и консорциум психрофильных бактериальных штаммов *Pseudomonas fluprescens* ГИ ЛБХ-3, *Xanthomonas species* ПИ ЛБХ-7. На первом этапе проводят механические работы. На втором этапе используют биопрепарат «Сойлекс» на основе активной ассоциации микроорганизмов-деструкторов и минеральных солей. Третий этап биотехнологии предусматривает выращивание на рекультивируемых почвах растений – сидератов, значительно обогащающих почву и ускоряющих процесс биовосстановления; предполагается также использование ряда сельхозбиопрепаратов, предназначенных для рекультивации и увеличения плодородия почв. Комплексная биотехнология позволяет ускорить очистку почвы от нефтепродуктов, восстановить ее биологическую активность и повысить плодородие за счет восстановления природных биоценологических связей.

## 2.4. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЧИСТКИ ПОЧВ ОТ НЕФТИ

Для очистки почв, загрязненных нефтью, применяются и методы химической очистки. Описываются (Extraction, 2000) методы очистки с использованием почвоочистительных смесей и растворителей. Для уничтожения нефтезагрязнений используют широкий набор соединений: различные моющие средства (Смирнов, 1999, 2000), керосин (Solvent, 1996), перекись водорода (Логинов, 2002), а также смесь перекиси водорода и ионов двухвалентного железа (Chen Chen, 1998).

О. Б. Абрамовой и др. (1998) разработана биотехнология для очистки металлосодержащих нефтешламов, по которой их обрабатывают известковым молоком до рН 6,5–7,5 для полного перевода катионов и анионов тяжелых металлов в малорастворимые гидроксиды и соли. Затем в образующуюся смесь вводят эффективные консорциумы либо ассоциации природных штаммов нефтеокисляющих бактерий. После полного разложения нефтепродуктов в смесь вводят известковое молоко до рН 8–9,5, затем воздействуют биомассой коагулянта на основе Fe (III) с образованием шламов и очищенной воды, которые разделяют технологическими приемами.

Обработку загрязненной почвы осуществляют путем ее диспергирования, под давлением струей водного раствора препарата ЛАРН, содержащий моющие и диспергирующие средства и гелиобразные (Паничкина, 1997).

Как утверждает А. Н. Иванов (2001), гуминовый препарат эффективно сорбирует и нейтрализует органические экотоксиканты. Он связывает в нерастворимые формы, неусваиваемые растениями, токсичные тяжелые металлы. Одновременно с обработкой штамма углеводородокисляющими микроорганизмами добавляются минеральные, азотные или фосфорные удобрения (Маркалова, 2006). Другой способ включает обработку поверхностей сухим активным илом целлюлозно-бумажных предприятий, введение углеводно-минеральной добавки для дополнительной аэрации добавляют солому, известь или гипс, а затем проводят агрохимические мероприятия (Онегова, 2006).

В настоящее время созданы удобрения на основе разработанных штаммов микроорганизмов, которые успешно применяются для очистки почв, загрязненных нефтью (Твердюков, 1995). Например, удобрение на основе переработанного посредством микробиологической ферментации помета птиц и животных, а также активных непатогенных штаммов микроорганизмов или ассоциации микроорганизмов, способных вызывать биodeградацию нефти и нефтепродуктов (Сидоренко, 1999).

## **2.5. ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЬЮ С ПОМОЩЬЮ БИОГУМУСА**

Для очистки почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, успешно применяют биогумус. Биогумус содержит много микроорганизмов, популяции которых еще не успели стабилизироваться в загрязненной почве (Мельник, 1998). Биогумус повышает активность биологических процессов в почве и увеличивает интенсивность ее дыхания; при однократном внесении биогумуса не удается восстановить численность нитрификаторов и актиномицетов, исходного уровня эти величины достигают при повторном внесении (Чекановская, 1960; Стриганова, 1988; Морев, 1989).

В 1959 году в университете штата Калифорния была выведена новая раса червей – калифорнийский красный гибрид. В отличие от обычных червей (которые живут 4 года) калифорнийский гибрид живет долго (16 лет) и плодотворно; при хороших условиях за год от од-

ного червя можно получить до 1500 молодых особей (Butt, 1993; Мельник, 1997). Успешно используются для повышения плодородия и восстановления загрязненных земель черви «Оболенский гибрид», полученные путем скрещивания красного калифорнийского червя с российской популяцией дождевых червей *Eisenia foetida* (Киселева, 1997).

Субстратом для красного калифорнийского червя является не только все виды навоза (Мельник, 1990), но также солома, макулатура, листовая опад (Стриганова, 1980, 1989), отходы мясной, кожевенной, спиртово-крахмальной промышленности и переработки плодово-ягодных культур (Городний, 1989), гидролизный лигнин (Голованов, Маматов, 1999). Наиболее благоприятные условия для разведения красного калифорнийского червя создаются при использовании субстратов, содержащих до 20 % целлюлозы (Гайдаш, 1997).

При искусственно разведении красного калифорнийского червя выход биогумуса колеблется в пределах 500–600 кг на каждую тонну субстрата, при этом образуется 30–50 кг биомассы червей. Считается, что по своей удобрительной ценности 1 т биогумуса эквивалента 15 т навоза (Морев, 1989). В отличие от последнего, биогумус не содержит гельминтов, условно-патогенных и фитопатогенных микроорганизмов, а также семян сорняков (Деревягин, 1989).

Разработаны комбинированные формы биогумуса с добавками микробов-антагонистов (*Trichoderma viridae*, *Bacillus subtilis*). Биодобрения характеризуются не только высокой удобрительной ценностью, ускоряя рост и развитие растений, но и эффективно защищают овощные культуры в закрытом грунте от фитопатогенных микроорганизмов (Жариков, 1999). Благодаря своей способности восстанавливать плодородие почв, они применяются для очистки земель, загрязненных нефтью и нефтепродуктами (Weaver, 1998; Киреева, 1999).

Биогумус используется для ремедиации почв, подвергшихся негативным антропогенным воздействиям, для снижения содержания в почвах тяжелых металлов и радионуклеидов (Илларионов, 1996). Использование дождевых червей в технологии переработки навоза и других отходов в гумусное удобрение – биологически целесообразный, ускоренный путь повышения плодородия почв. Применение биогумуса благоприятно сказывается на биохимических параметрах почвы. До исходного уровня восстанавливается активность окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов; под влия-

нием биогумуса происходит повышение всхожести семян и значительно быстрее снижается содержание остаточной нефти.

Биогумус вызывает в почве загрязненной нефтью перестройку микробного биоценоза, что проявляется в расширении видового разнообразия бактериальной флоры. По-видимому, почвенная микрофлора использует компоненты биогумуса в качестве источника азота, фосфора и калия, обеспеченность которыми в нефтезагрязненной почве понижена. Многие органические вещества биогумуса служат энергетическим материалом для почвенной микрофлоры, благодаря чему в почве повышается активность микробиологических процессов, соответственно усиливается мобилизация питательных веществ (Звягинцев, 1999). Общим показателем процессов самоочищения почвы от нефтезагрязнения является повышение продуктивности сельскохозяйственных культур. Применение биогумуса позволило поднять урожай ячменя и овса на первый год после загрязнения (Киреева, 1995).

Формирование плодородия почв и стабильность урожаев сельскохозяйственных культур неразрывно связаны с количеством гумуса в почве и его качественным составом (Соколов, 1976; Севастьянов, 1995; Караванова, 1996). Проведенные исследования (Лыков, 1981; Никитин, 1986; Зезин, 1988) показали, что количество лабильных гумусовых веществ в значительной степени зависят от степени окультуренности почв. Большая часть гумуса в почвах представлена негидролизирруемыми гумусовыми веществами, прочно связанными с минеральной частью почвы (Орлов, 1974). Доля этих веществ в составе гумуса достоверно возрастает от слабоокультуренных к хорошо окультуренным почвам (Новицкий, 1997).

Гуминовые вещества относятся к числу важнейших компонентов почв и влияют практически на все почвенные свойства: поглотительную способность, содержание элементов питания, структурные характеристики и, в конечном итоге, на плодородие почв и урожай сельскохозяйственных культур (Попов, 1994). По современным представлениям, гуминовые вещества присутствуют не только в почвах, но и в других компонентах биосферы – водных потоках, различных осадках, углях, торфе (Аммосова, 1996). Они также присутствуют в органических удобрениях или образуются в процессе их приготовления (Александрова, 1980; Орлов, 1993). Гуминовые вещества включаются в процесс гумификации и оказывают заметное влияние на

свойства почвы, что сказывается и на повышении урожайности культур (Якименко, 1995; Шпец, 1997).

Биогумус (вермикомпост) превосходит традиционные органические удобрения (навоз и др.) по действию на урожайность сельскохозяйственных культур благодаря высокой биологической активности, содержанию биостимуляторов, ферментов и т. п. (Полянский, 2001). Согласно результатам экспериментов, использование вермикомпоста исключает загрязнение окружающей среды.

Однако нельзя забывать, что почва – саморегулирующаяся природная система. Эффективность действия любых агротехнических приемов на сельскохозяйственные культуры сопряжена с активацией биосистемы в целом (Сапожников, 1996). В связи с этим внесение биогумуса или продолжительное пребывание червей в почве вызывает интенсивное развитие почвенной микрофлоры. Причем количество сапрофитных микроорганизмов возрастает в десятки и тысячи раз, поэтому при использовании вермиккультуры необходим постоянный микробиологический контроль почвы. В сухом веществе биогумуса содержатся бактерии, актиномицеты и грибы (Стабникова, 1995). Микроорганизмы, попадающие с органическим материалом в пищеварительный тракт червя, подвергается своеобразному «селективному отбору». Подавляя рост одних видов и, способствуя размножению других, червь оказывает значительное влияние на формирование структуры микробного сообщества в конечном продукте – биогумусе.

В вермикомпостах, помимо полезных групп почвенных микроорганизмов, могут развиваться патогенные грибы и бактерии – возбудители болезней растений. В связи с этим необходим контроль готовых вермикомпостов разного срока хранения на наличие в них фитопатогенов и способы их обезвреживания. Многие внесенные с вермикомпостом сапрофитные микроорганизмы приживаются в почве, и популяция стабилизируется на уровне, который зависит от количества внесенных клеток, но почти никогда не наблюдается активного размножения популяции (Суханова, 1999; Макарова, 2006). Судьба внесенной популяции микроорганизмов будет зависеть в первую очередь от характера экосистемы и степени ее нарушения.

Попавшие в почву микроорганизмы с биогумусом и природная микрофлора участвуют в едином процессе синтеза и распада органической и минеральной частей почвы. Эти процессы происходят в закономерной последовательности и приводят к существенным изме-

нениям химического и минерального состава и свойств почвы в целом (Сидоренко, 1999).

Обобщая все рассмотренные выше методы ремедиации земель, загрязненных нефтью, можно сделать следующие выводы.

1. Микроорганизмы играют ведущую роль в самоочищении почвы, воспроизведении ее плодородия и переводе техногенной органики в форму соединений, которые могут усваиваться растениями.

2. Интенсивная химизация земель угнетает почвенную микрофлору и животное население, что, по нашему мнению, необходимо учитывать при выборе технологий очистки загрязненных земель и повышения ее плодородия.

3. На сегодняшний день эффективными и экологически чистыми представляются технологии, использующие микроорганизмы (в том числе микроорганизмы, живущие в нефти и нефтепродуктах) и различные биопрепараты на их основе. Однако следует учитывать особенности микрофлоры различных почв и степень их загрязнения.

4. Лучших результатов по восстановлению почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами можно добиться, применяя комбинированные методы (вспашка, рыхление, внесение штаммов бактерий и удобрений, высаживание определенных растений и т. д.). К сожалению, эти методы ремедиации занимают от 3 до 5 и более лет; могут заметно увеличить «цену гектара».

## ГЛАВА 3. УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1. ПРИРОДНЫЕ УСЛОВИЯ ТЕРРИТОРИИ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### *Условия проведения полевых опытов на агродерново-карбонатных почвах*

Полевые мелкоделяночные опыты были проведены в с. Ильинское Ильинского района Пермского края. Приводим краткую характеристику природных условий территории исследований.

Климат южно-таежной подзоны Пермского края является континентальным. Большое влияние на распределение атмосферных осадков и температурный режим оказывают холодные массы с севера, что иногда вызывает похолодание в теплый период; в то же время приток теплых воздушных масс с Атлантического океана нередко приводит к оттепелям в зимнее время.

Ильинский район, где были проведены опыты, относится к четвертому агроклиматическому району Пермского края. Климат района умеренно-континентальный с холодной продолжительной зимой, коротким летним периодом и длительной осенью. Максимальная амплитуда годового колебания температуры воздуха равна  $33^{\circ}\text{C}$ , минимальная температура в январе  $-32^{\circ}\text{C}$ . Среднегодовая температура воздуха изменяется от  $-2$  до  $+2^{\circ}\text{C}$ . Максимальная глубина промерзания –  $0,77$  м. Продолжительность безморозного периода составляет  $116-120$  дней, продолжительность вегетационного периода  $151-159$  дней. Дата перехода среднесуточной температуры воздуха через  $+5^{\circ}\text{C}$  – 2 мая, через  $+10^{\circ}\text{C}$  – 15 мая. Сумма активных температур воздуха более  $10^{\circ}\text{C}$  –  $1400-1800^{\circ}\text{C}$ , период активной вегетации составляет 121 день. Преобладающее направление ветра – северо-восточное. Сумма годовых осадков в среднем  $450-507$  мм, из них в теплый период –  $300$  мм; испарение  $270$  мм. Осадки в течение вегетации выпадают неравномерно: максимальное их количество выпадает в июле, а минимальное в мае. Образование устойчивого снежного покрова происходит в конце октября, средняя продолжительность снежного покрова –  $165$  дней.

*Рельеф.* С запада в Ильинский район заходят отроги Верхне-Камской возвышенности, местность повышена и всхолмлена. Довольно часто встречаются отметки высот  $316-331$  м. Восточная часть территории района сильно эродирована логами и многочисленными

долинами мелких речек, в западной – эродированность выражена слабее. Между логами и долинами располагаются водораздельные пространства в виде увалов с характерной для многих мест Предуралья асимметрией склонов. Южные и западные склоны крутые и короткие, северные – отлогие и длинные. На вспаханных склонах сильно развита водная эрозия (Особоохраняемые природные территории..., 2002).

*Почвы и почвообразующие породы.* По Н. Я. Коротаеву (1962) южная часть Ильинского района входит в подзону дерново-подзолистых почв, в Сивинско-Ильинский район дерново-средне- и слабоподзолистых тяжелосуглинистых и дерново-карбонатных почв. Территория почвенного района сложена красноцветными мергелистыми глинами с прослойками известняка и мергеля, перекрытыми элювиально-делювиальными желто-бурыми некарбонатными или слабокарбонатными глинами.

Наиболее распространены в данном районе почвы тяжелосуглинистые дерново-среднеподзолистые, приуроченные к слабовыраженным склонам и сформировавшиеся на покровной глине. Второе место по распространению занимают почвы тяжелосуглинистые дерново-слабоподзолистые. Пятнами среди дерново-слабоподзолистых почв залегают коричнево-бурые глинистые почвы, сформировавшиеся на красных мергелистых пермских глинах, и дерново-карбонатные глинистые, сформировавшиеся на элювии известняков и мергелей. Две последние почвы залегают на склонах, где значительной мере выражен эрозионный процесс. Дерново-карбонатные почвы нередко в пахотном слое содержат щебенку породы, а иногда и выходы крупных глыб известняка (Коротаев, 1962).

*Растительность.* В соответствии с ботанико-географическим районированием территория исследований относится к Камско-Печорско-Западноуральской подпровинции Урало-Западносибирской таежной провинции, входит в район южно-таежных пихтово-еловых лесов. Южно-таежные леса характеризуются господством в древостое и подлеске бореальных и участием неморальных видов, сосуществованием бореальных и неморальных видов в травяно-кустарничковом ярусе, заметным увеличением роли трав по сравнению с кустарничками и преобладанием травяных типов лесов; моховой покров малой мощности, не сплошной (Овеснов, 2000).

*Погодные условия проведения исследований.* При проведении полевых опытов необходимо учитывать конкретные почвенно-климатические и погодные условия. В 2003 г. вегетационный период оказался неблагоприятным, отличался ранней, теплой и сухой весной, завершившейся почвенной засухой, сухим и жарким началом лета, необычайно прохладным и дождливым июлем, ранней, холодной и дождливой осенью. Температура воздуха в начале мая превышала многолетнюю норму на  $2,4^{\circ}\text{C}$ , затем последовало глубокое похолодание. Теплая погода в июне (средняя температура за месяц на  $1\text{--}2,3^{\circ}\text{C}$  выше многолетней) отрицательно сказалась на формировании растений. В мае выпало осадков всего 60, в июне 110 мм. Осадки выпадали в виде ливней. Июль характеризуется неустойчивой погодой, с частыми дождями в 1 и 2 декадах, сумма осадков – 120 мм. Средняя за месяц температура  $18,5^{\circ}\text{C}$ , в пределах нормы. Август был прохладным и преимущественно сухим, сумма осадков составила 12–36 мм. Осень была холодной и сырой. Средняя температура – на  $2,7^{\circ}\text{C}$  ниже нормы, сумма осадков составляла в сентябре 91 мм, что на 27 мм выше нормы (Агрономический вестник, 2004).

В 2004 г. весна характеризовалась умеренно-теплой, преимущественно дождливой погодой. В течение мая наблюдался неустойчивый рост температуры воздуха с резкой сменой холодных и теплых периодов. В целом среднемесячная температура воздуха составила  $9\text{--}11^{\circ}\text{C}$ , что в пределах нормы. Сумма осадков за месяц составила 74 мм, что выше нормы на 4 %. Лето оказалось с неустойчивой погодой. Теплые дни резко сменялись прохладными, сухие периоды – дождями. Средняя за июнь температура воздуха составила  $17^{\circ}\text{C}$ , что на  $1^{\circ}\text{C}$  выше нормы. Среднесуточная температура воздуха первой и второй декадах июля была на уровне  $12\text{--}16^{\circ}\text{C}$ , что на  $3\text{--}5^{\circ}\text{C}$  ниже нормы. Осадки выпадали в виде ливней. Сумма осадков за июнь-июль составила 90 мм, что ниже нормы на 35 %. В августе преобладала прохладная, дождливая погода. Среднесуточная температура воздуха оказалась на  $1,5^{\circ}\text{C}$  ниже нормы, составив  $13^{\circ}\text{C}$ , а сумма осадков составила 122 мм, что на 79 % выше средней.

В 2007 г. весна характеризовалась частым похолоданием до  $-5^{\circ}\text{C}$  и ниже, и установлением временного снежного покрова. Средняя температура мая  $+8\text{--}+11^{\circ}\text{C}$ , что в пределах нормы. Сумма осадков составила 70 мм. Средняя температуры июня –  $+18,7^{\circ}\text{C}$ , сумма осадков – 92 мм. В июле средняя температура составила  $22,5^{\circ}\text{C}$ , а сумма

осадков – 123 мм, что выше нормы. Август стоял теплый, средняя температура – 21,8°C, сумма осадков – 64 мм (Агрономический вестник, 2004).

### *Условия проведения опытов на Керженецкой нефтебазе*

Опыты проведены на территории Керженецкой нефтебазы в Семеновском районе Нижегородской области. Семёновский район находится в левобережной части Нижегородской области, в бассейне реки Керженец и граничит на востоке с Воскресенским и Краснобаковским районами, на северо-востоке с Варнавинским, на северо-западе с Ковернинским, на юге и юго-западе с Борским районами Нижегородской области. Его протяжённость с севера на юг достигает 95 километров, с запада на восток около 65 километров. Нефтебаза предприятия «Лукойл-Нижегороднефтепродукт» расположена в 80 км на северо-восток от г. Нижний Новгород.

Климат Нижегородской области, расположенной в средней части умеренного пояса, умеренно континентальный с холодной продолжительной зимой и теплым сравнительно коротким летом (Нижегородская область..., <http://www.geografia.ru/nijegorod.html>).

Климат Семеновского района, в котором расположена нефтебаза, умеренно континентальный со снежной холодной зимой и влажным нежарким летом. Средняя температура воздуха в январе – –12,9°C, в июле – +18,4°C.

Холодная и снежная зима приходит в ноябре, к концу месяца начинает формироваться устойчивый снежный покров. Морозы достигают своего пика в январе, иногда сильные холода могут прийти как в декабре, так и в феврале. Средняя температура января –18°C, с абсолютным минимумом до –43°C. Весной быстро тает снег, в мае ещё возможны кратковременные заморозки, в ночные часы в июне температура может опуститься ниже нулевой отметки. Июль отличается устойчивыми положительными температурами, в среднем +18,5°C градусов, проливными дождями с грозами. Количество выпавших в июле осадков максимально, среднее количество составляет до 80 мм. В сентябре уменьшение светового дня, к концу месяца на почве возможны заморозки. Погода в октябре в основном пасмурная и дождливая, средняя температура воздуха +3,7°C градуса. К середине месяца выпадает первый снег, но сразу тает. В среднем осенью выпадает до 60 мм осадков.

В среднем за год выпадает 550–600 миллиметров осадков. В условиях прохладного и пасмурного лета, когда потери влаги на испарение невелики, может наблюдаться избыточное увлажнение.

*Рельеф.* Обширная территория Нижегородской области составляет часть Восточно-Европейской, или Русской, равнины, которая местами всхолмлена. Область расположена на прочном участке земной коры, на древнейшем массивном фундаменте, так называемой Русской платформе. Общий рельеф представляет собой волнистую, местами всхолмленную равнину, которая долинами рек Волги и Оки разделяется на две части – южную возвышенную и северную низменную (Нижегородская область..., <http://www.geografia.ru/nijegorod.html>).

*Почвы.* Нижегородская область большей частью расположена в пределах лесной зоны и ее подзон: тайги с подзолистыми почвами, смешанных лесов с дерново-подзолистыми почвами и широколиственных лесов с серыми лесными почвами, а также в черте степной зоны – подзоны луговой степи с оподзоленными и выщелоченными черноземными почвами. В левобережной части как под смешанными, так и под хвойными лесами преобладают дерново-подзолистые почвы, они покрывают около 2/3 территории.

*Погодные условия проведения исследований.* В период восстановительных работ условия температур и влажности были благоприятные. Количество осадков составило 570,2 мм при средней норме 550–600 мм для данного района, распределение по месяцам относительно равномерное (табл. 2).

Таблица 2

*Погодные условия в период ремедиации на Керженецкой нефтебазе*

Месяц	Среднемесячная температура	Отклонения температуры от нормы	Осадки, сумма за месяц
Июнь	22	+0,5	91,2
Июль	25,3	+1,6	73,8
Август	19,2	+0,4	116,4
Сентябрь	16,4	+0,7	97,6

*Растительность.* Территория Семеновского района входит в Волжско-Керженский (южно-заволжский) низинный полеский природный район. Преобладают смешанные леса, состоящие из сосны и ели, чередующиеся с березовыми рощами, осинниками, зарослями ольхи и небольшими дубравами с примесью липы. На более возвышенных местах по сухим песчаным дюнам распространены боры - светлые сосновые леса. Здесь преобладают дерново-подзолистые супесчаные и легкосуглинистые почвы, располагаются обширные сфагновые и низинные болота с торфяно-болотными почвами (Нижегородская область..., <http://www.geografia.ru/nijegorod.html>).

### **3.2. МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛЕВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### *Методы проведения опытов на агродерново-карбонатной почве*

Исследования проведены на территории опытного участка в Центре внешкольной работы Ильинского района Пермского края.

Объектом исследований были агродерново-карбонатные глинистые почвы, которые сформировались на пермских карбонатных породах. Эти почвы в Пермском крае занимают 288 тыс. га, 1,8 % территории; распаханно 203 тыс. га дерново-карбонатных почв (Почвенная карта Пермской области, 1978). Почвы, сформированные на пермских карбонатных породах, отнесены к категории редких почв и рекомендованы для включения в Красную книгу почв Пермского края (Еремченко и др., 2010).

Опыты были заложены на свежезалежном участке агродерново-карбонатной глинистой почвы. Пахотный горизонт почвы имел серо-коричневую окраску, комковато-зернистую структуру и рыхлое сложение, глинистый гранулометрический состав, содержал кусочки извести. Переходный к породе горизонт – красно-коричневой окраски, крупнозернистый, глинистый. С глубины около 40–50 см отмечено присутствие плотных карбонатных включений.

Результаты определения показателей состояния пахотного слоя агродерново-карбонатной почвы на опытном участке приведены в табл. 3. В соответствии с критериями Н. Б. Мякиной и Е. В. Аринушкиной (1979) агродерново-карбонатная почва опытного участка характеризуется средним содержанием гумуса, слабокислой реакцией солевой вытяжки, средним содержанием подвижного фосфора и обменного калия.

*Агрохимические свойства агродерново-карбонатной  
глинистой почвы (слой 0–20 см)*

С гумуса, %	рН <sub>(КСl)</sub>	Содержание подвижных веществ, мг/кг почвы		
		N-NO <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
2,1 ± 0,15	5,2 ± 0,15	3,4 ± 0,6	125 ± 17	91,6 ± 1,0

Полевые исследования включали две серии опытов: опыты 2003–2004 гг. и опыты 2007 г.

Опыты 2003–2004 гг. Перед закладкой опытов (2002 г.) провели рыхление на глубину 20 см и выравнивание поверхности участка; разбили опытные площадки и контрольные полосы. Экспериментальные площадки площадью 1 м<sup>2</sup> имели деревянное ограждение на глубину обрабатываемого слоя. В конце апреля 2003 г. площадки загрязнили нефтью из расчета 20 л на 1 м<sup>2</sup>. Сырая нефть была доставлена с месторождения «Головные» Ильинского района, представляла собой нефть средней тяжести типа А1 с температурой кипения 12–27°С, без очистки и присадок со следующей характеристикой: парафинистая (5,0 %–10,0 %), средней зернистости (0,5 %–0,1 %), содержание углерода – 85,0 %, содержание водорода – 13,0 %, содержание парафинов – 48,0 %, содержание циклоалканов – 67,0 %, содержание легких фракций – 35,0 %.

В течение трех недель после внесения нефти проводили рыхление на глубину слоя 0–20 см. Затем были внесены биопрепараты.

Варианты опытов:

1. Контроль – незагрязненная почва.
2. Нефть 20 л на м<sup>2</sup>.
3. Нефть 20 л на м<sup>2</sup> + биогумус из расчета 3 т/га.
4. Нефть 20 л на м<sup>2</sup> + вермикомпост из расчета 3 т/га.
5. Нефть 20 л на м<sup>2</sup> + штаммы дрожжевой культуры из расчета 500 л/га.
6. Нефть 20 л на м<sup>2</sup> + навоз из расчета 40 т/га.
7. Нефть 20 л на м<sup>2</sup> + препарат «Альбит» из расчета 200 л/га.
8. Нефть 20 л на м<sup>2</sup> + препарат «Байкал ЭМ1» из расчета 150 л/га.
9. Нефть 20 л на м<sup>2</sup> + диаммонийфосфат из расчета 60 кг/га.
10. Нефть 20 л на м<sup>2</sup> + известь из расчета 4 т/га.

Биопрепараты «Альбит», «Байкал ЭМ1» и дрожжевая культура внесены в виде водной суспензии; в последующем почву рыхлили

1 раз в неделю, одновременно производили полив площадок водой из расчета 10 л/м<sup>2</sup>.

В мае 2004 г. на участке посеяны травы по 10 г травяной смеси на 1 м<sup>2</sup>. Были использованы следующие виды: овсяница красная (*Festuca rubra* subsp *Rubra*), овсяница обыкновенная (*Festuca pratensis* Huds), мятлик луговой (*Poa pratensis* L.), костер безостый (*Bromus inermis* Leysser), райграс пастбищный (*Lolium perenne* L.).

Почвенные пробы отбирали с каждой делянки по 10 образцов, делали смешанную пробу весом до 1 кг, в которой изучали свойства почвы. Отбор почвенных проб произвели летом 2003 г., весной и осенью 2004 г. В 2004 г. осенью установлена масса злаков и количество бенз(а)пирена в почве.

В опытах 2007 г. было испытано совместное действие препарата «Альбит» и штаммов микромицетов *Phoma eupyrena* и *Cephalophora tropica* на свойства агродерново-карбонатной почвы при разных дозах загрязнения нефтью (5, 10 и 20 л/м<sup>2</sup>). Были заложены опыты по следующим вариантам:

1.	Контроль
2.	Нефть 5 л на м <sup>2</sup>
3.	Нефть 10 л на м <sup>2</sup>
4.	Нефть 20 л на м <sup>2</sup>
5.	Нефть 5 л на м <sup>2</sup> + «Альбит» из расчета 50 л/га
6.	Нефть 10 л на м <sup>2</sup> + «Альбит» из расчета 100 л/га
7.	Нефть 20 л на м <sup>2</sup> + «Альбит» из расчета 200 л/га
8.	Нефть 5 л на м <sup>2</sup> + «Альбит» (50 л/га) + <i>Phoma eupyrena</i> с концентрацией 10 <sup>10</sup> клеток/мл
9.	Нефть 10 л на м <sup>2</sup> .+ «Альбит» (100 л/га) + <i>Phoma eupyrena</i> с концентрацией 10 <sup>10</sup> клеток/мл
10.	Нефть 20 л на м <sup>2</sup> + «Альбит» (200 л/га) + <i>Phoma eupyrena</i> с концентрацией 10 <sup>10</sup> клеток/мл
11.	Нефть 5 л на м <sup>2</sup> + «Альбит» (50л/га) + <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i> с концентрацией 10 <sup>10</sup> клеток/мл
12.	Нефть 10 л на м <sup>2</sup> + «Альбит» (100 л/га) + <i>Phoma eupyrena</i> с концентрацией 10 <sup>10</sup> клеток/мл, <i>Cephalophora tropica</i> с концентрацией 10 <sup>10</sup> клеток/мл
13.	Нефть 20 л на м <sup>2</sup> + «Альбит» (200 л/га) + <i>Phoma eupyrena</i> с концентрацией 10 <sup>10</sup> клеток/мл, <i>Cephalophora tropica</i> с концентрацией 10 <sup>10</sup> клеток/мл

Нефть внесли в почву во второй половине мая 2007 г. Через неделю после загрязнения был внесен препарат «Альбит» в виде суспензии из расчета 50, 100 и 200 л/га (соответственно увеличению уровня загрязнения нефтью). В препарате «Альбит» концентрация

*Phoma eupyrena* и *Cephalophora tropica* составляла не менее  $10^{10}$  клеток/мл. Рыхление слоя 0–20 см проводили один раз в неделю в течение двух месяцев, одновременно поливали дозой 20 л/м<sup>2</sup>. Агрохимические свойства и остаточное количество нефти в почве определили через 70 дней после начала ремедиации. Отбор почвенных проб для учета численности микроорганизмов произведен через 7 дней после загрязнения и через 35, 70 дней после внесения ремедиантов.

### ***Методы проведения исследований на Керженецкой нефтебазе***

Территория нефтебазы приурочена к надпойменной террасе правого берега р. Волги. Преобладающий рельеф террасы плоский и плоско-холмистый. Поверхность изрезана озерами и торфяными болотами, чередующимися с песчаной гривами, направленными параллельно руслу р. Волги. Для исследуемого участка характерно высокое залегание уровня грунтовых вод, вызывающих подтопление территории нефтебазы во влажные периоды года. Естественная растительность частично сведена при планировочных работах вокруг цистерн хранения нефтепродуктов. Оставшаяся растительность угнетена, разрежена и представлена участками злаково-разнотравных сообществ, а также кустарниками, редкими деревьями (клен, тополь, береза, ива). В соответствии с требованиями техники безопасности большая часть древесных пород на участках, непосредственно примыкающих к резервуарам хранения, была спилена.

В 2002 г. на территории нефтебазы произошла утечка нефтепродукта из резервуара, что резко ухудшило экологическую обстановку на объекте.

Работы на Керженецкой нефтебазе начались в июне 2003 г. Территорию базы покрывали техногенные поверхностные образования (ТПО), представляющие собой слоистые грунты разного гранулометрического состава с участками перемешенного почвенного материала, неравномерно пропитанные свежей и остаточной нефтью. По классификации 2004 г. их можно отнести к группе натурфабрикатов, подгруппе литостратов (Классификация и диагностика..., 2004).

После рыхления ТПО на глубину 20 см на загрязненный нефтью участок площадью 0,25 га на фоне применения диамонийфосфата (из расчета 40 кг/га) внесли в виде суспензии смесь биопрепаратов «Альбит» + «Байкал ЭМ1» из расчета 200 л/га в соотношении 1:1.

Посев трав провели спустя один месяц после обработки нефтезагрязненных ТПО биопрепаратами. Многолетние травы посеяны с

нормой 20 кг/га: овсяница красная (*Festuca rubra* subsp *Rubra*), овсяница обыкновенная (*Festuca pratensis* Huds), мятлик луговой (*Poa pratensis* L.), костер безостый (*Bromus inermis* Leysser), райграс пастбищный (*Lolium perenne* L.). Всходы трав появились через 15 дней после посева, в последующем растения образовали покров на загрязненном участке, подвергнутом ремедиации.

Пробы почвогрунта отобраны перед посевом трав, через месяц после начала ремедиации. Образцы ТПО были взяты из шести точек загрязненной территории на глубину 0–20 см – для агрохимических и биохимических показателей (рис. 1) и десяти точек из слоев 0–10 и 10–20 см – для микробиологических показателей. Для сравнения взяты образцы с незагрязненной (фоновой) территории.

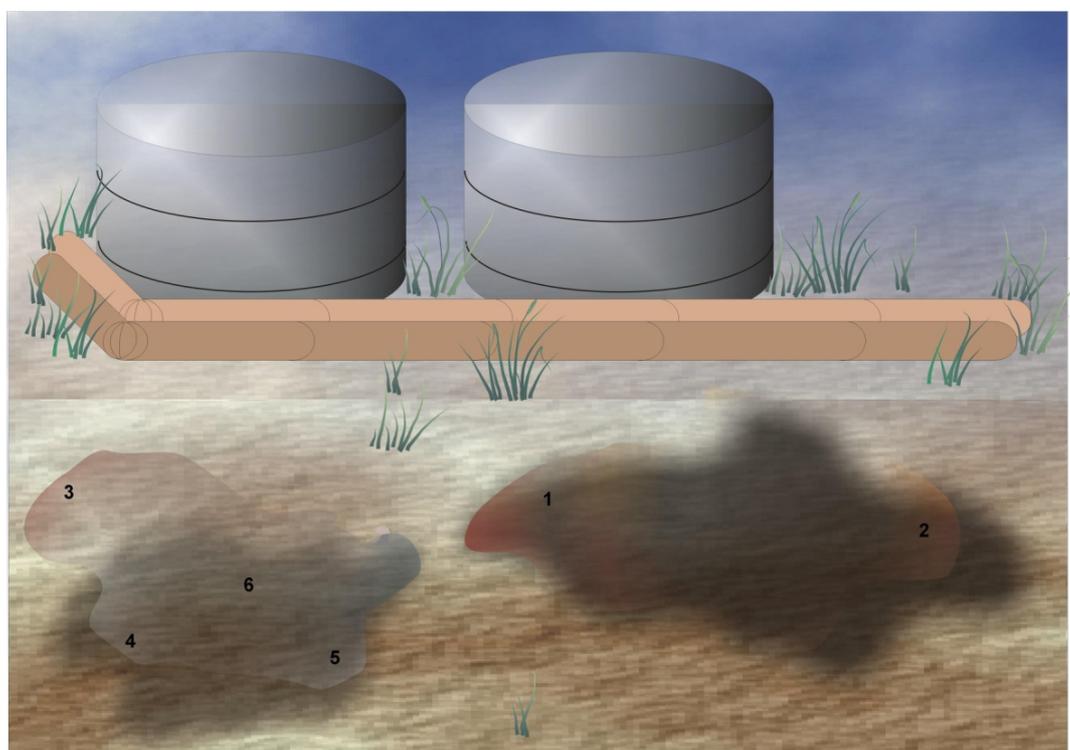


Рис. 1. Схема разлива нефти и расположение точек отбора почвенных проб (1, 2, 3, 4, 5, 6) на территории Керженецкой нефтебазы

### 3.3. ХАРАКТЕРИСТИКА БИОПРЕПАРАТОВ, ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ДЛЯ РЕМЕДИАЦИИ

Действующим веществом биопрепаратов являются живые организмы либо продукты их жизнедеятельности.

Разложение нефти в почве под действием биопрепаратов обусловлено как непосредственным разложением углеводов входящими в состав биопрепаратов живыми организмами, так и способностью биопрепаратов влиять на аборигенное микробное сообщество (индукция сукцессии, перестройка таксономического состава сообщества), повышая его способность утилизировать нефть (Polyanskaya, Zvyagintsev, 1995). Биопрепараты стимулируют местный почвенный биоценоз и создают благоприятные условия для перехода нефтяных углеводов в органические соединения гумуса.

В опытах использовали биогумус очищенный, вермикомпост, навоз крупного рогатого скота (КРС), препарат «Альбит», «Байкал ЭМ1», диаммонийфосфат (удобрение), известь, а также штаммы микробных культур: дрожжевая культура, грибы сапрофиты *Phoma eupyrena* и *Cephalophora tropica*.

Биогумус – продукт переработки органических остатков калифорнийским червем (сертификат № 0070045338).

Вермикомпост – препарат из биогумуса с содержанием 25–30 % червей (сертификат № 0070045338).

Навоз – органическое удобрение, полученное в результате твердых и жидких выделений крупного рогатого скота на подстилочный материал.

Альбит – комплексный препарат, обладающий свойствами регулятора роста, фунгицида, удобрения (патент № 2147181).

Байкал ЭМ1 – универсальный концентрат в виде жидкости, содержит более 80 штаммов почвенных микроорганизмов. Номер государственной регистрации: № 05-9800 (9801-9803)-0369 (0386)-1.

Диаммонийфосфат (аммонизированный суперфосфат) – комплексное удобрение, которое получают при насыщении простого суперфосфата аммиаком.

Штамм дрожжевой культуры состоит из суспензии микробных клеток в концентрации не менее  $10^{10}$  кл/мл.

Штамм *Phoma eupyrena* – микромицеты, выделяемые из почвы, подстилки, навоза, гниющих растительных остатков и других мате-

риалов (Кириленко, 1977). Содержание в препарате «Альбит» –  $10^{12}$  клеток/мл.

Штамм *Cephalophora tropica* – микромицеты, выделенные из ризосферы молодого клена (Crook, 1955). Содержание в препарате «Альбит» –  $10^{12}$  клеток/мл.

### 3.4. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Использованы следующие методы почвенных исследований:

- рН водной суспензии – потенциометрическим методом;
- рН солевой суспензии – потенциометрическим методом;
- содержание углерода органических соединений – ГОСТ 23740-79;
- содержание нитратного азота – ГОСТ Р53219-2008;
- содержание подвижных соединений калия – по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО (ГОСТ 26207);
- содержание подвижных соединений фосфора – по методу Мачигина в модификации ЦИНАО (ГОСТ-26205);
- массовая доля нефтепродуктов – методом люминесцентно-капиллярного безэталонового полуколичественного анализа (РД-39-0147098-015-90);
- содержание углеводов нефти – методом жидкостной хроматографии (РД-39-0147098-015-90);
- содержание бенз(а)пирена – методом вольтамперометрии (ГОСТ Р-506984-94);
- денитрифицирующую активность почвы – по методу М. В. Фёдорова (ГОСТ 12.4.011-89);
- азотофиксирующую активность почвы – ГОСТ 27593-88.
- определение активности каталазы по перманганатометрическому методу Джонсона и Темпле;
- определение активности дегидрогеназы и инвертазы проводили по методу А. Ш. Галстяна.

#### Методы микробиологических исследований

Для определения численности и таксономического состава комплекса углеводородокисляющих микроорганизмов применяли метод посева на агаризированную глюкозо-пептонно-дрожжевую среду и среду Чапека с гексадеканом (Лысак и др., 2003). Посевы проводили стандартным способом из тысячного разведения в 5-кратной по-

вторности после предварительной обработки на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-1 (22 кГц; 0,44 А; 2 мин) (Звягинцев, 1991). Для ингибирования развития грибов в среду добавляли 50 мг нистатина на 0,5 л среды.

Посевы инкубировали при комнатной температуре 3–7 суток, затем проводили подсчет и микроскопирование выросших колоний. Идентификацию бактерий и грибов до рода проводили на основании изучения культуральных и микроморфологических признаков (Хоулт и др., 1997).

Общую численность микроорганизмов определяли прямым микроскопическим методом в камере Горяева с использованием красителя акридина оранжевого (АО) (Звягинцев, 1991).

## **ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО РЕМЕДИАЦИИ АГРОДЕРНОВО-КАРБОНАТНОЙ ПОЧВЫ**

### **4.1. ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ ПОЧВЫ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ, УДОБРЕНИЙ И ИЗВЕСТИ**

Динамика остаточного содержания нефти в агродерново-карбонатной почве прослежена в 3 срока. Весной 2003 г. наибольшая деградация нефти в агродерново-подзолистой почве отмечена на варианте с использованием штаммов дрожжевых культур; относительно контрольного варианта количество нефти снизилось на 47 % (табл. 4).

На вариантах с биогумусом, вермикомпостом и препаратом «Альбит» нагрузка нефти снизилась на 40 %. Наименьшая степень деградации нефти отмечена на фоне внесения диаммонийфосфата и особенно извести (15 %).

Весной 2004 г. отмечено дальнейшее снижение количества нефти по всем вариантам, включая контроль, на котором нагрузка нефти за счет естественного самоочищения снизилась на 4,5 % (табл. 4). Скорость деструкции нефти уменьшилась на фоне дрожжевых культур. На вариантах с биопрепаратами (биогумус, вермикомпост, «Альбит») содержание нефти снизилось относительно начального уровня на 42–44 %, очевидно, действие этих биопрепаратов обусловлено повышением численности и активности углеводородокисляющих микроорганизмов в почве. В биогумусе и вермикомпосте содержатся гуминовые кислоты – известные биостимуляторы. В препарате «Альбит» стимуляция микробиологической активности может быть связана с питательными элементами и биоактивными веществами. Несколько ниже эффективность навоза и препарата «Байкал ЭМ1». Наименьшей деструкцией нефти, по-прежнему, отмечены варианты с диаммонийфосфатом и известью, последняя не столько влияет на почву (дерново-агрокарбонатная почва не нуждается в нейтрализации кислотности), сколько, по-видимому, служит источником питательных элементов для микробиоты (Ca, Mg).

Содержание нефти в почве по вариантам опыта

№	Вариант	Нефть, мг / кг		
		18.06.03	15.05.04	22.09.04
1	Фон	0	0	0
2	Нефть 20 л / м <sup>2</sup>	200	191	180
3	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + биогумус	119	116	100
4	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + вермикомпост	119	114	101
5	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + дрожжевые культуры	105	104	100
6	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + навоз	141	138	120
7	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + «Альбит»	118	112	91
8	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + «Байкал М1»	136	130	120
9	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + диаммоний-фосфат	159	141	121
10	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + известь	169	146	140

В сентябре 2004 г. под покровом трав установлен продолжающийся процесс деградации нефти (табл. 4). Благодаря самоочищению (без микробной стимуляции) разрушено 10 % нефти от исходного содержания. 50 % нефти деградировано на фоне внесения биогумуса и вермикомпоста, 55 % – «Альбита». Применение диаммонийфосфата, навоза и препарата «Байкал ЭМ1» привело к разрушению 40 % нефти от исходного количества. Наименьший эффект оказало известкование – 30 % от начального содержания нефти.

Таким образом, применение биопрепаратов и удобрений ускорило в несколько раз деградацию нефти, благодаря их применению к концу наблюдений деградировано 40–50 % нефти, внесенной на поверхность агродерново-карбонатной почвы в количестве 20 л/м<sup>2</sup>. По сравнению с контрольным вариантом содержание нефти в обрабатываемом слое по фону препарата «Альбит» снижено почти на 50 %.

В сентябре 2004 г. были изучены некоторые агрохимические свойства агродерново-карбонатной почвы. Внесение биопрепаратов не существенно повлияло на актуальную кислотность (табл. 5), которая осталась в пределах нейтрально-слабощелочной среды; есть тенденция к слабому подщелачиванию почвы, особенно, на фоне извести и диаммонийфосфата.

Фоновое содержание органического углерода в агродерново-карбонатной почве составляло 2,1 % (табл. 5). В результате внесения нефти почва на всех вариантах опыта была обогащена органическим

углеродом. Наибольшее количество органического углерода отмечено на фоне извести и навоза; в первом случае это результат замедленного разложения нефти (см. табл. 4), а во втором – также последствие от внесения органического удобрения. Меньшим содержанием органического углерода (9–12 %) характеризовались варианты с биопрепаратами «Альбит», «Байкал ЭМ1», биогумус и вермикомпост, что отразило повышенную скорость деградации нефти на их фоне.

Количество подвижных нитратов сильно варьировало по вариантам опыта. Содержание их в почве – интегральный результат микробиологических процессов по трансформации минеральных соединений, разложению органических соединений и потребления растениями. В результате загрязнения нефтью в почве увеличилось содержание нитратов более чем в 2 раза относительно уровня (табл. 5). При нефтезагрязнении процессы азотфиксации и нитрификации подавлены (Смирнова и др., 1997; Радюкова, 2009). По-видимому, накоплению нитратов способствуют физико-химические и биохимические процессы разрушения соединений нефти. Повышенное количество нитратов отмечено также на вариантах с применением навоза и диаммонийфосфата, содержащих соединения азота в органической и/или минеральной формах.

Таблица 5

*Агрохимические свойства агродерново-карбонатной почвы (0–20 см) по вариантам опыта (22.09.2004.)*

№	Вариант	pH <sub>вод</sub>	C <sub>орг</sub> , %	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/100 г	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100 г	K <sub>2</sub> O, мг/100 г
1	Фон	7,25	2,1	39,4	6,5	3,2
2	Нефть 20 л / м <sup>2</sup>	7,40	–	90,2	6,6	3, 5
3	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + биогумус	7,32	12,0	26,67	7,65	4,00
4	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + вермикомпост	7,30	11,8	26, 7	7,6	4,0
5	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + дрожжевые культуры	7,03	14,1	34,0	16,2	13,4
6	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + навоз	7,08	16,5	195,7	13,8	10, 8
7	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + «Альбит»	7,44	10,1	69, 5	15,1	12,1
9	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + диаммонийфосфат	7,70	13,2	103,8	11,4	8,9
10	Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + известь	7,60	17,2	64,6	12,2	9,8

В результате применения биогумуса, вермикомпоста, препаратов «Альбит» и «Байкал ЭМ1», дрожжевых культур и извести в почве содержится меньше нитратного азота, чем на загрязненном контрольном варианте. Вероятно, в процессе ремедиации формируется замкнутый круговорот соединений азота при участии растений и микроорганизмов без накопления нитратов в почве. На вариантах с биопрепаратами повышено количество подвижных фосфатов и калия в пахотном слое почвы, что в основном связано с присутствием питательных элементов в составе биопрепаратов.

Минимальное содержание подвижных фосфатов установлено в фоновой агродерново-карбонатной почве и нефтезагрязненной почве (табл. 5). Количество подвижного фосфора было повышено на вариантах применения биопрепаратов, что в основном связано с присутствием в них питательных элементов. В слабощелочных почвах подвижность и доступность фосфатов для растений понижена, поэтому особенно важно отметить, что ускоренная деградация нефти микроорганизмами не обеднила почву этим подвижным соединением.

Похожую картину показало количество подвижного калия в агродерново-карбонатной почве по вариантам опыта; меньше всего запасы подвижного калия в незагрязненной и загрязненной почве без использования биопрепаратов, извести и удобрений (табл. 5).

Бенз(а)пирен относят к веществам канцерогенного действия; он может накапливаться в почвах, испытавших загрязнение нефтью и нефтепродуктами (Оборин и др., 2008). Исследования показали наибольшее его содержание в нефтезагрязненной почве, где его количество приближается к ПДК=0,02 мг/кг почвы (согласно российскому нормативу ГН 2.1.7.2041-06). Вследствие ослабленного процесса деградации количество бенз(а)пирена повышено в нефтезагрязненной почве по фону внесения диаммонийфосфата и извести (табл. 6). Заметно ниже его количество на вариантах с дрожжевыми культурами и навозом, биогумусом и вермикомпостом. В три раза меньше его содержание в почве с применением препаратов «Альбит» и «Байкал ЭМ1» по сравнению с нефтезагрязненной почвой.

Продуктивность сеяных трав отражает общую картину биodeградации нефти по вариантам опыта (табл. 6). Ниже всего их продуктивность на нефтезагрязненном контроле, что может быть обусловлено, как токсичностью самой нефти, так и изменениями в составе микробоценозов, в том числе, возрастанием частоты встречаемости и оби-

лия фитотоксичных микромицетов (Радюкова, 2009). Затем следуют варианты с применением извести, диаммонийфосфата и навоза.

Самая высокая продуктивность трав отмечена на вариантах с биогумусом и вермикомпостом, и, особенно, с препаратами «Альбит» и «Байкал ЭМ1»; на фоне последних она увеличилась в 2 раза относительно варианта с контрольным загрязнением почвы.

Таблица 6

*Масса надземной части злаков и количество бенз(а)пирена в слое 0–20 см агродерново-карбонатной почвы (22.09.2004)*

Вариант	Бенз(а)пирен, мг/кг почвы	Зеленая масса, кг/м <sup>2</sup>
Нефть 20 л / м <sup>2</sup>	$18,96 \cdot 10^{-3}$	0,80
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + биогумус	$5,12 \cdot 10^{-3}$	1,50
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + вермикомпост	$6,22 \cdot 10^{-3}$	1,50
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + дрожжевые культуры	$8,87 \cdot 10^{-3}$	1,60
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + навоз	$9,86 \cdot 10^{-3}$	1,40
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + «Альбит»	$4,82 \cdot 10^{-3}$	1,75
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + «Байкал ЭМ1»	$4,91 \cdot 10^{-3}$	1,64
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + диаммонийфосфат	$17,80 \cdot 10^{-3}$	1,23
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + известь	$15,86 \cdot 10^{-3}$	1,02

Для оценки эффективности разных вариантов ремедиации нефтезагрязненной агродерново-карбонатной почвы был использован метод математической оптимизации. Из выборки показателей свойств почвы ( $x_1, x_2, x_3, x_4, \dots, x_n$ ) по каждому варианту опыта выбран экстремум – минимальное ( $x_{\min}$ ) или максимальное ( $x_{\max}$ ) значение (приложение 1). Для показателей pH, содержания органического углерода, нефти и бенз(а)пирена в качестве лучших были выбраны минимальные значения; а для подвижных фосфатов, калия и продуктивности трав – максимальные значения. Относительно экстремума рассчитали нормированные значения показателей:  $x_k = x_{\min} / x_n$ , или  $x_k = x_n / x_{\max}$ . Сложили нормированные значения показателей и получили критерий оптимизации по каждому варианту ремедиации (табл. 7). При данном формализованном подходе был учтен комплекс экологически важных свойств, отражающих состояние нефтезагрязненной почвы в процессе микробной ремедиации. Исходя из критериев оптимизации по комплексу свойств лучшими являлись варианты микробной ремедиации нефтезагрязненной агродерново-карбонатной почвы с применением биопрепаратов «Альбит», «Байкал ЭМ1» и дрожжевых культур.

Таблица 7

*Нормированные значения свойств почвы по вариантам ремедиации, пос. Ильинский, опыты 2002–2004 гг.*

Вариант	Параметр									Критерий оптимизации
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	NO <sub>3</sub>	C <sub>орг</sub>	Продук- тивность	Нефть I	Нефть II	Нефть III	Бенз(а)- пирен	
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + биогумус	0,47	0,30	0,66	0,80	0,86	0,53	0,54	0,50	0,94	<b>5,6</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + вермикомпост	0,49	0,39	0,19	0,81	0,86	0,88	0,90	0,91	0,77	<b>6,2</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + дрожжевые культуры	1,00	1,00	0,52	0,68	0,91	0,88	0,91	0,90	0,54	<b>7,34</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + навоз	0,85	0,78	0,09	0,58	0,80	1,00	1,00	0,91	0,49	<b>6,50</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + «Альбит»	0,93	0,90	0,25	0,95	1,00	0,74	0,75	0,76	1,00	<b>7,28</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + «Байкал М1»	0,63	0,54	1,00	1,00	0,94	0,89	0,93	1,00	0,98	<b>7,91</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + диаммоний-фосфат	0,70	0,67	0,17	0,73	0,70	0,77	0,8	0,76	0,27	<b>5,76</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + известь	0,75	0,73	0,27	0,56	0,58	0,66	0,74	0,75	0,30	<b>5,34</b>

*Примечание.* Нефть I – содержание нефти в почве 18.06.2003 г., нефть II – содержание нефти 15.05.2004 г., нефть III – содержание нефти 22.09.2004.

## 4.2. ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ ПОЧВЫ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «АЛЬБИТ» И ШТАММОВ *PHOMA EURYRENA* И *CERPHALIPHORA TROPICA*

### *Агрохимические свойства агродерново-карбонатной почвы*

В исследованиях 2003–2004 гг. по ремедиации нефтезагрязненной агродерново-карбонатной почвы выявлена эффективность биопрепарата «Альбит», на фоне которого шла ускоренная деградация нефти в корнеобитаемом слое, увеличилось содержание подвижных фосфатов и калия и повышена продуктивность трав (см. раздел 3.1.1). На новом этапе исследований в 2007 г. была поставлена цель – установить влияние этого биопрепарата на процесс деградации нефти и состояние микробных углеводородоокисляющих сообществ почвы по фону загрязнения разными дозами нефти, а также оценить эффективность ремедиации почвы при совместном применении препарата «Альбит» и селекционных штаммов углеводородоокисляющих микромицетов *Phoma euryrena* и *Cerphaliophora tropica*.

В результате исследований воздействия различных препаратов на разложение нефти в почве было обнаружено, что благодаря применению препарата «Альбит» за период 70 дней в слое 0–20 см количество углеводородов снизилось на варианте 5 л/м<sup>2</sup> нефти на 50 %, на варианте 10 л/м<sup>2</sup> – на 40 %, на варианте 20 л/м<sup>2</sup> – на 55 % относительно контроля (табл. 8). Применение препарата «Альбит» со штаммами *Phoma euryrena* и *Cerphaliophora tropica* незначительно повлияло на процесс деструкции нефти по сравнению с вариантом отдельного использования этого биопрепарата.

Таблица 8

*Агрохимические свойства нефтезагрязненной агродерново-карбонатной почвы  
(после 70 дней ремедиации)*

№	Вариант	pH <sub>вод</sub>	C <sub>орг</sub> , %	УВ, %	N-NO <sub>3</sub> , мг/100г	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100г	K <sub>2</sub> O, мг/100г
1	Контроль	7,25	1,64	0	39,35	6,52	3,21
2	Нефть 5 л/м <sup>2</sup>	7,28	11,64	5,0	67,58	6,41	3,18
3	Нефть 5 л/м <sup>2</sup> + «Альбит»	7,34	4,89	2,5	32,45	15,14	12,18
4	Нефть 5 л/м <sup>2</sup> + «Альбит» + <i>Phoma euryrena</i>	7,30	3,02	3,0	31,06	13,51	14,06
5	Нефть 5 л/м <sup>2</sup> + «Альбит» + <i>Phoma euryrena, Cephaliphora tropica</i>	7,28	2,40	2,0	16,54	17,08	15,18
6	Нефть 10 л/м <sup>2</sup>	7,39	18,60	10,0	80,30	6,35	3,24
7	Нефть 10 л/м <sup>2</sup> + «Альбит»	7,44	9,20	6,0	23,12	16,32	13,10
8	Нефть 10 л/м <sup>2</sup> + «Альбит» + <i>Phoma euryrena</i>	7,35	9,04	8,0	24,15	14,01	14,03
9	Нефть 10 л/м <sup>2</sup> + «Альбит» + <i>Phoma euryrena, Cephaliphora tropica</i>	7,27	8,80	6,0	15,33	18,54	13,21
10	Нефть 20 л/м <sup>2</sup>	7,4	20,86	20,0	90,27	6,68	3,46
11	Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + «Альбит»	7,54	11,55	9,1	17,78	16,12	14,37
12	Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + «Альбит» + <i>Phoma euryrena</i>	7,32	10,02	10,0	26,56	13,11	12,11
13	Нефть 20 л/м <sup>2</sup> + «Альбит» + <i>Phoma euryrena, Cephaliphora tropica</i>	7,45	10,35	10,1	15,33	18,54	13,21

Приемы ремедиации малозаметно влияли на кислотно-щелочные условия, которые остались в пределах нейтрально-слабощелочной среды (табл. 8).

Содержание органического углерода непосредственно связано с содержанием нефти в почве. Исходное количество органического углерода составило 1,64 %. При загрязнении оно увеличилось до 12, 19, 21 % соответственно на вариантах с внесенными дозами нефти. Вследствие применения препарата «Альбит» и препарата со штаммами микромицетов количество органического углерода понижено в 2–3 раза относительно загрязненного контроля. Дополнительный эффект от внесения селекционных штаммов при дозе загрязнения 5 л/м<sup>2</sup> был весьма значительным, но при дозе 10 л/м<sup>2</sup> составил всего 4 % относительно варианта с препаратом «Альбит», при 20 л/м<sup>2</sup> не установлено дополнительного положительного эффекта (табл. 8).

При загрязнении агродерново-карбонатной почвы на варианте 20 л/м<sup>2</sup> содержание нитрат-ионов в 2,3 раза выше, чем в незагрязненной почве. На фоне применения препарата «Альбит» содержание нитратов понижено по сравнению с почвой, загрязненной соответствующими дозами нефти. Еще меньше нитратов в почве на фоне использования препарата со штаммами микроорганизмов; по-видимому, соединения азота потреблялись микроорганизмами (табл. 8). Наибольшее снижение количества нитратного азота оказало применение «Альбита» и штаммовых культур *Phoma eupyrena* и *Cephalophora tropica*, в почве содержалось 15–16 мг/100 г N-NO<sub>3</sub>.

Загрязнение нефтью почвы существенно не повлияло на содержание подвижных соединений фосфора. В образцах, загрязненных нефтью, содержание легкорастворимых фосфатов практически не отличалось от содержания в контрольном образце (табл. 8). Применение препаратов на нефтезагрязненной почве по сравнению с контролем увеличило содержание фосфатов в почве в несколько раз, это связано, преимущественно, с питательными элементами в составе препарата «Альбит».

Влияние биопрепаратов на содержание подвижного калия в дерново-карбонатной почве имело сходную картину с воздействием на фосфаты. На фоне ремедиации содержание подвижного калия в почве возросло в 3–4 раза (табл. 8).

### ***Микробиологические свойства агродерново-карбонатной почвы***

В научной литературе имеются сведения о составе почвенных углеводородоокисляющих бактерий и микромицетов, о трансформации микробных сообществ при нефтезагрязнении почв (Звягинцев и др., 1999). Наиболее активные углеводородоокисляющие 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* (Сидоров и др., 1997). В загрязненных почвах увеличивалась встречаемость фитотоксичных, фитопатогенных и потенциально патогенных для человека видов (*Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Trichoderma viride* и др.) (Радюкова, 2009).

В незагрязненной агродерново-карбонатной почве опытного участка установлена таксономическая структура и численность колониобразующих единиц (КОЕ) сообщества углеводородоокисляющих микроорганизмов. Ассоциация бактерий включала следующие многочисленные роды: *Rhodococcus* ( $10^8$  КОЕ/г почвы) = *Agrobacterium* ( $10^8$ ) > *Bacillus* ( $10^7$ ) > *Pseudomonas* ( $10^6$ ) = *Clavibacter* ( $10^6$ ) > *Xanthomonas* ( $10^5$ ); сообщество мицеляльных микромицетов представлено родами: *Penicillium* ( $10^8$ ) = *Phytophthora* ( $10^8$ ) > *Fusarium* ( $10^6$ ) = *Rhizoctonia* ( $10^6$ ) (рис. 2, приложение 2).

Изменение численности КОЕ микробиоты почвы по вариантам опыта определили через 7 дней после загрязнения нефтью, через 35 и 70 дней после начала ремедиации.

Через неделю после разлива нефти в микробоценозе агродерново-карбонатной почвы не обнаружены КОЕ бактерий родов *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus* и *Agrobacterium*. Численность родов *Clavibacter* и *Xanthomonas* составила всего  $10^2$  КОЕ/г почвы. В то же время в нефтезагрязненной почве присутствовали микромицеты в количестве сотни и тысячи КОЕ/г почвы, отсутствовал лишь *Penicillium* (рис. 2, приложение 2).

Через 35 дней после начала ремедиации в почве также присутствовали бактерии *Clavibacter* и *Xanthomonas*, при меньшей дозе загрязнения нефтью (5 л/м<sup>2</sup>) появились *Agrobacterium* ( $10^4$  КОЕ/г) и

*Pseudomonas* ( $10^2$  КОЕ/г). Обнаружены КОЕ микромицетов в почве при разных дозах загрязнения нефтью (рис. 3, приложение 3).

Применение препарата «Альбит» существенно изменило структуру и численность бактериального сообщества. Через 35 дней ремедиации на его фоне обнаружены КОЕ всех характерных для незагрязненной почвы родов бактерий; с увеличением дозы загрязнения численность КОЕ бактерий, как правило, снижалась на 1–2 порядка. Усиление токсичности нефти с дозой загрязнения не сказалось на численности *Xanthomonas*. Не установлено определенного влияния препарата на численность КОЕ микромицетов при всех уровнях загрязнения. Среди грибов самую высокую численность показал *Penicillium* ( $10^5$  КОЕ/г при дозах 5 и 10 л/м<sup>2</sup>,  $10^3$  КОЕ/г при дозе 20 л/м<sup>2</sup>), который отсутствовал на варианте без биопрепарата (рис. 3, 4, 5, приложение 3).

Внесение в почву препарата «Альбит» совместно селекционными штаммами микромицетов в определенной степени повлияло на численность аборигенных микроорганизмов. По дозам загрязнения нефтью 5 и 10 л/м<sup>2</sup> в почве проявилась тенденция к увеличению численности некоторых родов бактерий в 10 и 100 раз, в тоже время в 10 раз уменьшалась количество КОЕ грибов. На варианте 5 л/м<sup>2</sup> нефти численность КОЕ *Phoma eupyrena* выше, чем у остальных групп микроорганизмов, но при больших дозах нефти его преимущество не выражено (рис. 3, 4, 5, приложение 3).

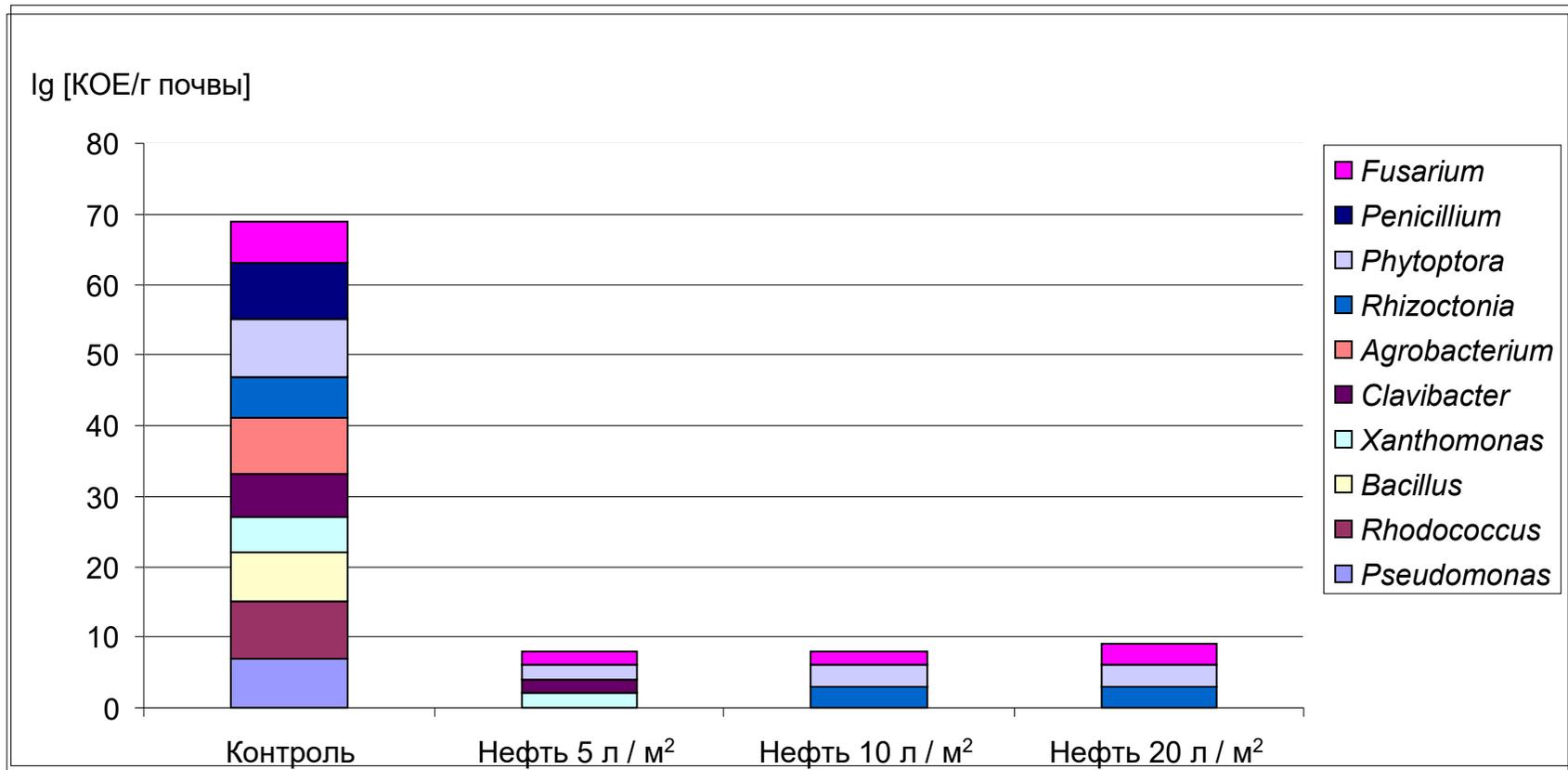


Рис. 2. Численность микроорганизмов в агродерново-карбонатной почве через 7 дней после разлива нефти, lg [КОЕ/г почвы]

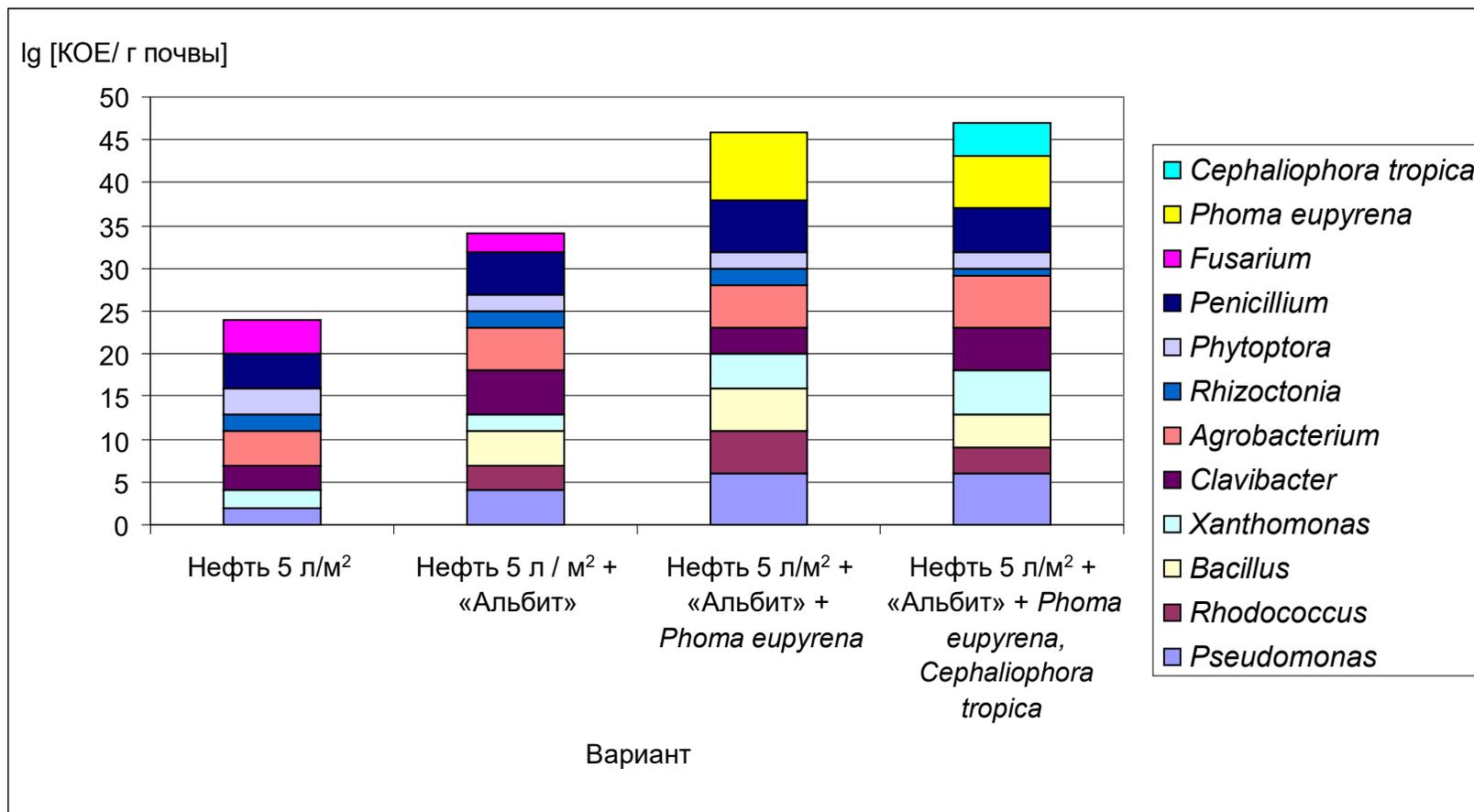


Рис. 3. Численность микроорганизмов в агродерново-карбонатной почве загрязненной нефтью в дозе 5 л / м<sup>2</sup> через 35 дней с начала ремедиации, lg [КОЕ/г почвы]

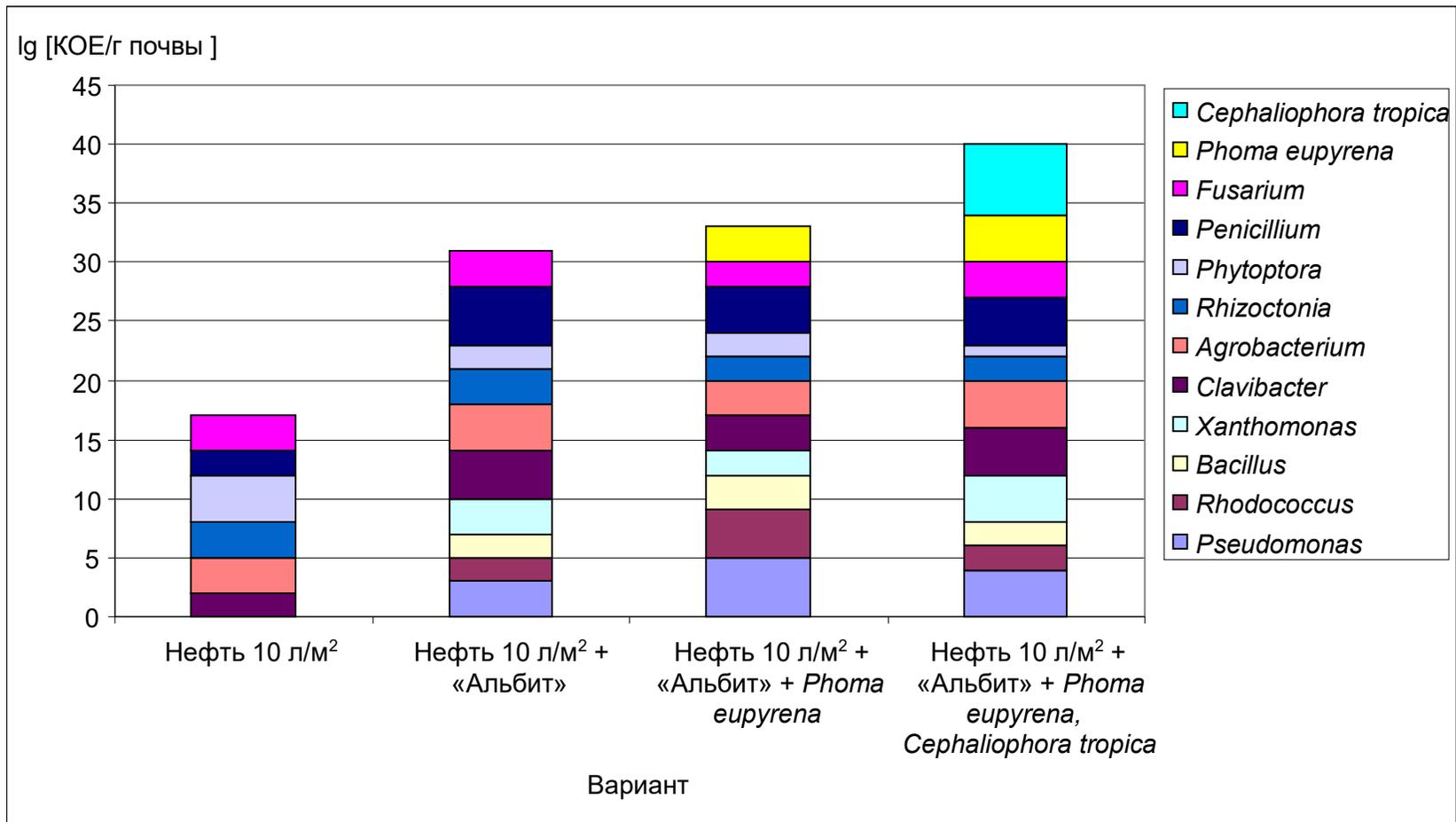


Рис. 4. Численность микроорганизмов в агродерново-карбонатной почве загрязненной нефтью в дозе 10 л / м<sup>2</sup> через 35 дней с начала ремедиации, lg [КОЕ/г почвы]

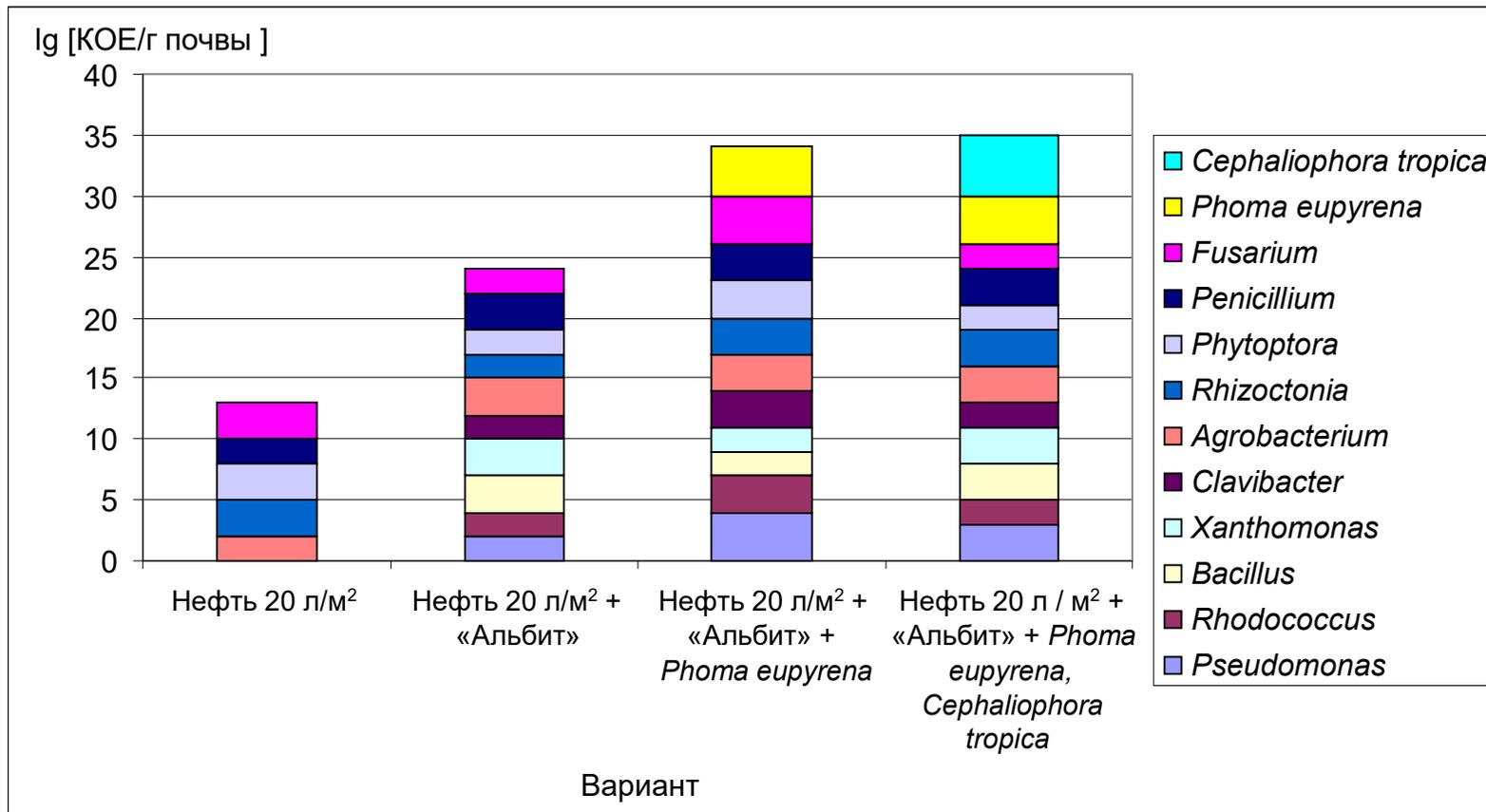


Рис. 5. Численность микроорганизмов в агродерново-карбонатной почве загрязненной нефтью в дозе 20 л / м<sup>2</sup> через 35 дней с начала ремедиации, lg [КОЕ/г почвы]

Через 70 дней в нефтезагрязненной почве присутствовали все группы микроорганизмов, но их численность не превышала  $10^2$ – $10^4$  КОЕ/г почвы (рис. 6, 7, 8, приложение 4). Под воздействием препарата «Альбит» отмечены существенные изменения в ассоциации микроорганизмов. Численность родов бактерий на варианте с дозой нефти 5 л/м<sup>2</sup> возросла до  $10^5$ – $10^7$  КОЕ/г почвы, но была относительно понижена на вариантах с дозой нефти 10 и 20 л/м<sup>2</sup>, соответственно  $10^4$ – $10^6$  и  $10^3$ – $10^5$  КОЕ/г почвы. На фоне препарата при меньших дозах загрязнения (5 и 10 л/м<sup>2</sup>) в почве не обнаружены КОЕ микромицетов *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*.

При внесении в почву препарата «Альбит» совместно селекционными штаммами микромицетов были слабо представлены или отсутствовали КОЕ бактерий *Clavibacter* и грибов *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*. Численность КОЕ ( $10^6$ – $10^{10}$  на г почвы) селекционного штамма *Phoma eupyrena* существенно возросла по сравнению с предшествующим сроком наблюдений; у *Cephalophora tropica* она составила  $10^5$  –  $10^6$  КОЕ/г почвы (рис. 6, 7, 8, приложение 4).

Установлена положительная корреляционная зависимость между содержанием углеводов и нитратов в почве (табл. 9), отрицательная связь количества углеводов с численностью бактерий, количества углеводов с численностью КОЕ *Penicillium*. Однако с содержанием углеводов положительно связана численность КОЕ микромицетов *Rhizoctonia* и *Fusarium*. Следовательно, с увеличением нагрузки нефти на агродерново-карбонатную почву происходит угнетение бактерий и грибов *Penicillium*, однако численность КОЕ *Rhizoctonia* и *Fusarium* нарастает.

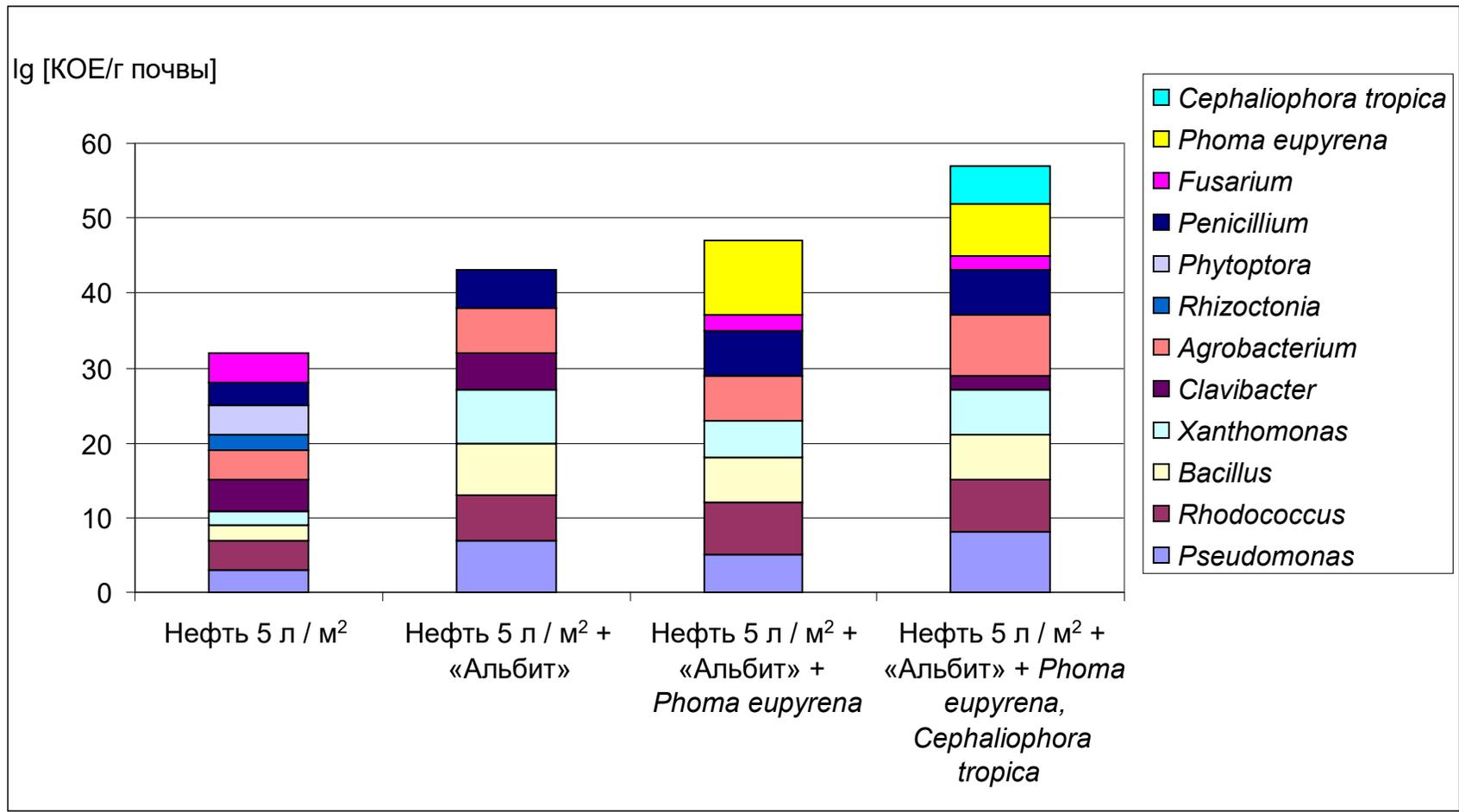


Рис. 6. Численность микроорганизмов в агродерново-карбонатной почве загрязненной нефтью в дозе 5 л/м<sup>2</sup> через 70 дней с начала ремедиации, lg [КОЕ/г почвы]

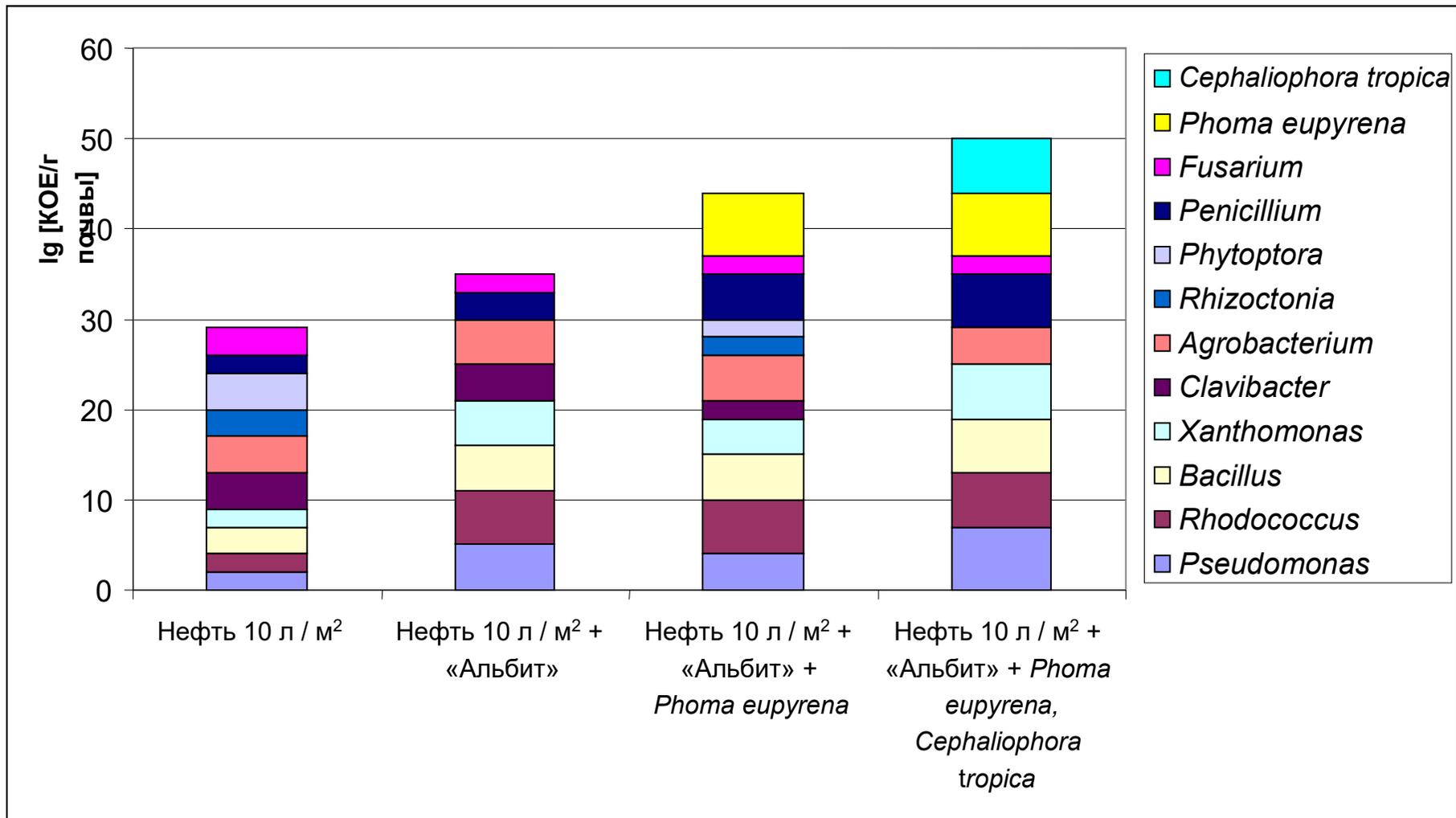


Рис. 7. Численность микроорганизмов в агродерново-карбонатной почве загрязненной нефтью в дозе 10 л/м<sup>2</sup> через 70 дней с начала ремедиации, lg [КОЕ/г почвы]

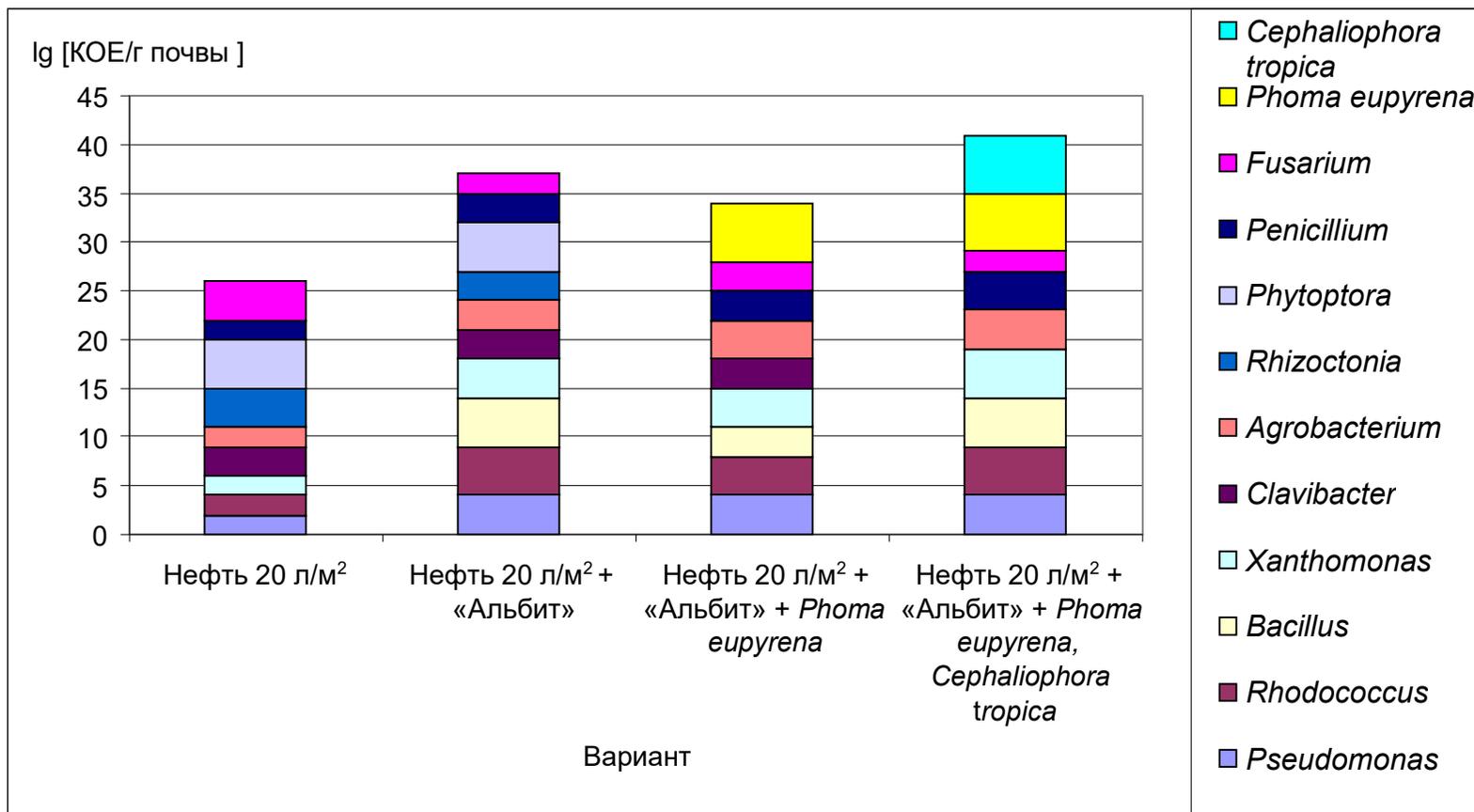


Рис. 8. Численность микроорганизмов в агродерново-карбонатной почве загрязненной нефтью в дозе 20 л / м<sup>2</sup> через 70 дней с начала ремедиации, lg [КОЕ/г почвы]

Коэффициенты корреляции между численностью микроорганизмов (КОЕ/г почвы) и агрохимическими свойствами (через 70 дней ремедиации)

Показатели	pH	УВ	NO <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
<i>Pseudomonas</i>	-0,40	<b>-0,73*</b>	<b>-0,76*</b>	<b>0,84*</b>	<b>0,75*</b>
<i>Rhodococcus</i>	-0,43	<b>-0,79*</b>	<b>-0,84*</b>	<b>0,79*</b>	<b>0,84*</b>
<i>Bacillus</i>	-0,39	<b>-0,8*</b>	<b>-0,79*</b>	<b>0,77*</b>	<b>0,78*</b>
<i>Xanthomonas</i>	-0,24	<b>-0,68*</b>	<b>-0,80*</b>	<b>0,88*</b>	<b>0,82*</b>
<i>Clavibacter</i>	0,39	0,14	0,39	-0,40	-0,42
<i>Agrobacterium</i>	-0,31	<b>-0,83*</b>	-0,54	0,52	0,58
<i>Rhizoctonia</i>	0,01	<b>0,79*</b>	<b>0,77*</b>	<b>-0,81*</b>	<b>-0,77*</b>
<i>Phytophthora</i>	-0,16	0,40	0,55	<b>-0,72*</b>	<b>-0,66*</b>
<i>Penicillium</i>	-0,58	<b>-0,70*</b>	<b>-0,67*</b>	<b>0,68*</b>	<b>0,68*</b>
<i>Fusarium</i>	0,20	<b>0,60*</b>	<b>0,64*</b>	<b>-0,67*</b>	<b>-0,67*</b>

Примечание. Символ \* — достоверная корреляционная зависимость между численностью микроорганизмов и агрохимическими свойствами при 95 % уровне вероятности.

Содержание подвижных форм фосфора и калия прямо пропорционально связано с численностью большинства родов микроорганизмов, кроме количества КОЕ двух родов микромицетов (*Rhizoctonia*, *Fusarium*). Следовательно, активность углеводородокисляющих микроорганизмов *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Penicillium* обусловлена обеспеченностью подвижными формами фосфора и калия. Активное размножение этих микроорганизмов шло при подавлении численности микромицетов *Rhizoctonia*, *Fusarium*.

Связь между показателем нефтезагрязнения (содержание углеводов) и агрохимическими, микробиологическими параметрами была учтена при расчете нормированных показателей. В качестве лучших взяты минимальные значения для pH, содержания углеводов и нитратов. Лучшие максимальные значения (экстремумы) отобраны для содержания подвижных фосфатов и калия, а также для численности КОЕ *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Clavibacter*, *Agrobacterium*. С увеличением численности микромицетов в почве усиливается ее токсичность (Назарько, 2008; Хабибуллина, 2009; Илларионов и др., 2003). В наших исследованиях численность КОЕ *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Fusarium* возрастало с увеличением нагрузки нефти; эти грибы включают фитопатогенные виды, которые могут вызвать заболевание у культурных растений. Поэтому для численности КОЕ этих родов использовали в качестве экстремума минимальное, отличное от нуля, значение.

Нормированные значения агрохимических и микробиологических свойств представлены в приложениях 5 и 6, суммарные коэффициенты оптимизации – в таблице 10. На вариантах с применением биопрепарата суммарные коэффициенты оптимизации в 1,7 раза превышали коэффициенты оптимизации контрольных загрязненных вариантов. При использовании препарата «Альбит» со штаммами микромицетов *Phoma eupyrena*, *Cephalophora atropica* суммарный коэффициент оптимизации не отличается от значения коэффициента на вариантах с одним препаратом «Альбит».

Таким образом, опыты по ремедиации нефтезагрязненной дерново-карбонатной почвы дозами нефти 5, 10, 20 л/м<sup>2</sup> с применением препарата «Альбит», показали, что биопрепарат активизирует аборигенную углеводородокисляющую бактериальную и грибную микробиоту и ускоряет процесс деструкции нефти. На фоне действия препарата отмечено повышение количества подвижных форм фосфора и калия, уменьшение количества нитрат-ионов, внесенных с нефтью. «Альбит» существенно ускорил процесс восстановления микробоценоза углеводородокисляющих микроорганизмов. Без внесения препарата в нефтезагрязненной почве быстрее восстанавливался пул микроорганизмов, включающих фитопатогенные виды бактерий и грибов по сравнению с полезной микробиотой.

Селекционные штаммы микромицетов *Phoma eupyrena*, *Cephalophora tropica*, внесенные совместно с препаратом «Альбит», понизили численность КОЕ аборигенных микромицетов, имеющих фитопатогенные виды грибов. Заметного влияния штаммов на скорость деструкции нефти и агрохимические свойства почвы не установлено.

Таблица 10

*Нормированные коэффициенты оптимизации по вариантам опыта*

Вариант	Суммарный коэффициент оптимизации
Нефть 5 л/м <sup>2</sup>	<b>12,3</b>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	<b>18,1</b>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	<b>17,3</b>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	<b>20,1</b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup>	<b>11,1</b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	<b>19,5</b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	<b>20,1</b>

Вариант	Суммарный коэффициент оптимизации
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	19,6
Нефть 20 л/м <sup>2</sup>	11,6
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	20,1
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	19,5
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	20,1

#### 4.3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО РЕМЕДИАЦИИ ТПО. ИЗМЕНЕНИЕ АГРОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТПО

Агрохимические свойства ТПО оценили до начала ремедиации и спустя месяц после внесения ремедиантов в шести точках отбора на территории Керженецкой нефтебазы.

Перед началом ремедиации ТПО в слое 0–20 см имели нейтрально-слабощелочную реакцию среды, содержание углеводов колебалось от 2 до 15 %, количество органического углерода от 3 до 16 % (рис. 9, табл. 11), изменчивость данных показателей обусловлена неравномерным загрязнением ТПО нефтью.

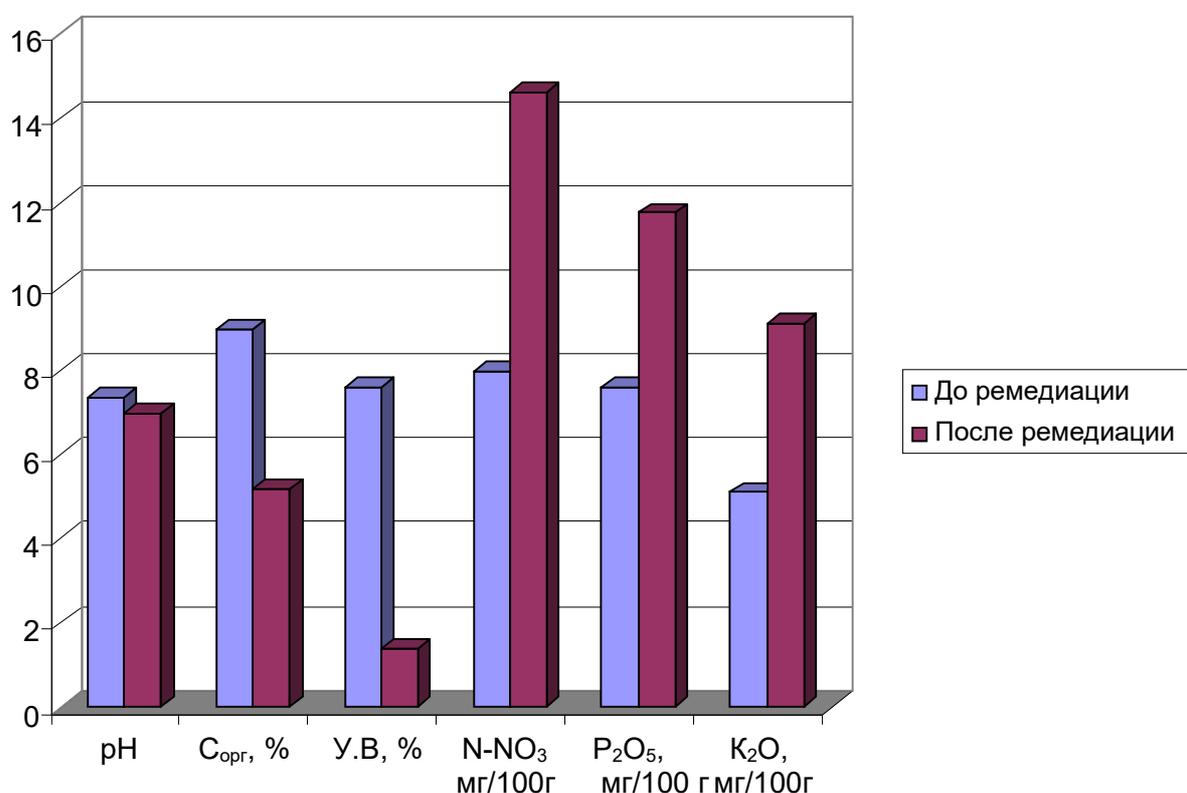


Рис. 9. Изменение агрохимических свойств ТПО в процессе ремедиации

Таблица 11

*Агрохимические свойства ТПО (слой 0–20 см) до ремедиации (08.06.2004)*

Показатели	Повторность	Диапазон изменений		Среднее	Ошибка	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
pH	6	7,02	7,73	7,35	0,11	0,27	3,7
C, %	6	3,4	16,04	8,96	2,17	5,31	59,3
У.В, %	6	2,4	15,2	7,6	2,02	4,95	65,1
N-NO <sub>3</sub> мг/100 г	6	4,77	16,61	7,99	1,77	4,33	54,1
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100 г	6	5,58	9,86	7,58	0,59	1,44	19,0
K <sub>2</sub> O, мг/100 г	6	3,04	7,00	5,11	0,60	1,47	28,7

Таблица 12

*Агрохимические свойства ТПО в процессе ремедиации (26.08.2004)*

Показатели	Повторность	Диапазон изменений		Среднее	Ошибка	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
pH	6	6,9	7,1	6,98	0,03	0,08	1,2
C, %	6	3,59	6,04	5,16	0,36	0,89	17,2
У.В, %	6	0	2,48	1,39	0,33	0,81	58,3
N-NO <sub>3</sub> мг/100 г	6	10	18,14	14,63	1,29	3,15	21,5
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100 г	6	8,94	16,6	11,75	1,33	3,24	27,6
K <sub>2</sub> O, мг/100 г	6	5,92	14,39	9,11	1,43	3,51	38,6

В значительной степени варьировало в ТПО количество нитратов. Количество подвижных фосфатов и калия в слое 0–20 см ТПО было низким и по точкам отбора проб изменялось в меньшей степени.

Спустя месяц (конец августа) с начала процесса ремедиации отмечено изменение агрохимических свойств ТПО (рис. 9, табл. 12), обоснованное статистическими критериями достоверности (табл. 13). Отмечено слабое подкисление ТПО, но реакция среды остается в пределах нейтральных значений. Заметно снизились содержание органического углерода и особенно углеводов (становится в среднем в 5 раз ниже). По количеству органического углерода верхние слои ТПО становятся более однородными, есть пробы, в которых отсутствуют углеводороды. Благодаря удобрениям и биопрепаратам возросло содержание подвижных соединений азота, фосфора и калия.

Таблица 13

*Агрохимические свойства ТПО до и спустя месяц  
после начала ремедиации*

Показатели	Среднее до ремедиации	Среднее в процессе ремедиации	Критерий Фишера	Уровень значимости нулевой гипотезы
pH	7,35	6,98	9,85	0
C орг, %	8,96	5,16	2,99	0,013
У.В, %	7,6	1,39	9,12	0
N-NO <sub>3</sub> мг/100г	7,99	14,63	9,23	0
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100	7,58	11,75	8,24	0
K <sub>2</sub> O, мг/100г	5,11	9,11	6,62	0,001

#### 4.4. БИОХИМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТПО

Биохимическая активность ТПО является интегральным результатом функционирования микробоценоза. Известно, что основными поставщиками ферментов в почвы служат микроорганизмы, в меньшей мере, растения. Были исследованы показатели активности почвенных ферментов, относящихся к группам оксидоредуктаз (каталазная и дегидрогеназная активность) и гидролаз (инвертазная активность почв).

ТПО территории нефтебазы характеризовались низкой фоновой биохимической активностью. В соответствии с критериями обога-

щенности почв ферментами Д. Г. Звягинцева (1978) верхний слой ТПО был очень бедным по активности инвертазы и дегидрогеназы.

В ТПО, подверженных ремедиации, активность каталазы повышена относительно фонового уровня (рис. 10, приложение 7). По степени обогащенности инвертазой ТПО были бедными, что лучше фонового уровня. По активности дегидрогеназы они относятся к среднеобогаченным и богатым (рис. 11, 12, приложение 7). По-видимому, благодаря проведению мероприятий по ремедиации ТПО усилилась выработка некоторых экзоферментов почвенной микробиотой.

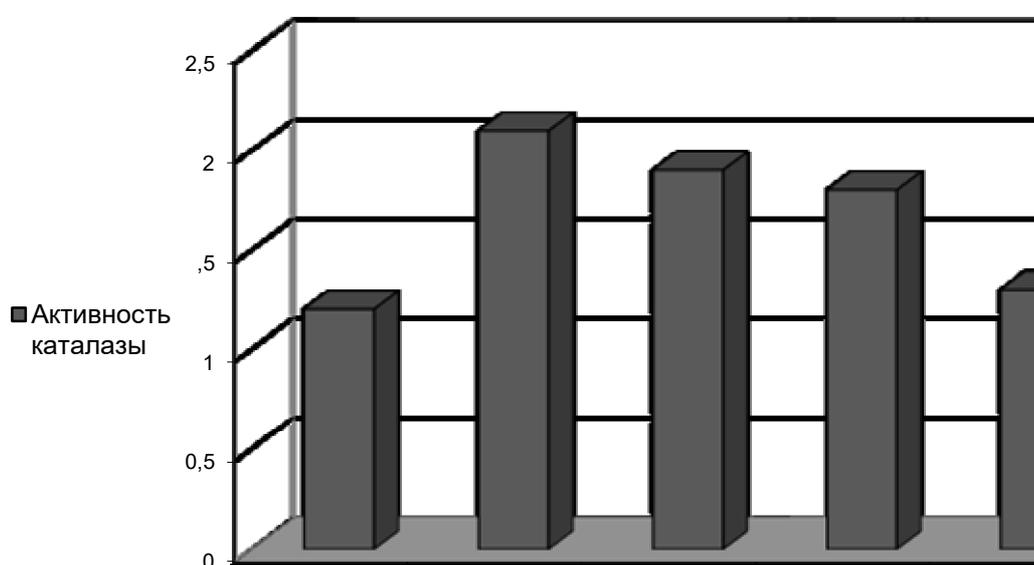


Рис. 10. Активность каталазы в слое 0–20 см, см<sup>3</sup> 0,1 КМnO<sub>4</sub>/г, мин: 1 – проба фонового ТПО; 2, 3, 4, 5 – пробы ТПО в процессе ремедиации

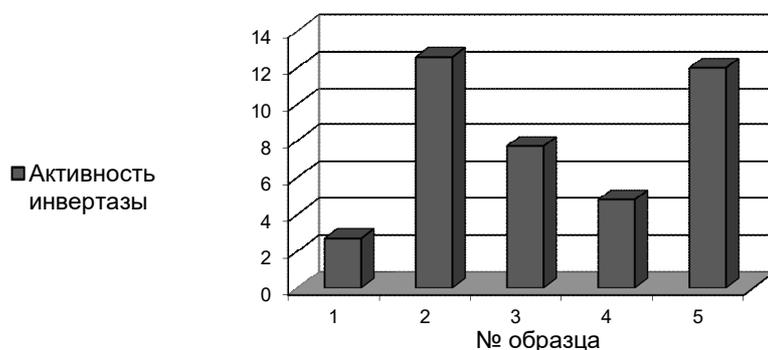


Рис. 11. Активность инвертазы в слое 0–20 см, мг глюкозы/г, 24 ч: 1 – проба фонового ТПО; 2, 3, 4, 5 – пробы в процессе ремедиации

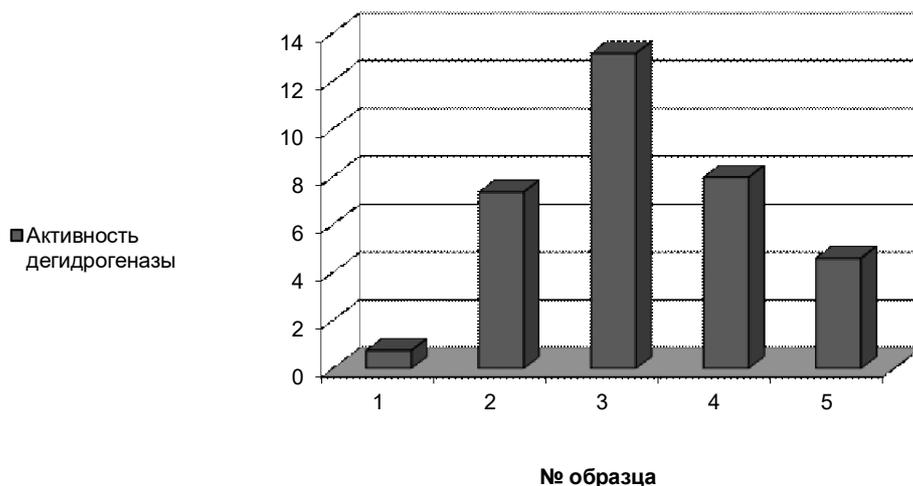


Рис. 12. Активность дегидрогеназы в слое 0–20 см, мг ТФФ /10 г, 24 ч: 1 – проба фонового ТПО; 2, 3, 4, 5 – пробы ТПО в процессе ремедиации

В образцах почвогрунта из нефтезагрязненных ТПО отмечена меньшая скоростью азотфиксации, чем в образце из фонового ТПО (рис. 13, приложение 7), что соответствует литературным данным о снижении азотфиксации в почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами (Естеровская и др., 1975; Артамонова, 2002; Радюкова, 2009). Скорость денитрификации почти не отличается от фона (рис. 14, приложение 7).

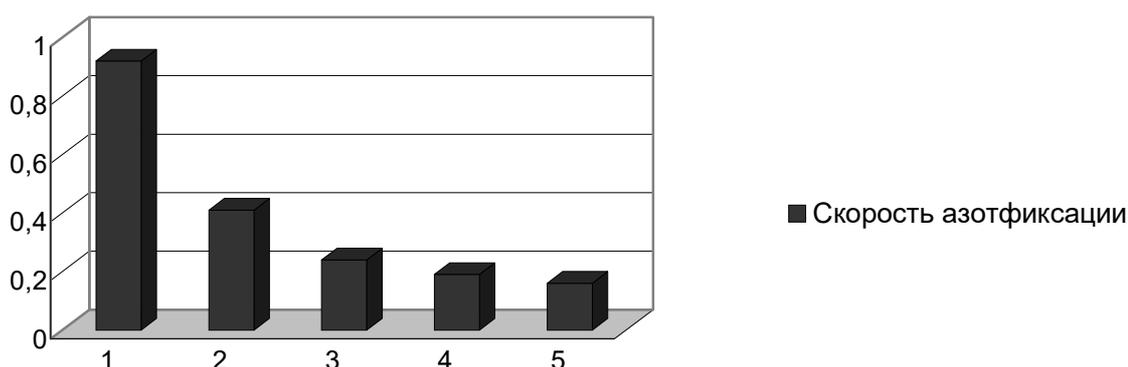


Рис. 13. Скорость азотфиксации в слое 0–20 см, нмоль С<sub>2</sub>Н<sub>4</sub>/г, 24 ч.: 1 – проба фонового ТПО; 2, 3, 4, 5 – пробы ТПО в процессе ремедиации

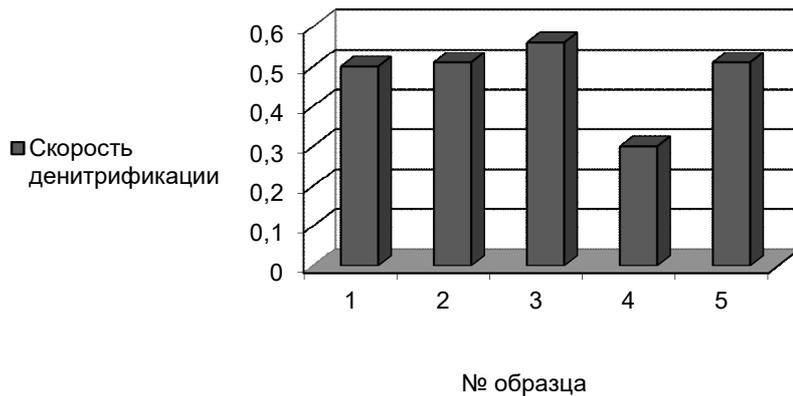


Рис. 14. Скорость денитрификации в слое 0–20 см, мкмоль N<sub>2</sub>O/г, 24 ч.:  
1 – проба фоновой почвы; 2, 3, 4, 5 – пробы после ремедиации

Поверхностные слои ТПО на начальном этапе ремедиации более однородны по каталазной активности и скорости денитрификации; изменчивость ТПО по активности инвертазы, дегидрогеназы и скорости азотфиксации несколько выше (приложение 7).

Таким образом, в верхнем слое нефтезагрязненных ТПО спустя один месяц после начала ремедиации повышена активность каталазы, инвертазы и, особенно, дегидрогеназы, по сравнению с фоновым уровнем, что отражает развивающиеся процессы микробной ремедиации. Активность азотфиксации в ТПО понижена, что характерно для нефтезагрязненных почв. Скорость денитрификации в ТПО не отличалась в целом от фонового уровня, что свидетельствует об отсутствии угрозы усиления анаэробиса под влиянием нефтезагрязнения, т. к. процессы восстановления азотистых соединений развиваются при участии анаэробных микроорганизмов.

### 3.5. ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ТПО

До ремедиации поверхностные слои нефтезагрязненных ТПО имели низкую микробиологическую активность, были неоднородными по ассоциации углеводородокисляющих микроорганизмов. В пробах чаще других бактерий встречались *Clotridium*, *Rhodococcus* и *Pseudomonas* численностью от 10 до 10<sup>4</sup> КОЕ/г почвогрунта, реже обнаружены *Bacillus* и *Erwinia* (табл. 13, приложение 8). В половине

проб микромицеты представлены родами *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Synchytrium* (от 10 до 10<sup>3</sup> КОЕ на 1 г почвогрунта). В отдельных пробах присутствовали КОЕ *Aspersillus*, *Mucor*, *Phytophthora*.

После проведения мероприятий по ремедиации ТПО изменились численность углеводородокисляющего микробного сообщества. Во всех пробах были бактерии *Rhodococcus*, *Clotridium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, их численность сильно колебалась (10–10<sup>10</sup> КОЕ/г почвогрунта), численность КОЕ всех грибов также возросла, в том числе, редко встречаемых до ремедиации *Aspersillus*, *Mucor*, *Phytophthora* (табл. 14, приложение 9).

По-видимому, в благоприятных условиях ремедиации активно размножалась как аборигенная микробиота, так и микроорганизмы, внесенные с препаратом «Байкал ЭМ1». Благодаря углеводородокисляющим бактериям и грибам количество нефти в ТПО за месяц снизилось в среднем в 5 раз (см. табл. 12).

Таблица 14

Численность микроорганизмов в ТПО нефтебазы до начала и в процессе ремедиации, КОЕ/г почвы

Показатель	<i>Erwinia</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Clotridium</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Aspersillus</i>	<i>Mucor</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Pythium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Synchytsium</i>
До ремедиации												
Количество проб	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее	< 10	10	10	10	10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10	10
Минимальное значение	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Максимальное значение	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
В процессе ремедиации												
Количество проб	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Среднее	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>
Минимальное значение	0	10	10	10 <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0
Максимальное значение	10 <sup>4</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>10</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>10</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>

При анализе численности микробного сообщества ТПО применили ранее описанный метод оптимизации (табл. 15).

Таблица 15

*Нормированные критерии оптимизации численности микроорганизмов в ТПО нефтебазы Керженец*

№ проб	Глубина, см	Критерий оптимизации до ремедиации	Критерий оптимизации в процессе ремедиации	Разность критериев оптимизации
1	0–12	0,25	5,89	5,39
	12–24	1,17	7,46	5,13
2	0–12	1,25	5,62	3,12
	12–24	1,08	5,58	3,41
3	0–12	2,25	8,00	3,50
	12–24	2,16	7,48	3,15
4	0–12	5,5	12,07	1,07
	12–24	3,08	9,65	3,48
5	0–12	0,25	6,10	5,60
	12–24	1,00	6,80	4,80
6	0–12	0,92	5,14	3,30
	12–24	0,83	5,96	4,29
7	0–12	2,58	8,38	3,21
	12–24	3,83	10,25	2,58
8	0–12	0,33	3,23	2,56
	12–24	0,25	4,36	3,86
9	0–12	2,17	6,06	1,73
	12–24	1,00	5,56	3,56
10	0–12	0	5,41	5,41
	12–24	0	5,44	5,44

Для углеводородокисляющих микроорганизмов *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Clotridium*, *Pseudomonas*, *Aspersillus*, *Pythium*, *Synchylytsium* при расчете нормированных показателей в качестве экстремума использовали наибольшие значения (приложения 10, 11). Для родов, включающих фитопатогенные виды (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Erwinia*, *Mucor*, *Phytophthora*), были применены минимальные (отличные от нуля) экстремумы. Критерии оптимизации поверхностных слоев нефтезагрязненных ТПО до ремедиации колебались в пределах 0–5,5. После проведения мероприятий по ремедиации ТПО границы колебаний критериев оптимизации составили 3–12, при этом критерий ниже 5 единиц имели 5 проб из 20 (25 %). По отдельным местам отбора проб ТПО критерий оптимизации для микробного сообщества ТПО увеличился в десятки раз.

## Заключение

В незагрязненной агродерново-карбонатной почве сообщество углеводородокисляющих микроорганизмов представлено ассоциацией бактерий *Rhodococcus*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clavibacter*, *Xanthomonas* и микромицетов *Penicillium*, *Phytophthora*, *Fusarium* и *Rhizoctonia*. При нефтезагрязнении в агродерново-карбонатной почве сократилась численность бактерий и отмечена тенденция к увеличению количества КОЕ микромицетов *Rhizoctonia* и *Fusarium*.

На начальном этапе ремедиации нефтезагрязненной агродерново-карбонатной почвы под действием биопрепаратов ускорились процессы деструкции нефти. Применение препаратов «Альбит» и «Байкал ЭМ1» слабо повлияло на величину рН и способствовало увеличению содержания подвижных фосфатов и калия; на фоне их действия снизилось количество бенз(а)пирена, а масса злаков повысилась в 2 раза относительно контроля.

Под воздействием препарата «Альбит» в нефтезагрязненной агродерново-карбонатной почве за 70 дней летнего периода отмечено снижение нагрузки нефти: на 50 % при дозе 5 л/м<sup>2</sup>, на 40 % – при дозе 10 л/м<sup>2</sup>, на 55 % – при дозе 20 л/м<sup>2</sup>. Одновременно отмечен рост численности бактерий *Rhodococcus*, *Clotridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Xanthomonas*, *Agrobacterim* и проявилась тенденция к снижению КОЕ микромицетов *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*.

Внесение препарата «Альбит» со штаммами *Phoma eupyrena* и *Sephaliphora tropica* незначительно повлияло на деструкцию нефти по сравнению с вариантом отдельного использования препарата. В процессе ремедиации на фоне действия препарата проявилась тенденция к снижению численности КОЕ родов микромицетов *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*.

В нефтезагрязненных ТПО при применении биопрепаратов «Альбит» и «Байкал ЭМ1» на фоне рыхления и удобрений (диаммонийфосфат) за период около одного месяца в 5 раз уменьшилась нагрузка нефти, повысилось содержание подвижных форм азота, фосфора и калия. На фоне ремедиации уровень активности инвертазы, дегидрогеназы и каталазы превысил фоновую величину, однако оставался подавленным процесс азотфиксации.

В поверхностном слое (0–20 см) нефтезагрязненных ТПО территории нефтебазы отмечена низкая численность микроорганизмов и пространственная неоднородность их ассоциаций. В процессе ремедиации ТПО численность КОЕ бактерий и микромицетов увеличилась на несколько порядков. Через месяц с начала ремедиации состояние поверхностных слоев ТПО позволило получить всходы и сформировать покров из сеяных злаков.

## Библиографический список

1. *Абдрахманова А.Р., Трифонова В.Н., Жегневская Л.В.* Изучение биодеградации сульфидов нефти // Нефтепереработка и нефтехимия. 1998. № 7. С. 31–32.
4. *Акимова Н.А., Кобелев В.С., Чугунов В.А.* Штамм бактерий *Pseudomonas alcaligenes* В-1, используемый для очистки воды и почвы от нефти и нефтепродуктов // Патент России № 2133770. 1998. Бюл. № 21.
5. *Акопова Г.С., Косолапова Е.В.* Биологический метод очистки почвогрунтов, загрязненных углеводородами // Материалы 3-й науч.-практ. конференции. М., 1999. С. 101–102.
6. *Акопова Г.С., Мурзаков Б.Г., Кузнецова О.В.* Биотехнология ликвидации загрязнения почвогрунтов и водной среды // Проблемы экологии газовой промышленности. 2000. № 1. С. 15–52.
7. *Александрова Т.Н.* Органическое вещество почвы и процессы его трансформации. Л., 1980. 287 с.
8. *Алексеев М.И., Архипенко И.А., Загвоздких В.К.* Способ биологической рекультивации нефтезагрязненной почвы // Патент России № 2307869. 2006. Бюл. № 33. С. 102.
9. *Баландина А.В., Бурлакова Е.М., Казаков А.В.* Использование биопрепаратов на нефтезагрязненных почвах // Медицина и здоровье: матер. рос. науч.-практ. конф. ПГФА в рамках 14-й междунар. выст. Пермь, 2008. С. 176–178.
10. *Баландина А.В., Еремченко О.З., Одегова Т.Ф.* Микробная ремедиация техногенных поверхностных образований Керженецкой нефтебазы // Фундаментальные исследования. 2013. № 10 (ч. 2) С. 328–333.
11. *Баландина А.В., Одегова Т.Ф., Казаков А.В.* Применение штаммовых культур грибов–сапрофитов в методике рекультивации почв, загрязненных нефтью // Фундаментальные исследования. 2013. № 6. С. 668–672.
12. *Баландина А.В., Одегова Т.Ф.* Остаточные нефтепродукты в дерново-карбонатных почвах после рекультивации и самоочищения // Успехи современного естествознания. 2013. № 7. С. 95–100.
13. *Баландина А.В., Рудакова И.П., Злотников К.М.* Изучение высокоактивного комплексного препарата Альбит // Медицина и здоровье: матер. рос. науч.-практ. конф. ПГФА в рамках 14-о междунар. выст. Пермь, 2008. С. 178–179.
14. *Баландина А.В., Садовникова Л.К.* Ремедиация нефтезагрязненных почв с помощью биопрепаратов // Современные проблемы загрязнения почв: матер. 2-й междунар. науч. конф. М., 2007. С. 260–262.
15. *Баталь М.М.* Изучение закономерностей деструкции нефти гидробионтами разных трофических уровней. М.: 1980. 21 с.
16. *Бойкова И.В., Новикова И.И., Чумаков А.Я.* Биовосстановление и рекультивация земель, подвергшихся техногенным воздействиям // Докл. науч.-практ. конф. «Промышленная экология – 97». СПб., 1997. С. 488–490.

17. *Гаджиева В.И.* Воздействие биологической очистки на почвенный комплекс нефтезагрязненной серо-бурой почвы // Тр. конф. мол. ученых. Баку, 1988. 58 с.
18. *Гайдаш Н.И.* К вопросу о вермикомпостировании // Химия в сельском хозяйстве. Агрехимический вестник. 1997. № 5. С. 24–25.
19. *Гайнутдинов М.З.* О токсичности нефти. Проблема разработки автоматизированных систем наблюдения, контроля и оценки состояния окружающей среды // Материалы Всесоюз. науч. техн. конф. Казань, 1979. С. 141–143.
20. *Голованов А.И., Маматов А.А.* Технология очистки почв и грунтов от легких нефтепродуктов. // тез. докл. 3-й науч. конф. М.: 1999. С. 98-100.
21. *Головин А.Ф., Сармин И.А.* Новые технологии для очистки нефтесодержащих вод, почв, переработки и утилизации нефтешламов // тез. докл. межд. конф. М.: 2001. С. 214–217.
22. *Голодяев Г.П.* Консорциум штаммов микроорганизмов-деструкторов: *Aeromonas species, Alcaligenes dendritificans, Arthrobacter species*, используемый для очистки почв, почвогрунтов, вод от нефти, нефтепродуктов и остаточной замазученности // Биол.-почв. ин-т Дальневосточ. отд. РАН. Патент России № 2127310. 1999. Бюл. № 19.
23. *Городний Н.М., Вовкотруб М.Ф., Повхан В.А.* Способ получения биогумуса // Патент США № 4108625. 1989.
24. *Городний Н.М., Сердюк А.Г., Быкин А.В.* Технологические аспекты переработки свиного навоза в вермикомпост // Химия в сельском хозяйстве. 1995. № 1. С. 15–18.
25. *Дзыбов Д.С.* Об альтернативном потенциале многовидовых дикорастущих травосмесей при рекультивации нарушенных земель в Центральном Предкавказье // Биологическая рекультивация нарушенных земель. Екатеринбург, 1996. С. 38–40.
26. *Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П.* Восстановление плодородия почв после интенсивного промышленного воздействия // Агрехимические исследования на Кольском Севере. Апатиты, 1993. С.83–91.
27. *Еремченко О.З., Филькин Т.Г., Шестаков И.Е.* Редкие и исчезающие почвы Пермского края. Пермь, 2010. С. 92.
28. *Ермолаев Н.Н., Ивченко Е.Т.* Восстановление почв, засоленных водами нефтяных месторождений // Мелиорация и водное хозяйство, 1992. № 9–12. С. 23–24.
29. *Жариков Г.А.* Биопереработка сельскохозяйственных и промышленных органических отходов вермикомпостированием // АгроXXI. 1999. № 5. 22 с.
30. *Звягинцев Д.Г.* Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых ее показателей // Почвоведение. 1978. № 6. С. 48–54.
31. *Звягинцев Д.Г.* Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1991. 304 с.
32. *Звягинцев Д.Г., Чернов И.Ю.* Диагностические признаки различных уровней загрязнения почв нефтью // Почвоведение. 1989. № 1. С. 72–78.

33. *Злотников А.К., Садовникова Л.К., Баландина А.В.* Биопрепарат Альбит в технологии очистки почв от нефтяного загрязнения // Нефтегазовое дело. 2006. № 2. С. 2–10.
34. *Злотников А.К., Садовникова Л.К., Баландина А.В.* Использование биопрепарата Альбит для рекультивации нефтезагрязненных почв // Вестник РАСХН. 2007. № 1. С. 65–67.
35. *Злотников А.К., Садовникова Л.К., Баландина А.В.* Биопрепарат Альбит в технологии биоремедиации нефтезагрязненных почв // Современные проблемы загрязнения почв: материалы 2-й международной научной конференции. М.: 2007. С. 283–285.
36. *Зинчук О.А., Жаров А.В., Зинчук А.Н.* Применение бактериальных препаратов для снижения содержания нефтепродуктов в морских водах // Прикладная микробиология. 1998. № 4. С. 23–25.
37. *Иванов В.С.* Очистка почвы от разлитой нефти с помощью био ПАВ или химических ПАВ // Защита от коррозии и охрана окружающей среды. 1996. № 2. 21 с.
38. *Ившина И.Б., Куюкина М.С., Филл Д., Кристофи Н.* Биологическое восстановление пахотной дерново-подзолистой почвы, загрязненной после аварийного разлива нефти в районе Полазненского нефтепромысла // Биологическая рекультивация нарушенных земель: тез. докл. междунар. совещ. Екатеринбург, 1996. С. 59–60.
39. *Иларионов С.А.* Процесс самоочищения и способы рекультивации нефтезагрязненных земель // Биологическая рекультивация нарушенных земель: тез. докл. междунар. совещ. Екатеринбург, 1996. С. 61.
40. *Иларионов С.А., Назаров А.В., Калачникова И.Г.* Роль микромицетов в фитотоксичности нефтезагрязненных почв // М.: Изд. «Наука». № 5. 2003. С. 341–346.
41. *Иларионов С.А., Калачникова И.Г.* Детоксикация нефтезагрязненного грунта нефтешламовых амбаров // Новые технологии для очистки нефтезагряз. вод, почв, переработки и утилизации нефтешламов: тез. докл. науч.-техн. конф. М.: 2001. С. 130.
42. *Ильин Н.П.* Наблюдение за самоочищением почв от нефти в средней и южной тайге // Добыча полезных ископаемых и геохимия природных экосистем. М.: 1982. С. 245–254.
43. *Исмаилов Н.М.* Микробиология и ферментативная активность нефтезагрязненных почв // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М.: 1988. С. 42–56.
44. *Исмаилов Н.М., Пиковский Ю.М.* Биодинамика загрязненной нефтью почвы // Тр. 3 Всесоюз. совещ. по исслед. миграции загрязняющих веществ в почвах и сопредельных средах. М.: 1985. С. 195–198.
45. *Калачникова Л.Г., Базенкова Л.Ю.* Влияние нефтяного загрязнения на экологию почвенных микроорганизмов // Экология и популяционная генетика микроорганизмов. Свердловск, 1987. С.23–26.

46. *Калюжный С.В.* Биотехнология защиты окружающей среды: единство биокаталитических и инженерных подходов // Изв. РАН. Сер. химич. 2001. № 10. С. 1735–1742.
47. *Калюжный С.В., Аринбасаров М.У., Мурыгина В.П.* Очистка водной поверхности и грунтов от нефтяных загрязнений биопрепаратом «Родер» // Экология и промышленность России. 1999. № 8. С. 16–19.
48. *Капотина Л.Н.* Разработка технологии бактериального биопрепарата экологического назначения: дисс. ... канд. техн. наук. М.: 1998. 154 с.
49. *Капотина Л.Н., Стрельникова Т.Л., Морщакова Г.Н.* Деструкция нефтепродуктов биопрепаратами серии «Биодеструктор» // Биотехнология на рубеже двух тысячелетий: материалы межд. науч. конф. Саранск, 2001. С. 228–229.
50. *Киреева Н.А.* Использование биогумуса для ускорения деструкции нефти в почве // Биотехнология. 1995. № 5–6. С. 32–35.
51. *Киреева Н.А., Мифтахова А.М., Ямалетдинова Г.Ф.* Применение биологических методов для очистки и рекультивации почв, загрязненных нефтью // Актуальные проблемы применения нефтепродуктов. Средства защиты окружающей среды от загрязнений нефтью и нефтепродуктами: тезисы докл. науч.-техн. семинара. М.: 1999. С. 68–70.
52. *Киселева Н.И., Жариков Г.А., Галкина Н.Н.* Способ получения биоудобрения // Науч.-исслед. центр токсикологии и гигиенич. регламентации биопрепаратов. Патент России № 2125549. 1997. Бюл. № 3.
53. *Кондрашенко, В.М., Дунайцев, И.А., Ермоленко и др.* Отделение нефти от грунтов, загрязненных в результате нефтеразливов, методом биофлотации // Проблемы, способы и средства защиты окружающей среды от загрязнений нефтью и нефтепродуктами: тезисы докл. 3-й науч.-техн. конф. Москва, 1999. С. 108.
54. *Королев В.А., Некрасова М.А., Митоян Р.А.* Электрохимическая очистка грунтов от загрязнений // Экология и промышленность России. 1998. С. 11–14.
55. *Кортаев Н.Я.* Почвы Пермской области. Пермь: Перм. книж. изд-во, 1962. 278 с.
56. *Костина Н.В., Степанов А.П., Умаров М.М.* Изучение комплекса микроорганизмов, восстанавливающих закись азота в почвах // Почвоведение. 1993. № 12. С. 72–76.
57. *Кристофи Н., Филл Д., Куюкина М.С., Ившина И.Б.* Биологическое восстановление пахотной дерново-подзолистой почвы, загрязненной после аварийного разлива нефти в районе Полазненского нефтепромысла // Биологическая рекультивация нарушенных земель. Екатеринбург, 1996. С. 59–60.
58. *Кромка М., Степанов А.П., Умаров М.М.* Восстановление закиси азота микробной биомассой в почвах // Почвоведение. 1991. № 8. С. 121–126.
59. *Красавин А.П., Катаева И.В., Оборин А.А.* Способ биологической ремедиации нефтезагрязненных почв // Патент России № 2290270. 2006. Бюл. № 19.
60. *Лаврикова В.В., Вавер В.И., Крашенинникова Т.К.* Штамм *Arthrobacter sp.* для разложения нефти и нефтепродуктов // Патент России №2128221. 1997. Бюл. № 9.

61. *Ладыгин А.В.* Сорбент для очистки природных вод и почвы от нефтяных загрязнений «Москат» // Патент России № 2143947. 1999. Бюл. № 36.
62. *Лапин В.С., Овчинникова А.Н.* Способ восстановления плодородия загрязненных нефтью почв // Непрерывное экологическое образование. Красноярск. 1998. С. 160.
63. *Лебедева Е.В., Каневская И.Г., Трилесник Г.И.* Влияние нефтяных загрязнений на микомицеты почвы // Вестник ЛГУ. 1988. № 4. С. 31–35.
64. *Логинов О.Н., Бойко Т.Ф., Костюченко В.П.* О биологической очистке технологических отходов от нефтепродуктов // Почвоведение. 2002. № 4. С. 481–486.
65. *Логинов О.Н., Силищев Н.Н., Чураев Р.Н.* Консорциум штаммов микроорганизмов *Bacillus brevis* и *Arthrolacter species*, используемых для очистки воды и почвы от нефти и нефтепродуктов // Заявка на Патент России. № 2002121985. 2004.
66. *Лысак Л.В.* Бактериальные сообщества городских почв: Автореф. дис. докт. биол. наук. М. 2010. С. 47.
67. *Лысак Л.В., Добровольская Т.Г., Скворцова И.Н.* Методы оценки бактериального разнообразия почв и идентификации почвенных бактерий. М.: МАКС пресс, 2003. С. 120.
68. *Мельник И.А.* Вермикультура – новое мощное средство оздоровления окружающей среды и получения чистой сельхозпродукции // Зерновые культуры. 1997. № 4. С. 9–11.
69. *Мельник И.А., Карнец И.П.* Вермикультура: организация хозяйства, технология разведения червей и производства биогумуса // Зерновые культуры. 1998. № 1. С. 6–8.
70. *Мельник И.А., Карнец И.П.* Производство биогумуса // Химизация сельского хозяйства. 1990. № 12. С. 35.
71. *Морев Ю.Б.* И корм, и удобрение // Сельское хозяйство Киргизии. 1988. № 1. С. 36.
72. *Морев Ю.Б.* Разведение дождевых червей на отходах животноводства // Химико-технологические науки. Фрунзе, 1989. № 1. С. 60–64.
73. *Московиченко М.В., Стабникова Е.В., Москаленко Н.В.* Химический состав поверхностно-активных веществ, стимулирующих микробиологическую деградацию нефти // Микробиологический журнал. 1995. Т. 57. № 1. С. 92–95.
74. *Мукатанов А.Х., Ривкин П.Р.* Влияние нефти на свойства почв // Нефтяное хозяйство. 1980. № 5. С. 53–54.
75. *Назаров А.Д., Наливайко Н.Г., Шинкаренко В.П.* Особенности бактериально-гидрогеохимической диагностики и рекультивации нефтезагрязненных земель северных районов Томской области // Межд. симпозиум «Контроль и реабилитация окружающей среды». Томск, 1998. С. 165–166.
76. *Назарько М.Д.* Теоретическое и экспериментальное обоснование использования микробиологических показателей почв для оценки состояния экосистем Краснодарского края: автореф. дис. докт. биол. наук. Ставрополь, 2008. 33 с.

77. Нижегородская область. Географический обзор. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.geografia.ru/nijegorod.html> (дата обращения: 29.05.2013 г.).

78. *Никитин Б.А.* Окультуривание пахотных почв Нечерноземья и регулирование их плодородия. Л.: 1986. 277 с.

79. *Никитина З.И., Голодяев Г.П.* Санація нефтезагрязненных почв юга Дальнего Востока // тезисы докл. 2 съезда Общества почвоведов. М.: 1996. С. 246–247.

80. *Новицкий М.В., Илющенко В.А.* Содержание и состав лабильного гумуса в дерново-подзолистых супесчаных почвах разной степени окультуренности // *Агрохимия*. 1997. № 4. С.19–22.

81. *Оборин А.А., Хмурчик В.Т., Илларионов С.А.* Нефтезагрязненные биогеоценозы. Пермь, 2008. 511 с.

82. *Оборин А.А.* Трансформация нефтяных углеводородов почв, загрязненных нефтью // Влияние промышленных предприятий на окружающую среду. Пущино, 1984. С. 121–123.

83. *Овеснов С.А.* Ботанико-географическое районирование Пермской области // Вест. Перм. ун-та. Сер.: Биология. 2000. Вып. 2. С. 13–21.

84. *Онегова Т.С., Волочков Н.С., Киреева Н.А.* Способ очистки почвы от нефтяных загрязнений // Патент России № 2279472. 2006. Бюл. № 19.

85. *Орлов Д.С.* Гумусовые кислоты почв. М.: 1974. 333 с.

86. *Орлов Д.С.* Свойства и функции гуминовых веществ // Гуминовые вещества в биосфере. М.: 1993. С. 16–27.

87. *Орлова Н.А., Хотянович А.В., Свечина Р.М.* Биопрепарат для очистки почвы и воды от нефти и нефтепродуктов // Экологические системы и приборы. 1999. № 2. С. 74.

88. *Особоохраняемые природные территории Пермской области.* Пермь: Книжный мир, 2002. 464 с.

89. *Паников Н.С., Гузев В.С., Халимов Э.М.* Лабораторные тесты для оптимизации интродукции в почву микроорганизмов-деструкторов нефти // Прикладная биохимия и микробиология. 1998. Т. 34. № 5. С. 576–582.

90. *Паничкина И.В.* Способы рекультивации нефтезагрязненных почв // тезисы докл. науч. конф. мол. ученых. Пущино, 1997. С. 182–183.

91. *Петров А.А.* Углеводороды нефти. М., 1984. 264 с.

92. *Петровичева Е.В., Одинцова С.В.* Разработка нового биопрепарата для рекультивации территорий и акваторий, загрязненных нефтепродуктами // Известия Астрах. гос. тех. ун-та. 1998. № 2. С. 44–47.

93. *Пиковский Ю.И.* Геохимические особенности техногенных потоков в районах добычи нефти // Техногенные потоки вещества в ландшафтах и состояние природных экосистем. М., 1981. С. 134–148.

94. *Пиковский Ю.И.* Трансформация техногенных потоков нефти в почвенных экосистемах // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М., 1988. С. 7–22.

95. *Полянский А.М., Головченко А.В., Полянская Л.М.* Новые критерии для микробиологического мониторинга загрязненных нефтью почв // Новые техно-

логии для очистки нефтезагряз. вод, почв, переработки и утилизации нефтешламов: тезисы. докл. М., 2001. С. 81–83.

96. *Пономарева Л.В., Крунчак В.Г., Торгованова В.А.* Биоремедиация нефтезагрязненной почвы с использованием биопрепарата «Биосэт» и пероксида кальция // Биотехнология. 1998. № 1. С. 79–84.

97. *Попов А.И., Чертов О.Г.* Восстановление трофической функции почв как основное направление биологической рекультивации нарушенных территорий Севера // Освоение Севера и проблемы рекультивации. Сыктывкар, 1994. С. 177–182.

98. Почвенная карта Пермской области. М 1:300 000. Волгогипрозем, 1978.

99. *Развага Р.И.* Использование консорциумов штаммов нефтеокисляющих бактерий для очистки сточной воды // Цветная металлургия. 1998. Вып. 10. С. 26–29.

100. *Радченко Е.Я., Сатубалдин К.К., Салангинас Л.А.* Способ рекультивации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами в зимний период времени // Патент России № 2241555. 2004.

101. *Розанова Е.П.* Использование углеводов микроорганизмами // Успехи микробиологии. М., 1980. Вып.4. С. 61–97.

101. *Савкина Т.Г., Боярский З.Н., Стныц З.В.* Повреждения почвы, вызванные загрязнением нефтью // Проблемы разработки автоматизированных систем наблюдения, контроля и оценки состояния окружающей среды: материалы. Всесоюз. науч.-тех. конф. Казань, 1979. С. 141–143.

102. *Салангинас Л.А.* Изменение свойств почв под воздействием нефти и разработка системы мер по их реабилитации. Екатеринбург, 2003. 412 с.

103. *Самосова С.М., Фильченкова В.И., Мусина Г.Х.* Влияние нефтяного загрязнения на биологическую активность почвы // Проблемы разработки автоматизированных систем наблюдения, контроля и оценки состояния окружающей среды: материалы Всесоюз. науч.-тех. конф. Казань, 1979. С. 138–139.

104. *Самосова С.М., Артемьева Т.И., Жеребцов А.К.* Изменение микрофлоры и состава нефти в черноземной почве Татарии в первый период после загрязнения // Добыча полезных ископаемых и геохимия природных экосистем. М., 1982. 235 с.

105. *Самсонова А.С., Семочкина Н.Ф., Алещенкова З.М.* Влияние загрязнений нефтью на микрофлору почвы // Микробиология и биотехнология на рубеже 21 столетия: материалы межд. науч. конф. Минск, 2000. С. 204–205.

106. *Сапожников А.П.* Почва как индикатор биоразнообразия лесных биоценозов // Тезисы докл 2 съезда Общества почвоведов. СПб., 1996. Кн. 2. С. 188–189.

107. *Садовникова Л.К., Баландина А.В.* Восстановление нефтезагрязненных земель с использованием биотехнологических методов // Дождевые черви и плодородие почв: материалы 2-й международной научно-практической конференции. Владимир, 2004. С. 232–233.

108. *Севастьянов В.В.* Способ биологической рекультивации плодородных земель, загрязненных нефтепромысловыми пластовыми водами, в степных, ле-

состепных, полупустынных зонах (варианты) // Патент России № 2102430. 1995. Бюл. № 22.

109. Сидоренко Т.Е., Соловьев В.И., Ипатов Т.В. Биоорганическое удобрение // Патент России № 2141932. 1999. Бюл. № 33.

110. Сидоров Д.Г., Борзенков И.А., Мелехина Е.И. Очистка почвы от загрязнения с использованием микробиологического препарата в условиях полевого эксперимента // Тезисы докл. 3 Межд. конф. «Освоение Севера и проблемы рекультивации». Сыктывкар, 1996. С. 174–175.

111. Смирнов А.В., Сватовская Л.Б., Панин А.В. Исследование моющих средств для очистки грунта от нефти и нефтепродуктов на железнодорожном транспорте // Пробл. инж. экол. на ж.-д. трансп. СПб., 1999. С. 31–35.

112. Смирнов А.В., Сватовская Л.Б., Смирнова Т.В. Перспективы применения физико-химического метода очистки нефтезагрязненных грунтов // Тезисы докл. Междунар. эколог. конгресса. СПб., 2000. Т.2. С. 255.

113. Смирнова Т.В., Панин А.В., Сватовская Л.Б. Нефть как фактор подавления биоты и мероприятия по ликвидации последствий нефтезагрязнений почвы // Тезисы докл. совещ. молодых ученых, аспирантов и докторантов Петербург гос. ун-та путей сообщ. СПб., 1997. С. 57–59.

114. Соколов А.В. Агрехимическая характеристика почв // Урал. М.: 1976. 362 с.

115. Солнцева Н.П. Добыча нефти и геохимия природных ландшафтов. М.: МГУ, 1998. 376 с.

116. Спиридович Е.А., Пыстина Н.Б. Проблемы рекультивации земель на объектах Севергазпрома // Проблемы разработки сложных нефтегазоконденсатных месторождений Тимано-Печерской провинции. Ухта, 1996. С. 158–163.

117. Стабникова Е.В., Селезнева М.В., Рева О.Н. Выбор активного микроорганизма – деструктора углеводов нефтезагрязненных почв // Прикладная биохимия и микробиология. 1995. Т. 31. № 5. С. 534–539.

118. Старовойт Т.А., Голодяев Г.П. Консорциум штаммов микроорганизмов-деструкторов: *Alcaligenes denitricans*, *Bacillus species*, *Pseudomonas putida*, *Aeromonas species* для очистки почв, почвогрунтов, вод от нефти, нефтепродуктов и остаточной замазученности // Патент России № 2115629. 1996.

119. Стриганова Б.Р. Влияние дождевых червей на динамику почвенных процессов // Биодинамика почв. Таллинн, 1988. С. 12–128.

120. Стриганова Б.Р. Питание почвенных сапрофитов. М., 1980. 242 с.

121. Сулейманов Р.Р. Засоленные почвы естественных и агротехногенных ландшафтов Южного Урала: Автореф. дис. докт. биол. наук. Уфа, 2010. 45 с.

122. Суханова К.М., Лапрун Т.И., Зеленкова Т.В. Простейшие (*Protozoa*) – объект мониторинга и изучение сукцессионных процессов в биоценозах почв леса Европейской части СССР // Научные исследования в заповедниках и принципы разработки программ для заповедников лесной зоны Европейской части СССР. Ужгород, 1990. С. 104–106.

123. Твердюков А.П., Афтеньев П.В. Новые технологии получения органических удобрений и биологических средств // Химия в сельском хозяйстве. 1995. № 2. С. 33–35

124. *Фозекош Д.И., Михайлов В.С., Масленников Ю.В.* Экологические системы и приборы. М., 1999. № 2. С. 75–76.
125. *Фроловская В.Н., Пиковский Ю.И., Грачева Н.С.* Люминесцентно-битуминологические методы диагностики органических веществ в природной среде и техногенных потоках // *Техногенные потоки вещества в ландшафтах и состояние экосистемы.* М.: 1981. С. 78–99.
126. *Хабибуллина Ф.М.* Почвенная микобиота естественных и антропогенно нарушенных экосистем северо-востока европейской части России: Автореф. дис. докт. биол. наук. Сыктывкар, 2009. 40 с.
127. *Хазиев Ф.Х., Толстоусов В.П., Смирнов П.М.* Влияние нефтяного загрязнения на некоторые компоненты агроэкосистемы // *Агрохимия.* 1988. № 2. С. 56–61.
128. *Хазиев Ф.Х., Фахтиев Ф.Х.* Изменение биологических процессов в почвах при нефтяном загрязнении и активация разложения нефти // *Агрохимия.* 1981. № 10. С. 102–111.
129. *Харченко А.Т., Стяжкин К.К., Забокрицкий А.Н.* Экоблупрепарат «Центрум MMS» для очистки от нефти и нефтепродуктов // Патент России № 2428471. 2011 Бюл. № 21.
130. *Хоулт Дж., Криг Н., Снит П.* Определитель бактерий Берджи: в 2 т. М.: Мир, 1997. 800 с.
131. *Цупрун К.М., Левандовская Ю.Б., Стехновская Л.Д.* Консорциум бактерий *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes faecalis* для деструкции нефти и нефтепродуктов // Патент России № 2107722. 1996.
132. *Чаков В.В., Каретнинова Е.А.* Препарат для очистки почвы и водных поверхностей от нефти и нефтепродуктов // Патент России № 2280013. 2007. Бюл. № 14.
133. *Чекановская О.В.* Дождевые черви и почвообразование. М.: 1960. 203 с.
134. *Чугунов В.А., Ермоленко З.М., Жиглецова И.И.* Разработка и испытание биосорбента «Экоторб» на основе ассоциации нефтеокисляющих бактерий для очистки нефтезагрязненных почв // *Прикладная биохимия и микробиология.* 2000. Т. 36. № 6. С. 661–665.
135. *Чумакова А.Я., Конев Ю.Е., Новикова И.И.* Биопрепарат для очистки объектов окружающей среды от нефти и нефтепродуктов // Патент России № 2138451. 1999. 2006. Бюл. № 24.
136. *Шадрина О.И.* Циано-бактериальные сообщества в практике рекультивации техногенных экосистем // Тезисы докл. 8 съезда гидробиологического общества. Калининград, 2001. Т. 3. С. 89–90.
137. *Шишова М.С., Кошенков В.Н., Ласточкина К.С.* К вопросу использования биодеструктора «Дизойл» для очистки почв от нефтепродуктов // *Мед. труда и пром. экол.* 1999. № 9. С. 39–41.
138. *Шулаева Р.В., Сергеев В.А., Фусс В.А.* Способ ремедиации нефтезагрязнённых грунтов // Патент России № 2224604. 2004. Бюл. № 8.
139. *Ягафарова Г.Г., Ягафаров И.Р.* Биодеструкция нефти и синтетических жирных кислот в отработанных буровых растворах // *Нефтяное хозяйство.* 1998. № 12. С. 46–47.

140. Якименко О.С., Орлов Д.С., Аммосова Я.М. Гуминовые вещества лигнокомпоста и его влияние на свойства среднеподзолистой почвы // *Агрохимия*. 1995. № 9. С. 17–23.
141. Янкевич М.И., Хадеева В.В., Суржко Л.Ф. Биологическая активная композиция для очистки поверхностных вод, почв и грунтов от нефтезагрязнений // Патент России № 2270808. 2006. Бюл. № 23.
142. Butt K.R. Reproduction and growth of three deep-burrowing earthworms (Lumbricidae) in laboratory culture in order to assess production for soil restoration // *Biol. Fertil. Soils*. 1993. V. 16. № 2. P. 135–138.
143. Extraction of total petroleum hydrocarbon contaminants in soils (ASE) // Application Note 338. 4 pp.
144. Fann S., Pal D., Lor E., Karr L. Hot air vapor extraction for remediation of petroleum contaminated sites // *The Proceedings of the Eighth Inter. Offshore and Polar Engineering Conference*. Montreal, 1998. V. 2. P. 313–321.
145. Infante C., Rocha C. Enhanced oil sludge bioremediation by a biosurfactant isolated from *Pseudomonas aeruginosa* USB-CS 1 // *Giam* 10, 5.1, S.A., 1999, 115 p.
146. Kourachov V., Salchno T. Oil-field desulphuration and dinitrification of oil as a new stage and facilitative factor of soil biorecultivation during the emergency situations // *Contaminated Soil 2000: Proceeding of the 7 International FZK/TNO Conference on Contaminated Soil*. Leipzig, London: Thomas Telford, 2000. P. 1242–1243.
147. Monticello D.J. Continuous process for biocatalytic desulfurization of sulfur-bearing heterocyclic molecules // *Biotechnol. Adv.* 1997. V. 15. № 1. P. 89–89.
148. Muller S., Struppe H.G., Roland U. Mobilisierung und Austrag von Mineralölcolonen wasserstoffen bei der In-situ-Bodensanierung unter Anwendung von HF-Energie und Bodenluftabsaugung // *Chem.-Ing. Techn.* 1999. V. 71. № 9. P. 1055–1056.
149. Murygina V., Arinbasarov M., Kalyuzhnyi S. Bioremediation of oil polluted aquatic systems and soils with novel preparation «Rhoder» // *Biodegradation*, 2000. V.11. № 6. P. 385–389.
150. Richmond S.A., Lindstrom J.E., Braddock J.F. Effects of chitin on microbial emulsification, mineralization potential, and toxicity of bunker C fuel oil / *Mar. Pollut. Bull.* 2001. V. 42. № 9. P. 773–779.
151. Solvent extraction process may clean up Kuwait's oil-polluted soil // *Chem. Eng (USA)*. 1996. V. 103. № 9. 23 pp.
152. Xia X., Lin L., Xu J. Mixed surfactant washing of petroleum contaminants from the soil and sediments in the unsaturated zone // *J. Environ. Sci.*, 2000. V. 12. № 1. P. 108–114.
153. Weaver R.W., McInnes K.J., Sen D., Rhykerd, Robert L. Volatilization of crude oil from soil amended with bulking agents // *Soil Sci.* 1998. V. 163. № 2. P. 87–92.
154. White C., Shauman A.K., Gadd G.M. An integrated microbial process for the bioremediation of soil contaminated with toxic metals // *Nature Biotechnol.* 1998. V. 16. № 6. P. 572–575.

## Приложения

*Приложение 1*

*Агрохимические свойства в слое 0–20 см агродерново-карбонатной почвы, пос. Ильинский, опыты 2002–2004 гг.*

Вариант	Параметр								
	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	NO <sub>3</sub>	C <sub>орг</sub>	Продуктивность	Нефть I	Нефть II	Нефть III	Бенз(а) пирен
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + биогумус	7,65	4,00	26,67	12,03	15,0	200	191	180	5,12
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + вермикомпост	7,98	5,16	91,51	11,79	15,0	119	116	100	6,22
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + дрожжевые культуры	16,21	13,37	34,02	14,02	16,0	119	114	101	8,87
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + навоз	13,78	10,38	195,70	16,53	14,0	105	104	100	9,86
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + «Альбит»	15,14	12,08	69,45	10,08	17,5	141	138	120	4,82
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + «Байкал М1»	10,19	7,22	17,74	9,60	16,4	118	112	91	4,91
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + диаммонийфосфат	11,38	8,94	103,78	13,21	12,3	136	130	120	17,80
Нефть 20 л / м <sup>2</sup> + известь	12,22	9,77	64,65	17,20	10,2	159	141	121	15,86
<b>Лучший результат</b>	<b>16,21</b>	<b>13,37</b>	<b>17,74</b>	<b>9,60</b>	<b>17,5</b>	<b>105</b>	<b>104</b>	<b>91</b>	<b>4,82</b>
<b>Экстремум</b>	<b>Максимум</b>	<b>Максимум</b>	<b>Минимум</b>	<b>Минимум</b>	<b>Максимум</b>	<b>Минимум</b>	<b>Минимум</b>	<b>Минимум</b>	<b>Минимум</b>

*Примечание.* Нефть I – содержание нефти в почве 18.06.03 г., нефть II – содержание нефти 15.05.2004 г., нефть III – содержание нефти 22.09.2004.

Количество микроорганизмов в слое 0–20 см агродерново-карбонатной почвы  
через 7 дней после разлива нефти, КОЕ/г почвы (опыты 2007 г.)

Вариант	<i>Pseudomonas</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Clavibacter</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>
Контроль	$10^7$	$10^8$	$10^7$	$10^5$	$10^6$	$10^8$	$10^6$	$10^8$	$10^8$	$10^6$
Нефть 5 л/м <sup>2</sup>	0	0	0	$10^2$	$10^2$	0	0	$10^2$	0	$10^2$
Нефть 10 л/м <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0	$10^3$	$10^3$	0	$10^2$
Нефть 20 л/м <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0	$10^3$	$10^3$	0	$10^3$

Численность микроорганизмов в слое 0–20 см агродерново-карбонатной почвы  
через 35 дней после начала ремедиации, КОЕ/г почвы, опыты 2007 г.

Вариант опыта	<i>Pseudomonas</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Clavibacter</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	0	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>6</sup>	0
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	0
<b>Лучший результат</b>	<b>10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>6</sup></b>	<b>10</b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup>	0	0	0	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>
<b>Лучший результат</b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10</b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	0	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
<b>Лучший результат</b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>

Агрохимические свойства и численность микроорганизмов (КОЕ/г) в слое 0–20 см агродерново-карбонатной почвы через 70 дней с начала ремедиации, опыты 2007 г.

Вариант опыта	pH	УВ, %	NO <sub>3</sub> , мг/100г	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100г	K <sub>2</sub> O, мг/100г	<i>Pseudomonas</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Clavibacter</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup>	7,28	5	67,6	6,4	3,2	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	7,3	3	31,0	13,5	14,1	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	0	10 <sup>6</sup>	0	0	10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	7,34	2,55	32,4	15,1	12,2	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	0	0	10 <sup>5</sup>	0
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	7,28	2	16,5	17,1	15,2	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>8</sup>	0	0	10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup>
<b>Лучший результат</b>	<b>7,28</b>	<b>2</b>	<b>16,5</b>	<b>17,1</b>	<b>15,2</b>	<b>10<sup>8</sup></b>	<b>10<sup>7</sup></b>	<b>10<sup>7</sup></b>	<b>10<sup>7</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>8</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup>	7,39	10	80,3	6,3	3,2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	7,35	8	24,1	14,0	13,1	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	7,44	6	23,1	16,3	14,0	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	0	0	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	7,27	6	15,3	18,5	13,2	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	0	10 <sup>4</sup>	0	0	10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup>

Вариант опыта	pH	УВ, %	NO <sub>3</sub> , мг/100г	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100г	K <sub>2</sub> O, мг/100г	<i>Pseudomonas</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Clavibacter</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>
<b>Лучший результат</b>	<b>7,27</b>	<b>6</b>	<b>15,3</b>	<b>18,5</b>	<b>14,0</b>	<b>10<sup>7</sup></b>	<b>10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>6</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup>	7,4	20	90,3	6,7	3,5	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	7,32	10	26,6	13,1	12,1	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	7,54	9,11	17,8	16,1	14,4	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	0	0	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	7,45	10,1	16,3	18,7	15,1	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	0	10 <sup>4</sup>	0	0	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>
<b>Лучший результат</b>	<b>7,32</b>	<b>9,11</b>	<b>17,8</b>	<b>16,1</b>	<b>14,4</b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>5</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>3</sup></b>	<b>10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>4</sup></b>

Нормированные значения численности микроорганизмов, через 35 дней с начала ремедиации, опыты 2007 г.

Вариант опыта	<i>Pseudomonas</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Clavibacter</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup>	0,33	0	0	0,4	0,6	0,67	0,5	0,67	0,67	0,5
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	1	1	1	0,8	0,6	0,83	0,5	1	1	0
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	0,67	0,6	0,8	0,4	1	0,83	0,5	1	0,83	1
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	1	0,6	0,8	1	1	1	1	1	0,83	0
Нефть 10 л/м <sup>2</sup>	0	0	0	0	0,5	0,75	0,67	0,25	0,4	0,67
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	1	1	1	0,5	0,75	0,75	1	0,5	0,8	1
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	0,6	0,5	0,67	0,75	1	1	0,67	0,5	1	0,67
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	0,2	0,5	0,67	1	1	1	1	1	0,8	0,67
Нефть 20 л/м <sup>2</sup>	0	0	0	0	0	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	1	1	0,67	0,67	1	0	0,67	0,67	1	0,5
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	0,5	0,67	1	1	0,67	1	1	1	1	1
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	0,75	0,67	1	1	0,67	1	0,67	1	1	1

Нормированные значения агрохимических свойств и численности микроорганизмов,  
через 70 дней с начала ремедиации, опыты 2007 г.

Вариант опыта	pH	УВ, %	NO <sub>3</sub> , мг/100г	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100г	K <sub>2</sub> O, мг/100г	<i>Pseudomonas</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Clavibacter</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	Суммарный коэффициент оптимизации
Нефть 5 л/м <sup>2</sup>	1	0,4	0,24	0,37	0,21	0,37	0,57	0,29	0,29	0,8	0,5	1	1	0,5	0,5	<b>12,38</b>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	0,99	0,78	0,51	0,89	0,8	0,75	0,86	1	1	1	0,75	0	0	0,83	0	<b>17,89</b>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma euryrena</i>	1	0,67	0,53	0,79	0,93	0,62	1	0,86	0,71	0	0,75	0	0	1	1	<b>17,49</b>
Нефть 5 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma euryrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	1	1	1	1	1	1	1	0,86	0,86	0,4	1	0	0	1	1	<b>20,35</b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup>	0,98	0,6	0,19	0,34	0,23	0,28	0,33	0,5	0,33	1	0,8	0,67	0,5	0,33	0,67	<b>10,99</b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	0,98	1	0,66	0,88	1	0,71	1	0,83	0,83	1	1	0	0	0,5	1	<b>19,69</b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma euryrena</i>	0,99	0,75	0,63	0,76	0,93	0,57	1	0,83	0,67	0,5	1	1	1	0,83	1	<b>19,82</b>
Нефть 10 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma euryrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	1	1	1	1	0,94	1	1	1	1	0	0,8	0	0	1	1	<b>19,58</b>

Вариант опыта	pH	УВ, %	NO <sub>3</sub> , мг/100г	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , мг/100г	K <sub>2</sub> O, мг/100г	<i>Pseudomonas</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Clavibacter</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Fusarium</i>	Суммарный коэффициент оптимизации
Нефть 20 л/м <sup>2</sup>	0,99	0,45	0,18	0,41	0,24	0,5	0,4	0	0,4	1	0,5	0,75	1	0,5	1	<b>11,67</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит»	0,97	1	0,92	1	1	1	0,8	0,6	0,8	1	1	0	0	0,75	1,33	<b>19,35</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i>	1	0,91	0,61	0,81	0,84	1	1	1	0,8	1	0,75	1	0,4	0,75	2	<b>22,71</b>
Нефть 20 л/м <sup>2</sup> , «Альбит», <i>Phoma eupyrena</i> , <i>Cephalophora tropica</i>	0,98	9	1	1,16	1,05	1	1	1	1	0	1	0	0	1	2	<b>29,95</b>

Примечание. В суммарный коэффициент оптимизации вошли нормированные значения из приложения 9.

## Биохимическая активность слоя 0–20 см ТПО Керженецкой нефтебазы

Показатели	Вариант	Повторность	Диапазон изменений		Среднее	Ошибка среднего	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %
Активность каталазы, см <sup>3</sup> 0,1 KMnO <sub>4</sub> /г, мин	Фон	1	–	–	1,2	–	–	–
	В процессе ремедиации	4	1,3	2,1	1,8	0,17	0,34	19
Активность инвертазы, мг глюкозы/г, 24 ч.	Фон	1	–	–	2,7	–	–	–
	В процессе ремедиации	4	4,8	12,6	9,3	1,85	3,67	40
Активность дегидрогеназы, мг ТФФ/10 г, 24 ч.	Фон	1	–	–	0,75	–	–	–
	В процессе ремедиации	4	4,61	13,17	8,28	1,79	3,57	43
Скорость азотфиксации, нмоль С <sub>2</sub> Н <sub>4</sub> /г, 24 ч.	Фон	1	–	–	0,92	–	–	–
	В процессе ремедиации	4	0,16	0,41	0,25	0,06	0,11	45
Скорость денитрификации, мкмоль N <sub>2</sub> O/г, 24 ч.	Фон	1	–	–	0,50	–	–	–
	В процессе ремедиации	4	0,30	0,56	0,47	0,06	0,12	25



Численность микроорганизмов в слое 0–20 см нефтезагрязненных ТПО Керженецкой нефтебазы  
в процессе ремедиации (КОЕ/г почвы). 27.07.2004

№ проб	Численность бактерий						Численность микромицетов						
	Слой	<i>Erwinia</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Rhodo- coccus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Pseudomon- as</i>	<i>Aspersillus</i>	<i>Mucor</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Pythium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Synchy- tium</i>
1	0–12	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup>	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	12–24	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
2	0–12	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup>	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	0	10 <sup>4</sup>
	12–24	0	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>8</sup>	10	0	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>
3	0–12	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	0	0	10 <sup>2</sup>	10	10	10 <sup>3</sup>
	12–24	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10	0	0	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>2</sup>
4	0–12	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>10</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>10</sup>	10 <sup>4</sup>	0	0	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	0	10 <sup>4</sup>
	12–24	10 <sup>2</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>3</sup>	10	0	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>
5	0–12	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10	0	10
	12–24	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	0	10	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>2</sup>
6	0–12	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	0	0	10	10 <sup>2</sup>	0
	12–24	10 <sup>3</sup>	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10	10 <sup>3</sup>	0	10 <sup>3</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
7	0–12	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>2</sup>	0	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	0
	12–24	10 <sup>3</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10	0	0
8	0–12	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	0	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	0	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>
	12–24	10	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	0	0	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	0	10 <sup>5</sup>
9	0–12	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	0	0	0	0	10	0
	12–24	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	0	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	0
10	0–12	10 <sup>3</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10 <sup>2</sup>	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>
	12–24	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	0	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>

Нормированные показатели численности микроорганизмов в нефтезагрязненном ТПО нефтебазы до ремедиации

№ проб	Слой	<i>Erwinia</i>	<i>Bucillus</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Pseudo- monas</i>	<i>Aspersillus</i>	<i>Rhizoclonia</i>	<i>Mucor</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Puthium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Synchytsium</i>	Критерий оптимизации
1	0–12					0,25								<b>0,25</b>
	12–24			0,33	0,33	0,5					1		1	<b>1,17</b>
2	0–12			0,33	0,67	0,25					1	1	0,5	<b>1,25</b>
	12–24			0,33		0,75						1	0,5	<b>1,08</b>
3	0–12		0,75			0,5			1	1			0,5	<b>2,25</b>
	12–24			1	0,67	0,5						0,5	0,5	<b>2,17</b>
4	0–12		1	1	1	1	1	0,5		0,5	1		0,5	<b>5,50</b>
	12–24		1	0,67	0,67	0,75				1	0,5	0,5	0,33	<b>3,08</b>
5	0–12					0,25								<b>0,25</b>
	12–24	0,5				0,5								<b>1,00</b>
6	0–12			0,33	0,33	0,25					1			<b>0,92</b>
	12–24			0	0,33	0,5				0,5				<b>0,83</b>
7	0–12			0,67	0,67	0,75	0,5			1		0,33	1	<b>2,58</b>
	12–24	1		0,33	1	0,5	1				1	0,5	0,5	<b>3,83</b>
8	0–12				0,33									<b>0,33</b>
	12–24		0,25											<b>0,25</b>
9	0–12				0,67			1	0,5	1				<b>2,17</b>
	12–24				1									<b>1</b>
10	0–12											1		<b>0</b>
	12–24													<b>0</b>

Примечание. Нормированные показатели рассчитаны через десятичный логарифм численности микроорганизмов.

*Нормированные показатели численности микроорганизмов в нефтезагрязненном ТПО  
нефтебазы в процессе ремедиации*

№ проб	Слой	<i>Erwinia</i>	<i>Bacillia</i>	<i>Rhodo- coccus</i>	<i>Clotridium</i>	<i>Pseudo- monfs</i>	<i>Aspersillus</i>	<i>Mucor</i>	<i>Phyto- phthora</i>	<i>Pythium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizocto- nia</i>	<i>Synchy- tium</i>	Критерий оптимизации
1	0–12	1	0,43	0,3	0,375	0,6	0,33		0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	<b>5,64</b>
	12–24	1	0,15	0,2	0,5	0,4	0,5	1	0,33	0,75	0,33	0,33	0,8	<b>6,30</b>
2	0–12	0,5	0,28	0,1	0,5	0,6	0,33		0,5	0,5	0,25		0,8	<b>4,36</b>
	12–24		0,43	0,2	0,25	0,8	0,17		1	0,25	0,5	0,5	0,4	<b>4,50</b>
3	0–12	0,5	0,57	0,3	0,37	0,4	0,5			0,5	1	1	0,6	<b>5,75</b>
	12–24	0,33	0,71	0,4	0,5	0,3	0,17			1	0,5	1	0,4	<b>5,31</b>
4	0–12	0,25	0,86	1	0,75	1	0,67			1	0,25		0,8	<b>6,57</b>
	12–24	0,5	1	0,9	1	0,3	0,17		0,2	0,5	0,5	0,5	1	<b>6,57</b>
5	0–12	1	0,29	0,3	0,5	0,4	0,17	0,5	1	0,5	1		0,2	<b>5,85</b>
	12–24	0,5	0,43	0,3	0,62	0,3		1	0,5	0,25	0,5	1	0,4	<b>5,80</b>
6	0–12	0,5	0,29	0,2	0,5	0,4	0,33	0,5			1	0,5		<b>4,22</b>
	12–24	0,33	0,14	0,3	0,5	0,5	0,17	0,33		0,75	1	0,5	0,6	<b>5,13</b>
7	0–12	1	0,43	0,6	0,75	0,6	1	0,5		0,25	0,33	0,33		<b>5,79</b>
	12–24	0,33	0,71	0,7	1	0,5	0,5	0,33	0,33	1	1			<b>6,41</b>
8	0–12		0,29	0,2	0,37	0,4		0,25	0,33		0,25	0,2	0,6	<b>2,89</b>
	12–24	1	0,14	0,3	0,25			0,33	0,25	0,5	0,33		1	<b>4,11</b>
9	0–12	0,5	0,57	0,4	0,62	0,3	0,5					1		<b>3,90</b>
	12–24	0,5	0,71	0,4	0,5	0,2	0,5	0,5		0,25	0,5	0,5		<b>4,56</b>
10	0–12	0,33	0,86	0,5	0,25	0,4	0,33	0,33	1	0,5		0,5	0,4	<b>5,41</b>
	12–24	0,5	0,71	0,6	0,37	0,3	0,67	0,5		0,75	0,33	0,1	0,6	<b>5,44</b>

*Примечание.* Нормированные показатели рассчитаны через десятичный логарифм численности микроорганизмов.

*Научное издание*

**Баландина Алевтина Власовна  
Еремченко Ольга Зиновьевна**

**Микробная ремедиация нефтезагрязненных  
агродерново-карбонатных почв и техногенных  
поверхностных образований в подзоне южной тайги**

Монография

Издается в авторской редакции  
Компьютерная верстка: *Ю. О. Ярушина*

---

Подписано в печать 05.12.2016. Формат 60×84/16  
Усл. печ. л. 5,81. Тираж 500 экз. Заказ \_\_\_\_

---

Издательский центр  
Пермского государственного  
национального исследовательского университета.  
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Типография ПГНИУ.  
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15