

УДК 579.66

**БИОТЕСТИРОВАНИЕ ОЧИЩЕННЫХ ПОЧВ  
ПОСЛЕ РЕКУЛЬТИВАЦИИ**

**Ильичева Алина Сергеевна**

студент

**Денисова Елизавета Павловна**

аспирант

**Смирнов К.А.**

Научный руководитель: **Чачина Светлана Борисовна**

доц., к.н.

ОмГТУ

**Аннотация:** Было проведено искусственное загрязнение почв с помощью нефти в концентрациях 20 и 50 г/кг. После того проводилась рекультивация почвы с применением микроорганизмов – нефтеструкторов и червей Дендробена и *Eisenia fetida*. По истечении 3 месяцев провели оценку нефтезагрязненной почвы с помощью тест-индикатора – редиса. При концентрации загрязнения 20 г/кг средняя всхожесть тест-индикатора – редиса составила 80%. При концентрации загрязнения 50 г/кг средняя всхожесть тест-индикатора – редиса составила 100%.

**Ключевые слова:** нефтезагрязненная почва, микроорганизмы, биоиндикация, вермикультивирование, редис.

**BIOTESTING OF PURIFIED SOILS AFTER RECLAMATION**

**Ilyicheva Alina Sergeevna**

**Denisova Elizaveta Pavlovna**

**Smirnov K.A.**

**Abstract:** Artificial soil pollution was carried out using oil in concentrations of 20 and 50 g/kg. After that, soil reclamation was carried out using microorganisms - oil destructors and *Dendrobena* and *Eisenia fetida* worms. After 3 months, an assessment of oil-contaminated soil was carried out using a test indicator - radish.

At a pollution concentration of 20 g/kg, the average germination of the test indicator - radish was 80%. At a pollution concentration of 50 g/kg, the average germination of the test indicator - radish was 100%.

**Key words:** oil-contaminated soil, microorganisms, bioindication, vermiculation, radish.

## I. ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом проблема загрязнения нефтью становится всё более актуальной. Загрязнение почв нефтепродуктами оказывает сильное отрицательное воздействие на окружающую среду. Так, всего 2 г. Нефтепродуктов на 1 кг почвы делают растения и микрофлору непригодными для жизни [1].

Для преодоления загрязнений, вызванных различными загрязняющими веществами, полученными из углеводородов, многие исследователи показали, что для обработки загрязнённых участков обычно используются физические, химические и биологические методы. Более того, биологическая рекультивация является экономически эффективным, простым, действенным, подходом.

## II. ТЕОРИЯ

Основными источниками загрязнения являются деятельность человека. Антропогенная деятельность связана с текущим ростом индустриализации и в целом способствует увеличению накопления углеводородных загрязняющих веществ в окружающей среде [2]. Таким образом, большинство загрязнённых углеводородами сред содержат легкие нефтепродукты, тяжелые углеводороды, галогенированные растворители и другие, более сложные молекулы. Когда углеводороды вносятся в почву, они могут препятствовать поступлению воды, питательных веществ, кислорода, света и других параметров для биологических процессов [3].

Биостимулирование естественной микрофлоры, способной разлагать нефть, с помощью внесения минеральных и органических удобрений в почву. Биоаугментация — это процесс добавления в почву специальных микробиологических препаратов, содержащих штаммы бактерий и микроскопических грибов, которые могут разлагать нефтепродукты. Эти микроорганизмы - нефтедеструкторы могут быть выделены из загрязнённой почвы [4].

Для исследования содержания нефти в почве используют методику, предложенную и используемую институтом экспериментальной метрологии (МУК 4.1.1956-05 Определение концентрации нефти в почве методом инфракрасной спектрофотометрии).

В наших предыдущих экспериментах использовали универсальный грунт рН 5,9-6,0 и загрязняли нефтью в концентрации 20 и 50 г/кг [5].

*Объекты исследования:*

Дождевые черви *Дендробена* - имеют цвет от фиолетового до оливкового, красный или коричневый оттенок, с бледно-желтыми бороздами. Тело может состоять из 26-32 сегментов, а хвост к концу утолщается [6].

Навозный червь *E. fetida* - вид малощетинковых червей. Длина тела навозного червя составляет от 6 до 10 см. Тело имеет 105 сегментов, в каждом сегменте пурпурное кольцо. Окраска тела красноватого цвета.

*Проведение эксперимента:*

Методы исследования изложены в следующих источниках.

#### **1. Изучение микрофлоры копролитов червей**

Исследование численности микроорганизмов проводили в соответствии с МУ №ФЦ/4022-2004.

#### **2. Выделение углеводородокисляющих микроорганизмов**

Выделение УВ - окисляющих микроорганизмов проводили методом накопительных культур, а также прямым высевом на селективные агаризованные среды.

#### **3. Идентификация культур**

Определение состава микроорганизмов копролитов дождевых червей методом MALDI-TOF.

#### **4. Определение содержания нефтепродуктов в почве**

Определение содержания нефтепродуктов в почве проводили в соответствии с методиками (РД 52.18.647-2003; РД 52.24.476-2007; ПНД Ф 16.1.21-98; Петров, Тюлягина, Василенко, 1998).

На основе микрофлоры копролитов дождевых червей были получены микробиологические препараты: «Навозный», «Калифорнийский», «Дендробена». Проведена серия экспериментов по рекультивации почв, загрязненных нефтью в концентрации 50 г/кг с использованием дождевых червей (*Eisenia fetida*, *Dendrobaena veneta*) и микробиологических препаратов.

В качестве биоиндикаторов использовали редис (*Raphanus raphanistrum*). Учитывали всхожесть редиса, длину ростка и массу растения.

### III. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

**Таблица 1**

#### **ВСХОЖЕСТЬ РЕДИСА ПРИ КОНЦЕНТРАЦИИ 20 г/кг**

	Всхожесть, %	Длина, см	Масса, г
<i>Bacillus subtilis</i> + Денробена	90	7,4	0,11
<i>Pseudomonas putida</i> + Денробена	80	9,25	0,14
<i>Lysinibacillus fusiformis</i> + Денробена	80	6,1	0,08
<i>Bacillus pumilus</i> + Денробена	70	3,6	0,08
<i>Citrobacter freundii</i> + Денробена	80	8,1	0,09
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + Денробена	80	6,7	0,08
Контроль	60	5,1	0,04

Вывод: при проведении биотестирования нефтезагрязненных почв при концентрации 20 г/кг лучшие показатели всхожести показал препарат *Pseudomonas putida* и дождевой червь, всхожесть – 80%, длина редиса – 9,25 см, масса – 0,14 г.

**Таблица 2**

#### **ВСХОЖЕСТЬ РЕДИСА ПРИ КОНЦЕНТРАЦИИ 50 г/кг**

	Всхожесть, %	Длина, см	Масса, г
<i>Bacillus subtilis</i> + <i>E. fetida</i>	100	11	0,24
<i>Pseudomonas putida</i> + <i>E. fetida</i>	70	8	0,18
<i>Lysinibacillus fusiformis</i> + <i>E. fetida</i>	100	10	0,28
<i>Bacillus pumilus</i> + <i>E. fetida</i>	100	11	0,25
<i>Citrobacter freundii</i> + <i>E. fetida</i>	100	11	0,26
<i>Pseudomonas fluorescens</i> + <i>E. fetida</i>	100	13	0,33
Контроль	20%	6	0,2

Вывод: При проведении биотестирования нефтезагрязненных почв при концентрации 50 г/кг лучшие показатели всхожести показал препарат *Pseudomonas fluorescens* и червь *E. fetida*, всхожесть – 100%, длина – 13 см, масса – 0,33 г.

## ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе эксперимента отмечено положительное влияние препаратов микроорганизмов – нефтеструкторов совместно с червями *Дендробена* и *E. fetida*. При концентрации загрязнения 20 г/кг средняя всхожесть тест-индикатора – редиса составила 80%.

При концентрации загрязнения 50 г/кг средняя всхожесть тест-индикатора – редиса составила 100%.

## Список литературы

1. Ляшенко О.А. Биоиндикация и биотестирование в охране окружающей среды: учебное пособие / СПб ГТУРП. - СПб., 2012 – 67 с.
2. Шишмина Л.В. Экология нефтедобывающих комплексов // курс лекций. – Томск: изд-во ТПУ, 2000 – с. 112
3. Основы биологической рекультивации: учеб. Пособие. - Екатеринбург: изд-во Урал, ун-та, 2002 - 172 с.
4. Ильичева А.С., Чачина С.Б. Денисова Е.П. определение биохимических свойств микроорганизмов нефтеструкторов [Текст] / А.С. Ильичева, С.Б. Чачина // техника и технология нефтехимического и нефтегазового производства. — 2024. — № 14. — С. 152-153. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=67974811>
5. А.С. Ильичева, С.Б. Чачина, А.В. Гаюха. Исследование выживаемости дождевых червей в нефтезагрязненной почве // Актуальные вопросы энергетики: материалы VII Всерос. Науч.-практ. Конференция с международным участием (россия, омск, 23–24 мая 2024 г.) / Минобрнауки России, Ом. Гос. Техн. Ун-т ;редкол.: П. А. Батраков (отв. Ред.) [и др.]. – Омск: изд-во ОмГТУ, 2024. – с153-158 <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=67974811>
6. С.Б. Чачина, Е.П. Денисова, К.А. Смирнов вермиремедиация нефтезагрязненных почв с использованием дождевых червей и микробиологических препаратов – нефтеструкторов // Актуальные вопросы энергетики: материалы VII Всерос. Науч.-практ. Конференция с международным участием (россия, омск, 23–24 мая 2024 г.) / Минобрнауки России, Ом. Гос. Техн. Ун-т ;редкол.: П.А. Батраков (отв. Ред.) [и др.]. – Омск: изд-во ОмГТУ, 2024. – С. 146-152 <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=67974810>.