

# AGROECOLOGY

## АГРОЭКОЛОГИЯ

---

### RECOLTIVATION OF OIL CONTAMINATED SOIL USING ORGANIC FERTILIZERS IN THE ARID ZONE OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**Kuzhamberdieva S. Zh., Abzhalelov B. B., Baidosova A.B.**

Kyzylorda Korkyt Ata State University

**Gilyazov M. Yu.**

Kazan State Agrarian University, Kazan, Russia

**Abstract.** Samples of oil-contaminated soil selected at the Nuraly field in Kyzylorda region of the Republic of Kazakhstan were studied. Under the influence of oil, the pH value of the aqueous extract and the content of mobile forms of heavy metals in the soil have not changed significantly. Oil pollution has led to a decrease in the total microbial population (MCF), the number of spore-forming microorganisms and mycelial fungi, while a sharp increase in the number of hydrocarbon-oxidizing microorganisms. The highest degree of destruction of oil substances in two months was observed with the combined application of organic and mineral fertilizers (72.7% of the initial content), which is 1.2 - 1.4 times more than from their selective application.

**Key words:** oil-contaminated soil, model experiment, agrochemical properties, number of microorganisms, enzymatic activity, mineral and organic fertilizers, acceleration of oil destruction.

### РЕКУЛЬТИВАЦИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОРГАНОМИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ В АРИДНОЙ ЗОНЕ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

**Кузамбердиева С.Ж., Абжалелов Б.Б., Байдосова А.Б.**

Кызылординский государственный университете им. Коркыт Ата

**Гилязов М.Ю.**

Казанский государственный аграрный университет

**Аннотация.** Исследованы образцы нефтезагрязненной почвы, отобранной на месторождении «Нуралы» Кызылординской области Республики Казахстан. Под влиянием нефти величина pH водной вытяжки и содержание подвижных форм тяжелых металлов в почве существенно не изменились. Нефтяное загрязнение привело к снижению общей микробной численности (ОМЧ), количества спорообразующих микроорганизмов и мицелиальных грибов, при одновременном резком росте численности углеводородокисляющих микроорганизмов. Наибольшая степень деструкции нефтяных веществ за два месяца наблюдалась при совместном внесении органических и минеральных удобрений (72,7 % от исходного содержания), что в 1,2 - 1,4 раза больше, чем от селективного их применения.

**Ключевые слова:** нефтезагрязненная почва, модельный эксперимент, агрохимические свойства, численность микроорганизмов, ферментативная активность, минеральные и органические удобрения, ускорение деструкции нефти.

**Введение.** В районах с развитой нефтедобывающей промышленностью наиболее распространенным загрязнителем окружающей среды являются нефть и продукты ее переработки, которые попадают в почву в процессе добычи, транспортировки и хранения. В результате нефтезагрязнения почв нарушается экологическое состояние и изменяется структура биоценозов.

Процесс естественного самовосстановления загрязненной среды является очень длительным. Ауторемедиация нефтезагрязненных почв при уровне загрязнения 5 г/кг длится от 2 до 30 лет и более [3]. В связи с этим разработка способов очистки нефтезагрязненных почв – одна из важнейших задач при решении проблемы антропогенного воздействия на окружающую среду.

Изыскание способов восстановления плодородия нефтезагрязненных почв актуально и для республики Казахстан. В Казахстане продолжается интенсивное освоение ресурсов углеводородного сырья. Наряду с добычей и транспортировкой нефти отмечается тенденция усовершенствования и дальнейшего развития нефтехимической промышленности. Центром развития нефтяной и нефтехимической отрасли стал Западный Казахстан. Масштабные разработки и добыча углеводородного сырья ведутся в Актюбинской, Атырауской, Западно-Казахстанской, Мангыстауской и Кызылординской областях. На современном уровне развития нефтегазового комплекса не представляется возможным полностью исключить его негативное воздействие на окружающую среду. Проблема очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения приобретает все большую остроту в связи с ограниченностью возможностей, а иногда и экологического вреда применения для этих целей механических и физико-химических способов очистки. Наиболее перспективными в настоящее время являются методы биологической очистки экосистем при помощи микроорганизмов, использующих органические загрязнители в качестве источника углерода [1, 5, 7]. По мнению этих и других исследователей [3, 4, 10], микробиологическая ремедиация (биорекультивация) является наиболее экономически выгодной и экологически безопасной по сравнению с остальными способами рекультивации (выжигание, взрывной способ, засыпка чистым грунтом). Под биорекультивацией подразумевается деструкция нефтяных веществ активизация аборигенной почвенной микрофлоры, сформировавшейся в условиях нефтяного разлива, аэрацией почвы, внесением специально разработанных биопрепаратов и удобрительных средств.

Модельный эксперимент по изучению влияния нефтяного загрязнения на микрофлору почвы и удобрительных средств на деструкцию нефти проводили с почвой, отобранной на месторождении «Нуралы» Кызылординской области. В качестве удобрительных средств использовали полуперепревший навоз КРС (50 г/кг почвы), птичий помет (5 г/кг), нитроаммофоску марки 13:19:19 (0,2 г/кг) и аммиачную селитру (0,1 г/кг).

Длительность модельного эксперимента составила 2 месяца, в течение которых почву перемешивали для улучшения аэрации и увлажняли. Через 1 и 2 месяца определяли содержание нефти, ферментативную активность почвы и изменение численности ОМЧ, углеводородокисляющих микроорганизмов, спорообразующих микроорганизмов, акциномицетов и грибов.

Определение содержания нефти в почве методом газовой хроматографии (Agilent 6890/5973N) с масс-спектрометрическим детектированием.

Для определения общей микробной численности (ОМЧ) делали посев почвенной суспензии из разведений  $1:10^2$ ,  $1:10^3$  и  $1:10^4$  на поверхность плотной питательной среды РПА. Чашки Петри выдерживали в течение 3-4 суток в термостате при температуре  $28-30^{\circ}\text{C}$ . По окончании термостатирования производили подсчет колоний микроорганизмов с учетом разведений.

Для определения численности спорообразующих бактерий матричные пробы почвы в виде суспензии в стерильной дистиллированной воде в разведении  $1:10^1$ ,  $1:10^2$  прогревали на водяной бане при температуре  $80^{\circ}\text{C}$  в течение 15 мин. Посев проводили поверхностно на среду РПА. Чашки с посевами инкубировали при температуре  $(29\pm 1)^{\circ}\text{C}$

в течение 3 суток. По окончании срока инкубации производили подсчёт колоний бактерий с учётом разведений.

Численность углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) определяли путем поверхностного посева почвенной суспензии из разведений  $1:10^1$ ,  $1:10^3$  на среде В-Д с 1% нефти. Чашки выдерживали при температуре 28-30<sup>0</sup>С в течение 7-10 суток. По окончании термостатирования производили подсчёт колоний с учётом разведений.

Для определения численности актиномицетов посев производили на среду крахмалоаммиачный агар поверхностно из разведений  $1:10^1$ ,  $1:10^2$ ,  $1:10^3$  по 3 чашки на каждое разведение. Чашки выдерживали при температуре 28-30<sup>0</sup>С в течение 7-10 суток. По окончании срока инкубирования производили подсчёт колоний актиномицетов с учётом разведений.

Численность мицелиальных грибов определяли путем поверхностного посева почвенной суспензии из разведений  $1:10$ ,  $1:10^2$ ,  $1:10^3$  на среде Чапека. Чашки выдерживали при температуре 28-30<sup>0</sup>С в течение 7-10 суток. По окончании термостатирования производили подсчёт колоний мицелиальных грибов с учётом разведений [11].

Ферментативную активность почв определяли методами почвенной энзимологии [8].

Фоновая (незагрязненная) почва – малогумусный супесчаный серозем, имеющий щелочную реакцию (рН водной вытяжки 8,44). Содержание подвижных форм тяжелых металлов в фоновой почве составило: свинца – 0,007; цинка – 0,185; кадмия – 0,007 мг/кг, что многократно ниже ПДК.

Среднее содержание нефти в двух параллельных образцах почвы, определенное методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, равнялось 33800 мг/кг, что согласно [6] следует оценивать как очень высокий уровень загрязнения, превышающий ПДК более чем в 30 раз.

В таблице 1 представлены данные, демонстрирующие действие нефтяного загрязнения на некоторые агрохимические и микробиологические показатели почвы.

Исследованные агрохимические параметры почв: рН водной вытяжки и содержание подвижных форм тяжелых металлов под влиянием нефтяного загрязнения существенно не изменились.

Микробиологический анализ почв исследуемых образцов показал, что нефтяное загрязнение привело к резкому снижению общей микробной численности (ОМЧ), количества спорообразующих микроорганизмов и мицелиальных грибов.

Таблица 1. Влияние нефтяного загрязнения на некоторые агрохимические и микробиологические параметры почвы

Показатели	Образцы почвы		
	незагрязненная	загрязненная № 1	загрязненная № 2
рН водной вытяжки	8,44	8,53	8,55
Содержание подвижных форм тяжелых металлов, мг/кг			
Свинец (ПДК=6,0)	0,007	0,001	0,007
Цинк (ПДК=23,0)	0,185	0,220	0,430
Кадмий (ПДК=3,0)	0,007	0,011	0,012
Численность микроорганизмов, КОЕ /г почвы			
Общая микробная численность (ОМЧ)	$4,1 \pm 1,1 \times 10^7$	$4,6 \pm 1,1 \times 10^6$	$2,8 \pm 0,7 \times 10^6$
Спорообразующие бактерий	$2,4 \pm 0,9 \times 10^4$	$3,1 \pm 1,1 \times 10^3$	$2,2 \pm 0,9 \times 10^3$
Мицелиальные грибы	$2,1 \pm 0,8 \times 10^4$	$1,3 \pm 4,6 \times 10^3$	$1,7 \pm 0,7 \times 10^3$
Углеводородокисляющие микроорганизмы (УОМ).	не обнаружено	$1,6 \pm 0,1 \times 10^5$	$2,0 \pm 0,1 \times 10^5$

Как видно, численность этих трех групп микроорганизмов в нефтезагрязненной почве на порядок меньше, чем в фоновой (незагрязненной) почве.

Совершенно иная ситуация складывалась в нефтезагрязненной почве для углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ): их численность составила от  $1,6 \times 10^5$  до  $2,0 \times 10^5$  КОЕ /г почвы, тогда как в незагрязненной почве они не были обнаружены.

Для оценки биологической активности почвы и, в целом, почвенного плодородия важным показателем считается ферментативная активность почв, характеризующий потенциальную способность экосистемы сохранять гомеостаз. В отобранных образцах почвы была определена каталазная, липазная, дегидрогеназная активность почв (таблица 2).

Они свидетельствуют о том, что под действием нефти активность изученных ферментов почвы претерпела заметных изменений. Относительно слабо (в 1,08-1,21 раза по отношению к фону) изменилась каталазная активность. Нефть более заметное влияние оказала на липазную активность, которая в нефтезагрязненной почве в 1,75-2,00 раза выше уровня незагрязненной почвы. Действие нефти в наибольшей степени отразилось на активности дегидрогеназы. Как видно, данный вид ферментативной активности в загрязненной почве возросла в 2,83-4,33 раза. Данное обстоятельство, видимо, обусловлено тем, что фермент дегидрогеназа широко распространен у углеводородокисляющих микроорганизмов, и характеризует особую метаболическую активность почвенной микрофлоры [9, 10].

Таблица 2. Влияние нефтяного загрязнения на ферментативную активность почвы

Образцы почвы	Каталаза, мл O <sub>2</sub> /мин на 1г почвы	Липаза, мл/0,1 н	Дегидрогеназа, мг ТФФ/г/сут.
Незагрязненная	<u>2,4</u> <b>100*</b>	<u>0,4</u> <b>100</b>	<u>0,6</u> <b>100</b>
Загрязненная № 1	<u>2,9</u> <b>121</b>	<u>0,8</u> <b>200</b>	<u>1,7</u> <b>283</b>
Загрязненная № 2	<u>2,6</u> <b>108</b>	<u>0,7</u> <b>175</b>	<u>2,6</u> <b>433</b>

Прим.: \* - в процентах к уровню незагрязненной почвы.

Действие минеральных, органических и органоминеральных удобрений на скорость разложения нефтяных веществ иллюстрируется данными рисунка.

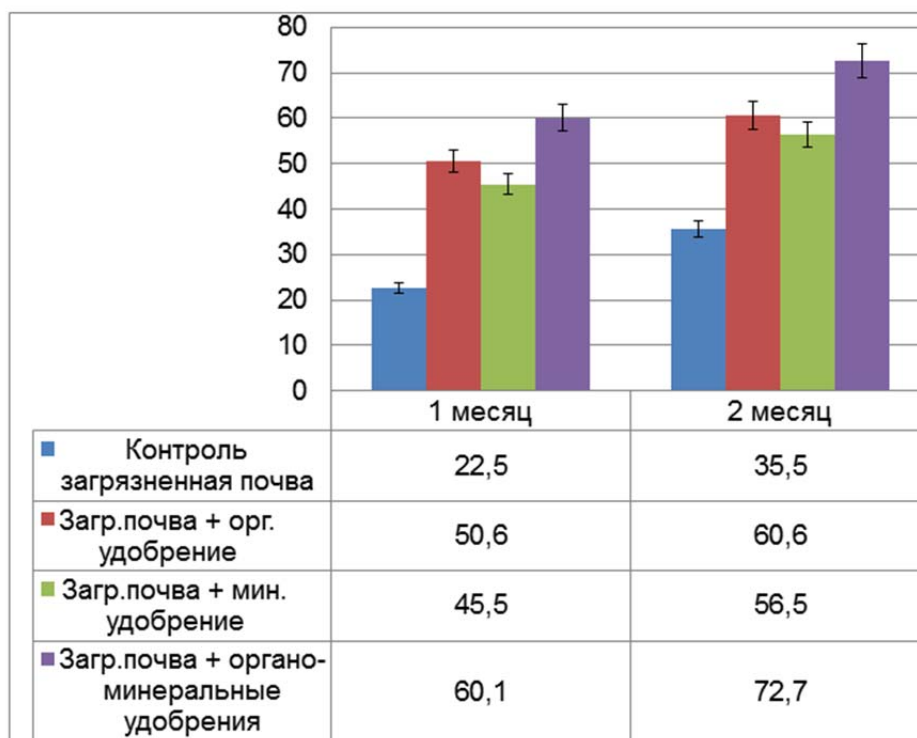


Рисунок 1. Влияние видов удобрений на деструкцию нефти в почве (процент снижения нефтяных веществ от исходного содержания)

Определение содержания нефти и нефтепродуктов в почве через 1 месяца после внесения удобрений показала, что в контрольном варианте без удобрений деструкция нефти составила 22,5 % от исходного, в варианте с внесением органических удобрений – 50,6 %, при внесении минеральных удобрений – 45,5 %, в варианте с совместным внесением органических и минеральных удобрений деструкция составила 60,1 %.

Через 2 месяца в контрольном варианте содержание нефти снизилось на 35,5 %. Наибольшая степень утилизации нефти наблюдалась в варианте с внесением органоминеральных удобрений - 72,7 %, тогда как при внесении только органических или минеральных удобрений деструкция нефти была ниже - 60,6 % и 50,5 % соответственно.

Таким образом, сильное нефтяное загрязнение (33800 мг/кг) малогумусного серозема существенно не изменило реакцию почвенной среды и содержание подвижных форм тяжелых металлов (свинец, цинк, кадмий). В нефтезагрязненной почве в 1,75-2,00 раза, по отношению к уровню фоновой почвы, повысилась липазная активность. Действие нефти в наибольшей степени отразилось на активности дегидрогеназы, которая возросла в 2,83-4,33 раза. Наибольшее снижение нефтяных веществ (на 72 % от исходного содержания) за два месяца наблюдения обнаружилось от совместного применения органических и минеральных удобрений.

#### **Библиографический список**

1. Белоусова, Н.И. Деструкция нефтепродуктов различной степени конденсации микроорганизмами при пониженных температурах / Н.И. Белоусова, А.Н. Шкидченко // Прикладная биохимия и микробиология - 2004. - № 3. - С. 312-316.
2. Булатов, А.И. Охрана окружающей среды в нефтегазовой промышленности / А.И. Булатов, П.П. Макаренко, В.Ю. Шеметов. - М.: Недра, 1997. - 470 с.
3. Гайнутдинов, М.З. Рекультивация нефтезагрязненных земель лесостепной зоны Татарии / М.З. Гайнутдинов, С.М. Самосова, Т.И. Артемьева, М.Ю. Гилязов, И.А. Гайсин, В.И. Фильченкова, А.К. Жеребцова // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем – М.: Наука, 1988. – С. 177-197.
4. Гилязов, М.Ю. Нефтезагрязненные почвы Республики Татарстан и приемы их рекультивации / М.Ю. Гилязов, А.Х. Яппаров, И.А. Гайсин. - Казань: Центр инновационных технологий, 2009. - 244 с.
5. Коронелли, Т.В. Интродукция бактерий рода *Rhodococcus* в тундровую почву, загрязненную нефтью / Т.В. Коронелли, Т.И. Комарова, В.В. Ильинский. //Прикладная биохимия и микробиология - 1997. - № 2. - С. 198-201.
6. Методические рекомендации по выявлению деградированных и загрязненных земель (утв. Роскомземом 28 декабря 1994 г., Минсельхозпродом РФ 26 января 1995 г., Минприроды РФ 15 февраля 1995 г.)
7. Стабникова, Е.В. Выбор активного микроорганизма-деструктора углеводов для очистки нефтезагрязненных почв / Е.В. Стабникова, М.В. Селезнева, О.Н. Рева, В.Н. Иванов // Прикладная биохимия и микробиология - 1995. - № 5. - С. 534-539.
8. Хазиев, Ф.Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв / Ф.Х. Хазиев. - М.: Наука, 1983.
9. Чукпарова, А.У. Эмульгирующая активность и галотолерантность углеводородокисляющих микроорганизмов / А.У. Чукпарова, К.А. Кулжанова, Г.С. Апендина, А.К. Саданов // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы и перспективы развития инновационной деятельности в агропромышленном производстве», - Уфа, 2007. - С.205-207.
10. Чукпарова А.У., Шорабаев Е.Ж., Кулжанова К.А., Туякбаева А.У. Изучение нефтеокисляющей активности углеводородокисляющих микроорганизмов в лабораторных и

полевых условиях / А.У. Чукпарова, Е.Ж. Шорабаев, К.А. Кулжанова, А.У. Туякбаева // Вестник науки КазАТУ им. С. Сейфуллина. – 2008. – №1(48). – С. 169–175.

11. MADEP-EPH-98-1. Метод определения извлекаемых нефтяных углеводородов // Отдел защиты окружающей среды штата Массачусетс. США. – 1998. – 41 с.