

Введение Экологические проблемы в регионах нефтедобычи и переработки связаны, в первую очередь, с загрязнением объектов окружающей среды нефтью. Благодаря высоким сорбционным свойствам почвы, нефтяные углеводороды способны аккумулироваться и сохраняться в ней длительное время, существенно преобразуя и значительно ухудшая свойства почвы и снижая ее биологическую активность. Один из наиболее распространенных способов рекультивации - очистка почв и грунтов путем внесения специальных культур микроорганизмов. Цель работы - оценка эффективности аборигенного консорциума микроорганизмов-деструкторов углеводородов на темно-серой лесной почве Республики Татарстан. Экспериментальная часть

Вегетационный опыт был заложен на темно-серой лесной почве по схеме: 1) почва (без растений); 2) почва + растения; 3) почва + дизельное топливо (ДТ) (5%); 4) почва + ДТ (5%) + аммиачная селитра; 5) почва + ДТ (5%) + растение; 6) почва + ДТ (5%) + сообщество Б; 7) почва + ДТ (5%) + растение + сообщество Б; 8) почва + ДТ (5%) + аммиачная селитра + растение; 9) почва + ДТ (5%) + аммиачная селитра + сообщество Б; 10) почва + ДТ (5%) + аммиачная селитра + растение + сообщество Б. Объектом исследования служили консорциум Б; почва, загрязненная дизельным топливом в концентрации 5%; растения гороха сорта Варис; минеральное удобрение - аммиачная селитра (NH_4NO_3). На основании ранее проведенных экспериментов [1-3] был использован консорциум микроорганизмов-деструкторов Б, найденный в естественных условиях РТ и способный активно расти в присутствии нефтепродуктов до 12% от массы почвы и утилизировать различные алифатические и ароматические углеводороды. Молекулярно-биологическими методами было установлено, что консорциум Б состоит из трех штаммов: *Pseudomonas stutzeri*, *Achromobacter insolitus*, *Achromobacter xylosoxidans*. Титр микроорганизмов, составляющих ассоциацию Б - $2,5 \cdot 10^{12}$ кл./мл. Вегетационный опыт проводили в теплице с естественным освещением в летний период в 6 кг сосудах. В ходе эксперимента, который длился 90 суток, растения поливали деминерализованной водой, поддерживая влажность почвы на уровне 60% предельной полевой влагоемкости. После прорезывания в каждом сосуде оставляли по 15 растений. Пробы почв отбирали в динамике на 10, 21, 30, 45, 60, 90 сутки. Отобранные образцы измельчали, просеивали через 2-3 мм сито, хранили при естественной влажности в холодильнике (10°C) до использования в исследованиях. Определение количества различных почвенных микроорганизмов проводили по общепринятым методикам [4, 5] на селективных питательных средах: углеводородокисляющие микроорганизмы (УОМ) - на среде Ворошиловой-Диановой; гетеротрофные бактерии - на мясо-пептонном агаре, микромицеты - на агаризованной среде Чапека. Численность микроорганизмов выражали в количестве колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г почвы после ее высушивания при температуре 105°C [6]. Респираторную активность почвенного

микробного сообщества оценивали путем титриметрического определения количества CO₂, выделившегося после поглощения щелочью [7]. Определение концентрации углеводов в почвенных образцах проводили в соответствии с ПНД Ф 16.1:2.2.22-98 «Методика выполнения измерений массовой доли нефтепродуктов в почвах и донных отложениях методом ИК-спектрометрии» [8]. Измерение всех параметров проводили не менее чем в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов проводили с помощью электронных таблиц Excel и программы Origin 4.1. Результаты и их обсуждение В качестве показателя оценки состояния среды и интенсивности процесса очищения почвы от углеводов использовалась численность УОМ, которая в незагрязненной серой лесной почве на протяжении всего эксперимента сохранялась на уровне 5,0-10,0 млн/г. В загрязненной почве количество этих микроорганизмов возрастало к 30 сут. (130,0 млн/г). В этом варианте было отмечено снижение углеводов на 32% (90 сут.) в результате самоочищения. При выращивании гороха на загрязненной почве численность УОМ также увеличивалась до 30 сут., затем практически не менялась до 90 сут. Содержание углеводов при этом к концу эксперимента уменьшилось на 44,6%. При внесении в почву консорциума Б уже на 20 сут. численность УОМ составила 140,0 млн/г и продолжала увеличиваться до 60 сут. В этом варианте содержание углеводов за 90 сут. снизилось на 68,5%. Необходимо отметить, что на серой лесной почве эффективная деструкция углеводов отмечена в варианте горох + сообщество Б, где на 90 сут. количество углеводов уменьшилось на 61,8%. По нашему мнению, растения гороха способствовали ускорению процессов деструкции углеводов за счет создания оптимальных условий для развития УОМ. При совместном использовании минерального удобрения и консорциума Б численность УОМ уже на 20 сут. была в 4,8 раза выше контроля и продолжала увеличиваться. В вариантах с внесением минерального удобрения максимальные показатели УОМ отмечены на 45 и 60 сут. Содержание углеводов при внесении минерального удобрения снижалось на протяжении эксперимента до 72,8%. В трех вариантах (аммиачная селитра + сообщество Б; минеральное удобрение + горох; одновременное использование всех трех компонентов) получены сопоставимые данные: на 30 сут. содержание углеводов уменьшилось на 50,8-54,6%, а к концу эксперимента - на 70,8-76,4%. Таким образом, использование консорциума Б ускоряло процессы очистки темно-серой лесной почвы. Численность гетеротрофных микроорганизмов, являющаяся одним из диагностических показателей биологической активности почв, в начале эксперимента в незагрязненной почве и почве, загрязненной 5% ДТ, была практически одинаковой (39,5 и 31,0 млн/г, соответственно). В загрязненной почве численность гетеротрофов на 30 сут. увеличилась в 8,0 раз и сохранялась на этом уровне до 60 сут. В варианте с горохом высокие показатели были отмечены

на 30 сут. (339,0 млн/г). При внесении в загрязненную почву консорциума Б уже на 10 сут. численность гетеротрофов составила 115,0 млн/г, а на 30 сут. возросла в 8,2 раза (946,0 млн/г). При выращивании гороха и внесении ассоциации Б также на 10 сут. была отмечена высокая численность гетеротрофов, которая к 30 сут. увеличилась в 4,0 раза, а на 45 сут. - в 7,8 раз. При внесении в загрязненную почву аммиачной селитры количество гетеротрофов на 10 сут. было максимальным (635,0-651,5 млн/г) и оставалось на этом уровне до 20 сут. Во всех вариантах с консорциумом Б и аммиачной селитрой численность гетеротрофов была сопоставимо высокой на протяжении всего эксперимента. Микромицеты универсальны по своему значению для формирования плодородия почвы и являются важнейшим компонентом почвенных экосистем. На темно-серой лесной почве их численность в динамике была ниже контрольных значений. Качественный состав представлен родами *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Trichoderma*. Уровень респираторной активности характеризует способность микробного сообщества минерализовать органическое вещество в почве и часто используется для характеристики деградации органического вещества при биоремедиации [9]. Респираторная активность серой лесной почвы, загрязненной дизельным топливом, сохранялась на уровне контроля (незагрязненная почва) до 20 сут. Максимальный уровень базального дыхания был достигнут только на 30-45 сут. В вариантах с горохом, а также при внесении сообщества Б увеличение интенсивности респираторной активности продолжалось до 30 сут. При совместном использовании растений гороха и консорциума Б наблюдали стабильно высокий показатель базального дыхания. Рост респираторной активности в начале эксперимента (20-30 сут.), по-видимому, связан с повышением численности микроорганизмов, в первую очередь, углеводородоокисляющих. Внесение минерального удобрения активизировало «дыхательную» активную почвенных микроорганизмов - на протяжении 60 сут. уровень базального дыхания оставался высоким. Максимальные значения респираторной активности свидетельствуют о развитии в почве резистентных к углеводородам форм микроорганизмов. Заключение В вегетационном опыте на темно-серой лесной почве консорциум аборигенных углеводородоокисляющих микроорганизмов Б проявил высокую эффективность деструкции углеводов до 76,4%. Использование ассоциации Б способствовало также улучшению состояния нефтезагрязненной почвы по изученным биологическим параметрам (численность углеводородоокисляющих, гетеротрофных микроорганизмов, микромицетов, респираторная активность). Таким образом, микроорганизмы-деструкторы углеводов широкого спектра действия, составляющие консорциум Б, могут быть использованы для создания эффективных биотехнологии рекультивации загрязненных почв в конкретных природно-климатических условиях.