

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ТРАНСФОРМАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ ПРИ МИКРОБНОЙ РЕКУЛЬТИВАЦИИ ШЛАМОВОГО АМБАРА В СУРГУТСКОМ РАЙОНЕ ХМАО

© 2009 Л.В.Ковальчук, А.И. Фахрутдинов, В.Г. Алехин
Сургутский государственный университет

В условиях Крайнего Севера проведены трехлетние исследования применения технологии рекультивации почвы с глубоким нефтяным загрязнением с использованием созданного консорциума нефтеокисляющих микроорганизмов. Выявлено снижение загрязнителя в первый сезон исследований с 56 г на кг почвы до 0,3. Показана активизация нефтеокисляющей микрофлоры в последующие сезоны при капиллярном поступлении нефтепродуктов из нижних горизонтов загрязненного участка.

Ключевые слова: трансформация углеводородов, микробная рекультивация, шламовый амбар

Западно-Сибирская нефтегазоносная провинция интенсивно осваивается с начала 60-х годов прошлого столетия. За этот период в районах нефте-газодобычи сформировались новые техногенно-антропо-генные экосистемы, функционирование и развитие которых требует пристального изучения и научной оценки происходящих процессов с целью снижения отрицательного воздействия и не допущения полной деградации гигантской экосистемы. Определено несколько основных факторов негативного воздействия нефти на почвы: образование микробных токсичных продуктов и летучих органических веществ, образующихся при разложении нефти, появление фитотоксичных грибов и конкуренции за элементы минерального питания между микрофлорой, разрушающей углеводороды и растениями, снижение концентрации кислорода. Воссоздание исходных биогеоценозов при таких серьезных сдвигах в системе почва-растение возможно лишь при совместном применении микробиологических и агротехнологических приемов [1].

Попавшая в почву нефть, в основном, концентрируется в верхнем дерново-подзолистом горизонте и переходит в негидролизующий осадок в виде нерастворимых фракций,

препятствующая доступу кислорода и воды в почву [2]. Помимо изменения физико-химических условий среды обитания почвенной микрофлоры, кардинальным образом изменяются условия её питания. Микрозональность существования микроорганизмов, в микробных сообществах почв незагрязненных ландшафтов, под влиянием нефти исчезает. Таким образом, при нефтяном загрязнении почв формируется классический пример «монокультурного развития сообщества» почвенной микрофлоры с отрицательными последствиями для растительного сообщества [3]. Восстановление гомеостаза и предотвращение конкуренции нефтеокисляющей микрофлоры за факторы жизнедеятельности могут быть решены разработкой технологической системы микробиологической и фито-восстановительной рекультивации, способной восстановить микрозональность функционирования сообщества почвенной микрофлоры [4].

В данной работе представлен экспериментальный материал по первому этапу разработки системы микробиологической рекультивации нефтезагрязненных почв Среднего Приобья Ханты-Мансийского АО с внесением в почву созданного в лаборатории почвоведения СурГУ консорциума нефтеокисляющих микроорганизмов [5] и агротехнологической поддержки его функционирования в почве – изучению функционирования сообщества почвенной микрофлоры при рекультивационных мероприятиях.

Исследования проводились в течение 3-х лет (2006-2008 гг.) на стационарных

Ковальчук Людмила Владимировна, аспирант. E-mail: kovalchuk_l_v@mail.ru

Фахрутдинов Айвар Инталович, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии. E-mail: fachrutdinov_a_i@mail.ru

Алехин Виктор Григорьевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий лабораторией почвоведения. E-mail: avg.nii@surgu.ru

полигонах, расположенных в широтном направлении с запада на восток по течению р. Обь – Нефтеюганский, Сургутский и Нижневартовский районы.

В Сургутском районе опытные делянки были заложены на шламовом амбаре. Начало эксплуатации амбара – 1973 г., окончание – 1998 г. В 1998 г. амбар был отсыпан 10-ти сантиметровым слоем песка. За годы, прошедшие до закладки опыта, произошло поднятие углеводородов из нижних горизонтов амбара с образованием плотной корки. Под песчаной отсыпкой слой углеводородов простирается на глубину 60 см. Опытные делянки размером 4 м² заложены в 5 кратной повторности в систематическом порядке по следующей схеме:

1) абсолютный контроль – на незагрязненной почвенной разности данного местобитания;

2) контроль – на загрязненной почве без применения приемов рекультивации;

3) на загрязненной почве + консорциум нефтеокисляющей микрофлоры (НМ) + N₆₀P₆₀K₆₀ + раскислитель;

4) на загрязненной почве + консорциум НМ + N₆₀P₆₀K₆₀ + раскислитель + рыхление на глубину 30 см. В опытных делянках, на нефтезагрязненной почве, рН до 6,9-7,2 единиц доводился внесением мела.

Образцы для микробиологических исследований отбирались через каждые 2 недели после схода снега весной до устойчивого снежного покрова осенью в 5-кратной повторности (конвертом) из каждой делянки. Анализировался смешанный образец. Подготовка образцов и проведение микробиологических анализов осуществлялось стандартными методами [6]. На мясопептонном агаре (МПА) изучалась численность аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов осуществляющих процессы аммонификации. На среде Кинга выявлялись аэробная и анаэробная гетеротрофная углеводородокисляющая микрофлора (УОМ) почвы, использующая в процессах разрушения сырой нефти органические соединения. На среде Мюнца – способность литотрофной части сообщества почвенной микрофлоры к утилизации сырой нефти. На среде Чапека – численность микромицетов, на среде МПА + сусло агар (СА) – спорообразующая аммонифицирующая микрофлора.

Внесение раскислителя существенно изменило рН хемозема в опыте и по сравнению с абсолютным контролем хемозем шламового амбара, в который не вносился раскислитель, имел повышенный рН (рис. 1).

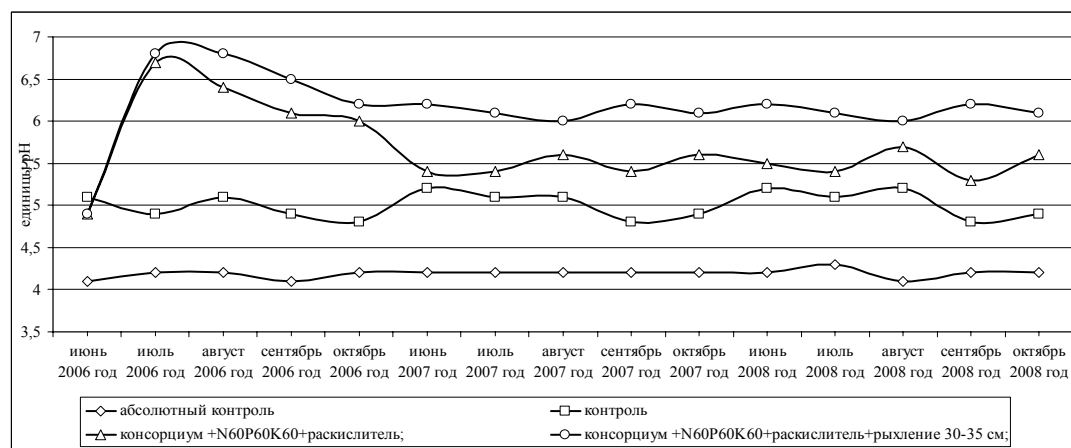


Рис. 1. Ежегодная сезонная динамика рН в процессах рекультивации почвы шламового амбара в Сургутском районе

В рекультивационных вариантах в первый период внесения мела отмечено увеличение до рН 7,0 а затем динамические кривые стали расходиться. В варианте с рыхлением рН поддерживался в течение опыта в пределах от 7 единиц до постепенного снижения к 3-му году до 6,5. В варианте, где

рыхление не применялось, раскисление почвы происходило более интенсивно и через год стабилизировалось в пределах рН 5,5-5,0. Изначально выровненный по уровню концентрации водородных ионов фон изменяется под влиянием агротехнических и микробных воздействий на почвенную микро-

флору и характеризует направленность его развития и эффективность рекультивации. При максимальном уровне содержания нефтепродукта (НП) в верхнем горизонте почвы шламового амбара в начальный период рекультивации в июне 2006 г. отмечен минимальный уровень численности органотрофной

нефтеокисляющей микрофлоры (на среде Кинга). В варианте, где приемы рекультивации не применялись (контроль), колебания численности этих микроорганизмов в течение 3-х лет опыта характеризовались изменениями погодных характеристик года (рис. 2).

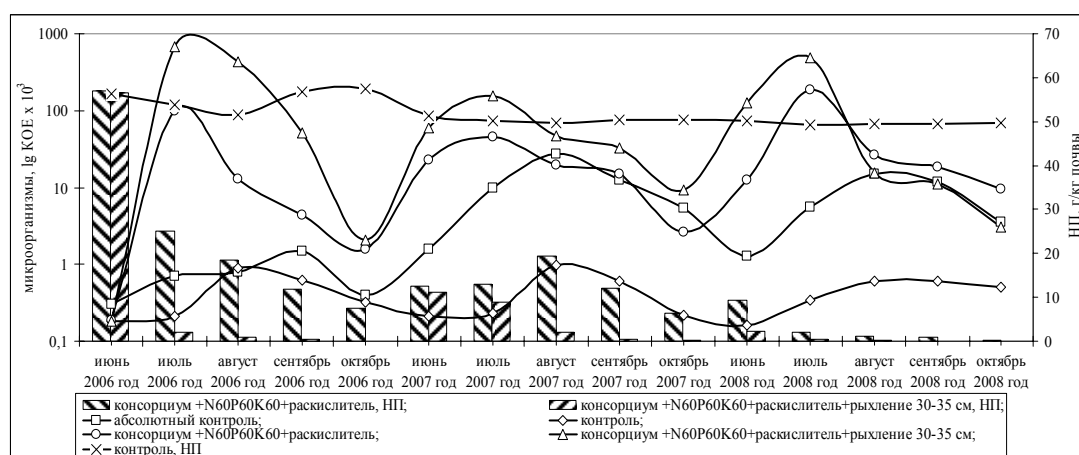


Рис. 2. Динамика численности углеводородокисляющей микрофлоры использующей в процессах микробиологической рекультивации

Существенных изменений содержания НП в почве контрольного варианта не отмечено: за 3 года снизилось до 49 г/кг при начальном 56,3 г/кг почвы. В вариантах рекультивации с применением системы поддержки развития внесенного в почву консорциума нефтеокисляющей микрофлоры отмечен максимальный уровень развития УОМ, особенно в варианте с внесением системы удобрений и рыхлением почвы, со снижением НП в почве до 0,3 г/кг почвы к октябрю 2006 года, без рыхления составило 7,3 г/кг почвы. В результате капиллярного поднятия НП из нижележащих горизонтов в весенне-летний период отмечено повышение их уровня в почве на 2-й и 3-й годы, что вызвало колебания нефтеокисляющей микрофлоры. Это указывает на сохранение активности жизнедеятельности УОМ в вариантах рекультивации.

Загрязнение почвы нефтью существенно снижало уровень численности литотрофных микроорганизмов, способных использовать углеводороды нефти. В незагрязненной почве их численность за весь период исследований была выше и сохранялась практически на одинаковом уровне с максимумом развития в летние месяцы (июль). В загрязненной некультивируемой почве в весенне-летние месяцы численность падала, а пик развития сдвигался на сентябрь и достигал уровня, зафиксированного в незагрязненной почве (рис. 3). В вариантах рекультивации максимальный уровень развития отмечен в

летние месяцы (июль-август), особенно в варианте с рыхлением. Таким образом, рекультивационные мероприятия активировали жизнедеятельность и расширяли минерализационные возможности почвенной микрофлоры.

Жизнедеятельность аэробной аммонифицирующей микрофлоры обычно используется для характеристики изменений, происходящих в сообществе почвенной микрофлоры под влиянием стрессовых воздействий. Сравнение численности этой физиологической группы микроорганизмов в загрязненном варианте без применения рекультивационных мероприятий с абсолютным контролем (незагрязненной почвой), указывает на резко отрицательное воздействие на активность аммонификационных процессов (рис. 4). Проведение рекультивационных мероприятий сказывается положительно на процессах аммонификации органических азотистых соединений в почве, особенно в варианте с рыхлением. При этом в сезонной динамике этой микрофлоры, в отличие от УОМ, отмечен осенний пик численности в годы интенсивного капиллярного поднятия углеводородов из нижних горизонтов почвы. В контрольном варианте численность этой микрофлоры активируется при повышении температуры в летний период и снижается в осенний, но до значений, отмеченных в абсолютном контроле, численность не поднимается.

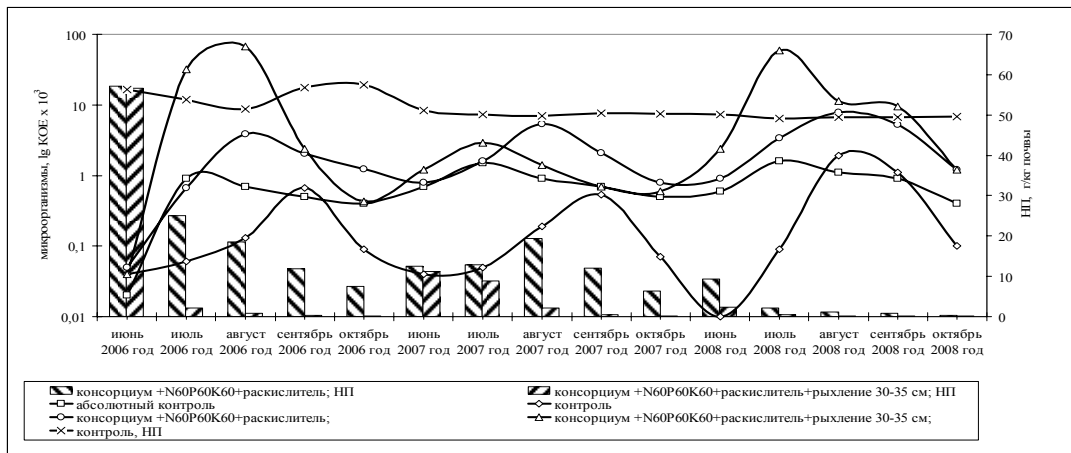


Рис. 3. Динамика численности литотрофной углеводородоксилирующей микрофлоры в процессах микробиологической рекультивации

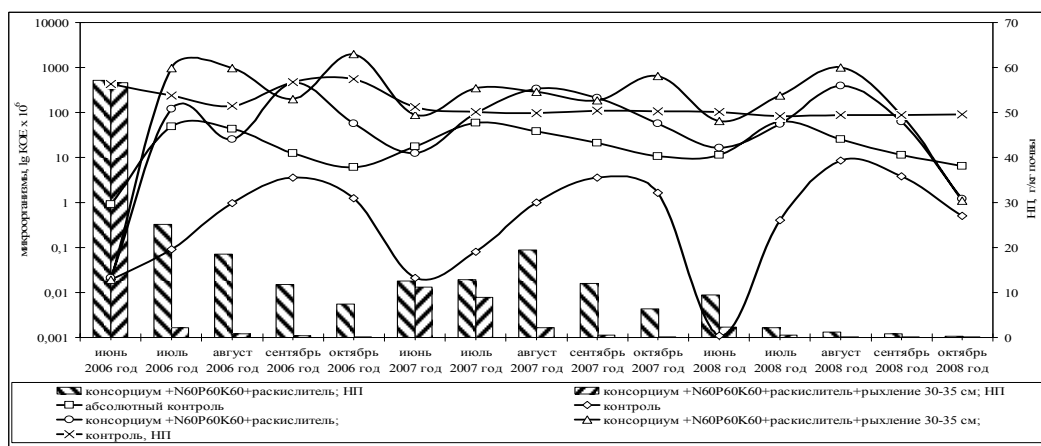


Рис. 4. Динамика численности аэробной аммонифицирующей микрофлоры в процессах микробиологической рекультивации шламового амбара

Загрязнение почвы нефтью резко изменяет физико-химические свойства почвы, создавая множественные зоны анаэробизации. Спорообразование является ответной реакцией на изменение условий функционирования сообщества почвенной микрофлоры. Сравнительное изучение сезонной динамики спорообразующей аммонифицирующей микрофлоры в некультивированном (контрольном) варианте и абсолютном контроле показало одинаковую направленность численности бациллярной микрофлоры. В рекультивируемых вариантах отмечается рост численности спорообразующей микрофлоры (рис. 5). Этот факт связан со структурированием слитного хемозема в результате гумификации, активации развития аэробов на поверхности почвенных агрегатов и создания анаэробных зон внутри, т.е. восстановления нормального функционирования сообщества почвенной микрофлоры. Это подтверждается и при рассмотрении ежегодной сезонной динамики развития факультативно анаэробной аммонифицирующей микрофлоры (рис. 6). В варианте абсолютного контроля эта физиологическая группа развивалась циклическим

образом. В загрязненной некультивируемой почве в первый период интенсивного разложения НП численность анаэробов была на уровне численности в рекультивационных вариантах с минимумом на 3-й год. Рекультивационные мероприятия активизировали развитие анаэробов-аммонификаторов с максимумом к концу опыта.

Экспериментальные материалы развития ежегодной сезонной численности анаэробной нефтеоксилирующей микрофлоры показывают существенное увеличение этой физиологической группы микроорганизмов в хемоземе. В некультивированной почве шламового амбара по сравнению с незагрязненной почвой уровень численности этой физиологической группы был выше и возрастал к концу опыта. В рекультивационных вариантах также отмечен рост численности анаэробов, способных усваивать углеводороды в качестве источника питания, особенно в варианте с рыхлением. В варианте с внесением в почву минеральных удобрений в последний год опыта численность анаэробов приближалась к абсолютному контролю (незагрязненной почве) (рис. 7).

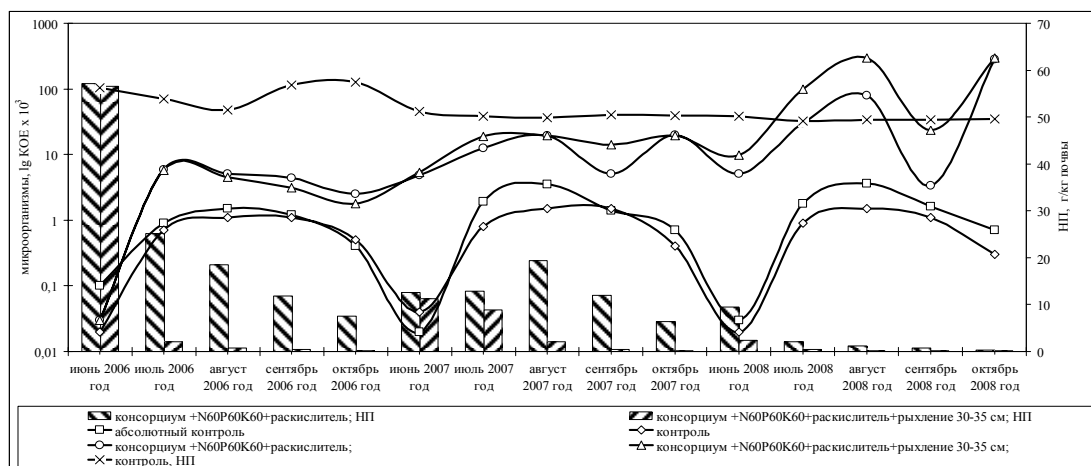


Рис. 5. Динамика численности спорообразующей аммонифицирующей микрофлоры в процессах микробиологической рекультивации

Этот факт связан со структурированием слитного хемозема в результате гумификации, активации развития аэробов на поверхности почвенных агрегатов и создания анаэробных зон внутри, т.е. восстановления нормального функционирования сообщества почвенной микрофлоры. Это подтверждается и при рассмотрении ежегодной сезонной динамики развития факультативно анаэробной аммонифицирующей микрофлоры (рис. 6). В варианте абсолютного контроля эта физиологическая группа развивалась циклическим образом. В загрязненной нерекультивируемой почве в первый период интенсивного разложения НП численность анаэробов была на уровне численности в рекультивационных вариантах с минимумом на 3-й год. Рекультивационные мероприятия активизировали развитие анаэробов-аммонификаторов с максимумом к концу опыта.

Экспериментальные материалы развития ежегодной сезонной численности анаэробной нефтеокисляющей микрофлоры показывают существенное увеличение этой физиологической группы микроорганизмов в хемоземе. В нерекультивированной почве шламового амбара по сравнению с незагрязненной почвой уровень численности этой физиологической группы был выше и возрастал к концу опыта. В рекультивационных вариантах также отмечен рост численности анаэробов, способных усваивать углеводороды в качестве источника питания, особенно в варианте с рыхлением. В варианте с внесением в почву минеральных удобрений в последний год опыта численность анаэробов приближалась к абсолютному контролю (незагрязненной почве) (рис. 7).

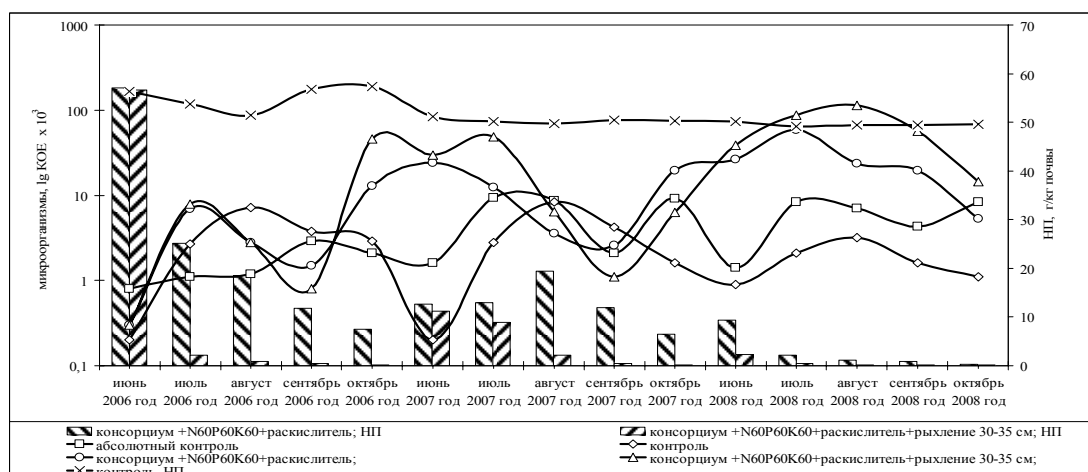


Рис. 6. Динамика численности факультативно анаэробной аммонифицирующей микрофлоры в процессах микробиологической рекультивации

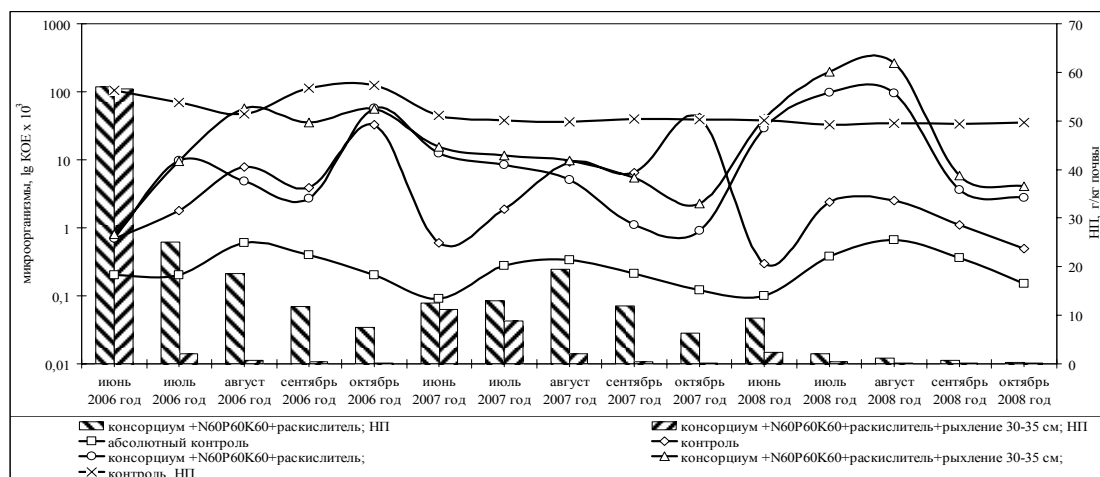


Рис. 7. Динамика численности факультативно анаэробной нефтеокисляющей микрофлоры в процессах микробиологической рекультивации

Микроскопические грибы являются важной составляющей сообщества почвенной микрофлоры. Особенно в процессах первичной трансформации органических веществ в кислых почвах, каковыми являются почвы ХМАО. В естественной незагрязненной почве их численность подчинялась сезонным колебаниям, отмеченным выше для остальных изученных физиологических групп сообщества почвенной микрофлоры (рис. 8). При изучении динамики численности в незагрязненной и загрязненной нефтью почве, отмечено четкое возрастание активности жизнедеятельности мицеллярной

микрофлоры в загрязненном варианте, особенно на 3-й год опыта. В рекультивационных вариантах, в первый год опыта, в период активной фазы трансформации углеводов (июль) численность микромицетов была ниже уровня, отмеченного в незагрязненной почве. Это указывает на доминирование бактериальной части сообщества почвенной микрофлоры в начальный период рекультивации. По мере снижения концентрации нефтепродуктов в почве уже в первый год опыта отмечено возрастание активности микромицетов и максимум отмечен на 3-год опыта.

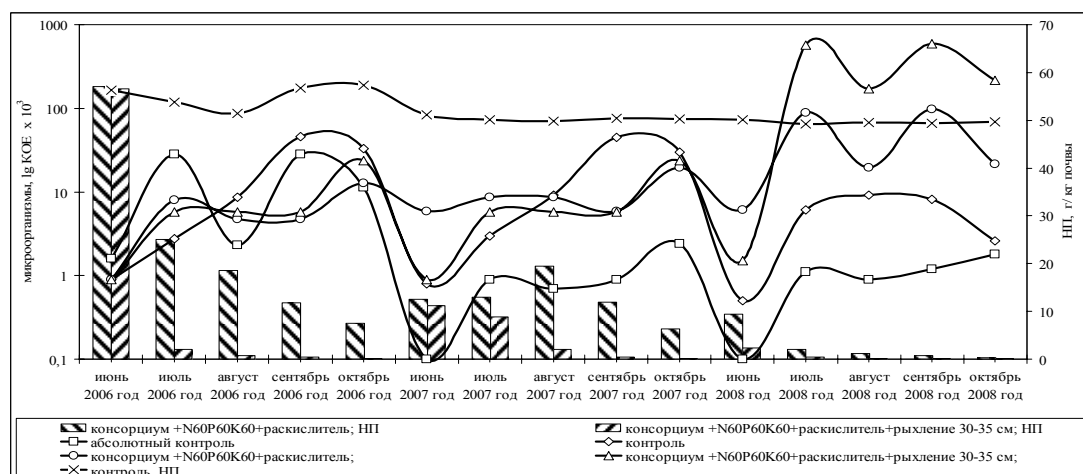


Рис. 8. Динамика численности микромицетов в процессах микробиологической рекультивации шламового амбара

Выводы:

1. Испытанная в производственных условиях шламового амбара технология микробиологической рекультивации загрязненных нефтью почв показала высокую интенсивность очистки верхнего горизонта (0-30

см) в течение первого года, с определяющей ролью УОМ в процессах трансформации НП.

2. Показана определяющая роль агротехнических мероприятий обеспечивающих оптимизацию условий функционирования вне-

сенной в почву УОМ и аборигенного микробного сообщества в процессах разрушения НП.

3. Выявлена последовательность развития физиологических групп сообщества почвенной микрофлоры в процессах рекультивации хемозема нефтешламового амбара, которая определяется изменениями почвенной среды происходящей по мере разложения нефти.

4. Установлена высокая эффективность разработанного препарата и технологии его применения на сообщество почвенной микрофлоры, способной в последствии разрушать НП, поднимающиеся из нижних горизонтов хемозема шламового амбара вместе с капиллярным потоком грунтовых вод.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Трофимов, С.Я. Актуальные проблемы рекультивации нефтезагрязненных почв таежной зоны Западной Сибири // Современные проблемы загрязнения почв: II междунауч. науч. конф. Сб. мат. – М., 2007. – Т. 1. – С. 36-37.
2. Бахвалов, А.В. Влияние нефтяного загрязнения на свойства дерново-подзолистой почвы / А.В. Бахвалов, М.С. Розанова, Т.И. Мушаева // Современные проблемы загрязнения почв: II междунауч. науч. конф. Сб. мат. – М., 2007. – Т.1. – С. 311-314.
3. Алехин, В.Г. Почвоутомление сероземов Чуйской долины. Дисс. на соиск. уч. ст. д.с/х.н. М., 1996.
4. Звягинцев, Д.Г. Биология почв / Д.Г. Звягинцев, И.П. Бабьева, Г.М. Зенова // М., 2005. – С. 445.
5. Фахрутдинов, А.И. Деструкция углеводородов с использованием аборигенных микроорганизмов / А.И. Фахрутдинов, Т.Д. Ямпольская, Л.В. Ковальчук // Биологическая рекультивация и мониторинг нарушенных земель: мат. Межд. Науч. конф., Екатеринбург, 4-8 июня 2007 г. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2007. – С. 668-672.
6. Звягинцев, Д.П. Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учебное пособие. М., 1991. – 304 с.

MICROBIOLOGICAL PROCESSES OF HYDROCARBONS TRANSFORMATION AT MICROBAL RECULTIVATION OF THE SLURRY BARN IN SURGUT REGION HMAO

© 2009 L.V. Kovalchuk, A.I. Fahrutdinov, V.G. Alekhin
Surgut State University

In conditions of the Far North are carried out three-year researches of application the technology of soil recultivation with deep oil contamination with the use of created consortium of petrooxidizing microorganisms. Decrease in contaminant during the first season of researches from 56 g on kg of soil up to 0,3 g is revealed. Activization of petrooxidizing microflora during the subsequent seasons is shown at capillary receipt of mineral oil from the bottom horizons of the polluted field.

Key words: hydrocarbons transformation, microbial recultivation, slurry barn

Lyudmila Kovalchuk, Graduate Student.

E-mail: kovalchuk_l_v@mail.ru

Ayvar Fakhruddinov, Candidate of Biology, Associate Professor at the Microbiology Department. E-mail:

fakhruddinov_a_i@mail.ru

Viktor Alekhin, Doctor of Agriculture, Professor, Chief of the Agrology Laboratory. E-mail: avg.nii@surgu.ru