

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПЛОДОРОДИЯ ТЕХНОГЕННО-ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

© 2010 Н.А. Киреева<sup>1</sup>, В.В. Водопьянов<sup>2</sup>, А.С. Григориади<sup>1</sup>, Е.И. Новоселова<sup>1</sup>,  
Г.Г. Багаутдинова<sup>1</sup>, А.Р. Гареева<sup>1</sup>, Е.Ю. Лобастова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Башкирский государственный университет

<sup>2</sup> Уфимский государственный авиационный технический университет

<sup>3</sup> Башкирский НИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии

Поступила в редакцию 30.04.2010

Показана возможность использования биопрепаратов Белвитамил, Ленойл, Метаболит, Фитоспорин для восстановления биологической активности почвы, нарушенной нефтяными загрязнениями. Применение биопрепаратов благотворно сказывается на микробиологических и биохимических свойствах загрязненных почв и продуктивности сельскохозяйственных растений.

Ключевые слова: *биопрепараты, нефтяное загрязнение почв, биологическая активность, математическая модель*

В настоящее время значительная часть почвенного покрова в мире подвергается негативным изменениям, приводящим к его деградации. Среди многочисленных загрязняющих веществ большая роль принадлежит нефтяным углеводородам, что связано с высокой интенсивностью их добычи и переработки. Наиболее перспективными и экологически безопасными методами восстановления плодородия и структуры нарушенных почв является биологическая рекультивация, основанная на потенциале почвенных микроорганизмов трансформировать поллютанты различного состава и происхождения и стимулировать рост и развитие растений. В связи с вышесказанным актуальным является создание и применение биопрепаратов на основе микробных ассоциаций, обладающих комплексным стимулирующим действием на рост и развитие

растений, почвенное плодородие и поддержание экологического равновесия в агроценозах.

В данной работе представлены результаты исследований по влиянию различных биопрепаратов на биологическую активность антропогенно-нарушенных почв и продуктивность сельскохозяйственных растений.

Исследования проводили в условиях модельного эксперимента и на полях кафедры ботаники, физиологии и селекции Башкирского государственного аграрного университета на образцах серой лесной почвы (гумус 4,54 %, рН<sub>водный</sub> –6,1; N<sub>общ.</sub> – 2507 мг/кг): чистой (фоновой), загрязненной нефтью в различных концентрациях (5 и 10 % масс.) и подвергнутой биоремедиации. Для обработки почвы и/или семян нами были отобраны следующие биопрепараты:

- Белвитамил, являющийся активным илом очистных сооружений целлюлозно-бумажного производства. Содержит от 80 до 90% органических веществ (в т.ч. протеины, липиды, клетчатку) и от 7 до 12% минеральных элементов. Белвитамил представляет собой готовую смесь промышленной ассоциации аэробно-анаэробных микроорганизмов (сапротрофы, аммонификаторы, нитрификаторы, целлюлозоразрушающие организмы, дрожжи и микромицеты) и относится к группе препаратов, стимулирующих развитие аборигенной углеводородокисляющей микробиоты [6]. Углеводородокисляющие микроорганизмы (YOM) представлены, в основном, родами *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Candida*, *Desulfimbrio*, *Pseudomonas* (всего 10 видов);

*Киреева Наиля Ахняфовна, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биотехнологии. E-mail: vodop@yandex.ru*

*Водопьянов Владимир Васильевич, доктор технических наук, профессор кафедры математики. E-mail: vodop@yandex.ru*

*Григориади Анна Сергеевна, аспирантка. E-mail: nysha111@yandex.ru*

*Новоселова Евдокия Ивановна, доктор биологических наук, заведующая кафедрой экологии. E-mail: novoselova58@mail.ru*

*Багаутдинова Гульназ Галимовна, старший инженер кафедры экологии. E-mail: gulnazbag@rambler.ru*

*Гареева Алия Римовна, аспирантка. E-mail: aliika2007@yandex.ru*

*Лобастова Елена Юрьевна, младший научный сотрудник. E-mail: l-basta@rambler.ru*

- Биопрепарат Ленойл состоит из консорциума микроорганизмов *Bacillus brevis* и *Arthrobacter species*. Указанный консорциум выделен из серой лесной почвы, искусственно загрязненной дизельным топливом и поддерживается в коллекции микроорганизмов Института биологии Уфимского научного центра РАН, коллекционный номер ИБ ДТ 5. Биопрепарат, предназначенный для ликвидации последствий загрязнения окружающей среды нефтепродуктами, производства ГУП «Опытный завод АН РБ» совместно с Институтом Биологии УНЦ РАН [3];

- Метаболит Н1 представляет собой экстракт природных биологически активных веществ, который продуцирует гриб-эндофит *Scopulariopsis acremonium* (Delacr.) Vuill., выделенный из корней трехлетней облепихи и любезно предоставленный профессором Н.М. Нурмухаметовым (рабочая концентрация 0,001%-ный раствор) [5];

- Фитоспорин, основой которого являются живые клетки и споры (общий титр  $10^9$  КОЕ/мл), а также экзогенные метаболиты штамма *Bacillus subtilis* 26Д, обладающего антагонистической активностью в отношении фитопатогенных микроорганизмов [7].

Биопрепараты Белвитамил и Ленойл вносили в нефтезагрязненную почву, а Фитоспорином и Метаболитом Н1 обрабатывали семена и 20-суточные проростки растений.

Состояние почвы оценивалось по изменению численности некоторых физиологических групп микроорганизмов и активности ферментов [8]. Численность микроорганизмов определяли по общепринятым методам посева на агаризированные среды [4]. Для оценки эффективности биоремедиации определяли содержание остаточных нефтепродуктов в почве [9]. Оценка продуктивности сельскохозяйственных растений проводилась на культурах пшеницы яровой, (*Triticum aestivum* L. сорт Жница) и сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L., сорт Милан). Статистическая обработка полученных результатов проведена с применением пакета прикладных программ Statistica 6.0, а математическое моделирование – Mathematica 5.

В ходе лабораторного эксперимента было проведено исследование содержания остаточных нефтепродуктов в рекультивируемой почве. Через 6 месяцев инкубации в пробах с загрязнением нефтью в концентрации 5% произошло значительное разложение поллютанта (до 23% от первоначального содержания). При использовании Белвитамил и Ленойл за это же период времени содержание

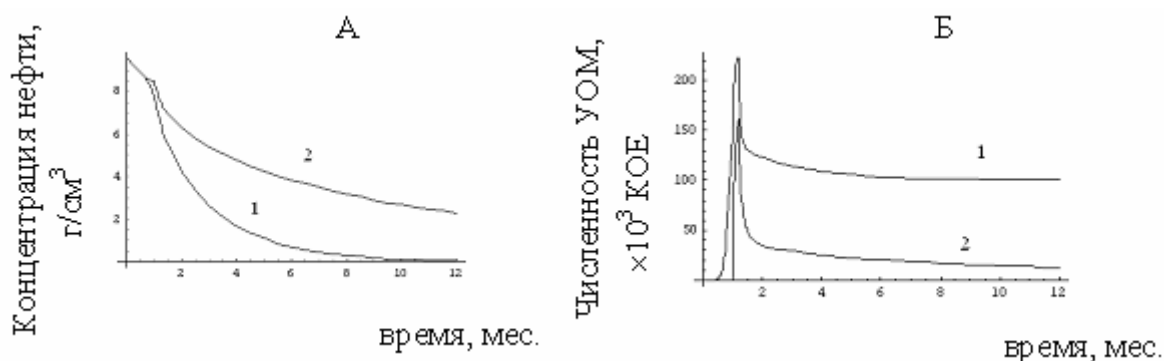
нефти в почве снизилось до 0,82 и 0,91 г/100г соответственно, а при 10%-ном загрязнении почвы внесение этих препаратов ускорило разложение поллютантов в 4,0-4,5 раза.

Для прогноза воздействия на процессы биоремедиации внесенных препаратов был проведен численный эксперимент с использованием системы уравнений, описанной в [1]. Экспериментальные данные подтвердили адекватность численных экспериментов. Внесение Ленойла и Белвитамила изменяло микробный фон почвы и стимулировало развитие углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ): показатели превышали контрольные значения на несколько порядков уже на третьи сутки проведения опыта. Такое резкое увеличение численности данной группы микроорганизмов способствовало ускорению разложения нефти в почве. Значительная стимуляция развития УОМ при внесении Ленойла происходила в результате их интродукции в составе самого препарата. В то же время популяционный «взрыв» привел к деградации среды, и при внесении Ленойла численность УОМ снова стала быстро снижаться (рис. 2). При внесении Белвитамила численность УОМ сохранялась на высоком уровне. При внесении в почву биодобавки (Белвитамил), вероятно, не только увеличивалась численность УОМ, но и расширился круг микроорганизмов-деструкторов, за счет включения микроорганизмов активного ила, способных к соокислению.

Нефтяное загрязнение почвы оказало негативное влияние на многие группы почвенных микроорганизмов. Внесение биопрепаратов нивелировало токсичность нефти для разных физиологических групп микроорганизмов (бактерий, использующих минеральные и органические формы азота, а также целлюлозолитиков). Численность гетеротрофных микроорганизмов превышала контрольные показатели в результате интродукции микроорганизмов в составе препаратов. При 5% загрязнении численность микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, при внесении Ленойла достигала фонового значения. Однако при 10%-ном загрязнении почвы нефтью численность целлюлозолитиков даже при обработке биопрепаратом Белвитамил была значительно сниженной из-за токсического действия нефти ( $0,71 \cdot 10^5$  КОЕ/г почвы) в то время как в контроле этот показатель составлял  $3,410^5$  КОЕ/г почвы). Обработка семян биопрепаратами Метаболит и Фитоспорин также оказало стимулирующее влияние на численность микроорганизмов различных физиологических групп в нефтезагрязненной

почве. Численность целлюлозолитиков повышалась при обработке посевов биопрепаратом в эдафосфере: как в фоновой, так и нефтезагрязненной почве, что свидетельствует об интенсификации процессов разложения клетчатки

и, в конечном счете, улучшении углеводного питания растений под влиянием метаболитов эндомикоризного гриба, входящих в состав биопрепарата.



**Рис.** Результаты моделирования биодegradации нефти (А) и численности УОМ (Б) в нефтезагрязненной почве при внесении Белвитамила (1) и Ленойла (2).

При изучении ферментативной активности почвы в качестве индикационного показателя нами была выбрана каталазная активность. Этот фермент является чувствительным и ингибируется при внесении поллютанта. Применяемые углеводородокисляющие препараты оказали положительное влияние на ферментативную активность, уровень которой значительно превышал соответствующий показатель в загрязненных образцах. Обработка семян сахарной свеклы биопрепаратом не дала однозначных результатов: активность каталазы в нефтезагрязненной почве с внесением биопрепарата сохранялась на низком уровне.

Также следует отметить, что нефтяное загрязнение негативно сказывалось на росте и развитии сельскохозяйственных растений. Можно отметить, что при загрязнении почвы нефтью происходила перестройка комплекса микромицетов, среди которых доминировали фитотоксичные виды [2]. В связи с этим необходимо изучать влияние биопрепаратов, основанных на микроорганизмах-антагонистах фитопатогенов, а также проводить оценку всех используемых биопрепаратов на продуктивность растений.

Обработка семян и проростков биопрепаратами Метаболит Н1 и Фитоспорин способствовала увеличению урожайности корнеплодов сахарной свеклы на 10-15% по сравнению с вариантом опыта без обработки. Одновременно увеличивалась сахаристость корнеплодов и их лежкость. Однако на нефтезагрязненной почве (5%) такого эффекта не наблюдалось. Для более полного восстановления биологической активности нефтезагрязненной почвы, очевидно, необходима неоднократная обработка посевов биопрепаратами Метаболит Н1 и Фитоспорин.

Нефтяное загрязнение почвы неблагоприятно сказалось на продуктивности пшеницы, выращиваемой на серой лесной почве. Урожайность растений значительно снизилась по сравнению с урожайностью растений, выращенных на почве контрольного варианта (табл.). Внесение препаратов не привело в полному восстановлению данного показателя, однако следует отметить положительную тенденцию, особенно при использовании Белвитамила и Фитоспорина.

**Таблица.** Урожайность яровой пшеницы на почвах, загрязненных нефтью (5% масс.), ц/га

Время после загрязнения, мес.	Контроль	Белвитамил	Фитоспорин	Ленойл
-	17,8	23,0	24,0	20
2	1,2	4,5	5,0	-
12	2,0	15,6	16,0	13,0

**Выводы:** внесение биопрепаратов в нефтезагрязненную почву способствовало возрастанию активности нефтеокисляющей микробиоты и стимулировало разложение нефти в почве, что ведет к восстановлению ее свойств, а так же к устойчивости растений к неблагоприятным факторам и повышению их продуктивности. Математическое моделирование показало целесообразность биологической очистки загрязненных почв внесением биостимуляторов (Белвитамила), способствующих созданию оптимальных условий для размножения и функционирования аборигенных углеводородокисляющих микроорганизмов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Водопьянов, В.В.* Оптимизация биологической очистки нефтезагрязненных почв с использованием математической модели / *В.В. Водопьянов, Н.А. Киреева, Т.С. Онегова* // Нефтяное хозяйство. – 2008. - № 4. – С. 108-111.
2. *Киреева, Н.А.* Микромицеты почв, загрязненных нефтью, и их токсичность / *Н.А. Киреева, Н.Ф. Галимзянова, А.М. Мифтахова* // Микология и фитопатология. – 2000. – Вып. 1. – С. 36-41.
3. *Логинов, О.Н.* Консорциум штаммов *Bacillus brevis* и *Arthrobacter sp.*, используемый для очистки воды и почвы от нефти и нефтепродуктов. Патент №2232806 РФ / *О.Н. Логинов, Н.Н. Силищев, Р.Н. Чураев* и др. – Бюлл. изобр. – 2004, №20.
4. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. *Д.Г.Звягинцева*. М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.
5. *Нурмухаметов, Н.М.* Биологические пути повышения эффективности плодородия почв. Монография.– Уфа: Изд-во БГАУ, 2001. – 254 с.
6. *Онегова, Т.С.* Способы очистки почвы от нефтяных загрязнений. Патент №2279472. РФ / *Т.С. Онегова, Н.С. Волочков, Н.А. Киреева* и др. – Бюлл. изобр. – 2006, №19.
7. *Смирнов, В.В.* Биопрепарат фитоспорин для защиты растений от болезней. Патент №2099947 РФ / *В.В. Смирнов, И.Б. Скорокулова, Т.Г. Бережницкая* и др. – Бюлл. изобр. – 1997, № 16.
8. *Хазиев, Ф.Х.* Методы почвенной энзимологии. – М.: Наука, 2005. – 252 с.
9. *McGill, W.B.* Determination content of oil contaminated soil / *W.B. McGill, M.J. Rowell* // *Sci. Total. Environ.* – 1980. - №3. – P. 245-253.

## EFFICIENCY OF BIOLOGICAL PRODUCTS APPLICATION FOR FERTILITY REESTABLISHMENT OF TECHNOGENIC POLLUTED SOILS

© 2010 N.A. Kireeva<sup>1</sup>, V.V. Vodopyanov<sup>2</sup>, A.S. Grigoriadi<sup>1</sup>, E.I. Novoselova<sup>1</sup>, G.G. Bagautdinova<sup>1</sup>, A.R. Gareeva<sup>1</sup>, E.Yu. Lobastova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Bashkir State University

<sup>2</sup> Ufa State Aviatechnical University

<sup>3</sup> Bashkir Scientific Research Institute of Agriculture of Rosselhozacademy

The opportunity of use the biological products Belvitamil, Lenoil, Metabolite, Fitosporin for restoration the biological activity of soil disturbed by oil contaminations is shown. Application of biological products salutarly affects on microbiological and biochemical properties of the polluted soils and efficiency of agricultural plants.

Key words: *biological products, oil contamination of soils, biological activity, mathematical model*

---

*Nailya Kireeva, Doctor of Biology, Professor at the Department of Biochemistry and Biotechnology. E-mail: vodop@yandex.ru*  
*Vladimir Vodopyanov, Doctor of Technical Sciences, Professor at the Department of Mathematics. E-mail: vodop@yandex.ru*  
*Anna Grigoriady, Post-graduate Student. E-mail: nyshal11@yandex.ru*  
*Evdokiya Novoselova, Doctor of Biology, Head of the Ecology Department. E-mail: novoselova58@mail.ru*  
*Gulnaz Bagautdinova, Senior Engineer at the Ecology Department. E-mail: gulnazbag@rambler.ru*  
*Aliya Gareeva, Post-graduate Student. E-mail: aliika2007@yandex.ru*  
*Elena Lobastova, Minor Research Fellow. E-mail: l-basta@rambler.ru*