

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет
имени К.И.Сатпаева

Институт Химических и Биологических технологий
(наименование института)
Кафедра Химические процессы и промышленная экология
(наименование института)

Робу Валерия Михайловна
(Ф.И.О. обучающегося)

Исследование проблемы биофиторемедиации нефтезагрязненных почв аридных зон в
Кызылординской области
(тема магистерской диссертации)

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Специальность 6М060800 – Экология
Шифр и наименование специальности

Алматы 2020

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет
имени К.И.Сатпаева

Институт Химических и Биологических технологий
(наименование института)
Кафедра Химические процессы и промышленная экология
(наименование института)

Робу Валерия Михайловна

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

На соискание академической степени магистра

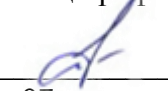
Название диссертации «Исследование проблемы биофиторемедиации
нефтезагрязненных почв аридных зон в
Кызылординской области»

Направление подготовки 6М060800 – «Экология»

Научный руководитель
Доктор биологических наук,
ассоц.профессор

 Курбанова Г.В.
«05» августа 2020 г.

Рецензент
Кандидат биологических наук,
ассоц.профессор

 Малахова Н.П.
«07» августа 2020 г.

Нормоконтроль
Доктор биологических наук,
ассоц.профессор

 Курбанова Г.В.
«05» августа 2020 г.

ДОПУЩЕН К ЗАЩИТЕ
Заведующий кафедрой «Химических
процессов и промышленной экологии»

 Кубекова Ш.Н.
« 10 » августа 2020г.

Алматы, 2020МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

Казахский национальный исследовательский технический университет
имени К.И.Сатпаева

Институт Химических и Биологических технологий
(наименование института)
Кафедра Химические процессы и промышленная экология
(наименование института)

6M060800- «Экология»

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой
«Химических процессов и
промышленной экологии»

 Кубекова И.И.
подпись
«10» августа 2020 г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение магистерской диссертации

Магистранту Робу Валерии Михайловне

Тема: «Исследование проблемы биофитореимедии нефтезагрязненных почв аридных зон в Кызылординской области»

Утверждена приказом Ректора университета №1226-М от «31» октября 2018 г.

Срок сдачи законченной диссертации «____» _____ 2020 г.

Исходные данные к магистерской диссертации: изучение эффективности применения биопрепарата «Бакойл КЗ» для очистки от нефти почвы нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп

Перечень подлежащих разработке в магистерской диссертации вопросов:

а) основная часть

б) материалы и методы исследований

в) результаты собственных исследований

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей)

ГРАФИК

подготовки магистерской диссертации

Наименование разделов, перечень разрабатываемых вопросов	Сроки представления научному руководителю	Примечание
Обзор литературы	16.01.2020	выполнено
Объекты и методы исследования	25.05.2020	выполнено
Результаты собственных исследований	18.05.2020	выполнено
Заключение	26.06.2020	выполнено

ПОДПИСИ

консультантов и нормоконтролера на законченную магистерскую диссертацию с указанием относящихся к ним разделов диссертации

Наименование разделов	Консультанты И.О.Ф (ученая степень, звание)	Дата подписания	подпись
Обзор литературы	Г.В. Курбанова Доктор биологических наук, ассоц.профессор	25.06.2020	
Объекты и методы исследования	Г.В. Курбанова Доктор биологических наук, ассоц.профессор	25.06.2020	
Результаты собственных исследований	Г.В. Курбанова Доктор биологических наук, ассоц.профессор	25.06.2020	
Нормоконтроль	Г.В. Курбанова Доктор биологических наук, ассоц.профессор	05.08.2020	

Научный руководитель _____  Г.В. Курбанова

Задание принял к исполнению магистрант _____  В.М. Робу
Дата «12» августа 2020 г.

АННОТАЦИЯ

Тема: Исследование проблемы биофиторемедиации нефтезагрязненных почв аридных зон в Кызылординской области.

Ключевые слова: нефтезагрязнение, биоремедиация, фиторемедиация, биопрепарат, нефть, нефтепродукты, почва.

Цель исследования: Оценка эффективности применения биопрепарата «Бакойл KZ» для очистки нефтезагрязненной почвы нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп

Была изучена эффективность деградации нефти и нефтепродуктов под действием биопрепарата «Бакойл KZ» в условиях нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп. Изучено влияние биопрепарата на микробиоту почвы. Проведены исследования в области фиторемедиации почвы с использованием редиса.

Объем диссертации в цифровом варианте 52 страница. Структура диссертационной работы включает вводную часть (3 стр.), обзор литературы (15 стр.), объекты и методы исследования (10 стр.), результаты собственных исследований (10 стр.), заключение и выводы (2 стр.)

В работе представлено 12 рисунков, 5 таблиц.

Список литературы включает 34 источника

ANNOTATION

Subject: The research into the problem of biophytoremediation of oil-contaminated soils in the arid zones of the Kyzylorda region.

Key words: oil contamination, bioremediation, phytoremediation, bio preparation, oil, petroleum products, soil.

Research aim: Evaluation of the effectiveness of the use of the bio preparation "Bakoil KZ" for cleaning oil-contaminated soil of the oil and gas condensate field Aryskum

The efficiency of degradation of oil and petroleum products under the influence of Bakoil KZ biologics in the conditions of the Aryskum oil and gas condensate field was studied. The influence of the biological product on the soil microbiota was studied. Research has been conducted in the field of phytoremediation of soil using radishes.

The dissertation is in digital format of 51pages. The structure of the dissertation consist of introductory part (3 p.), literature review (15 p.), subjects and methods of work (10 p.), results of research (10 p.), and conclusions (2 p.) The dissertation presents 12 pictures and 5 tables. The list of references includes 34 sources.

АНДАТПА

Тақырыбы: Қызылорда облысындағы құрғақ аймақтардың мұнаймен ластанған топырақтарын биофиторемедиациялау проблемаларын зерттеу.

Түйінді сөздер: мұнаймен ластану, биоремедиация, фиторемедиация, биопрепарат, мұнай, мұнай өнімдері, топырақ.

Зерттеу мақсаты: Арысқұм мұнай-газ конденсатты кен орнының мұнаймен ластанған топырағын тазарту үшін "Бакойл KZ" биопрепаратын қолдану тиімділігін бағалау

Арысқұм нефтегазконденсатты кен орны жағдайында "Бакойл KZ" биопрепаратының әсерінен мұнай мен мұнай өнімдерінің тозу тиімділігі зерттелді. Биопрепараттың топырақ микробиотасына әсері зерттелді. Редис көмегімен топырақтың фиторемедиациясы саласында зерттеулер жүргізілді..

Диссертация 51 беттік цифрлық форматтағы көлемде. Диссертациялық жұмыстың құрылымына кіріспе бөлім (3 бет), әдебиетке шолу (14 бет), зерттеу нысандары мен әдістері (10 бет), зерттеу нәтижелері (10 бет), қорытынды (2 бет) кіреді. Жұмыста 12 суреттер, 5 кестелер ұсынылған.

Әдебиеттер тізімі 34 дереккөздерден тұрады

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	9
1. Основная часть.	12
1.1 Нефть как источник загрязнения почвы.	12
1.2.Влияние нефти и нефтепродуктов на физические и биологические функции почвы.	14
1.3.Влияние нефти и нефтепродуктов на растительный покров почвы.	17
1.4.Самоочищение почвы от нефти и нефтепродуктов.	18
1.5.Процесс биоремедиации почв, загрязненных нефтью.	20
1.6.Способы стимулирования аборигенных микроорганизмов почвы.	22
1.7.Применение биопрепаратов для очистки почвы.	22
1.8.Фиторемедиация почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами.	25
2. Объекты и методы исследования.	28
2.1.Описание объектов исследования.	28
2.2.Лабораторные исследования.	32
2.2.1.Постановка эксперимента.	32
2.2.2.Характеристика нефти Арыскупского нефтегазоконденсатного месторождения.	33
2.2.3.Описание биопрепарата «Бакойл -KZ».	33
2.3.Методы исследования.	34
2.3.1.Методика отбора проб почвы.	34
2.3.2.Методика определения содержания нефтепродуктов в загрязненной почве.	35
2.3.3.Способы учета почвенных микроорганизмов.	37
2.3.4.Определение фитотоксичности почвы.	37
2.3.5.Спектрофлуориметрический метод определения содержания бенз(а)пирена.	37
2.3.6.Статистическая обработка полученных данных.	38
3. Результаты собственных исследований.	39
3.1 Изменение концентрации нефти и нефтепродуктов в почве после внесения биопрепарата «Бакойл KZ», в загрязненную почву нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп	39
3.2. Использование биопрепарата «Бакойл KZ» для стимулирования аборигенной микробиоты при восстановлении нефтезагрязненной почвы.	39
3.3. Использование редиса в качестве фиторемедианта	45
Заключение	48
Выводы	49
Список использованной литературы	50

ВВЕДЕНИЕ

Нефтяная промышленность является важнейшей отраслью в экономике Республики Казахстан. На территории Республики Казахстан насчитывается около 200 месторождений нефти и газа с примерным запасом нефти в 11-12 миллиардов тонн. 5 процентов от общего числа запасов нефти приходится на месторождения Кызылординской области. К числу крупных месторождений данного региона можно отнести Кумколь, Арыскуп, Акшабулак, Кызылкия, Коныс.

В настоящее время не только в Казахстане, но и в других частях света широко действуют промышленные предприятия по добыче нефти, полезных ископаемых, которое приводит к постепенному загрязнению близлежащих почв продуктами добычи. Загрязнение почвы такими продуктами может неизбежно привести ее состояние к деградации, качественному и количественному снижению плодородности и сопутствующих проблем с биосферой данного региона.

Нефтяная промышленность оказывает негативное влияние на состояние окружающей среды. В процессе добычи, транспортировки, переработки и хранения нефти возникает загрязнение окружающей среды. Наиболее сильное негативное влияние загрязнение нефтяными отходами оказывается на почвенный покров.

По причине нефтяного загрязнения огромные территории становятся непригодными для дальнейшего сельскохозяйственного использования. Попадая на почву, нефть и нефтепродукты оказывают влияние на химические, физические, биологические и физико-химические свойства почвы, изменяют ее структуру, происходит нарушение газо-водного обмена.

Актуальность работы. Загрязнение почвы нефтью и нефтепродуктами оказывает влияние не только на почвенный покров, но и на экосистему в целом. Происходит нарушение связей между группами почвенного биоценоза, разрушение трофических цепей.

В связи с этим, приоритетной задачей является поиск наиболее эффективных методов борьбы с нефтяным загрязнением. По результатам исследований многих ученых, было доказано, что применение только физико-химических методов рекультивации почвы не оказываются полностью эффективными. На данный момент наиболее эффективным методом борьбы с загрязнением считается применение биотехнологических методов, а именно биоремедиации и фиторемедиации. Применение биотехнологических методов не оказывает негативного влияния на состояние окружающей среды. Применяемые для биоремедиации препараты не оказывают токсического воздействия на окружающую среду. Кроме того, применение биопрепаратов способствует стимулированию аборигенной микрофлоры почвы. Данные методы ликвидации нефтяных загрязнений являются менее затратными, по сравнению с другими известными методами.

Цель диссертационной работы. Оценка эффективности применения биопрепарата «Бакойл KZ» для очистки нефтезагрязненной почвы нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп.

Основные задачи исследований:

1. Провести патентный поиск литературы по проблеме биоремедиации почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами.
2. Исследовать климат и экологию почв, степень загрязненности почв нефтью и нефтепродуктами на месторождении Арыскуп Кызылординской области.
3. Изучить влияние отечественного биопрепарата «Бакойл KZ» на нефтезагрязненную почву нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп.
4. Провести фиторемедиацию почвы месторождения Арыскуп путем посадки семян растений редиса после обработки биопрепаратом «Бакойл KZ»

Объект исследования – Нефтезагрязненная почва нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп

Предмет исследования – Процессы очистки нефтезагрязненной почвы с использованием биотехнологических методов очистки.

Степень изученности проблемы: Загрязнение почвы нефтью является проблемой для всего мира. Исследования, направленные на изучение воздействия нефти и нефтепродуктов на почву и поиск методов рекультивации нарушенных земель проводились во многих ведущих научных центрах мира, в том числе в Academia de Ingeniería en Agrotecnología, Universidad Politécnica del Golfo de México (Мексика), Devi Ahilya University, Indore (Индия), University of Helsinki, (Финландия), Институт Биологии Академии наук России (Россия), University of Port Harcourt (Нигерия), кроме того в университетах Республики Казахстан

Проведенные исследования в области загрязнения почвы нефтью и нефтепродуктами способствовали созданию рекультивационных технологий на основе биологических методов, в результате которых удалось установить следующее:

1. При использовании для очистки почвы от нефти консорциумов бактерий, удалось привести в нормальные значения pH среды, концентрации углерода, азота и фосфора (Universidade Federal do Rio de Janeiro, Бразилия)
2. Микроорганизмы растительной ризосферы способствуют деградации нефти, и улучшают свойства почвы (Academia de Ingeniería en Agrotecnología, Universidad Politécnica, Мексика);
3. Использование органических удобрений на нефтезагрязненных почвах способствует снижению концентрации нефти и улучшению катионного обмена, повышает плодородие почвы (University of Port Harcourt, Нигерия).

В настоящее время исследования в области рекультивации нефтезагрязненных почв на основе биологических и механических методов ведутся: в Казахстане- М.Н. Мусаевым, А.А. Худайбергеновой;, ,в России- Н.А.Киреевой.

Но несмотря на проведенные исследования, механизм рекультивации почвы загрязненной нефтью и нефтепродуктами на основе биологических методов не изучен в полной мере. Эффективность использования биологических методов очистки зависит от климатических условий региона, типа почвы, состава почвы, химического состава нефти, концентрации нефти и нефтепродуктов в почве.

1. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.

1.1 Нефть как источник загрязнения почвы.

Нефть является основным источником углеводородного сырья, представленного в виде сложной смеси жидких, твердых, газообразных компонентов и органических соединений других классов. Ввиду широкого применения нефти и нефтепродуктов в жизнедеятельности человека, она является главным источником загрязнения всех компонентов природной среды. В состав нефти входят такие компоненты, как углерод, водород, сера, азот и кислород. Углерод содержится в пределах 83-87 процентов, водород. 12-14 процентов, сера, азот и кислород составляют 1-2 процента. Содержание серы в нефти может колебаться от тысячной доли процента до 6-14 процентов, азота в пределах 0,02-1,7 процента, кислорода в пределах 0,005 до 3,6 процента. Помимо вышеуказанных элементов в состав нефти может входить незначительное количество микроэлементов.

Углеводороды сырой нефти по химическому составу условно можно разделить на 3 основных группы: алифатические углеводороды, ароматические углеводороды, насыщенные и ненасыщенные углеводороды.

Таблица 1. Компоненты присутствующие в сырой нефти[1]

Группа углеводородов	Представители
Алканы	Метан
	Этан
	Октан
Циклоалканы	Бензол
	Толуол
	Ксилол
Полициклические ароматические углеводороды	Нафталин
	Антрацен
	Бензоапирен

Скорость и степень разложение нефти в почве зависит от активности почвенных микроорганизмов и растений. Чем больше концентрация ароматических фракций в почве, тем хуже становится способность микроорганизмов к деградации. Опираясь на исследования авторов, можно судить что интенсивность биodeградации снижается в определённой последовательности: линейные алканы(C10-C19) – газы(C2-C4) – алканы C5-C9 – алкены C3-C11 – ароматические соединения – циклоалканы. [2]

Пиковский Ю.И. при оценивании нефти как загрязнителя природной среды использует следующие признаки: содержание легкой фракции, циклических

углеводородов, твердых парафинов, смол и асфальтенов и сернистых соединений.

При загрязнении почвы сырой нефтью и нефтепродуктами происходит процесс их естественного фракционирования. Легкие фракции нефти подвержены естественному испарению. Часть содержащихся в почве нефтепродуктов механическим путем выносятся водой за пределы загрязненной площади, часть нефти подвергается химическому и биологическому разложению.

Наибольшей токсичностью для организмов живых существ обладают легкие фракции, но несмотря на это из-за их высокой испаряемости самоочищение компонентов природной среды происходит быстрее.

Еще более токсичными компонентами нефти являются ароматические углеводороды, в особенности ПАУ (полициклические ароматические углеводороды). [3] Данный вид углеводородов является трудно деградируемым.

Нефть на месторождениях Кызылординской области характеризуется высоким содержанием парафинов от 9,7 процентов до 27,2 процентов. [4]

Для почвенных организмов парафины не являются высокотоксичными веществами, но в виду высокой температуры застывания оказывают значительное влияние на физические свойства почвы.

При проведении оценки влияния нефти еще одним важным фактором является содержание в ней серы. Чем выше концентрация серы, тем больше риска сероводородного загрязнения почвы. Соединения серы в нефти чаще всего представлены такими соединениями как, элементная, дисульфиды, Тиофены, сероводород, органические сульфиды, тиолы. Легкие фракции нефти характеризуются высоким содержанием меркаптанов.

Содержащиеся в нефти смолы и асфальтены оказывают значительное влияние на физико-водный состав почв. Данные компоненты сорбируются на верхнем почвенном горизонте, делая его непригодным для дальнейшего использования.

Одним из преобладающих факторов загрязнения окружающей среды нефтью и нефтепродуктами является антропогенная деятельность человека. [4]

Основными источниками поступления нефти в природную среду являются разливы нефти при бурении, транспортировке, при возникновении аварийных ситуаций. Главными причинами вышеупомянутых факторов является некорректное соблюдение правил добычи нефти, ошибки при проектировании и т.д. [2]

В случае, когда концентрация нефтепродуктов в грунте и почве достигает точки, при которой происходят отрицательные изменения в экологическом состоянии окружающей среды, данные грунты и почвы считаются загрязненными.

Во многих странах предельно допустимые концентрации нефти в почве не подлежат нормированию, по причине того, данная величина зависит от типа почвы и климатических условий региона.

Опираясь на принятую в Казахстане классификацию уровней загрязнения по содержанию в почве нефтепродуктов, можно выделить следующие уровни загрязнения: [5]

- <1000 мг/кг - допустимый уровень загрязнения;
- 1000-2000 мг/кг - низкий уровень загрязнения;
- 2000-3000 мг/кг - средний уровень загрязнения;
- 3000-5000 мг/кг - высокий уровень загрязнения;
- >5000 мг/кг - очень высокий уровень загрязнения

1.2. Влияние нефти и нефтепродуктов на физические и биологические функции почвы.

В результате попадания нефтепродуктов и нефти в почвенный покров изменяются физико-химические, биологические, физические и морфологические свойства почвы, нередко случаи полной перестройки профиля почвы. При увеличении концентрации нефтепродуктов в почве до 1 процента происходит повреждение биогеоценологических функций почвы. В случае если концентрация нефтепродуктов в почве достигает 5 процентов, то происходят нарушения в биохимических, химических и физико-химических функциях почвы.

В зависимости от вещественных, генетических, структурных и морфологических свойств почвенного покрова, объема и состава нефти, длительности воздействия, изменяется характер проникновения компонентов нефти в почву. В верхних слоях почвы происходит задержка асфальтовых и смолистых веществ. Легкие фракции нефти имеют способность к свободной миграции в почвенных слоях, и могут достигать уровня грунтовых вод. [6]

Например, глубина проникновения нефти в песчаных почвах составляет 7,2-9,2м, в серо-бурых почвах 1,5-2 см.

Почва, загрязненная нефтью, теряет свою рыхлую структуру, становится вязкой, увеличивается плотность, происходят нарушения в водно-воздушном режиме почвы. Нефтезагрязненная почва становится более темной по цвету, имеет ярко выраженный запах нефти, по структуре становится пластилинообразной.

В почвах, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, происходит изменение в гумусовом слое. За счет нефтяных углеродов происходит увеличение содержания органических веществ, но данные вещества не могут быть использованы растениями для роста и развития. Некоторые авторы в своих исследованиях пришли к выводу, что углеводороды нефти способствуют снижению гуминовых и фульвокислот в составе гумуса и увеличению нерастворимого остатка. Согласно исследованиям других авторов, углеводороды нефти напротив способствуют увеличению содержания данных кислот.

В загрязненной почве происходят изменения в отношениях C: N, вследствие чего нарушается азотный режим. Изменения в азотном режиме

почвы влечет за собой подавление реакций нитрификации и аммонификации, что в свою очередь создает дефицит азотистых соединений в почве. В данных условиях происходит нарушение в развитии почвенных микроорганизмов, происходит сбой в корневом питании растений, что существенно снижает способность почвы к самоочищению. [7]

В зависимости от содержания в почве высокоминерализованных пластовых вод в составе нефти, происходит нарушение кислотности почвы. В слабокислых и среднекислых почвах изменение уровня pH среды возникает только при условии сильного нефтяного загрязнения.

Степень негативного воздействия нефти и нефтепродуктов на экосистему зависит от климата местности, типа почвы, геохимических условий территории.

Реакция почвенных микроорганизмов на загрязнение зависит от типа почвы и концентрации загрязняющего вещества. В исследованиях Колесникова С.И. и Гайворонского В. Г. Было установлено, что при загрязнении почвы мазутом, черноземы оказываются более устойчивыми по сравнению бурными лесными почвами. Это объясняется тем, что черноземы обладают более высокой поглощательной способностью что, приводит к связыванию мазута, а высокая биологическая активность ускоряет процесс разложения мазута.

Выделяется четыре зоны реакции микробной системы почвы на нефтяное загрязнение.

Первая – зона гомеостаза. Концентрация нефти составляет 0-0,7 мл/кг. В данной зоне все показатели остаются стабильными.

Вторая – зона стресса. Концентрация нефти составляет 0,7-50 мл/кг. В данной зоне происходят первые нарушения в жизнедеятельности микроорганизмов.

Третья – зона резистентности. Концентрация нефти – 50-300 мл/кг. На этом этапе снижается биоразнообразие почвенных микроорганизмов, активируются микроорганизмы устойчивые к высоким концентрациям загрязнителя.

Четвертая – зона репрессии. Концентрация нефти выше 300 мл/кг. В данной зоне наблюдается подавление жизнедеятельности микроорганизмов почвы.

Изменение численности почвенных микроорганизмов в условиях загрязнения нефтью имеет пять стадий: стадия взрывообразного отмирания, стадия адаптации, стадия линейного и экспоненциального роста, стадия стабилизации. Продолжительность данных стадий разная для каждого конкретного случая, и зависит от концентрации загрязнения. [8]

При низких концентрациях нефти и нефтепродуктов в почве, нефть может оказывать стимулирующее действие на почвенные микроорганизмы, выступая в роли энергетического субстрата. При высокой и средней концентрации загрязнения, нефть оказывает подавляющее действие на развитие обычной для данного типа почвы микробиоты.

В условиях, когда нефть воздействует на почву длительное время, происходит развитие аборигенных микроорганизмов-нефтедеструкторов. Данные микроорганизмы чаще всего представлены следующими бактериями:

Acinetobacter, *Arthrobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Moraxella*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Vibrio*, *Pseudomonas*. [9]

Нефтяное загрязнение почвы способствует изменению состава почвенных микроорганизмов. По исследованиям Колесникова С.И, при загрязнении чернозема нефтью и бензином было выявлено изменение в составе почвенной микробиоты под действием загрязнителя. В незагрязненных образцах почвы доминирующим микроорганизмом являлся *Bacillus megaterium*, а под действием загрязнителя увеличилась численность *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilis*. Среди микромицетов в незагрязненной почве доминировали роды *Tilachlidium*, *Penicillium*, *Acremonium* и др. В загрязненной почве микромицеты были представлены родами *Gliocladium*, *Mucor*.

Влияние нефти на видовой состав микромицетов зависит от типа почвы. Так для микромицетов дерново-подзолистой и серой лесной почвы нефть оказывает стимулирующее действие, в то время как в лугово-черноземной почве происходит их подавление. [10]

Изменение в структуре почвенного микробиоценоза влечет за собой изменение в биохимических процессах. В следствии этого происходит нарушение в обмене таких почвенных элементах, как азот, фосфор, углерод, сера. Кроме того, происходит изменение в ферментативной активности почвы. По данным некоторых авторов, ферментативная активность почвы является основным показателем химического загрязнения почвы.

Колесников С.И и Казеев К.Ш проводили исследования ферментативной активности чернозема, загрязненного нефтью в концентрации от 1 до 25 процента. По степени чувствительности к нефтяному загрязнению, почвенные ферменты можно расположить следующим образом: ферриредуктаза – каталаза – уреазы – инвертаза.

1.3. Влияние нефти и нефтепродуктов на растительный покров почвы.

По исследованиям многих ученых было установлено, что на почве загрязненной нефтью и нефтепродуктами замедляется развитие и рост, ухудшается урожайность растений.

Замедление роста и развития растений связано с тем, что нефть и нефтепродукты воздействуя на физико-химические свойства почвы, нарушают водный режим почвы, заполняя нефтью почвенные капилляры. Кроме того, нефть оказывает прямое токсическое воздействие и способствует развитию микромицетов выделяющих токсины. [11]

Наиболее сильное токсическое действие на растительность оказывают такие компоненты нефти, как летучие ароматические углеводороды и водорастворимые фракции нефти. Взаимодействуя с растениями, нефть проявляет сильные гербицидные свойства. Кроме того, нефть может спровоцировать развитие сильных патологий растений, приводящих к гибели.

Токсическое воздействие нефти на растения является причиной изменения их внешнего вида. Например, сильное нефтяное загрязнение является основной причиной развития карликовости и уменьшения корневой системы растений.

Нерастворимые частицы нефти и нефтепродуктов пропитывают почву, проникают в клеточные мембраны растений, нарушая способность корней вытягивать почвенную влагу, тем самым препятствуя нормальному развитию. Нарушение водного режима растений приводит к их высыханию.

По исследованиям М.В.Зильбермана и соавторов (2004) в процессе микробиологической деструкции нефти и нефтепродуктов усиливается процесс денитрификации, что в свою очередь способствует иммобилизации аммонийного азота. Уменьшение концентрации азота в почве негативно сказывается на развитии и росте высших растений.

Исследования Л.С. Тупицыной (2008) показывают, что у растений, выращенных в условиях сильного нефтяного загрязнения повышается процент мутаций, изменяется темп роста, происходят нарушения генома, при этом не наблюдалось «адаптивного ответа». В ходе исследования была выдвинута гипотеза, что в условиях хронического загрязнения у растений исчезает способность к адаптивному ответу.

По данным некоторых авторов, незначительная концентрация нефтяных углеводородов способна оказывать стимулирующее действие на растения. Объясняется это тем, что химическая структура некоторых компонентов схожа со стимуляторами роста растений, кроме того в процессе распада органической части нефти улучшается питание и происходит снижение конкуренции между растениями. [12]

Из этого следует, что присутствие нефти и нефтепродуктов в почве в малых концентрациях не оказывает негативного влияния на растительность. Но в случае сильного нефтяного загрязнения, по причине изменений структурных и геохимических свойств почвы, негативного воздействия на биоразнообразие почвы происходит подавление роста растений.

Таким образом, ответная реакция различных компонентов живой природы на нефть и нефтепродукты неоднозначна. По этой причине, было предложено опираться на интегральные показатели биологического состояния почвы для получения точных данных о степени воздействия загрязнителей на состояние окружающей среды. К примеру, С.И. Колесниковым и В.Г. Гайворонским было предложено опираться на численность бактерий рода *Azobacter* и активность каталазы при изучении влияния мазута как загрязнителя бурой лесной почвы. [13]

1.4. Самоочищение почвы от нефти и нефтепродуктов.

Любая почва обладает способностью самоочищения. Но, при загрязнении земель нефтью, процесс естественного очищения почвы по длительности может достигать нескольких десятков лет. Даже при условии богатого микробиологического разнообразия, в большинстве случаев полного очищения

не происходит. На данный процесс оказывают влияние такие факторы, как дисперсность нефти, количество кислорода в почве, температура, гидростатическое давление.

Исследователи выделяют три стадии самоочищения почвы, длительность которых может отличаться в зависимости от типа почвы и климатических условий среды. [14]

Первая стадия. Длительность примерно 1-1,5 года. На этой стадии происходят в основном физико-химические изменения нефти, в том числе миграция углеводородов нефти по почвенному профилю, трансформация углеводородов под действием ультрафиолетового излучения солнца, испарение и вымывание и т.д. на долю химического окисления приходится около 50 процентов от всего процесса. Из всего состава углеводородов, сильнее всего деградируют низкомолекулярные фракции, которые к концу первого года почти полностью исчезают.

Вторая стадия. Длительность составляет 3-4 года. На данной стадии происходит микробиологическая трансформация углеводородов. Наибольшей активности достигают грибы и бактерии, питающиеся ароматическими и метанонафтеновыми углеводородами. На этой стадии в ходе каждого вегетационного периода в среднем распаду подлежит примерно 20 процентов нефти, и происходят биохимические изменения почти всех групп углеводородов.

Особенность второй стадии заключается в разрушении ароматических СС связей. Условно данную стадию можно назвать соокислительной, другими словами органические соединения превращаются под действием микроорганизмов только при наличии в среде другого органического соединения.

Третья стадия. Данная стадия наступает в период, когда в остаточной нефти не обнаруживаются исходные и вторично образованные парафиновые углеводороды. К вторично образованным парафиновым углеводородам относят структуры гомологического ряда метана, появившиеся в результате разложения сложных нефтяных соединений.

На данной стадии в почве присутствуют преимущественно полициклические ароматические углеводороды, сложные нефтяные компоненты, которые трудно поддаются разложению микроорганизмами.

На данной стадии показатель численного состава микроорганизмов может быть близок к норме, но по качественному составу большую часть микроорганизмов составляют углеводородокисляющие микроорганизмы. [15]

Исходя из механизма окисления углеводородов микроорганизмами, можно сделать вывод, что первичное окисление нефтепродуктов происходит благодаря молекулярному кислороду. Распад алканов может происходить по двум схемам: монотерминальное окисление, в котором реакция окисления начинается с одной из концевых метильных групп; детерминальное окисление, в котором окисляются две метильные группы.

Роль концевых метильных групп позволяет сделать предположение, что степень деградации углеводов микроорганизмами зависит не только от количества углеводов, но и от фракционного состава.

В каждом типе почвы есть свои представители углеводородокисляющих микроорганизмов. В почвах, загрязненных нефтепродуктами присутствуют узкоспециализированные формы углеводородокисляющих микроорганизмов. Например, микроорганизмы-термофилы, питающиеся твердыми парафинами, окислители газообразных углеводов, разлагающие ароматические углеводороды. [16]

Углеводородокисляющие микроорганизмы представлены микроскопическими мицелиальными грибами, бактериями, дрожжами.

Бактерии представлены следующими родами: *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Cytophaga*, *Sarcina*,

Clostridium, *Corynebacterium*, *Desulfovibrio*, *Escherichia*, *Thiobacillus*,

Flavobacterium, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Vibrio*, *Methanobacterium*, *Brevibacterium*, *Rhodococcus*, *Micromonospora*, *Pseudomonas*, *Spirillum*, *Serratia*, *Mycobacterium*. Дрожжи представлены такими видами, как *Rhodotorula*, *Endomyces*, *Endomycopsis*, *Candida*, *Torulopsis*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Trichosporon*. Представители мицелиальных грибов: *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Gunninghamella*, *Acremonium*, *Trichoderma*. Актиномицеты представлены такими видами, как *Nocardia*, *Streptomyces*.

Наиболее активными деструкторами являются представители бактерий. Они способны поглощать углеводороды широкого спектра, в том числе и ароматические углеводороды. Самыми распространенными являются представители следующих родов: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Mycobacterium* и другие. [17]

Многие исследователи занимались изучением активных штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов в определенных регионах. К примеру, из почвы пустыни в Кувейте была выведена культура термофильной бактерии *Bacillus stearothermophilus* [18]

Учеными из Аргентины были даны характеристики бактерий психрофилов способных разлагать нефть, которые были выведены из почв Антарктики. Эти исследования имеют большое значение для районов с холодным климатом, по причине того, что из-за суровых климатических условий борьба с последствиями загрязнения нефтью затруднена.

В природном биоценозе нефтезагрязненных почв главное место занимают родококки которые способны аккумулировать и превращать в биомассу жидкие нефтяные углеводороды и газообразные н-алканы. Главная особенность этих бактерий заключается в их способности выживать в неблагоприятных условиях среды- при воздействии низких температур, при длительной нехватке питательных веществ, при воздействии ультрафиолетовых лучей.

Основная масса грибов, способных использовать в качестве питания нефть и нефтепродукты относятся к роду *Penicillium*. Исследования М.Г. Велиева и соавторов (2008) показали, что наиболее активно усваивают нефть микромицеты относящиеся к родам *Mucor*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*. [19]

1.5. Процесс биоремедиации почв, загрязненных нефтью.

Для восстановления загрязненных почв необходимо проводить рекультивационные работы.

Рекультивация земель – это комплекс мероприятий, направленный на восстановление почв, для возвращения их в народно-хозяйственный оборот. Рекультивация почв, загрязненных нефтью, заключается в ускорении процессов самовосстановления с использованием всех природных резервов экосистемы.

Еще несколько десятилетий назад для очистки почвы от нефтезагрязнений использовали только два способа: землевание и сжигание. Оба эти метода оказывали отрицательное влияние на окружающую среду и приводили к вторичному загрязнению. [20] В настоящее время есть возможность использовать химические, механические и физико-химические методы рекультивации почв.

При разливах нефти и нефтепродуктов, на первом этапе рекультивации применяются механические методы. Примером механических методов являются сбор нефти с помощью специализированных вакуумных машин, насосов. Физико-химические методы включают в себя применение органических и неорганических адсорбентов. К агротехническим методам относят рыхление почвы, внесение различных минеральных удобрений, известкование гипсование.

Применение физических и механических методов не способно полностью удалить нефть и нефтепродукты, эффективность данных методов составляет примерно 80 процентов. [21]

Более высоких результатов очистки почвы от нефтепродуктов можно получить с использованием биологических методов очистки – биоремедиации.

Биоремедиация – это процесс детоксикации загрязняющих веществ в почве, с помощью применения микроорганизмов, растений или растительных и микробиологических ферментов.

Существует несколько технологий биоремедиации, в зависимости от того где проводится данный процесс, и происходит ли внесение чужеродных микроорганизмов:

- Технология биоремедиации *in situ* – проводится на месте загрязнения, без изъятия загрязненной почвы с места локализации загрязнения.
- Технология биоремедиации *ex situ* – проводится путем изъятия почвы с места локализации загрязнения. Извлеченная почвы проходит очистку в специальных устройствах, и возвращается на место загрязнения.

- Технология биостимуляции *in situ* – проходит на месте загрязнения. Данная технология основывается на стимуляции роста аборигенных микроорганизмов присутствующих в почве, способных обезвреживать загрязнитель, но не способных делать это эффективно из-за недостатка пищевых компонентов.

- Технология биостимуляции *in vitro*. Особенностью данной технологии является то, что биостимуляция микрофлоры загрязненной почвы проводится в первую очередь в условиях лаборатории, или на промышленном уровне в биореакторах или в ферментерах. При проведении биостимуляции в биореакторе происходит рост тех микроорганизмов, которые способны с наибольшей эффективностью разлагать нефть и нефтепродукты. После проведения биостимуляции, полученную микробиоту вносят в загрязненную почву.

- Технология биоаугментации. Данная технология включает в себя внесение микроорганизмов, способных утилизировать различные группы поллютантов. Особенностью этой технологии является то, что вносимые микроорганизмы являются чужеродными для загрязненной почвы. Критерием выбора микроорганизмов является эффективность окисления данного загрязнителя. Размножение выбранной культуры микроорганизмов происходит в условиях, максимально близких к условиям почвы в ферментерах.

На данный момент наиболее эффективной технологией ремедиации почвы является стимуляция и активация аборигенных микроорганизмов почвы. [22]

1.6. Способы стимулирования аборигенных микроорганизмов почвы.

Под стимуляцией почвенной микробиоты понимают создание оптимальных условий среды, при которых происходит ускорение активности микроорганизмов нефтедеструкторов.

Внесение органических и минеральных удобрений является одним из способов ускорения деградации углеводов в почве. Внесение растворимых минеральных соединений азота и фосфора являются наиболее эффективными методами активации почвенной микробиоты, так как они играют важную роль в жизнедеятельности клеток.

Для активации микроорганизмов способных к окислению нефтепродуктов в почву, загрязненную нефтью, вносят биостимуляторы. К биостимуляторам можно отнести биогумус, перегной, навоз и т.д. [23]

Применение торфа как сорбента благоприятно сказывается на рекультивации нефтезагрязненных почв. Это обусловлено тем, что торф обладает высокими сорбционными свойствами по отношению к нефти и нефтепродуктам. Кроме того, в качестве натуральных сорбентов широко используются опилки, солома, шелуха овса и пшеницы; из синтетических сорбентов выделяют лавсан, пенопласт, каучуковую крошку, отходы ватного производства и др. В последнее время идет активное изучение влияния цеолитов на эффективность деградации нефти в почве. Цеолиты имея большую

площадь активной поверхности и пористую структуру, абсорбируют нефтепродукты и способствуют слиянию клеток нефтеокисляющих микроорганизмов. При условии наличия в почве микроэлементов, фосфора и азота в достаточном количестве цеолиты способствуют активному разложению нефти и нефтепродуктов. [24]

1.7. Применение биопрепаратов для очистки почвы.

В настоящее время применение биопрепаратов для очистки почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами занимает ведущее место. Биопрепараты могут применяться для следующих целей:

- Для очистки почвы и воды от нефти и нефтепродуктов и некоторых видов топлива
- Для удаления парафиновых углеводородов из нефти в нефтяных скважинах
- Для очистки буровых шламов

Существуют следующие виды биопрепаратов для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов.

1. На основе аборигенных микроорганизмов - нефтедеструкторов
2. На основе искусственно созданных ассоциаций нефтеокисляющих бактерий
3. На основе одного активного штамма бактерий нефтедеструкторов

Эффективность очистки почвы при использовании ассоциаций выше, чем при использовании отдельных штаммов.

Первыми нефтеокисляющими препаратами являются Деворойл, Путидойл, Биодеструктор, Деградойл, Родер. Они представляли собой высушенную или сконцентрированную массу нефтеокисляющих микроорганизмов или их суспензию. [25]

Биопрепарат «Путидойл» является совместной работой Западно-Сибирского научно-исследовательского геологоразведочного нефтяного института с НПО «Вектор». Данный биопрепарат был разработан в 1988 году и является первым биопрепаратом нефтедеструктором. Биопрепарат «Путидойл» создан на основе нефтеокисляющего штамма бактерий *Pseudomonas putida* 36.

Биопрепарат «Деворойл» был разработан Институтом микробиологии РАН на основе объединения бактерий *Pseudomonas stutzeri*., *Rhodococcus longus*, *Rhodococcus erythropolis* и дрожжей *Candida sp.*, *Yarrowia lipolytica*. Данные микроорганизмы могут оставаться активными при повышенной солености почвы до 150 г/л и pH от 4,5 до 9,5, устойчивы к резким перепадам температуры от +5 до +40, остаются активными при загрязнении почвы нефтью выше 5 процентов. При кислой почвенной среде лучше всего развиваются *Yarrowia lipolytica*, *Rhodococcus erythropolis*, при нейтральной среде развиваются все представленные микроорганизмы, при щелочной среде *Rhodococcus maris*, *Alcaligenes sp.* Эффективность применения биопрепарата «Деворойл» обусловлена способностью микроорганизмов окислять ароматические

соединения, фенол, пирокатехин, крезол и гидрофильные алканы (C₉-C₃₀), а также тяжелых фракций нефти - дизельное топливо и мазут.

Биопрепарат «Руден» создан Государственным Научно – Исследовательским Институтом Генетики и Селекции Промышленных Микроорганизмов, на основе штамма бактерий *Rhodococcus* sp. НХ7, полученный из почв тундры Архангельской области. Штамм проявляет активность при высоком уровне загрязнения до 90 процентов, температуре среды от плюс 5 до плюс 18, уровне рН от 4,5 до 10 и солености от 0 до 4 процентов. Способен разрушать асфальтены и ароматические соединения.

Биопрепарат «Родер» имеет в своем составе такие микроорганизмы, как: *Rhodococcus ruber*, *Rhodococcus erythropolis*. Данный биопрепарат является совместной разработкой ВНИИ нефти и газа, и МГУ им. М.В. Ломоносова. Испытания данного препарата проводились на нефтезагрязненных почвах Республики Коми, Западной Сибири, Московской области, а также почвы штата Монтана в США.

Испытания данных биопрепаратов нефтедеструкторов позволила определить способы усовершенствования технологии создания биопрепаратов и повышения их эффективности.

Иммобилизация клеток микроорганизмов на носители позволила усовершенствовать технологию получения биопрепаратов и способствовала увеличению срока хранения. При добавлении в состав препарата органических и минеральных добавок необходимых для питания нефтеокисляющих микроорганизмов, увеличивается эффективность деградации нефти. Биопрепараты, созданные с использованием таких технологий, являются препаратами второго поколения.

Биопрепарат Эконадин, созданный научно-производственным предприятием «ЭКОНАД» имеет в своем составе ассоциацию двух штаммов *Pseudomonas fluorescens*, иммобилизованные на торфе. Данный биопрепарат не накапливается в природной среде за счет органического носителя

Разработанный Санкт- Петербургским ЗАО «Полиинформ» биопрепарат «Сойлекс» представляет собой консорциум бактерий нефтедеструкторов, сорбированный инертных носителях. Биопрепарат способен работать при температуре от 3 до 40 градусов и рН от 4,5 до 8,2.

Другими примерами биопрепаратов второго поколения являются препараты Родотрин, Лессорб, Псевдомин и др.

Из зарубежных биопрепаратов можно выделить Noggies, Hydrobac, Biocrack. [26]

Препаратами третьего поколения являются такие биопрепараты в состав которых входят не только углеводородокисляющие микроорганизмы, но и различные добавки, повышающие активность микроорганизмов, а также микроорганизмы способные выделять поверхностно-активные вещества. Примерами таких биопрепаратов являются препараты «Лестан» и «Биосурфактант».

При создании биопрепаратов на основе смешанных культур и консорциумов микроорганизмов повышаются их адаптационные и экологические свойства, но такие биопрепараты сложнее производить.

Примером эффективности такого рода препаратов может служить биопрепарат МикрозимТМ Петро Трит, который имеет в своем составе консорциум из 12 видов микроорганизмов. Благодаря выделению микроорганизмами биосурфактантов, происходят структурные изменения загрязнения, что улучшает эффективность очищения.

Среди казахстанских биопрепаратов можно выделить такие, как «Мико-Ойл», «KazBioRem», «НефтедеструкторКазБио».

В основе биопрепарата «Мико-Ойл» находятся аборигенные штаммы микроорганизмов, которые были выделены из почв Западного Казахстана. Нефтеоокисляющие микроорганизмы в данном препарате представлены бактериальными и дрожжевыми культурами: *Rhodococcus erythropolis* 119ГМ, *Bacillus subtilis* 109КС, *Rhodococcus globulus* 51 КС, *Pseudomonas aeruginosa* 122АС, *Trichosporon jirovecii* В2, *Aureobasidium pullulans* П7, *Trichosporon cutaneum* Р20С02. Данные микроорганизмы сохраняют свою активность при солености почвы до 4 процентов, температуре окружающей среды до 50 градусов и при условии низкой влагоемкости почвы.

Биопрепарат «KazBioRem» был создан ТОО «Экостандарт.kz» в 2018 году. В основе данного препарата находятся 2 штамма нефтеоокисляющих микроорганизмов – *Rhodococcus erythreus* АТ7, *Dietzia maris* 22К. В качестве органического носителя в данном биопрепарате были использованы отруби. Штамм *Rhodococcus erythreus* АТ7 был выделен из нефтезагрязненной почвы Актюбинской области, месторождения Алибекмола. Штамм *Dietzia maris* 22К был выделен из почвы месторождения Кумколь, в Кызылординской области. [27]

Биопрепарат «НефтедеструкторКазБио» разработан ТОО «КазЭкоБиосистема». В основе биопрепарата находится штамм нефтеоокисляющего микроорганизма *Rhodococcus erythropolis* КД. Оптимальной температурой роста микроорганизмов является 28 градусов.

Иммобилизация клеток на носители обеспечивает лучшую выживаемость клеток при хранении и взаимодействии с высокими концентрациями загрязняющих веществ. Чаще всего в качестве органического носителя применяется торф и его производные, опилки, древесная кора и стружка; среди неорганических материалов в качестве носителя используют вермикулит, цеолит, каолин и т.д.; из полимерных синтетических материалов выделяют поликапроамидные волокна и пенополиуретан.

Главным недостатком препаратов, созданных с использованием данной технологии является высокая стоимость очистки по причине того, что расход использования данных биопрепаратов довольно высок.

1.8. Фиторемедиация почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами.

Фиторемедиация – это технология биоремедиации, использующая зеленые растения для очистки почвы от загрязнения нефтью и нефтепродуктами. Выделяются несколько типов фиторемедиации, в зависимости от воздействия на загрязнитель.

1. Фитоэкстракция. Поглощение и аккумуляция загрязнителя в растении. При использовании этого метода применяют растения гипераккумуляторы

2. Фитодеградация. Здесь происходит разрушение углеводов под действием ферментов растений.

3. Фитоиспарение. Процесс поглощения и выведения нефти или нефтепродуктов растением в процессе поддержания водного баланса.

4. Фитостабилизация. Процесс перевода веществ из растворимой зоны в нерастворимую зону.

5. Ризодеградация. Процесс разложения загрязнителя микроорганизмами в прикорневой зоне растения. В данном методе деградация поллютанта осуществляется не самим растением, а микроорганизмами, живущими в ризосфере этого растения. Ризосфера является благоприятной средой для развития микроорганизмов, следовательно, деструкция нефти и нефтепродуктов проходит эффективнее. [28]

При наступлении неблагоприятных условий окружающей среды важное значение для обеспечения жизнедеятельности растений имеет микориза - форма микробно-растительного симбиоза, обеспечивающая поглощение фосфора, азота и других биогенных элементов. Образование микоризы оказывает положительное действие на водный баланс растений, способствуя повышению засухоустойчивости растений. Рядом исследований установлено, что грибы-микоризообразователи могут способствовать деградации углеводов. Из этого следует, что использование микоризных растений для фиторемедиации является более эффективным. [29]

При использовании метода фитомелиорации для очистки почвы от загрязнителя необходимо учитывать, что данный метод будет эффективным при относительно малой концентрации загрязняющих веществ в почве. Не существует видов, которые были бы полностью устойчивы к поллютанту. Порог чувствительности растений к нефти и нефтепродуктам зависит от концентрации, фракционного состава и давности разлива. Исследование российских ученых показало, что такие растения как осока шаровидная (*Carex globularis* L.) и седмичник европейский (*Trientalis europaea* L.) могли нормально развиваться при концентрации в торфе нефтепродуктов в пределах 18-33 процентов. [30] Данные, полученные Киреевой Н.А. и Водопьяновым В.В., показывают, что для люцерны пороговая концентрация нефтепродуктов составляет 5-6 процентов.

При выборе растений для фиторемедиации стоит обратить внимание на следующие показатели:

- Устойчивость к высоким концентрациям загрязнителей в почве
- Интенсивная скорость роста и крупные размеры
- Способность поглощать и накапливать высокие концентрации

поллютантов.

К таким растениям можно отнести кукурузу, подсолнечник, бобовые, пырей ползучий, клевер ползучий, овес, люцерна, просо и др.

Наиболее эффективными для очистки почвы от загрязнителя являются аборигенные виды растений. Кутузов А.А. в процессе своих исследований предположил, что для каждой климатической зоны существует свой ряд таких растений. На пример, для лесной и лесостепной зоны автор предложил использовать клевер луговой, клевер ползучий, люцерну, мятлик луговой. По исследованиям Евдокимовой Г.А. для условий северных широт устойчивостью к загрязнению нефтепродуктами обладают такие растения как, плевел многолетний, канареечник тростниковидный. [31]

Из всего вышесказанного, можно сделать вывод, что использование биоремедиации и фиторемедиации в качестве способов борьбы с загрязнением почвы нефтью и нефтепродуктами являются наиболее перспективными и экологически безопасными. Используемые биопрепараты не накапливаются в почве, следовательно, не происходит повторного загрязнения окружающей среды. Преимущество комплексного применения данных методов, заключается в том, что происходит не только очистка почвы от нефтяного загрязнения, но и восстановление плодородия почвы.

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1 Описание объектов исследования

В качестве объектов исследования были взяты образцы нефтезагрязненной почвы Арыскупского нефтегазоконденсатного месторождения Кызылординской области.

Нефтегазоконденсатное месторождение Арыскуп располагается в Кызылординской области в Жалагашском районе, в 120 км от станции Джусалы. Данное месторождение было открыто в 1985 году. Нефтегазоконденсатное месторождение Арыскуп относится к Южно-Тургайской нефтегазоносной области, Центрально-Казахстанской нефтегазоносной провинции.

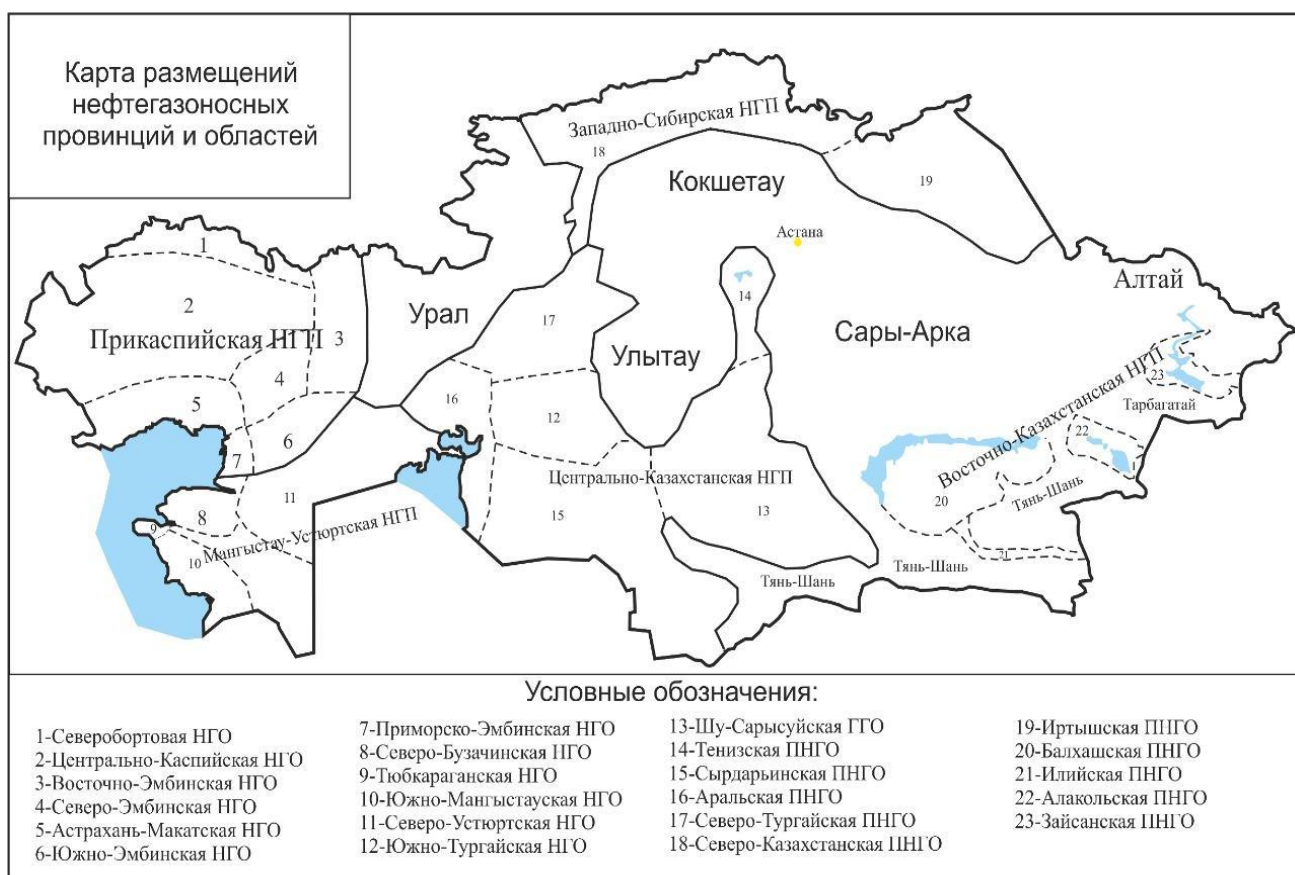


Рисунок 1. Карта размещений нефтегазоносных провинций и областей



Рисунок 2. Нефтегазоконденсатное месторождение Арыскуп

По климатическим условиям регион находится в аридной зоне. Климат местности – резко континентальный, засушливый. Наблюдается большое колебание сезонных и суточных температур. Осадков в регионе выпадает мало, примерно 100 мм за год.

Зимний период охватывает середину ноября и до середины марта. Средняя температура воздуха составляет -5 -25 градусов, с минимальной температурой -38 градусов. Снежный покров не превышает 10 см, сохраняется до конца марта.

Весна начинается с середины марта и охватывает весь апрель. В данный период наблюдаются большие колебания температур между началом и концом сезона. Среднее значение температур колеблется от +1 до +25 градусов. Осадки выпадают преимущественно в виде кратковременных дождей.

Летний период длится с мая по середину сентября. Данный период характеризуется устойчивой жаркой погодой. Средняя температура летнего сезона составляет +33 +38 градусов с максимальной температурой +45 градусов. Осадков почти не выпадает.

Осень охватывает период с середины сентября по середину ноября. Температура колеблется от +25 до +5 градусов. Осадки выпадают преимущественно в виде дождей.



Рисунок 2.1. Нефтегазоконденсатное месторождение Арыскуп

Для месторождения Арыскуп характерны сильные ветры, летом преобладают западные и юго-западные ветры, в остальное время года – северные и северо-восточные. Средняя скорость ветра составляет 3-5 м/с. В зимне-весенний период часто порывы ветра достигают 15 м/с и более.

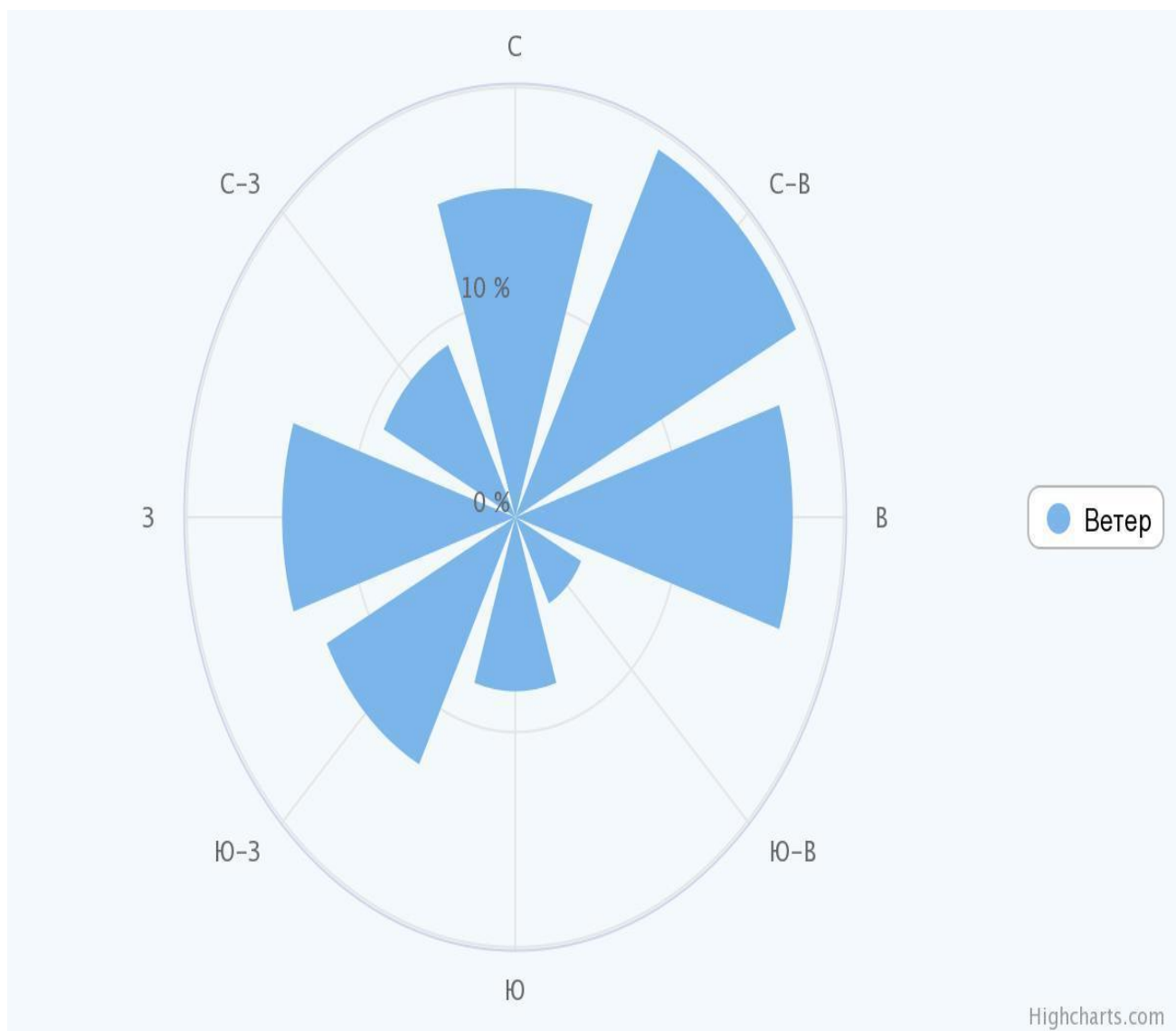


Рисунок 3. Роза ветров нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп

По типу почвы, почва месторождения Арыскуп относится к бурым и серо-бурым почвам. Бурые почвы характеризуются малым содержанием гумуса – около 2 процентов. По причине малого количества осадков данный вид почвы характеризуется карбонатностью и повышенной солёностью. По механическому составу данные почвы относятся к тяжелым. Содержание азота в бурых и серо-бурых почвах около 0,1 процента.

Серо-бурые почвы характеризуются еще меньшим содержанием гумуса, чем бурые – примерно от 0,7 до 1,2 процентов.

Как бурые, так и серо-бурые почвы являются малоплодородными. Породы, составляющие данные почвы являются элювиальные и древнеаллювиальные отложения. Верхний горизонт составляет примерно 10-12 см. Горизонт В является плотным, комковато-глыбистым. В таблице 1 приведены основные генетические показатели бурых и серо бурых почв. [32]

Отобранные образцы почвы имели степень загрязнения в 3% и 67%. Причиной загрязнения послужил разлив нефти при ее транспортировке.



Рисунок 4. Нефтезагрязненная почва

Все исследования проводились в лабораторных условиях в ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии».

Таблица 2. Эколого-генетические свойства бурых и серо-бурых почв. [33]

Генетические показатели почв	Бурые	Серо-бурые
Гумусовый горизонт, см	25-30	20-25
Гумус, %	1,2-1,6	0,6-1,2
$C_{гк} C_{фк}$	0,6-0,8	0,4-0,6
Соотношение C:N	7,5-8,5	7,0-8,0
Азот, %	0,09-0,10	0,1-0,07

Глубина залегания растворимых солей, см	70-90	40-70
pH водной суспензии	8,1-8,8	8,3-9,0

2.2. Лабораторные исследования

2.2.1 Постановка эксперимента.

Для проведения модельного эксперимента была отобрана почва с нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп. Образцы почвы были доставлены в ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии» (руководитель Саданов А.К., заместитель генерального директора по научной работе Баймаханова Б.Б.). Отобранная почва была тщательно перемешана, и искусственно загрязнена нефтью в концентрации 1,4 и 8 процентов. Почва была повторно перемешана и увлажнена до 60 процентов.

Лабораторный эксперимент №1. Для постановки эксперимента на дно лотка был помещен дренаж, в качестве которого был использован мелкий щебень, затем его засыпали загрязненной почвой.

Для проведения биоремедиации, в лоток с нефтезагрязненной почвой был внесен биопрепарат «Бакойл KZ» в расчете 2 г/кг почвы (содержание микроорганизмов в биопрепарате не менее $5 \cdot 10^9$ КОЕ/г). В загрязненную почву вносили суспензию биопрепарата методом дождевания.

Целью эксперимента является изучение влияния биопрепарата «Бакойл KZ» на процесс деструкции нефти в нефтезагрязненной почве.

Лабораторный эксперимент №2. Эксперимент проводили на нефтезагрязненной почве, обработанной биопрепаратом «Бакойл KZ». В качестве растения фиторемедианта использовали редис ранний красный. В обработанную биопрепаратом почву вносили семена редиса. В качестве контроля, семена высаживали в незагрязненную почву.

Целью данного эксперимента являлось определения эффективности очистки почвы биопрепаратом, изучение возможности использования редиса в качестве фиторемедианта, оценка его устойчивости к загрязнению почвы нефтью.

2.2.2. Характеристика нефти Арыскупского нефтегазоконденсатного месторождения

Нефть месторождения Арыскуп характеризуется высоким содержанием парафинов и смол, и низким содержанием серы. Температура застывания нефти составляет 22 градуса, температура вспышки нефти составляет 10 градусов. Содержание светлых фракция, выкипающих при температуре 300 градусов составляет 55 процентов. Основные физико-химические характеристики нефти нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп представлены в таблице 2.

Таблица-3. Физико-химические характеристики нефти нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп.

Показатель	Значение
Плотность, г/см ³	0,813
Вязкость, мПа	4,01
Массовая доля парафина, %	26,6
Массовая доля серы, %	0,19
Массовая доля асфальтенов, %	0,22

2.2.3. Описание биопрепарата «Бакойл -KZ»

Биопрепарат «Бакойл -KZ» - представляет собой пастообразную смесь коричневого цвета. В состав биопрепарата входят следующие штаммы микроорганизмов: *Microbacterium lacticum* 41-3, *Acinetobacter calcoaceticus* 2A, *Arthrobacter teregens* П1, *Micrococcus roseus* 49. Микроорганизмы данного биопрепарата иммобилизованы на природном носителе- бентоните, что способствует повышению активности и устойчивости к неблагоприятным условиям окружающей среды. Содержание КОЕ/г не менее $5 \cdot 10^9$. Биопрепарат «Бакойл -KZ» способен эффективно окислять углеводороды нефти при температуре окружающей среды от + 5 до +45 градусов, при уровне pH среды от 5,5 до 9,0 и солености почвы до 4 процентов. Эффективность очистки почвы от загрязнения при использовании биопрепарата может достигать 98 процентов. Биопрепарат «Бакойл -KZ» не оказывает токсического воздействия на окружающую среду. [34]



Рисунок 5. Биопрепарат «Бакойл KZ»

2.3 Методы исследования

2.3.1 Методика отбора проб почвы

При отборе почвенных образцов для проведения анализов учитывается климат местности, вертикальная структура и не однородность почвы, свойства загрязняющих веществ.

Образцы почвы были отобраны с использованием метода конверта. Сущность метода заключается в отборе проб с 5 точек участка, и смешивания их в одну пробу. Отбор пробы почвы производится послойно, на глубине 0-5 сантиметров и 5-20 сантиметров. После отбора почвы, образцы необходимо анализировать в день отбора, или на следующий день при условии хранения их при температуре в 5 градусов. При условии невозможности проведения анализа только что отобранных образцов, необходимо произвести сушку образца до

воздушно-сухого состояния при температуре не более 30 градусов, избегая воздействия солнечных лучей. Образец почвы необходимо очистить от инородных включений (корни растений, камни и т.д.).

2.3.2. Методика определения содержания нефтепродуктов в загрязненной почве.

Для определения содержания нефти в загрязненной почве использовали гравиметрический метод. Для этого, из образцов загрязненной почвы делали навеску по 10 г. Отмеренную почву вносили в воронки, проложенные фильтровальной бумагой, и заливали хлороформом, до тех пор, пока экстракт не становился прозрачным. Полученный хлороформный экстракт нефти собирали в тарированные флаконы и упаривали в вытяжном шкафу естественным образом. Остаток взвешивали на аналитических весах («Ohaus», США). Из каждого образца почвы делали по 3 навески.



Рисунок 6. Подготовка навески почвы

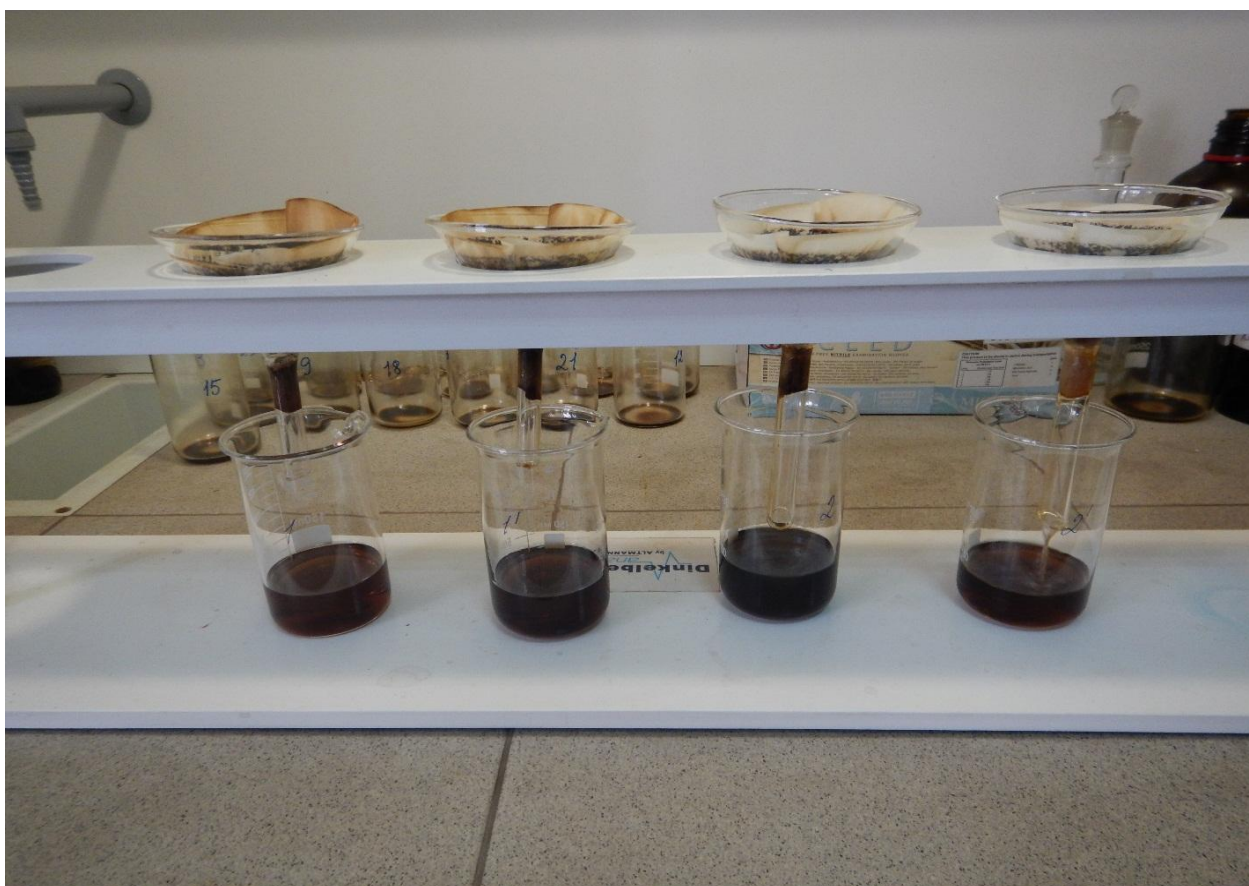
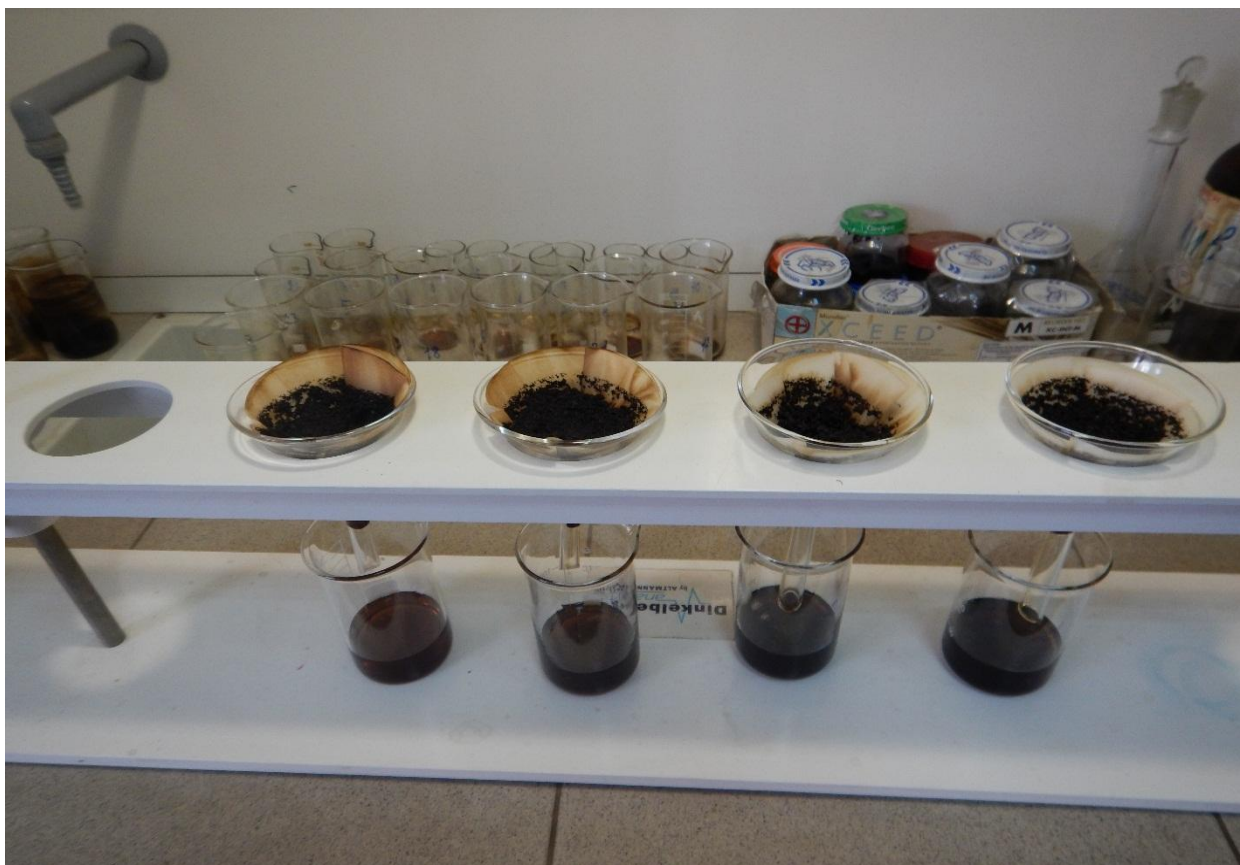


Рисунок 7. Хлороформный экстракт нефти

2.3.3 Способы учета почвенных микроорганизмов

Для проведения количественного учета почвенных микроорганизмов, почвенную суспензию помещали на плотные агаризованные среды. Посев микроорганизмов, использующих органические формы азота производили на мясопептонный агар; микроорганизмов-азотфиксаторов, на среду Эшби; микромицетов, на среду Чапека. Учет углеводородокисляющих микроорганизмов проводили с помощью метода предельных разведений на среде Ворошиловой-Диановой.

Методика подготовки питательных сред:

Для приготовления мясопептонного агара, мясную воду кипятят в течении 30 минут, фильтруют и доливают водой до первоначального объема. В мясную воду добавляют 0,5 процентов хлорида натрия, 1 процент пептона и 1,5 процента агара.

Для приготовления среды Эшби необходимо: 0,2 г калия фосфорнокислого однозамещенного, 0,2 г сульфата магния, 0,2 г хлорида натрия, 0,1 г сульфита калия, 5 г карбоната кальция, 20 г сахарозы, 15 г агара, 1 л дистиллированной воды.

Для приготовления среды Чапека необходимо: 2 г нитрата натрия, 1 г дигидроортофосфата калия, 0,5 г сульфата магния, 0,5 г хлорида калия, 0,01 г сульфита железа, 30 г сахарозы, 15 г агара, 1 л дистиллированной воды.

Для приготовления среды Ворошиловой-Диановой необходимо: 1 г калия фосфорнокислого однозамещенного, 1 г хлорида натрия, 1 г нитрата калия, 0,2 г сульфита магния, 1 л дистиллированной вод.

2.3.4 Определение фитотоксичности почвы

Для определения фитотоксичности почвы был использован редис. Анализируемую почву доводили до пастообразного состояния и распределяли в чашке Петри. Семена редиса, замоченные в воде, вносили в исследуемую почву в количестве 20 штук. Как только корни редиса достигали длины в 0,3-0,5 см, замеры производились раз в сутки.

2.3.5. Спектрофлуориметрический метод определения содержания бенз(а)пирена

Данная методика предназначена для определения содержания токсических веществ в растительном сырье, в частности бенз(а)пирена. Анализ проводили на основе экстракции бенз(а)пирена из навески растительного сырья в объеме 1г, смесью н-гексана с гидрофильным органическим растворителем на ультразвуковой бане. Концентрирование полученного экстракта проводили путем упаривания. Выявление количества, содержащегося бенз(а)пирена в концентрате проводили с использованием спектрофлуориметра.

2.3.6. Статистическая обработка полученных данных.

Обработку статистических данных проводили с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel 2010.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Изменение концентрации нефти и нефтепродуктов в почве после внесения биопрепарата «Бакойл KZ», в загрязненную почву нефтегазоконденсатного месторождения Арыскум.

Проведенный гравиметрический анализ образцов почвы показал, что биопрепарат «Бакойл KZ» эффективно очистил почву от нефтепродуктов во всех 3 образцах почвы. Наибольшая эффективность в деградации нефтепродуктов биопрепарат «Бакойл KZ» проявил в почве с начальным содержанием нефти 1 процент. В образцах почвы со степенью загрязнения 1 процент эффективность очистки составила 95 процентов; со степенью загрязнения 4 процента эффективность составила 89 процентов; со степенью загрязнения 8 процентов эффективность составила 87 процентов. Результаты исследования представлены в таблице 3.

3.2. Использование биопрепарата «Бакойл KZ» для стимулирования аборигенной микробиоты при восстановлении нефтезагрязненной почвы

Загрязнение почвы нефтью приводит к снижению численности почвенных микроорганизмов. Интенсивность ингибирования почвенных микроорганизмов на прямую зависит от концентрации нефти и нефтепродуктов в почве.

При внесении биопрепарата «Бакойл KZ», происходит увеличение численности почвенных микроорганизмов, в частности гетеротрофных микроорганизмов. Увеличение численности микроорганизмов происходит с первого дня внесения биопрепарата и сохранялась в течении всего эксперимента. При средних и высоких концентрациях нефти и нефтепродуктов, численность почвенных микроорганизмов увеличилась, но не достигала значения фоновых показателей.

Применение биопрепарата благотворно повлияло на численность актиномицетов и микроорганизмов, использующих азот, но в разной степени, в зависимости от концентрации загрязнения.

Нефтяное загрязнение способствует ингибированию микроорганизмов, разрушающих целлюлозу, в зависимости от концентрации загрязнителя. Кроме того, происходит снижение численности азотфиксирующих бактерий. Чем выше концентрация загрязнителя в почве, тем ниже численность азотфиксирующих бактерий. Численность азотфиксирующих бактерий определяется путем наблюдения за динамикой обрастания комочков. Так при загрязнении почвы в концентрации 1 процент обрастание комочков составляло 66,7 процента, при загрязнении в 4 процента 46,7 процента, при загрязнении в 8 процентов 16,6 процента.

Использование биопрепарата «Бакойл KZ» способствует восстановлению численности микроорганизмов, разрушающих целлюлозу и азотфиксирующих бактерий. В ходе эксперимента было установлено, что численность

целлюлозоразрушающих микроорганизмов в почве с биопрепаратом, в 2 раза больше чем в контрольных образцах. Численность азотфиксирующих бактерий стала близкой к фоновым значениям. Для микромицетов использование биопрепарата также оказывает стимулирующее действие. Во всех образцах почвы, численность микромицетов превышала показатели контроля.

Из этого следует, что использование биопрепарата «Бакойл KZ» благотворно сказывается на стимуляции жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, способствуя увеличению численности микроорганизмов различных видов.

Применение биопрепарата «Бакойл KZ» способствовало снижению токсичности почвы по отношению к растениям. Внесение биопрепарата оказало свое благотворное влияние на всхожесть семян редиса и на удлинение корней проростков.

Для оценки влияния биопрепарата на рекультивацию почвы проводились исследования активности почвенной каталазы. Использование биопрепарата «Бакойл KZ» способствовало повышению активности фермента в нефтезагрязненной почве. Повышение активности фермента каталазы наблюдалась через 30 суток после внесения биопрепарата. К концу эксперимента значения активности каталазы увеличилось в 2 раза по сравнению с контрольными образцами.

Полученные данные свидетельствуют о том, что внесение биопрепарата «Бакойл KZ» способствовало восстановлению общей численности почвенных микроорганизмов, таких как: гетеротрофные, целлюлозоразрушающие, азотфиксирующие микроорганизмы. Снизилась фитотоксичность нефтезагрязненных почв.

Результат воздействия биопрепарата на численность почвенных микроорганизмов представлен в таблице 4

Таблица 4. Содержание нефти в нефтезагрязненной почве после внесения биопрепарата «Бакойл KZ»

	Содержание нефтепродуктов мг/кг							
	До обработки	%	После 3 сут		После 30 сут		После 90 сут	
			Контроль	Обработка «Бакойл KZ»	Контроль	Обработка «Бакойл KZ»	Контроль	Обработка «Бакойл KZ»
Образец почвы №1	11380	1	11380	10520	10112	5320	9210	520
Образец почвы №2	41980	4	41980	41020	41160	18320	40111	4281
Образец почвы №3	80250	8	80250	79120	79250	44690	77112	10180

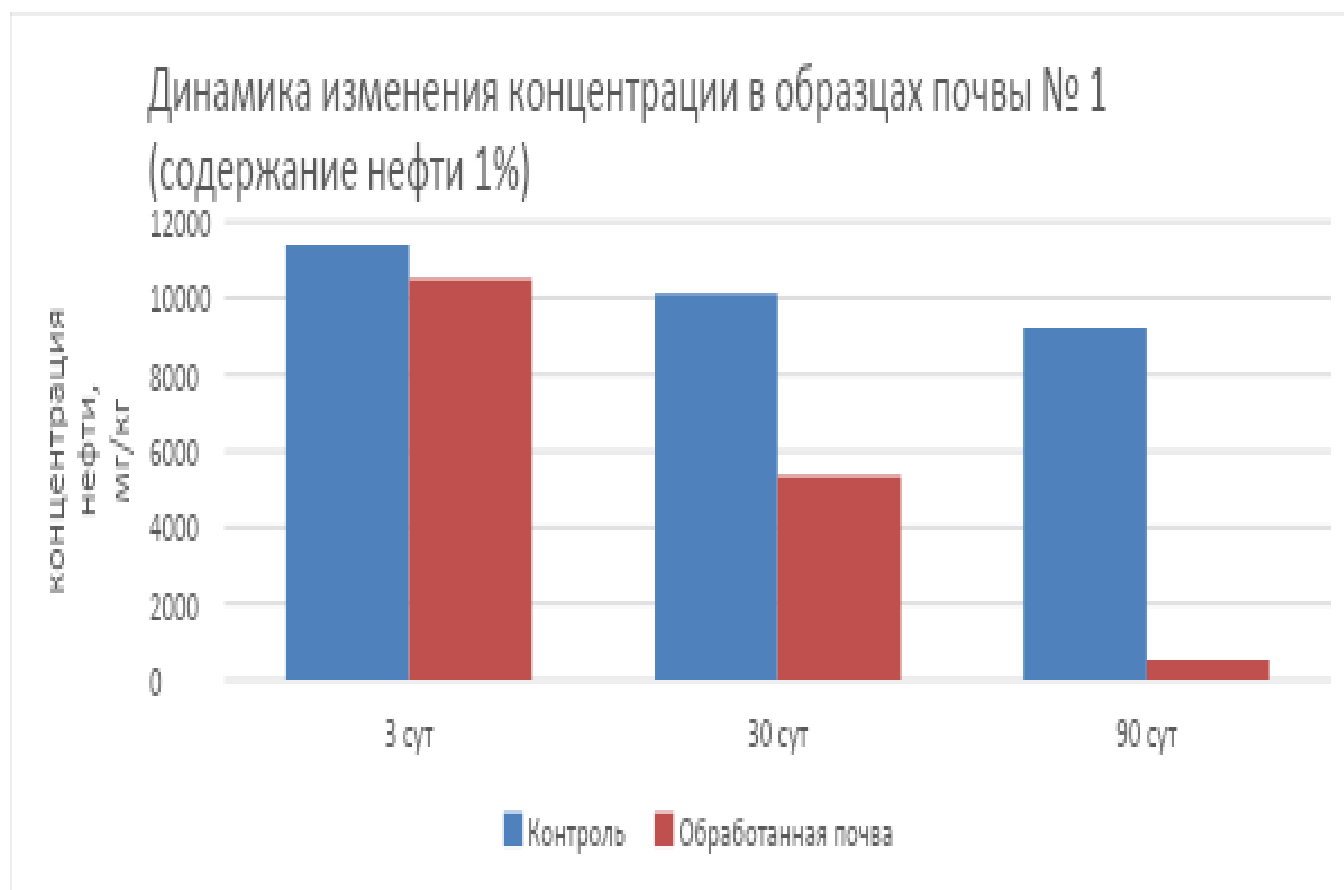


Рисунок 8. Динамика изменения концентрации нефти после обработки биопрепаратом «Бакойл KZ» при содержании нефти 1%

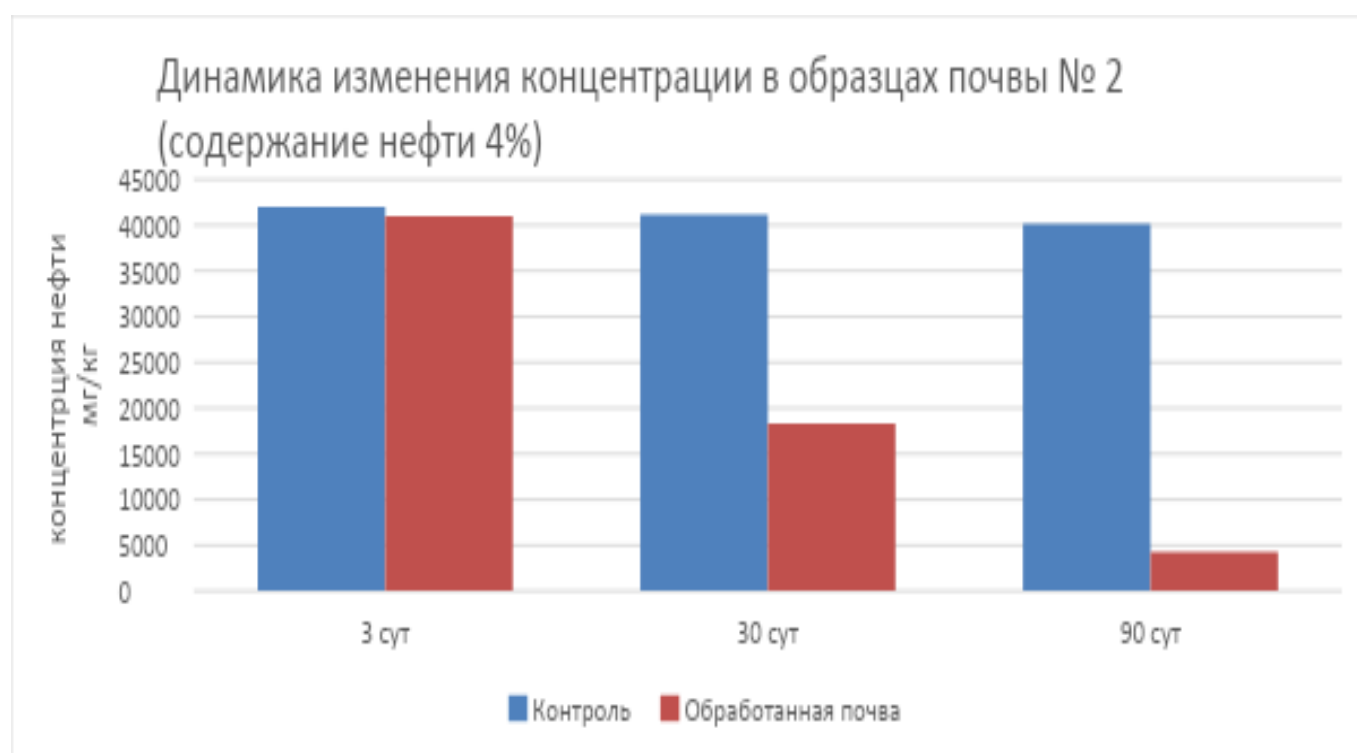


Рисунок 9. Динамика изменения концентрации нефти после обработки биопрепаратом «Бакойл KZ» при содержании нефти 4%

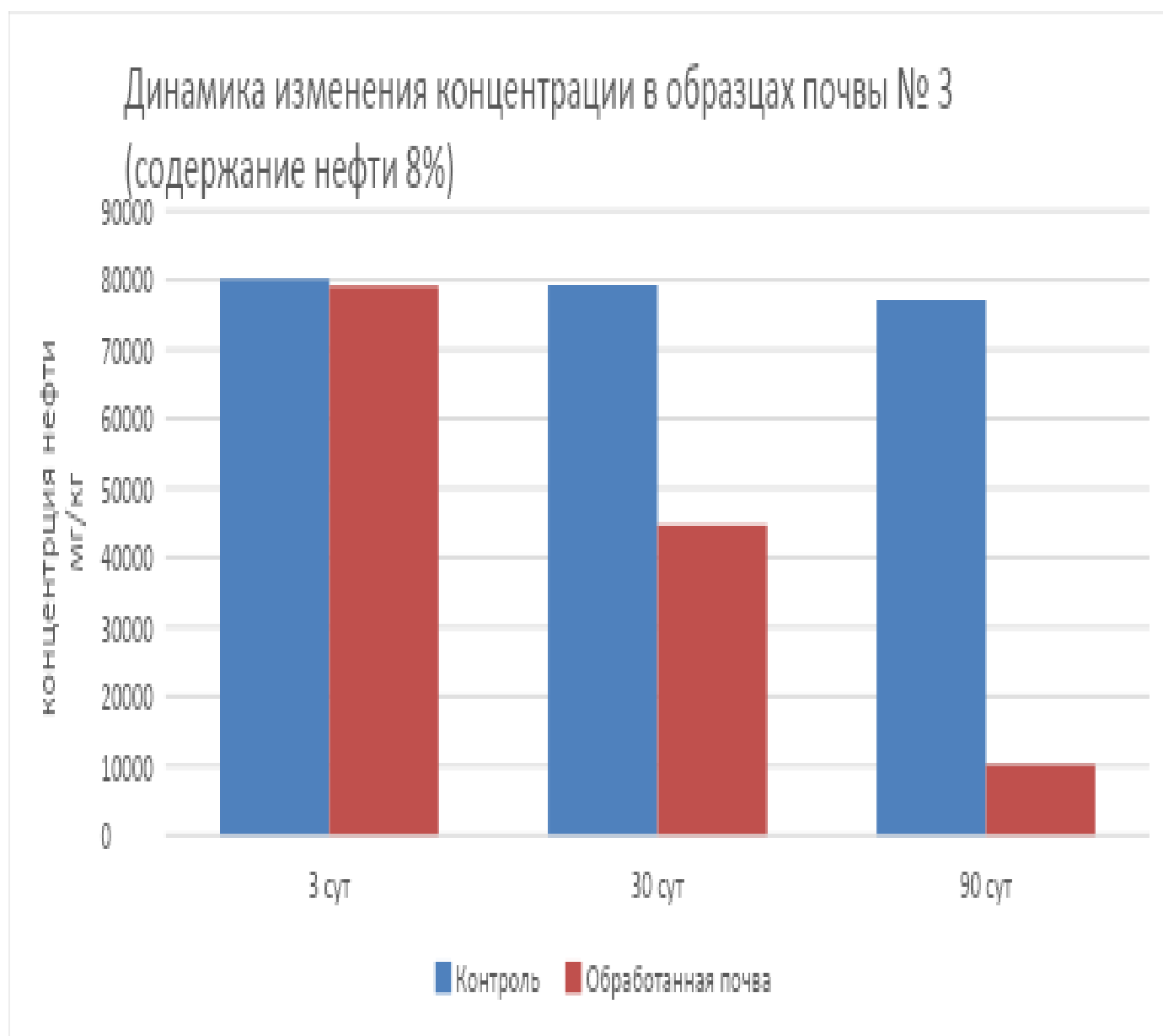


Рисунок 10. Динамика изменения концентрации нефти после обработки биопрепаратом «Бакойл KZ» при содержании нефти 1%

Таблица 5. Численность групп почвенных микроорганизмов в нефтезагрязненной почве при внесении биопрепарата «Бакойл KZ»

Группы микроорганизмов	Срок обработки, сут	Варианты эксперимента					
		Загрязнение 1%		Загрязнение 4%		Загрязнение 8%	
		Контроль	Обработанная	Контроль	Обработанная	Контроль	Обработанная
Микроорганизмы гетеротрофы, 10^5 КОЕ/г почвы	3	27,9±0,6	50,12±1,0	5,8±0,3	18,3±0,3	2,1±0,07	11,5±0,77
	30	91,4±0,3	83,4±3,0	21,3±1,25	35,8±0,75	3,3±0,15	19,3±0,55
	90	100,8±13	120,3±6,0	31,3±0,55	62,3±2,0	8,4±0,05	38,2±0,66
Микроорганизмы использующие минеральные формы азота, 10^5 КОЕ/г почвы	3	3,98±0,80	7,15±2,5	2,87±0,65	4,98±0,07	1,02±0,12	1,4±0,02
	30	8,15±1,3	10,3±0,4	0,51±0,02	8,3±0,75	1,66±0,32	3,9±0,3
	90	3,93±1,45	12,3±0,58	1,3±0,12	10,1±0,25	0,89±0,13	4,8±0,55
Целлюлозоразрушающие микроорганизмы 10^3 КОЕ/г почвы	3	14,9±7,9	12,2±0,8	8,3±0,04	15,3±0,5	Не опред.	Не опред.
	30	10,1±0,04	11,1±1,0	5,4±0,02	14,1±0,6	Не опред.	Не опред.
	90	8,01±0,04	16,6±0,5	3,5±0,01	9,3±0,4	Не опред.	Не опред.
Азотфиксирующие микроорганизмы	3	65,6±1,7	82,1±0,1	44,3±1,2	55,3±0,7	15,3±0,2	22,3±0,6
	30	52,1±0,6	89,3±0,4	35,6±0,1	68,3±0,5	31,2±0,4	55,3±0,3
	90	59,3±0,2	98,2±0,1	33,3±0,7	85,8±0,5	48,1±0,4	82,1±0,4

3.3 Использование редиса в качестве фиторемедианта

При выборе растения для проведения фиторемедиации в климатических условиях нефтегазоконденсатного месторождения Арыкум необходимо учитывать следующие факторы:

Способность полноценно развиваться в условия малого содержания гумуса в почве

Устойчивость растения к высоким температурам окружающей среды

Устойчивость к токсическому воздействию органических соединений

В связи с этими факторами, в данной работе в качестве фиторемедианта было решено использовать редис сорта ранний красный. Данный сорт характеризуется хорошей всхожестью семян. От появления первых всходов и до момента полного созревания плода проходит примерно 20-25 суток. Сорт редиса ранний красный устойчив к высоким температурам окружающей среды и способен хорошо формировать плоды при малом содержании гумуса в почве. Зрелые плоды имеют округлую форму темно-красного цвета. Средняя масса плодов составляет 20-30 г.

В образцах почвы без обработки биопрепаратом «Бакойл KZ» с содержанием нефти в 1 процент всхожесть семян была 100 процентов; с содержанием нефти в 4 процента всхожесть семян составила 60 процентов; с содержанием нефти в 8 процентов всхожесть семян составила 40 процентов.

Концентрация нефти в 1 процент не оказывала негативного действия на развитие ростков редиса. При концентрации нефти в 4 процента негативное действие на растение проявлялось в вялости растения. Самое сильное негативное влияние было оказано при концентрации нефти в 8 процентов. Здесь было отмечено негативное влияние на длину побега и корня растения, а также на размер листьев.

Для проверки эффективности снижения фитотоксичности почвы, в исследуемые образцы после внесения биопрепарата «Бакойл KZ» были внесены семена редиса в количестве 10 штук. В почве с начальным процентом загрязнения нефтью 1 и 4 процента, после обработки биопрепаратом «Бакойл KZ» всхожесть семян составила 100 процентов; в образце с начальным содержанием 8 процентов всхожесть семян составила 80 процентов. Первые всходы появились на 4 день после внесения семян. (Рисунок 11) Отклонений в развитии стебля и корней обнаружено не было.

На рисунке 13 показаны ростки редиса, посаженные на нефтезагрязненной почве с содержанием нефти 8 процентов. Как видно на рисунке листья ростков редиса меньше размером, чем у ростков, взошедших на обработанной биопрепаратом почве. Сами стебли вялые, некоторые листья имеют желтый цвет.

Из всего вышесказанного следует, что применение биопрепарата «Бакойл KZ» оказывает положительное действие на деградацию нефти и нефтепродуктов в почве. Кроме того, на примере редиса было установлено, что

данный биопрепарат помогает снизить фитотоксичность почвы. Всхожесть семян и интенсивность начального роста проростков в образцах почвы, обработанных биопрепаратом, была выше чем в контрольных образцах.



Рисунок 11. Ростки редиса на 4 день после посадки в обработанную биопрепаратом «Бакойл KZ» почву



Рисунок 12. Ростки редиса, посаженные в почву с содержанием нефти 8%

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными в данной работе исследованиями была установлена эффективность применения отечественного биопрепарата «Бакойл KZ» для очистки нефтезагрязненной почвы нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп. По результатам гравиметрического анализа почвы на содержание нефтепродуктов в почве, было установлено, что биопрепарат «Бакойл KZ» способствовал снижению концентрации нефтепродуктов в почве. В образцах почвы, загрязненных нефтью в концентрации 1 процент эффективность очистки, составила 95 процентов; в образцах почвы, загрязненных нефтью в концентрации 4 процента эффективность очистки, составила 89 процентов; в образцах почвы, загрязненных нефтью в концентрации 8 процентов эффективность очистки, составила 87 процентов. Биопрепарат «Бакойл KZ», способствовал стимулированию почвенной микробиоты.

В качестве растения фторемедианта в данной работе был использован редис. Семена редиса были внесены в почву после обработки «Бакойл KZ». При сравнении ростков в обработанных биопрепаратом и контрольных образцах почвы, было выявлено, что в образцах почвы после обработки биопрепаратом всхожесть семян была выше. По внешним признакам, ростки редиса в обработанных образцах не имели внешних патологий, в отличие от контроля.

Из этого следует, что биопрепарат отечественного производства «Бакойл KZ», пригоден для очистки почвы от нефтепродуктов в климатических условиях нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп.

ВЫВОДЫ

1. Проведенный патентный поиск по изучению влияния загрязнения почвы нефтью и нефтепродуктами показал, что нефть оказывает негативное влияние на состав и структуру почвы. Имеет сильное токсическое воздействие на почвенную растительность и микробиоту.
2. Нефтегазоконденсатное месторождение Арыскуп находится в аридной зоне Кызылординской области. Климат резко континентальный, засушливый. По типу почвы месторождение Арыскуп относится к бурым и серо-бурым почвам. Отобранные образцы почвы имели концентрацию загрязнения в 3% и 67%. Данные загрязнения почвы, возникли в результате разливов нефти при транспортировке.
3. Проведенная оценка эффективности применения биопрепарата «Бакойл KZ» для ремедиации нефтезагрязненных почв нефтегазоконденсатного месторождения Арыскуп. Показала, что препарат «Бакойл KZ» эффективно снижает концентрацию нефтепродуктов в почве в климатических условиях месторождения Арыскуп. В модельном эксперименте были использованы образцы почвы с концентрацией загрязнения в 1%, 4% и 8%, эффективность очистки составила 95%, 89% и 87% соответственно. Препарат оказал стимулирующее действие на развитие почвенной микробиоты.
4. Для проведения фиторемедиации были использованы семена редиса. Всхожесть семян после обработки биопрепаратом была выше, чем в контрольных образцах почвы. После обработки препаратом Бакойл KZ» в образцах почвы с начальным содержанием нефти 1% и 4% всхожесть составила 100%, с концентрацией 8% всхожесть составляла 80%.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кирий О.А., Колесников С.И., Зинчук А.Н., Казеев К.Ш. Использование углеводородокисляющих бактерий при биоремедиации нефтезагрязненных почв и вод. //Ростов-на –Дону – 2013. С. 12-14
2. Djomo JE, Dauta A., Ferrier V., Narbonne JF., Monkiedje A., Njine T. Toxic effects of some major polyaromatic hydrocarbons found in crude oil and aquatic sediments on *Scenedesmus subspicatus*.// Water Research 38, 2004 p. 1817-1821
3. Казахстан. Национальная энциклопедия, Том 1.// Алматы, 2004, С. 266
4. Heath, J.S. Review of chemical, physical and toxicologic properties components of total petroleum.// Jornal of Soil Contaminations, 1993 №2, p. 548-611.
5. Республиканский нормативный документ «Экологические требования в области охраны и использования земельных ресурсов (в том числе земель сельскохозяйственного назначения). Астана 2005
6. Трофимов С.Я., Аммосова Я.М., Орлов Д.С., Суханова Н.И. Влияние нефти на почвенный покров и проблема создания нормативной базы по влиянию нефтезагрязнения на почвы // Вестник Московского университета. Почвоведение. 2000. №2. С. 30–34.
7. Зильберман М.В., Порошина Е.А., Зырянова Е.В. Биотестирование почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. // Пермь, ФГУ Урал НИИ «Экология», 2004. С.111
8. Киреева Н.А., Водопьянов В.В. Модели биodeградации нефти в почве при внесении органических отходов // Фундаментальные достижения в почвоведении, экологии, сельском хозяйстве на пути к инновациям, Москва, 2008. С. 23-24
9. Звягинцев, Д.Г., Гузев В.С., Левин С.В., Селецкий Г.И., Оборин А.А. Диагностические признаки различных уровней загрязнения почвы нефтью // Почвоведение. - 1989. - №6. - С. 52-55
10. Киреева Н.А., Галимзянова Н.Ф. Влияние загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами на численность и видовой состав микромицетов.// Почвоведение , 2006 №8, С. 1005-1011
11. Назаров А.В., Иларионов С.А. Изучение причин фитотоксичности нефтезагрязненных почв // Альтернативная энергетика и экология.2005. - №1. - С.60-65
12. Седых, В.Н., Игнатьев Л.А. Влияние отходов бурения и нефти на физиологическое состояние растений // Сибирский экологический журнал. - 2002. - № 1. - С. 47-53
13. Гайворонский, В.Г., Колесников С.И. Моделирование загрязнения почв мазутом с целью установления его экологически безопасной концентрации // Известия вузов. СевероКавказский регион. 2008.-№4. -С. 86-88

14. Кураков, А.В., Ильинский В.В, Котелевцев С.В., Садчиков А.П. Биоиндикация и реабилитация экосистем при нефтяных загрязнениях , 2006. – С.336с.
15. М.В Зильберман, Зырянова Е.В., . Порошина Е.А. Биотестирование почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами // Пермь, ФГУ Урал НИИ «Экология», 2004. - 111с.
16. Sorkhon N.A., Ghannoum M.A., Ibrahim A., Stretton R.J., Rdaman S.S. Crude oil and hydrocarbon degrading strains of Rhodococcus: Rhodococcus strains isolated from soil and marine environments in Kuwait. // Environment Pollution, 1990. - V. 65. - P. 1-18.
17. Ali N. Berkeley R.C.W. An investigation of the taxonomic position of two hydrocarbondegrading hemophilic endosporing bacteria isolated from oil-polluted Kuwaiti desert. Identification of bacteria // Present trendsfuture prospects: FEMS Meeting. - Granada, 1993. - P. 53.
18. Коронелли, Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде // Прикладная биохимия и микробиология, 1996. С. 578-585.
19. Иларионов С.А. Экологические аспекты восстановления нефтезагрязненных почв // Екатеринбург: УрО РАН, 2004, С.194
20. Середина, В.П., Андреева Т.А., Алексеева Т.П., Бурмистрова Т.И., Терещенко Н.Н. Нефтезагрязненные почвы: свойства и рекультивация // Томск: Издательство Томский политехнический университет, 2006., С. 268
21. Skipper H. Bioremediation of contaminated soils. In: Sylvia D., et.al. (Eds.), Principles and Applications of Soil Microbiology//. Prentice Hal 11998, Inc. New Jersey USA
22. Киреева, Н.А., Бакаева М.Д. Рекультивация нарушенных земель//: Учебное пособиеУфа: РИО БашГУ, 2005, С. 208
23. . Халилова, А.Ф., Денисова А.П. Биodeградация углеводов в почве с различной кислотностью и оценка способов ее стимуляции // Экология России: на пути к инновациям: Межвузовский сборник научных трудов, Астрахань, 2009., С. 210-214.
24. Борзенков И.А., Беляев С.С., Иванов М.В, Милехина Е.И. Консорциум микроорганизмов, используемых для очистки почвенных солончатоводных экосистем от загрязнения нефтепродуктами// Патент №2023686 РФ. - Бюлл.изобр. - 1994, №22.
25. Водянова М.А., Хабарова Е.И., Донерьян Л.Г.. "Анализ существующих микробиологических препаратов, используемых для биodeградации нефти в почве" Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал), №7, 2010, с. 253-258.

26. Патент № (19) KZ (13) В (11) 32017. Микробный препарат для очистки нефтезагрязненных почв, замазученных грунтов, нефтешламов и водных поверхностей, Шигаева М.Х.; Бержанова Р. Ж., Мукашева Т. Д., Сыдыкбекова Р.К., Дюсенов О.К., Алипинова А.Р., Рысбеков Р.А. 2016/0238.1, 09.03.2016, 28.04.2017, бюл. №8
27. Патент № (19) KZ (13) В (11) 2609. Способ получения биологического препарата для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов. Молдагулова Н.Б., Сарсенова А.С., Аюпова А.Ж., Хасенова Э.Ж., Бердимуратова К.Т., Баякенов Д.А. 2017/0534.2, 16.08.2017, 12.02.2018, бюл. №6
28. Кузнецов Е.Н., Бурлов А.А., Слюсаренко В.В., Наконечных Д.В. «Биологические способы рекультивации земель» Проблемы агропромышленного комплекса стран евразийского экономического союза // материалы I Международной научно-практической конференции. Саратов, 2015 с 167-172
29. Criquet, S. Anthracene and mycorrhiza affect the activity of oxidoreductases in the roots and the rhizosphere of lucerne {Medicago sativa L.) / S. Criquet // Biotechnology Letters. - 2000. - № 22. - P. 1733-1737
30. Чижов Б.Е., Шишкин А.М., Захарова А.И. Растения-мелиоранты для рекультивации нефтезагрязненных почв // Леса и лесное хозяйство Западной Сибири. Выпуск 7, Тюмень: Издательство Тюменского государственного университета, 2006. С. 221-229.
31. Евдокимова Г.А., Ахтулова Е.М., Михайлова И.В., Корнейкова М.В., Мозгова Н.П. Воздействие загрязнения почв дизельным топливом на растения и ризосферную микробиоту на Кольском Севере // Агрохимия., 2007. - №12. - С. 49-55.
32. Клебанович Н.В., Ефимова И.А., Прокопович С.Н. Почвы и земельные ресурсы Казахстана/ Учебное издание/ Минск, 2016 С. 17-18
33. Фаизов К.Ш. Почвы Республики Казахстан. Алматы, 2001, с. 327
34. Патент № (19) KZ (13) В (11) 32292. Способ биоремедиации нефтезагрязненных почв (варианты) Саданов А. К., Гаврилова Н. Н., Ратникова И. А. № 2015/0502.1, 07.04.2015, 15.08.2017, бюл. №15