

В.А. Иваница, С.Ф. Ужевская, Т.В. Гудзенко, А.Е. Бухтияров, Г.В. Лисютин,
Т.А. Беляева, И.П. Конуп, Е.Г. Горшкова

СУКЦЕССИЯ МИКРОФАУНЫ В ПРОЦЕССЕ РЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ ПОЧВ

Ключевые слова: педомикрофауна, сукцессия, ремедиация почв, микробиологические препараты

Нефть оказывает вредное влияние на биохимические, физиологические, генетические процессы в организме биологических объектов. Естественное восстановление плодородия почв при загрязнении нефтью происходит значительно дольше, чем при других техногенных загрязнениях. Прогрессивным направлением решения проблемы очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения является разработка и внедрение методов, которые приближаются к природным процессам. Актуальной является разработка комплексных методов быстрой ликвидации нефтяного загрязнения почвы с применением микробиологических биопрепаратов нового поколения – сорбентов и деструкторов углеводородов нефти, которые обеспечивают полное уничтожение вредного биологического воздействия нефтяного загрязнения, а также стимулируют естественные процессы самоочищения, восстановления биоценозов и оздоровления почвы [1, 2].

На кафедре микробиологии и вирусологии Одесского национального университета имени И. И. Мечникова создано природоохранную биотехнологию с использованием иммобилизованных на биологически-позитивных носителях бактерий-деструкторов углеводородов нефти.

Целью работы было изучение влияния новой микробной технологии ремедиации загрязненных нефтепродуктами почв на процесс восстановления численности и состава микропедобионтов.

Материал и методы исследований

Новую биотехнологию очистки почв от углеводородов нефти испытывали на о. Змеиний. Для исследования были выбраны два смежных участка, с полностью отсутствующей растительностью, площадью по 1 м², загрязненных нефтепродуктами. Грунт на глубину 25-30 см был насыщен нефтепродуктами, имел маслянистую консистенцию, интенсивный запах нефтепродуктов. Исходное содержание нефтепродуктов составляло 41,537 г/кг почвы. На опытном участке осуществляли ремедиацию грунта с использованием разработанной биотехнологии, которая включала этапы: 1) применение механического метода – перепахивания для реструктуризации загрязненной почвы, восстановления водяного и аэрационного режимов – необходимых условий для активизации природных самоочищающихся процессов в почве; 2) на загрязненную поверхность почвы наносили слой сорбентов

и биопрепарат и проводили культивацию; 3) участок засевали овсом посевным (*Avena sativa* L.).

Обследование проводили в ноябре 2010 г. на загрязненных нефтепродуктами участках после биоремедиации, проведенной в октябре 2009 г. – участок 1, в июле 2010 г. – участок 2. Результаты сравнивали с данными по фоновому незагрязненному нефтепродуктами участку (0) и контрольному загрязненному нефтепродуктами участку 3. Контрольный участок находился в непосредственной близости от опытного. На нем также осуществляли все вышеперечисленные технологические процессы, за исключением внесения биопрепарата. Дополнительный полив почвы не осуществляли, увлажнение проходило естественным путем за счет осадков. Температурный режим лета 2010 года характеризовался высокими температурами (до 38 С), что повлияло и на микроартропод. Отмечено их незначительную численность на фоновых не загрязненных участках.

Для подтверждения активизации процессов ремедиации грунта была использована зооиндикация с помощью педомикрофауны, которая отражает изменения, происходящие в почве. Отбор образцов почвы, экстракцию микроартропод проводили по общепринятой методике. Образцы отбирали по методу средней пробы на четырех участках, которые были загрязнены нефтепродуктами. Известно, что почти 90% представителей микрофауны используют для проживания верхний слой почвы (глубина до 15 см), поэтому отбор образцов только из верхних слоев почвы оправдан. После экстракции представителей микрофауны, определяли объем и массу воздушно-сухих образцов, подсчитывали количество представителей различных групп, определяли их плотность на 1 м² и на 100 г верхнего слоя почвы.

Результаты исследований

Визуальное обследование экспериментального участка проведено через 80 суток. Выявлено наличие (восстановление) растительного покрова – растений ячменя посевного (*Avena sativa* L.) на конечных стадиях развития и укоренившихся надземных побегов свинороя (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). Проективное покрытие растений составляло 85 %. В контрольном варианте грунт был лишен живых растений, хотя и содержал частицы высохших растений, которые были внесены во время закладки эксперимента. Были отобраны пробы и проведен биологический и химический анализ почвы. Химический анализ показал, что использование новой биотехнологии способствует снижению количества нефтепродуктов в почве до 4,295 г / кг почвы, т.е. на 89,66 % за 80 суток.

Через 150 дней после начала испытаний содержание нефтепродуктов в почве на опытном участке снизилось до 4,005 г/кг почвы, т.е. на 90,36% от исходного уровня. На участке проективное покрытие растений составляло около 90%. Растения ячменя посевного прошли все вегетационные стадии, выколосились. Надземные побеги свинороя укоренились и начинали разрастаться на смежные контрольные участки.

На контрольном участке растительность отсутствовала, почва была маслянистой, ощущался выраженный запах нефтепродуктов. Химический анализ показал, что содержание нефтепродуктов в почве составляло 20,106 г/кг почвы, что

свидетельствует о незначительной активизации процессов самовосстановления почвы по сравнению с опытными участками.

Установлено, что после загрязнений нефтепродуктами на опытном и контрольном участках микроартроподы не были зарегистрированы, что свидетельствует о высокой степени загрязнения почвы (табл. 1). На фоновом участке отмечалась высокая численность микроартропод на протяжении всего периода наблюдения, произошло увеличение численности с лета до осени почти вдвое. В октябре–ноябре 2010 г. зарегистрирована максимальная численность микроартропод – 67,0 - 50,8 экз./100 г.

Таблица 1

Численность микроартропод (экз./100 г) в верхнем слое почв различных участков о. Змеиный

№ участка	Состояние участка	Численность микроартропод		
		22.7.10	13.10.10	7.11.10
1	Биоремедиация, октябрь 2009 г.	1,0	6,8	36,3
2	Биоремедиация, июль 2010 г.	0	4,7	14,0
3	Контрольный, загрязнен нефтепродуктами	0	0	1,2
0	Фоновый не загрязнен нефтепродуктами	21,9	67,0	50,8

В июле – ноябре 2010 г. на контрольном участке (3) микроартроподы в почве не зарегистрированы, или выявлены в единичных экземплярах, что свидетельствует о высокой степени загрязнения нефтепродуктами и слабой способности к восстановлению.

После применения новой биотехнологии произошло увеличение численности микроредобионтов до 36,3 экз./100 г на участке 1 и 14,0 экз./100 г на участке 2. Таким образом, численность на рекультивированном участке через год (1) была значительно выше, чем через 5 месяцев (2) после рекультивации и на контрольном загрязненном участке (3).

Загрязнение повлияло на количественный и качественный состав микрофауны. В предыдущих исследованиях было показано, что на острове зарегистрированы микроартроподы из таксонов: Chelicerata: Arachnida: Parasitiformes (Mesostigmata: Gamasina); Acariformes: Sacoptiformes (Oribatei, Acaridae), Trombidiformes (Tarsonemina, Prostigmata); Pseudoscorpiones; Tracheata: Myriapoda, Insecta (Collembola, Psocoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Diptera). Указано, что в почвах острова преобладают коллемболы, орибатоидные клещи, меньше – акаридиевые, тарзонемоидные, простигматичные и гамазовые клещи [3]. Зарегистрированы 17 видов коллембол из пяти семейств: в почве – 13, травостое – 11, 34 вида орибатид, которые относятся к 18 семействам: в почве отмечен 31 вид, из которых пять являются доминантными. Общими для почвы и травостоя являлись 14 видов. В почве средняя численность орибатид составляла 4520 экз./м². В почве и травостое о. Змеиный найдены виды семейства Tarsonemidae (11 видов): в почве – 9 видов, три из которых являются доминантными. Отмечен довольно редкий в почвах Украины

Tarsonemus denigratus Livshitz, Mitrofanov & Sharonov, 1982. Численность тарсонемин в почве составляла 1260 ± 603 экз./м². В почве на участках, не загрязненных нефтепродуктами, численность и доля орибатид выше, чем коллембол и тарсонемин [3].

В местах биоремедиации (участки 1, 2) отмечено постепенное восстановление таксономического состава микрофауны (табл. 2). Сапротрофный комплекс почвенных животных формируется медленнее, чем микрофлора и растительный покров, первыми появляются микроартроподы, для которых свойственны короткие жизненные циклы и большая скорость размножения.

Данные литературы свидетельствуют о том, что первыми после нефтяного загрязнения в почвах появляются тарсонемин и акаридиевые клещи [4]. Аналогичная картина наблюдалась в наших исследованиях. Так, через пять месяцев после биоремедиации на участке 2 первыми появились акаридиевые (33%) и тарсонемоидные (60%) клещи.

Таблица 2

Соотношение различных групп микрофауны (%) в верхнем слое почвы о. Змеиный (7.11.2010)

Таксоны	Загрязненные участки после ремедиации через		Контрольные участки	
	12 месяцев	5 месяцев	Загрязненный (3)	Фоновый не загрязненный (0)
	1	2		
Nemathoda	7	0	0	5
Collembola	9	0	0	85
Psocoptera	0	0	50	0
Coleoptera	1	0	0	0
Hymenoptera	19	0	0	0
Diptera	2	0	0	0
Gamasoidea	17	0	0	3
Acaridiae	17	33	50	0
Oribatei	3	0	0	8
Tarsonemina	13	60	0	2
Prostigmata	14	0	0	0
Другие клещи	16	7	0	1

Использование биотехнологии существенно ускорило сукцессию микроартропод: через 5 месяцев доля акаридиевых клещей уменьшилась до 33 % (2 участка), а через год до 17% (1 участок). В контрольном биотопе естественное восстановление замедленное, о чем свидетельствует высокая плотность акаридиевых клещей (50%). Для тарсонемин (активных потребителей микромицетов) наблюдается следующая картина. Они появляются после акаридиевых клещей, что соответствует данным литературы [5]. Через 5 месяцев после стимуляции восстановления их доля

составляла 60% (2 участок), а через 12 – снизилась до 13% (1 участок). Без стимуляции на контрольном участке (3) они не зарегистрированы.

Через 12 месяцев после биоремедиации отмечено увеличение числа таксонов микроартропод, что свидетельствует о процессе восстановления группового состава. Доля гамазовых клещей на участке 1 составляла 17%, то есть хищники имели жертв, возможно, это были акаридиевые клещи – 17%, нематоды – 7%, коллемболы – 9%. Кроме того, были зарегистрированы представители других групп микрофауны: Coleoptera (1%), Hymenoptera (19%), Diptera (2%). Наиболее медленно восстанавливался комплекс колембол и орибатидных клещей, они являются наиболее уязвимыми педобионтами. Эти микроартроподы являются наиболее разнообразными и распространенными в почвах и их вклад в почвообразование трудно переоценить.

Естественное восстановление комплекса педобионтов на контрольном загрязненном нефтепродуктами участке (3) проходило очень медленно. Микрофауна была представлена только Psocoptera (50%) и Acaridiae (50%).

Наши исследования свидетельствуют, что микроартроподы могут быть показателями интенсивности экологических изменений в почвах. Это надо учитывать при интенсификации очистки загрязненных почв.

Использование микроорганизмов для ремедиации почвы после загрязнения нефтепродуктами позитивно влияет на всю педобиоту, о чем свидетельствует качественное и количественное состояние микрофауны.

Наблюдалась тенденция к увеличению количества микробионтов при использовании биоремедиации: 23 против 17 экз./100 г. воздушно-сухой массы и 18 против 13 экз./100см³ грунта. Количество на 100 см² составляло соответственно 26800 экз. и 45000 экз. (табл. 3). Объемно-весовой коэффициент на опытных и контрольных участках был одинаков и равнялся 1,3. Это, возможно, свидетельствует о том, что загрязнителями были легкие фракции нефтепродуктов. За период 12 месяцев при применении новой биотехнологии отмечается ускорение восстановления педобиоты почти вдвое. Восстановление микрофауны коррелирует со скоростью распада нефти и направлением сукцессии растительности.

Таблица 3

Количество представителей микрофауны в почве, загрязненной нефтепродуктами, через 12 месяцев после биоремедиации, экз.

Представителей микрофауны	Контрольный участок	Опытный участок после биоремедиации
на 100 г	17	23
на 100 см ³	13	18
на 1 м ²	26800	45000
Всего, экз	67	72

Выводы

Таким образом, наши исследования показали, что новая биотехнология ремедиации почв о. Змеиный, загрязненных нефтепродуктами, приводит к ускорению восстановления качественного и количественного состава микрофауны.

Работа выполнена в рамках проекта ДЗ-508-2012.

1. Кожанова Г. А. Спосіб одержання бактеріального препарату для сорбції та деструкції органічних речовин. / Патент України № 43394, 2001 р.
2. Коронелли Т. В. Микробиологическая деградация углеводов и ее экологические последствия // Биол. науки. – 1982. – №3. – С. 5-13.
3. Крутоголова Т. Ф., Ужєвська С. П. Попередні дослідження мікроартропод ґрунту о. Зміїний (весна 2003 р.) // Вісник Одеського національного університету. – 2005. – Т.10, в.4. – С.81-87.
4. Артемьева Т. И. Сукцессионная динамика почвенных животных при самоочищении нефтезагрязненных почв.// Проблемы почвенной зоологии. Материалы докладов X Всесоюз. Совец. – Новосибирск. – 1991. – С.121.
5. Чернова Н. М. Экологические сукцессии при разложении растительных остатков. – АН СССР. – Московское общество испытателей природы. – М.: Наука, 1977. – С.3-45.

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра мікробіології та вірусології, вул. Дворянська, 2, Одеса-26, 65026, Україна, E-mail: v_ivanit@ukr.net, grass_snake@ukr.net, tg1@inbox.ru

Іваниця В. О., Ужєвська С. П., Гудзенко Т. В., Бухтіяров А. Е., Лісютін Г. В., Бєляєва Т. О., Конуп І. П., Горшкова О. Г.

Сукцесія мікрофауни в процесі ремедіації забруднених нафтопродуктами ґрунтів

Вивчено комплекс мікроартропод в ґрунті, сукцесію при використанні нової мікробної технології ремедіації забруднених нафтопродуктами ґрунтів. Спостерігається процес прискорення відновлення чисельності та складу мікропедобіонтів.

Ключові слова: *педомікрофауна, сукцесія, ремедіація ґрунтів, мікробіологічні препарати*

Ivanitsya V., Uzhevskaya S., Gudzenko T., Bukhtiyarov A., Lisyutin G., Belyaeva T., Konup I., Gorshkova O.

Microfauna succession in the process of oil-contaminated soil remediation

There was studied a complex of microarthropods in the soil, succession in the application of the new microbial remediation technology of oil-contaminated soils. The process of acceleration in restoring micropedobionts number and composition was observed.

Key words: *pedomicrofauna, succession, soil remediation, microbial preparation*