

РЕАЛИЗАЦИЯ БИОРЕМЕДИАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЗЛАКОВЫХ И БОБОВЫХ ТРАВ В МНОГОЛЕТНЕМ ПОЛЕВОМ ОПЫТЕ НА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЕ

© 2025 г. Л. Г. Бакина^{1,*}, А. О. Герасимов¹, А. А. Галдяниц¹,
М. В. Чугунова¹, Н. В. Маячкина¹

¹Санкт-Петербургский федеральный исследовательский центр РАН
197110 Санкт-Петербург, Корпусная ул., 18, Россия

*E-mail: bakinalg@mail.ru

Изучена эффективность разных видов трав, относящихся к семействам Бобовые и Злаковые, для биоремедиации нефтезагрязненной дерново-подзолистой почвы. Исследование проводили в условиях многолетнего полевого опыта, заложенного на территории опытного поля Санкт-Петербургского аграрного университета. Исходный уровень загрязнения почвы нефтепродуктами, который составил в среднем 11.5 тыс. мг/кг (3.0 л/м²), был остро токсичным для растений и вызвал значительное угнетение надземной биомассы трав (до 90–95% по сравнению с контролем). Восстановление травянистой растительности при изученном уровне загрязнения нефтью произошло к концу 3-го вегетационного сезона. Биодеструкция нефти в почве происходила как вследствие процессов самоочищения за счет деятельности аборигенной микробиоты, так и за счет “вклада” используемых при биологической рекультивации травянистых растений (стимуляции ризосферных микроорганизмов). За 5 лет биоремедиации нефтезагрязненной дерново-подзолистой почвы с помощью разных видов трав уровень содержания нефтепродуктов уменьшился до 500–800 мг/кг, т.е. на 93–95%. В почве под всеми травами, относящимися к бобовым (клевером, люпином, козлятником), содержание нефтепродуктов на 5-й год опыта было достоверно меньше, чем под злаковыми (овсяницей, райграсом, травосмесью КАД). Наиболее активным было разложение нефти в почве под люпином.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение почв, биоремедиация, биодеструкция нефтепродуктов, бобовые и злаковые растения.

DOI: 10.31857/S00021881250200104, **EDN:** VATBPK

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что нефтезагрязнение оказывает негативное воздействие на физические, химические и биологические свойства почвы. В результате этого снижается почвенное плодородие и, как следствие, урожайность растений. Традиционные (физические, химические, физико-химические) методы очистки почв от нефти характеризуются высокой эффективностью, однако их использование может оказаться очень дорогим, а главное — недостаточным для восстановления почвенного плодородия [1–3]. Более экономически и экологически целесообразным для очистки и рекультивации нефтезагрязненных почв считается применение методов биоремедиации, и в частности фиторемедиации. Фиторемедиация является не только дешевой альтернативой традиционным методам очистки, но и значительно повышает скорость восстановления свойств нефтезагрязненных почв [4–9].

Фиторемедиация — это способ очистки почв от поллютантов, в том числе нефтяных углеводородов, основанный на совместном использовании потенциала биохимической активности высших растений и ризосферных микроорганизмов. Аэробные гетеротрофные микроорганизмы являются главными биодеструкторами нефти в природе. Несмотря на то что микроорганизмы могут разлагать органические вещества независимо от растений (то есть в их отсутствии), именно взаимодействие между растением и микробным сообществом в ризосфере считается одним из основных механизмов разложения нефтяных углеводородов в почве [10]. Корневая система растений, выделяя в почву большое количество органических веществ (аминокислот, сахаров, флавоноидов и др.), оказывает сильный стимулирующий эффект на почвенную микробиоту. Благодаря экссудатам численность и функциональная активность микроорганизмов в ризосфере обычно бывает

в несколько раз, а иногда и на 1–2 порядка больше, чем в основной массе почвы [11–17].

Высокая эффективность системы высшие растения–ризосферные микроорганизмы при очищении почв от нефтезагрязнения доказана многими исследованиями [5, 14, 18]. Присутствие высших растений (трав и деревьев) увеличивает в несколько раз численность нефтеокисляющих бактерий в загрязненных почвах и скорость снижения содержания в них нефтепродуктов [3, 19–21]. Растения обогащают почву кислородом и органическим веществом, что способствует улучшению структуры нефтезагрязненной почвы, а также активизации нефтеразлагающей микробиоты [6].

Установлено, что фиторемедиация оказывает долгосрочное влияние на активность процессов биодegradации нефтяных углеводов в почве [7]. Поэтому, несмотря на то что очищение почв от нефтезагрязнения при фиторемедиации длится дольше, чем при использовании традиционных методов, в итоге она дает такие же результаты [8].

Фиторемедиация считается весьма перспективным методом снижения нефтезагрязнения в почве. Однако для повышения ее эффективности необходимо учитывать сложность и особенности экологических взаимодействий в системе растение–ризосферные микроорганизмы–почва [19, 21–23]. Успешная фиторемедиация возможна лишь при высокой устойчивости растений к загрязнителю, т.е. способности растений выживать и расти на загрязненной почве. Растения-фиторемедианты должны характеризоваться толерантностью к условиям окружающей среды, высокой продуктивностью и пригодностью для различных типов почв. Необходимо учитывать и тот важный факт, что на биомассу и структуру почвенной микробиоты, в том числе и нефтеокисляющей, кроме видового состава растений, большое влияние оказывает степень покрытия почвы растениями [24, 25].

В настоящее время накоплен большой объем информации о роли высших растений в процессах разложения нефтяных углеводов в почвах. Тем не менее, до сих пор не установлены виды (набор видов), которые могли бы быть рекомендованы для эффективной фиторемедиации конкретных нефтезагрязненных почв. В связи с этим цель работы – сравнительное изучение биоремедиационного потенциала различных видов травянистых растений в многолетнем полевом опыте на нефтезагрязненной дерново-подзолистой почве, имеющей широкое распространение на Северо-Западе Российской Федерации.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыт по изучению реализации биоремедиационного потенциала разных видов трав при очистке нефтезагрязненной почвы изучали в условиях

многолетнего полевого опыта, заложенного в 2006 г. на территории опытного поля Санкт-Петербургского аграрного университета.

Почва, на которой был заложен опыт, дерново-подзолистая суглинистая и характеризовалась очень благоприятными агрохимическими свойствами: нейтральной реакцией среды (pH_{KCl} 5.9–6.1 ед.), низкой гидролитической кислотностью (3.0–3.5 ммоль-экв/100 г), содержание обменных оснований составляло 12.5–13.0 ммоль-экв/100 г, степень насыщенности ими достигала 80%. Содержание питательных элементов фосфора и калия было равно 11–13 и 15–16 мг/100 г почвы соответственно. Содержание гумуса высокое – 3.5%. Очевидно, что подобные свойства почвы обеспечивали ее значительную экологическую устойчивость и высокую способность к самовосстановлению и самоочищению.

Загрязнение почвы в опыте проводили сырой нефтью, предоставленной ООО “Киришинефтеоргсинтез”. Использованная для загрязнения нефть, добытая ОАО “Сургутнефтегаз”, характеризовалась средней плотностью 0.869 г/см³. В групповом составе преобладали метаново-нафтенновые углеводороды (47%), доля ароматических и полиароматических углеводородов составляла 32%, наиболее тяжелые фракции (бензольные и спиртобензольные смолы, а также асфальтены) в сумме не превышали 21%.

Опыт был заложен на залежном участке поля с разнотравно-злаковой растительностью. Размер опытных делянок составлял 0.5 м² (100 × 50 см), ширина разделительных полос – 10 см. Повторность опыта четырехкратная. Перед загрязнением почву перекопали, с ее поверхности удалили дернину. Нефть вносили в количестве 3.0 л/м² (1.5 л на делянку), контролем служила чистая почва. Через 10 сут после загрязнения был произведен посев злаковых и бобовых трав на контрольных и нефтезагрязненных делянках. Всего было изучено 6 вариантов трав и травосмесей: овсяница красная *Festuca rubra*, райграс пастбищный *Lolium perenne*, козлятник *Galéga orientális*, клевер розовый *Trifolium hybridum*, люпин многолетний *Lupinus perennis* и смесь КАД (овсяница красная *Festuca rubra* 30% + мятлик луговой *Poa praténsis* 40% + райграс пастбищный *Lolium perenne* 20% + овсяница овечья *Festuca ovina* 10%).

Через 2 мес. после посева были проведены укос и взвешивание надземной биомассы трав. Образцы почвы отбирали из слоя 0–10 см. В образцах почвы определяли: содержание $\text{C}_{\text{орг}}$ – по методу Тюрина (сжигание в хромовой смеси с последующим титрованием солью Мора), нефтепродуктов – по ПНД Ф 16.1:2.2.22-98 “МВИ массовой доли нефтепродуктов в минеральных, органоминеральных, органо-минеральных почвах и донных отложениях методом ИК-спектроскопии” с извлечением нефтепродуктов четыреххлористым углеродом

и ИК-спектрометрическим окончанием на приборе АН-2.

В нефтезагрязненных почвах определяли $C_{нв}$ (углерод нефтяных веществ, генетически происходящих от нефти) по разности между содержанием $C_{орг}$ в чистой почве и содержанием $C_{орг}$ в почве после разлива нефти.

По результатам, полученным при определении содержания $C_{нв}$, в конце опыта (через 5 лет) рассчитывали содержание нефтяных веществ (**НВ**). Содержание **НВ** вычисляли по формуле: $НВ, \% \text{ от почвы} = C_{нв}/0.9$, предположительно считая, что содержание углерода в нефтепродуктах на 5-й год биодеструкции составляет 90%.

Очевидно, что эта группа веществ состоит из нефтепродуктов (**НП**), извлекаемых из почвы четырьмя хлористым углеродом, и неэкстрагируемого остатка, который большинство авторов относит к так называемым битумоидам [26]. Их при расчетах мы обозначили как нефтяные битумоиды (**НБ**).

Все исследования почв (определение содержания $C_{орг}$ и **НП**) и учет надземной биомассы трав проводили ежегодно в июле, во время формирования наибольшей биомассы травянистых растений до высыхания злаков. Общая продолжительность опыта составила 5 лет.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Внесение нефти в дозе 3.0 л/м^2 привело к резкому нарушению функционирования почвы, появлению острой токсичности и утрате плодородия. Эти процессы четко диагностировали по изменению продуктивности трав, использованных в опыте для биоремедиации нефтезагрязненной почвы (табл. 1).

Величина надземной биомассы растений как основной результирующий показатель их функционирования была снижена в первый год опыта на 90–95% по сравнению с контролем – чистой почвой.

Известно, что главным ограничением при применении метода фиторемедиации является такой уровень нефтезагрязнения, при котором появляется опасность для нормальной жизнедеятельности растений [2, 9, 19, 27]. Результаты многих исследований показали, что фиторемедиация почв разных типов наиболее эффективно и безболезненно для растений проходит при концентрации сырой нефти, не превышающей 1.0–1.5% от массы почвы [3, 28, 29]. Концентрации загрязнителя <2–3% оказывают сильное токсичное воздействие на растения, ограничивая их рост и развитие [9, 30, 31]. В условиях нашего опыта восстановление продуктивности исследованной почвы при испытанном уровне нефтяного загрязнения 3.0 л/м^2 произошло очень быстро: на 2-й год опыта величина надземной биомассы трав на нефтезагрязненных участках доходила в среднем

до 50% от контроля, а на 3-й год достигала величин биомассы трав на контрольных участках. Мы связываем этот факт с высоким уровнем плодородия, экологической устойчивостью и самоочищающей способностью почвы опыта. Очевидно, что для бедных почв типа подзолов подобный уровень нефтяного загрязнения стал бы гораздо более катастрофичным, а степень угнетения растительности была бы существенно больше [31].

Похожие результаты по скорости восстановления растительного покрова были получены при проведении полевого опыта на загрязненной разными дозами **НП** дерново-подзолистой супесчаной почве в Ленинградской обл. [30, 32]. В варианте с такой же степенью загрязнения, как в нашем опыте (3.0 л/м^2), растительный покров начал активно формироваться уже на 2-й год после начала эксперимента. В связи с этим авторы предлагали для луговых фитоценозов установить пороговую концентрацию нефтепродуктов в дерново-подзолистых почвах в размере 3.0 л/м^2 , отмечая, что превышение этого уровня загрязнения приводит к необратимому нарушению жизнедеятельности растений.

Обращает внимание тот факт, что начиная с первого года нашего опыта, максимальная растительная биомасса формировалась в варианте с люпином. Она достоверно превышала биомассу других видов трав, использованных для биоремедиации в опыте, в среднем в 2–3 раза, и с 3-го года опыта составляла 3.0–3.5 кг/деланку (табл. 1). Известно, что при биоремедиации различных нефтезагрязненных почв использование именно бобовых культур является наиболее успешным [28, 33, 34]. По мнению [35], посев бобовых растений для очистки нефтезагрязненных почв, обедненных азотом, позволяет экономить на использовании азотных удобрений, делая процесс биоремедиации более экономичным и экологически чистым.

Очевидно, что формирование мощной надземной биомассы бобовых растений, которое сопровождается образованием соответствующей корневой системы, а также активное образование корневых экссудатов значительно повышает биохимическую активность ризосферных микроорганизмов. Положительная роль бобовых растений в проявлении ризосферного эффекта в случае люпина подкреплялась значительным количеством растительных остатков, ежегодно поступающих в почву. Подобный сопряженный растительно-микробный метаболизм в ризосфере люпина и других бобовых культур должен способствовать активизации всех процессов биологического круговорота, и в т.ч. активизации процессов биоразложения нефтепродуктов.

Подтверждение этого предположения было получено при анализе содержания нефти и продуктов ее трансформации в почвах опытных участков.

Таблица 1. Влияние нефтяного загрязнения на величину надземной биомассы трав, г/делянку ($n = 4, p = 0.05, F_{05} = 4.89, t_{sf} = 2.13$)

Вариант (вид трав)	Даты отбора образцов									
	2007 г., 15.07		2008 г., 20.07		2009 г., 30.07		2010 г., 18.07		2011 г., 04.07	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Овсяница	238	17	518	213	956	881	1010	1110	1250	975
Райграс	309	19	533	259	869	725	1050	903	1260	1030
Козлятник	323	22	575	273	1230	1010	1410	995	1530	1130
Клевер	221	8	568	244	788	700	1160	1060	1230	1030
Люпин	961	45	1930	1010	3170	3400	2910	3010	3750	3580
Смесь КАД	212	19	530	255	1080	919	1640	1280	1500	1380
$F_{факт}$	133.4	6.26	51.8	57.1	63.4	21.8	13.8	29.4	50.0	83.5
S_x	35	7	111	58	161	313	273	147	195	114
$НСР_{05}$	76	15	240	120	340	670	580	310	420	240

Примечание. В графе 1 – незагрязненная, 2 – загрязненная нефтью почва.

Таблица 2. Изменение содержания $C_{нв}$ в загрязненной почве под разными травами ($n = 4, p = 0.05, F_{05} = 4.89, t_{sf} = 2.13$)

Вариант (вид трав)	Исходное		3-й год		4-й год		5-й год	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Овсяница	1.95 ^a	100	1.51 ^a	77.4	1.21 ^a	62.0	1.29 ^a	66.2
Райграс	1.91 ^a	100	1.32 ^a	69.1	1.05 ^a	55.0	1.07 ^a	56.0
Козлятник	1.77 ^a	100	1.23 ^a	69.5	1.21 ^a	68.4	0.95 ^{ab}	53.7
Клевер	1.95 ^a	100	1.21 ^a	62.0	1.12 ^a	57.4	0.99 ^{ab}	50.8
Люпин	2.02 ^a	100	0.91 ^a	45.0	0.79 ^a	39.1	0.60 ^b	29.7
Смесь КАД	1.87 ^a	100	1.34 ^a	71.6	1.28 ^a	68.4	1.13 ^a	60.4
$F_{факт}$	0.91	—	1.59	—	1.54	—	5.22	—
S_x	0.14	—	0.23	—	0.20	—	0.14	—
$НСР_{05}$	—	—	—	—	—	—	0.30	—

Примечание. В графе 1 – % от массы почвы, 2 – % от исходного загрязнения.

На первом этапе исследования контроль за содержанием нефтяных веществ проводили по показателю содержания $C_{\text{нв}}$, предложенному нами ранее [36]. Зная содержание $C_{\text{орг}}$ в почве контрольных делянок, можно с уверенностью утверждать, что превышение показателей содержания $C_{\text{орг}}$ в загрязненных делянках над аналогичными показателями контрольных чистых делянок обусловлено внесенной при загрязнении нефтью. Результаты определения содержания $C_{\text{нв}}$ в нефтезагрязненной почве под разными видами трав и изменение этого показателя за все время опыта обобщены в табл. 2.

Установлено, что в начальные сроки после загрязнения почвы нефтью уровень содержания $C_{\text{нв}}$ менялся от 1.77 до 2.02%, составляя в среднем $1.91 \pm 0.14\%$ от массы почвы. При этом различия в вариантах опыта были недостоверными ($F_{\text{факт}} < F_{\text{теор}}$), т.е. исходный уровень загрязнения был одинаковым для всех делянок. По мере прохождения процесса разложения нефти содержание $C_{\text{нв}}$ в почвах постепенно уменьшалось.

Наиболее активно этот процесс проходил в первые 2 вегетационных сезона, так что на 3-й год опыта содержание $C_{\text{нв}}$ составляло, в зависимости от вида трав, использованных для биоремедиации, 62–77% от исходного, а на 5-й год опыта – 51–66%. Наиболее активно содержание $C_{\text{нв}}$ уменьшалось в почве под люпином, где эти показатели на 3-й и 5-й год опыта составили 45 и 30% от исходного соответственно. Надо отметить, что достоверными различия в вариантах опыта (для видов трав) стали только на 5-й год, когда разница между вариантом с максимальным содержанием $C_{\text{нв}}$ (овсяница) и минимальным содержанием $C_{\text{нв}}$ (люпин) стала больше чем в 2 раза (2.15). Это связано, по нашему мнению, с тем, что определение $C_{\text{орг}}$ является макрометодом со сравнительно большой ошибкой определения и вариабельностью показателя, которая еще увеличивается от того, что показатель $C_{\text{нв}}$ определяют не непосредственно, а по разности между содержанием $C_{\text{орг}}$ в почве

нефтезагрязненных и чистых (контрольных) делянок. Тем не менее, достоверные различия по содержанию $C_{\text{нв}}$ в почве под люпином, по сравнению со всеми остальными видами трав, изученными в опыте, убедительно свидетельствовали о том, что биоремедиационный потенциал в отношении нефти и продуктов ее трансформации у люпина был максимальным.

Очевидно, что НП как группа веществ, выделяемых аналитически и подлежащих экологическому контролю, составляют в почве лишь часть органических веществ, генетически происходящих от нефти. Экспериментальное определение этой группы веществ выявило, что за 5 лет опыта НП минерализовались почти полностью (табл. 3). Содержание НП снизилось, в зависимости от вида выращиваемых трав, на 93–95% от исходного.

Исходное содержание НП после загрязнения почвы нефтью менялось от 10 800 до 12 300 мг/кг почвы, составляя в среднем 11 500 мг/кг. Это содержание НП почти в 6 раз превышало принятые в 1995 г. и действующие по настоящее время ОДК для техногенных территорий (мест разгрузки и хранения нефти и нефтепродуктов), установленные для нефтепродуктов в Санкт-Петербурге и Ленинградской обл. – 2000 мг/кг. Различия во всех вариантах опыта были недостоверными, т.е. по величине исходного содержания НП все загрязненные делянки не отличались.

Повышенная биодеструктивная активность почвы под люпином была подтверждена результатами непосредственного определения количества нефтепродуктов. Более того, полученные данные наглядно свидетельствовали о том, что не только под люпином, но и под всеми бобовыми травами, использованными при биоремедиации нефтезагрязненной почвы в опыте, разложение нефтепродуктов происходило гораздо более активно, чем под злаками.

К концу опыта, на 5-й год, все изученные варианты опыта разделились на 2 группы по содержанию в почве нефтепродуктов: 1 – злаки (овсяница,

Таблица 3. Изменение содержания нефтепродуктов в процессе биоремедиации при применении разных видов трав

Вариант (вид трав)	Исходное содержание		5-й год опыта		
	мг/кг	% от массы почвы	мг/кг	% от массы почвы	% от исходного загрязнения
Овсяница	11 900 ^a	1.14	796 ^a	0.08	6.7
Райграс	11 600 ^a	1.16	749 ^a	0.07	6.4
Козлятник	10 800 ^a	1.08	598 ^b	0.06	5.5
Клевер	11 800 ^a	1.18	520 ^b	0.05	4.4
Люпин	12 200 ^a	1.22	471 ^b	0.05	3.8
Смесь КАД	11 400 ^a	1.14	681 ^a	0.07	6.0
$F_{\text{факт}}$	0.91	0.91	7.29	7.29	—
S_x	1800	0.18	67	0.007	—
HCP_{05}	—	—	140	0.014	—

райграс и травосмесь КАД), в которой содержание НП составляло в среднем ≈ 750 мг/кг, и 2 – бобовые (козлятник, клевер, люпин), в которых содержание НП составляло в среднем 530 мг/кг. Напомним, что исходное содержание НП в почве после загрязнения составляло 11 500 мг/кг. Таким образом, в результате процессов биодеструкции, которые были результативными процессов самоочищения за счет аборигенной почвенной микрофлоры и растительно-микробного метаболизма в прикорневой зоне использованных для биоремедиации трав, за 5 лет опыта разложилось 93–95% исходного содержания НП.

Результаты расчета содержания *НВ* по величине $C_{нв}$ приведены в табл. 4.

Количественное содержание *НВ* в почвах опытных делянок было рассчитано путем деления величины показателя $C_{нп}$ на 0.9 [37]. Ранее указывали, что содержание углерода в нефти мы считали равным 90%. Полученные результаты свидетельствовали о том, что исходное содержание НП в почве опытных делянок существенно (более чем в 1.5 раза) меньше содержания *НВ*. Это связано с тем, что при аналитическом определении нефтепродуктов из почвы извлекают не все вещества, попавшие в почву из нефти, а только их часть, растворимую в четыреххлористом углероде. Известно, что разные растворители, используемые для извлечения нефтепродуктов, характеризуются различной экстрагирующей способностью, причем ни один из них не способен полностью растворять все вещества, содержащиеся в нефти [37–39]. В научной литературе принято вещества, не извлекаемые неполярными растворителями (бензолом, толуолом,

четырёххлористым углеродом, петролейным эфиром и др.), относить к битумоидам (воскам, смолам и асфальтенам) [40–43]. Таким образом, для условий нашего опыта и исследованной дерново-подзолистой почвы установлено, что при исходном загрязнении $\approx 40\%$ органических веществ, генетически происходящих из нефти, не извлекаются четыреххлористым углеродом и могут быть отнесены к битумоидам.

Обращает на себя внимание факт гораздо более активной и полной деструкции нефтепродуктов НП по сравнению с *НВ*, т.е. с общим содержанием органических веществ, генетически происходящих из нефти, внесенной в почву при загрязнении. Очевидно, что НП составляют только часть тех органических веществ, которые попали в почву из-за внесения нефти; оставшаяся после экстракции НП часть этих веществ и представляет нефтяные битумоиды. Результаты расчета содержания этой фракции нефтяных веществ путем вычитания величины содержания нефтепродуктов НП из величины общего содержания *НВ* также приведены в табл. 4. Общее содержание органических веществ природного (гумус) и техногенного происхождения (нефтепродукты, нефтяные битумоиды) высчитывали как сумму величин содержания гумуса и нефтяных веществ (*НВ*).

Определение содержания $C_{орг}$ с последующим пересчетом этих данных в содержание гумуса в почве контрольных чистых делянок при выращивании на них трав показало, что за 5 лет произошло увеличение содержания гумуса в среднем на 0.34% от массы почвы практически во всех вариантах опыта. Особенно заметно, почти на 1/3 от исходного,

Таблица 4. Изменение содержания гумусовых и нефтяных веществ в опыте, % от массы почвы

Вариант (вид трав)	Гумус	$C_{нп}$	Нефтяные вещества <i>НВ</i>	Нефте- продукты НП	Нефтяные битумоиды <i>НБ</i>	Общее содержание органических веществ
Исходное						
Овсяница	2.81	1.95	2.17	1.14	1.03	4.98
Райграс	2.83	1.91	2.12	1.16	0.96	4.95
Козлятник	2.83	1.77	1.97	1.08	0.89	4.80
Клевер	2.98	1.95	2.17	1.18	0.99	5.15
Люпин	2.76	2.02	2.24	1.22	1.02	5.00
Смесь КАД	3.02	1.87	2.08	1.14	0.94	5.10
5-й год опыта						
Овсяница	3.00	1.29	1.43	0.08	1.35	4.43
Райграс	3.34	1.07	1.19	0.08	1.11	4.53
Козлятник	2.95	0.95	1.06	0.06	1.00	4.01
Клевер	2.98	0.99	1.09	0.05	1.04	4.07
Люпин	3.62	0.60	0.67	0.05	0.62	4.29
Смесь КАД	3.36	1.13	1.26	0.07	1.19	4.62

возросло содержание гумуса в почве под люпином, что несомненно связано со значительным поступлением растительных остатков в почву (напомним, что биомасса люпина была в среднем в 2.5–3.0 раза больше, чем у всех остальных видов трав).

Несмотря на то что содержание нефтяных веществ, рассчитанное по величине $C_{нв}$, за 5 лет существенно уменьшилось, в зависимости от вида выращиваемых трав, в 1.5–3.3 раза за счет деструкции нефтепродуктов, абсолютное содержание более устойчивых битумоидов увеличилось. На наш взгляд, это можно объяснить сложностью, разнонаправленностью процессов трансформации нефти в почве, которая не только минерализуется за счет более легко разлагаемых фракций, но и битуминизируется, что приводит к накоплению более тяжелых фракций типа смол, асфальтенов, которые не экстрагируются CCl_4 при аналитическом определении НП, но сжигаются при определении $C_{общ}$, увеличивая тем самым $C_{нп}$.

Особенно наглядно эта закономерность проявлялась при расчете относительного содержания этих групп природных (гумус) и техногенных (нефтепродукты и нефтяные битумоиды) органических веществ в % от их общей суммы. Результаты проведенных расчетов приведены в табл. 5.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что если нефтепродукты при биодеструкции разложились почти полностью, то битумоиды оказались не просто гораздо более устойчивыми к биодеструкции, но и характеризовались процессами накопления вследствие битуминизации более легких фракций нефти. Исключением был вариант с люпином, в котором, по-видимому, активность биоремедиационных процессов была настолько велика, что минерализации подверглись не только легкие фракции нефтепродуктов, но и более тяжелые битумоиды,

абсолютное содержание которых за 5 лет снизилось с 1.02 до 0.62% от массы почвы (на 40% от исходного содержания).

ВЫВОДЫ

Загрязнение нефтью дерново-подзолистой почвы в дозе 3.0 л/м² являлось остро токсичным для растений и вызывало значительное угнетение надземной биомассы трав – до 90–95% по сравнению с контролем.

Восстановление травянистой растительности при изученном уровне загрязнения нефтью происходило к концу 3-го вегетационного сезона.

Биодеструкция нефти в почве происходила как следствие процессов самоочищения за счет деятельности аборигенной микрофлоры, так и за счет “вклада” используемых при биологической рекультивации травянистых растений (стимуляции ризосферной микробиоты).

Уменьшение содержания $C_{нв}$ (углерода нефтяных веществ, т.е. органических соединений, генетически происходящих из нефти) в почве под разными видами трав за 5 лет опыта происходило в среднем на 34–49%. Наиболее активно происходила биодеструкция нефти в почве под люпином, которая к концу 5-го года достигала 70% от исходного $C_{нв}$.

За 5 лет биологической рекультивации нефтезагрязненной дерново-подзолистой почвы с помощью разных видов трав исходный уровень содержания нефтепродуктов уменьшился с 11.5 тыс. мг/кг до 500–800 мг/кг, т.е. в 14–23 раза.

В почве под всеми видами трав, относящимися к бобовым (клевером, люпином, козлятником), содержание нефтепродуктов на 5-й год опыта было

Таблица 5. Изменение соотношения гумуса, нефтепродуктов и нефтяных битумоидов в нефтезагрязненной почве под разными видами трав за 5 лет, % общей суммы органических веществ

Вариант (вид трав)	Срок наблюдения	Гумус	Нефтепродукты	Нефтяные битумоиды
Овсяница	Исходный	56.4	22.9	20.7
Райграс		57.2	23.4	19.4
Козлятник		59.0	22.5	18.5
Клевер		57.9	22.9	19.2
Люпин		55.2	24.4	20.4
Смесь КАД		59.2	22.4	18.4
Овсяница		67.7	1.8	30.5
Райграс		73.7	1.8	24.5
Козлятник		73.6	1.5	24.9
Клевер		73.2	1.2	25.6
Люпин		84.4	1.2	14.4
Смесь КАД		72.7	1.5	25.8

достоверно меньше, чем под злаковыми (овсяницей, райграсом, смесью КАД). Среди бобовых максимальным биоремедиационным потенциалом в отношении нефти обладал люпин.

Процессы биodeградации нефти в ризосфере бобовых травянистых растений несомненно требуют дальнейшего углубленного изучения (исследования функциональной активности почвенной микробиоты, ферментативной активности, особенностей процессов азотного цикла, метагеномного анализа и т.д.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *García-Villacís K., Ramos-Guerrero L., Canga J.L., Hidalgo-Lasso D., Vargas-Jentzsch P.* Environmental impact assessment of remediation strategy in an oil spill in the Ecuadorian Amazon region // *Pollutants*. 2021. V. 1(4). P. 234–252.
DOI: 10.3390/pollutants1040019
2. *Uloaku M.-I., Abbey S.J., Ifelebuegu A.O.* A systematic review on the effectiveness of remediation methods for oil contaminated soils // *Environ. Adv.* 2022. V. 9. 100319.
DOI: 10.1016/j.envadv.2022.100319
3. *Abdallah A.H., Elhussein A.A., Ibrahim D.A.* Phytoremediation of crude oil contaminated soil using Sudanese plant species *Acacia sieberiana* Tausch. // *Inter. J. Phytoremed.* 2023. V. 25(3). P. 314–321.
DOI: 10.1080/15226514.2022.2083575
4. *Киреева Н.А., Новоселова Е.И., Шамаева А.А., Григориади А.С.* Биологическая активность чернозема выщелоченного, загрязненного продуктами сгорания попутного нефтяного газа, и возможности ее восстановления при фиторемедиации // *Почвоведение*. 2009. № 4. С. 498–503.
5. *Evdokimova G.A., Gershenkop A.Sh., Mozgova N.P.* Soils and waste water purification from oil products using combined methods under the North conditions // *J. Environ. Sci. Health. P. A.* 2012. V. 47(12). 1733–1738.
DOI: 10.1080/10934529.2012.689188
6. *Stepanova A.Y., Gladkov E.A., Osipova E.S., Gladkova O.V., Tereshonok D.V.* Bioremediation of soil from petroleum contamination // *Processes*. 2022. V. 10(6). 1224.
DOI: 10.3390/pr10061224
7. *Leewis M.-C., Kasanke C., Uhlik O., Leigh M.B.* Long-term legacy of phytoremediation on plant succession and soil microbial communities in petroleum-contaminated sub-Arctic soils // *EGUsphere*. 2023.
DOI: 10.5194/egusphere-2023-2097
8. *Panchenko L., Muratova A., Dubrovskaya E., Golubev S., Turkovskaya O.* Natural and technical phytoremediation of oil-contaminated soil // *Life*. 2023. V. 13(1). 177.
DOI: 10.3390/life13010177
9. *Nemati B., Baneshi M.M., Akbari H.* Phytoremediation of pollutants in oil-contaminated soils by *Alhagi camelorum*: evaluation and modeling // *Sci. Rep.* 2024. V. 14. 5502.
DOI: 10.1038/s41598-024-56214-y
10. *Farrell R.E., Germida J.J.* Phytotechnologies: Plant-based systems for the remediation of oil impacted soils // *Rem Tech 2002: Remediation Technologies Symposium*; October 16–18, 2002; Banff, AB.
11. *Демченко М.М.* Ризосферные микроорганизмы в системе почва–растение // *Агроном. и лесн. хоз-во*. 2008. № 4(12).
12. *Турковская О.В., Муратова А.Ю., Дубровская Е.В., Бондаренкова А.Д., Любунь Е.В.* Фиторемедиационный потенциал сорго веничного для очистки земель от углеводородов нефти и тяжелых металлов // *Аграрн. научн. журн.* 2020. № 12. С. 50–54.
13. *Gunther T., Dornberger U., Fritsche W.* Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil // *Chemosphere*. 1996. V. 33(2). P. 203–215.
DOI: 10.1016/0045-6535(96)00164-6
14. *Kuo H.-C., Juang D.-F., Yang L., Kuo W.-C., Wu Y.-M.* Phytoremediation of soil contaminated by heavy oil with plants colonized by mycorrhizal fungi // *Inter. J. Environ. Sci. Technol.* 2014. V. 11. P. 1661–1668.
DOI: 10.1007/s13762-013-0353-6
15. *Kuzyakov Y., Blagodatskaya E.* Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review // *Soil Biol. Biochem.* 2015. V. 83. P. 184–199.
DOI: 10.1016/j.soilbio.2015.01.025
16. *Breidenbach B., Pump J., Dumont M.G.* Microbial community structure in the rhizosphere of rice plants // *Front Microbiol.* 2016. V. 6. 1537.
DOI: 10.3389/fmicb.2015.01537
17. *Nakayama M., Tateno R.* Rhizosphere effects on soil extracellular enzymatic activity and microbial abundance during the low-temperature dormant season in a northern hardwood forest // *Rhizosphere*. 2022. V. 21.
DOI: 10.1016/j.rhisp.2021.100465
18. *Germida J.J., Frick C.M., Farrel R.E.* Phytoremediation of oil-contaminated soils // *Develop. Soil Sci.* 2002. V. 28(2). P. 169–186.
DOI: 10.1016/S0166-2481(02)80015-0
19. *Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П., Михайлова И.В.* Способы биоремедиации почв Кольского Севера при загрязнении дизельным топливом // *Агрохимия*. 2009. № 2. С. 61–66.
20. *Mezzari M.P., Zimmermann D.M.H., Corseuil H.X., Nogueira A.V.* Potential of grasses and rhizosphere bacteria for bioremediation of diesel-contaminated soils // *Rev. Bras. Ciênc. Solo*. 2011. V. 35(6). P. 2227–2236.
DOI: 10.1590/S0100-06832011000600038
21. *Cook R.L., Hesterberg D.* Comparison of trees and grasses for rhizoremediation of petroleum hydrocarbons // *Inter. J. Phytoremed.* 2013. V. 15. P. 844–860.
DOI: 10.1080/15226514.2012.760518
22. *Merkl N., Schultze-Kraft R., Infante C.* Phytoremediation in the tropics – the effect of crude oil on the growth of tropical plants // *Biorem. J.* 2004. V. 8(3–4). P. 177–184.
DOI: 10.1080/10889860490887527
23. *Wenzel W.W.* Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils //

- Plant Soil. 2009. V. 321. P. 385–408.
DOI: 10.1007/s11104-008-9686-1
24. Brown S.P., Jumpponen A. Contrasting primary successional trajectories of fungi and bacteria in retreating glacier soils // Mol. Ecol. 2014. V. 23(2). P. 481–497.
DOI: 10.1111/mec.12487
 25. Robichaud K., Girard C., Dagher D., Stewart K., Labrecque M., Hijri M., Amyot M. Local fungi, willow and municipal compost effectively remediate petroleum-contaminated soil in the Canadian North // Chemosphere. 2019. V. 220. P. 47–55.
DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.12.108
 26. Рогозина Е.А., Калимуллина Г.М. Балансовая сторона утилизации нефтяного загрязнения почвы биопрепаратами серии “Нафтокс” // Нефтегаз. геол. Теор. и практ. 2017. № 2. С. 1.
 27. Buzmakov S., Egorova D., Gatina E. Effects of crude oil contamination on soils of the Ural region // Soils Sediments. 2019. V. 19(1). P. 38–48.
DOI: 10.1007/s11368-018-2025-0
 28. Муратова А.Ю., Бондаренкова А.Д., Панченко Л.В., Турковская О.В. Использование комплексной фиторемедиации для очистки почвы, загрязненной нефтешламом // Биотехнология. 2010. № 1. С. 77–84.
 29. Moubasher H.A., Hegazy A.K., Mohamed N.H. Phytoremediation of soils polluted with crude petroleum oil using *Bassia scoparia* and its associated rhizosphere microorganisms // Inter. Biodeteriorat. Biodegradat. 2015. V. 98. P. 113–120.
DOI: 10.1016/j.ibiod.2014.11.019
 30. Богданов В.Л., Шмелева И.В., Мухина Л.Б., Дмитриева Е.Ю. Ускоренное восстановление растительности на загрязненных нефтепродуктами дерново-подзолистых почвах (на примере Ленинградской области) // Регион. экол. 2004. № 3–4. С. 136–144.
 31. Бакина Л.Г., Капелькина Л.П., Чугунова М.В., Бардина Т.В., Герасимов А.О. О разработке региональных нормативов допустимого остаточного содержания нефти и продуктов ее трансформации в почвах Ленинградской области // Регион. экол. 2010. № 1–2(28). С. 33–40.
 32. Богданов В.Л., Горбовская А.Д., Николаев Р.В., Орлова О.Н., Шмелева И.В. Естественное восстановление почвенно-растительного покрова на территории, загрязненной нефтепродуктами, в условиях подзоны Южной тайги // Изв. СПбГАУ. 2008. № 8. С. 10–13.
 33. Егорова Д.О., Бузмаков С.А. Биоремедиация нефтезагрязненных темно-серых почв с использованием бактериальных и растительных агентов // Экол. и пром-ть России. 2022. № 26(3). С. 17–21.
DOI: 10.18412/1816-0395-2022-3-17-21
 34. Manga S., Nwosu C.O., Bazata Y.A. Comparative study of the phytoremediation activity of the rhizobacterial flora of *Vigna unguiculata* and *Arachis hypogaea* on hydrocarbon contaminated soil // J. Pharmacy Biol. Sci. 2020. V. 15(1). P. 36–43.
DOI: 10.9790/3008-1501013643
 35. Sorkhoh N.A., Ali N., Salamah S., Eliyas M., Khanafer M., Radwan S.S. Enrichment of rhizospheres of crop plants raised in oily sand with hydrocarbon-utilizing bacteria capable of hydrocarbon consumption in nitrogen free media // Inter. Biodeteriorat. Biodegradat. 2010. V. 64(7). P. 659–664.
DOI: 10.1016/j.ibiod.2010.08.002
 36. Бакина Л.Г. Роль фракций гумусовых веществ в почвенно-экологических процессах: Дис. ... д-ра биол. наук. СПб.: АФИ РАСХН, 2012. 340 с.
 37. Околелова А.А., Егорова Г.С. Факторы, повышающие эффективность оценки содержания нефтепродуктов в почвах // Деградация земель и опустынивание: проблемы устойчивого природопользования и адаптации. Мат-лы междунар. научн.-практ. конф. М., 2020. С. 235–240.
DOI: 10.29003/m1716.978-5-317-06490-7/235-240
 38. Куницына И.А., Околелова А.А., Карасева А.С. Особенности различных методов определения органического углерода в почвах // Изв. Нижневолж. агроунивер. комплекса: Наука и высш. проф. образ-е. 2012. № 3(27). С. 71–74.
 39. Околелова А.А., Рахимова Н.А., Мерзлякова А.С. Определение содержания нефтепродуктов в почвах инструментальными и ИК-спектральными методами // Фундамент. исслед-я. 2014. № 5. С. 89–92.
 40. Качинский В.Л. Поведение битуминозных веществ в почвах южнотундровых и среднетаежных ландшафтов: барьеры-экраны и барьеры-концентраторы // Вестн. МГУ. География. 2013. № 5(1). С. 68–75.
 41. Геннадиев А.Н., Жидкин А.П., Кошовский Т.С., Лобанов А.А. Полиарены и битумоиды в почвах при различных параметрах однотипных техногенных источников углеводородов // Почвоведение. 2018. № 11. С. 1398–1410.
DOI: 10.1134/S0032180X18110023
 42. Околелова А.А., Капля В.Н., Лапченков А.Г. Оценка содержания нефтепродуктов в почвах // Научн. вед-ти БелгородГУ. Сер. Естеств. науки. 2019. № 43(1). С. 76–86.
DOI: 10.18413/2075-4671-2019-43-1-76-86
 43. Li X., Du Y., Wu G. Solvent extraction for heavy crude oil removal from contaminated soils // Chemosphere. 2012. V. 88(2). P. 245–249.
DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.03.021

Implementation of Bioremediation Potential of Cereal and Legumes in a Long-Term Field Experiment on Oil-Polluted Sod-Podzolic Soil

L. G. Bakina^{a, #}, A. O. Gerasimov^a, A. A. Galdiyants^a, M. V. Chugunova^a, N. V. Mayachkina^a

^a*St. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences,
Korpusnaya ul. 18, Saint Petersburg 197110, Russia*

[#]*E-mail: bakinalg@mail.ru*

The effectiveness of different types of grasses belonging to the Legume and Cereal families for bioremediation of oil-contaminated sod-podzolic soil has been studied. The study was conducted in a form of a long-term field experiment on the territory of the experimental field of St. Petersburg Agrarian University. The initial level of soil contamination with petroleum products, which averaged 11.5 thousand mg/kg (3.0 l/m²), was acutely toxic to plants and caused significant suppression of the aboveground biomass of grasses (up to 90–95% compared with the control). The restoration of herbaceous vegetation at the studied level of oil pollution occurred by the end of the 3rd growing season. Biodegradation of oil in the soil occurred both as a result of self-purification processes due to the activity of the native microbiota, and due to the “contribution” of plants used in biological reclamation (stimulation of rhizosphere microorganisms). Over 5 years of bioremediation of oil-contaminated sod-podzolic soil with the help of various types of grasses, the level of petroleum products decreased to 500–800 mg/kg, i.e. by 93–95%. In the soil under all grasses related to legumes (clover, lupin, galega), the content of petroleum products in the 5th year of the experiment was significantly less than under cereals (fescue, ryegrass, KAD grass mixture). The most active was the decomposition of oil in the soil under lupin.

Keywords: oil pollution of soils, bioremediation, biodegradation of petroleum products, legumes and cereals.