

## Эколого-токсикологическая оценка процесса биоремедиации нефтезагрязнённой почвы

© 2020. И. А. Дегтярева<sup>1,2</sup>, д. б. н., доцент, г. н. с.,  
Т. Ю. Мотина<sup>1,3</sup>, к. б. н., с. н. с., Э. В. Бабынин<sup>1,4</sup>, к. б. н., с. н. с.,  
А. М. Ежкова<sup>1,5</sup>, д. б. н., профессор, г. н. с.,  
А. Я. Давлетшина<sup>1</sup>, к. с.-х. н., с. н. с.,

<sup>1</sup>Татарский НИИАХП ФИЦ КазНЦ РАН,  
420059, Россия, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 20а,

<sup>2</sup>Казанский национальный исследовательский технологический университет,  
420015, Россия, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 68,

<sup>3</sup>Казанский государственный аграрный университет,  
420015, Россия, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 65,

<sup>4</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет,  
420008, Россия, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18,

<sup>5</sup>Казанская ГАВМ,  
420029, Россия, г. Казань, Сибирский тракт, д. 35,

e-mail: peace-1963@mail.ru, motina.tatyana@mail.ru, edward.b67@mail.ru,  
egkova-am@mail.ru, kindness2006@mail.ru

В условиях вегетационного опыта проведён мониторинг серой лесной почвы, которую загрязняли девонской нефтью в концентрации 5 и 10% от массы почвы. Использовали батарею тестов: определяли содержание нефтепродуктов, количество углеводородокисляющих микроорганизмов, фитотоксичность. Для ремедиации применяли природный консорциум микроорганизмов-деструкторов (КМД), состоящий из трёх штаммов (*Achromobacter insolitus* A-102 (RCAM02108), *A. xylooxidans* A-10 (RCAM02109) и *Pseudomonas stutzeri* P-1026 (RCAM02107)) с титром  $(2,3-2,5) \cdot 10^{12}$  КОЕ/см<sup>3</sup>, а также в качестве сорбента бентонит в нативной (6 и 12 т/га) и наноразмерной (0,6 и 1,2 т/га) формах. При сравнении показателей содержания углеводов в динамике установлено, что высокий процент их утилизации отмечен на 45 сут при использовании по отдельности КМД и бентонита. Применение нанобентонита, а также комплексное внесение КМД с сорбентами в нативной и наноразмерной формах ускоряют этот процесс на 15 сут. Тенденция, отмеченная при 5% загрязнении нефтью, сохраняется и при увеличении загрязнения до 10%. Эколого-токсикологический анализ нефтезагрязнённой почвы на морфометрические показатели тест-растения (*Zea mays*) позволил выстроить ряд эффективности вносимых компонентов: КМД > КМД + наноразмерный бентонит > КМД + бентонит. Бентонит и нанобентонит не только сорбируют углеводороды, но и являются источником минерального питания для автохтонной микрофлоры, улучшая структуру почвы. Нанобентонит при меньшей в 10 раз дозе внесения способствует повышению эффективности очистки загрязнённой почвы по сравнению с бентонитом. Входящие в состав консорциума микроорганизмы-деструкторы активно встраиваются в естественные популяции, адаптируются и начинают эффективно разлагать углеводороды, используя их в качестве источника питания и энергии. Итак, совместное применение КМД и сорбента в нативной и наноразмерной формах позволяет обеспечить скорость деструкции нефтяного загрязнения на более высоком уровне по сравнению с использованием каждого компонента по отдельности.

**Ключевые слова:** почва, фитотестирование, нефть, микроорганизмы, сорбенты.

## Ecological and toxicological assessment of bioremediation of oil-contaminated soil

© 2020. I. A. Degtyareva<sup>1,2</sup>, ORCID: 0000-0002-1575-8493<sup>2</sup>

T. Yu. Motina<sup>1,3</sup>, ORCID: 0000-0002-6434-4721<sup>3</sup>, E. V. Babynin<sup>1,4</sup>, ORCID: 0000-0003-2285-8879<sup>4</sup>  
A. M. Ezhkova<sup>1,5</sup>, ORCID: 0000-0002-5526-2214<sup>5</sup>, A. Ya. Davletshina<sup>1</sup>, ORCID: 0000-0002-2790-6078<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tatar Scientific Research Institute of Agrochemistry  
and Soil Science, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Science,  
20a, Orenburgsky Trakt, Kazan, Russia, 420059,

<sup>2</sup>Kazan National Research Technological University,  
68, Karla Marksa St., Kazan, Russia, 420015

<sup>3</sup>Kazan State Agrarian University,  
65, Karla Marksa St., Kazan, Russia, 420015,

<sup>4</sup>Kazan (Volga region) Federal University,  
18, Kremlevskaya St., Kazan, Russia, 420008,

<sup>5</sup>Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N. E. Bauman,  
35, Sibirsky Trakt, Kazan, Russia, 420029,  
e-mail: peace-1963@mail.ru, motina.tatyana@mail.ru, edward.b67@mail.ru,  
egkova-am@mail.ru, kindness2006@mail.ru

Under the conditions of the growing season, the monitoring of gray forest soil was carried out, which was polluted with Devonian oil at a concentration of 5% and 10% by weight of the soil. The content of oil products, the amount of hydrocarbon-oxidizing microorganisms, and phytotoxicity were determined. For remediation, a natural consortium of microorganisms-destructors (CMD) was used, consisting of three strains (*Achromobacter insolitus* A-102 (RCAM02108), *A. xylosoxidans* A-10 (RCAM02109) and *Pseudomonas stutzeri* P-1026 (RCAM02107) with titer  $(2.3-2.5) \cdot 10^{12}$  CFU/cm<sup>3</sup>, as well as bentonite in the native (6 and 12 ton/ha) and nanoscale (0.6 and 1.2 ton/ha) forms as a sorbent. When comparing the indicators of hydrocarbon content in the dynamics, it was found that a high percentage of their utilization was noted for 45 days when used separately CMD and bentonite. The use of nanobentonite, as well as the integrated application of CMD with sorbents in native and nanoscale forms, accelerate this process by 15 days. The trend observed at 5% oil pollution is maintained with an increase in pollution to 10%. Ecological and toxicological analysis of oil-contaminated soil on the morphometric parameters of the test plant (*Zea mays*) allowed us to build a series of effectiveness of the introduced components: CMD > CMD + nanobentonite > CMD + bentonite. Bentonite and nanobentonite, sorbing hydrocarbons, are a source of mineral nutrition for autochthonous microflora. Nanobentonite at a dose less than 10 times contributes to an increase in the efficiency of cleaning contaminated soil compared to bentonite. The combined use of CMD and sorbent in native and nanoscale forms allows us to ensure the rate of destruction of oil pollution at a higher level compared to using each component separately.

**Keywords:** soil, phytoassay, oil, microorganisms, sorbents.

Загрязнение почвы углеводородами (УВ) нефти остаётся серьёзной проблемой в промышленно развитых странах, так как вызывает нарушения динамического равновесия в экосистеме вследствие изменения структуры почвенного покрова, геохимических свойств почв, а также токсического действия на живые организмы [1–7]. На современном этапе развития в России разрабатываются и внедряются в производство научно-обоснованные технологии применения агроминералов в качестве сорбентов в регионах с загрязнениями продуктами нефтеперерабатывающих и химических предприятий. Особый интерес представляют автохтонные микроорганизмы-деструкторы и природные материалы с выраженной сорбционной активностью, широко распространённые в Республике Татарстан (РТ) – бентониты, фосфориты, цеолиты и др. [8]. Перспективным направлением для решения этой проблемы является применение инновационных препаратов, созданных на основе нанотехнологий, имеющих высокую сорбционную активность в отношении широкого спектра УВ и уменьшающих токсическое действие нефти на почву [9, 10]. Вследствие этого разработка комплексных методов очистки почвы от УВ нефти является актуальной и представляет собой активно развивающееся направление экологии, био- и нанотехнологии.

Целью данной работы являлась эколого-токсикологическая оценка процесса биоремедиации нефтезагрязнённой почвы.

## Объекты и методы исследования

Эффективный консорциум углеводород-окисляющих микроорганизмов (УОМ), у которого изучали углеводородокисляющую активность, способность к деструкции различных алифатических и ароматических УВ, солеустойчивость, был выделен из чернозёмной почвы Азнакаевского района Республики Татарстан [11]. Штаммы были идентифицированы методом установления нуклеотидной последовательности 16S рРНК и депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения: *Achromobacter insolitus* A-102 (RCAM02108); *A. xylosoxidans* A-10 (RCAM02109) и *Pseudomonas stutzeri* P-1026 (RCAM02107).

Использованный в качестве сорбента бентонит Тарн-Варского месторождения РТ имел следующий химический состав, в %: SiO<sub>2</sub> – 66,57; TiO<sub>2</sub> – 0,58; Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – 17,04; Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – 5,51; MnO – 0,03; CaO – 0,80; MgO – 1,5; Na<sub>2</sub>O – 0,2; K<sub>2</sub>O – 2,57; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 0,09; SO<sub>3</sub> – 0,42; органическое вещество – 5,11. Сумма обменных катионов составила 45,98 мг-экв. на 100 г. Показатель сорбции составляет 58–62%. Минеральный состав в %: монтмориллонит – 80,0–82,0; гидрослюда – 6,0–8,0; каолинит – 6,0 и кварц – 5,0–7,0. Он имеет подвижную ленточно-слоистую структуру с разбухающими пакетами. Наноразмерный бентонит

получали методом ультразвукового воздействия на бентонитовую глину, которую подвергли термообработке до влажности 5,0–7,0% и механическому измельчению до 0,035 мм, добавляли в деионизированную воду в расчёте 25,0 г на 100,0 мл воды. Получение наноразмерного бентонита и исследование его структуры проводили в Научно-исследовательском инновационно-прикладном центре «Наноматериалы и нанотехнологии» г. Казани [10].

Серая лесная почва была отобрана на фоновой территории Альметьевского района РТ и имела следующую агрохимическую характеристику: гумус – 4,05%,  $pH_{\text{сол}}$  – 5,90 ед.,  $N_r$  – 1,23 мг-экв/100 г, сумма поглощённых оснований – 20,4 мг-экв/100 г,  $N_{\text{общ}}$  – 0,23%,  $P_2O_5$  – 130,0 мг/кг,  $K_2O$  – 118,5 мг/кг. Определение содержания УВ в почвенных образцах проводили в соответствии с ПНД Ф 16.1:2.2.22–98 [12]. Количество УОМ учитывали на среде Ворошиловой и Диановой и выражали в колониеобразующих единицах (КОЕ) на 1 г почвы после её высушивания при температуре 105 °С [13]. Фитотоксичность оценивали по воздействию водных вытяжек (в соотношении (по массе) почва : вода = 1 : 5) исследуемой почвы на проростки кукурузы спустя 7 сут. При фитотестировании сравнивали длины корней и побегов исследуемой культуры в контрольных и опытных вариантах [14].

Вегетационный опыт по изучению влияния консорциума УОМ и сорбента на скорость разложения УВ на серой лесной почве закладывали по схеме: 1) контроль (незагрязнённая почва); 2) почва + нефть (5 и 10%); 3) почва + нефть + консорциум микроорганизмов-

деструкторов (КМД); 4) почва + нефть + бентонит 6 т/га; 5) почва + нефть + бентонит 12 т/га; 6) почва + нефть + КМД + бентонит 6 т/га; 7) почва + нефть + КМД + бентонит 12 т/га; 8) почва + нефть + нанобентонит (НБ) 0,6 т/га; 9) почва + нефть + НБ 1,2 т/га; 10) почва + нефть + КМД + НБ 0,6 т/га; 11) почва + нефть + КМД + НБ 1,2 т/га. Почву загрязняли девонской нефтью в концентрации 5% и 10% от массы почвы. Консорциум микроорганизмов-деструкторов УВ вносили из расчёта 20 мл на вегетационный сосуд с титром  $(2,3-2,5) \cdot 10^{12}$  КОЕ/см<sup>3</sup>; бентонит – 6 и 12 т/га и нанобентонит – 0,6 т/га и 1,2 т/га. Вегетационный опыт проводили в теплице с естественным освещением в летний период в сосудах (6 кг). Пробы почв отбирали в динамике на 0, 30, 45, 60, 90 сут из всех вариантов опыта. Статистическую обработку результатов проводили с помощью электронных таблиц Excel и программы Origin 4.1. Достоверность различий полученных результатов оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

При определении содержания УВ установлено, что в почве при 5% загрязнении нефтью этот показатель к концу эксперимента (90 сут) за счёт самоочищения уменьшился на 25,2% (табл. 1). При внесении в почву КМД уже на 45 сут содержание УВ снизилось на 31,4% и оставалось на этом уровне до 60 сут, а к концу эксперимента уменьшилось на 40,9%. Сравнение сорбентов в нативной и наноразмерной формах показало, что с внесением бентонита

Таблица 1 / Table 1  
Динамика снижения содержания углеводородов в серой лесной почве при её загрязнении 5% нефти  
Dynamics of reduction of hydrocarbons content in gray forest soil with 5% oil contamination

Вариант / Option	Сутки / Day				
	15	30	45	60	90
Контроль / Control	2,8	11,6	14,6	18,1	25,2
КМД + 5% нефти / CMD + 5% oil	6,5	18,2	31,4	31,0	40,9
Б 6 т/га + 5% нефти / B 6 ton/ha + 5% oil	6,9	16,0	27,9	29,2	35,9
Б 12 т/га + 5% нефти / B 12 ton/ha + 5% oil	9,5	17,7	30,0	31,6	44,4
КМД + Б 6 т/га + 5% нефти / CMD + B 6 ton/ha + 5% oil	10,8	21,9	32,7	38,1	47,3
КМД + Б 12 т/га + 5% нефти / CMD + B 12 ton/ha + 5% oil	10,5	26,9	34,3	42,8	53,1
НБ 0,6 т/га + 5% нефти / NB 0,6 ton/ha + 5% oil	8,7	25,0	31,0	30,5	39,0
НБ 1,2 т/га + 5% нефти / NB 1,2 ton/ha + 5% oil	16,8	33,1	34,1	38,9	44,2
КМД + НБ 0,6 т/га + 5% нефти / CMD + NB 0,6 ton/ha + 5% oil	18,5	34,1	39,6	42,4	49,9
КМД + НБ 1,2 т/га + 5% нефти / CMD + NB 1,2 ton/ha + 5% oil	19,9	37,1	44,4	48,1	54,4

Примечание: КМД – консорциум микроорганизмов-деструкторов; Б – бентонит; НБ – нанобентонит.  
Note: CMD – consortium of microorganisms- destructors; B – bentonite; NB – nanobentonite.

Таблица 2 / Table 2

Динамика снижения содержания углеводородов в серой лесной почве при 10% загрязнении  
The dynamics of reducing the amount of hydrocarbons in the gray forest soil at 10% pollution

Вариант / Option	Сутки / Day				
	15	30	45	60	90
Контроль / Control	10,5	19,0	25,4	29,1	32,9
КМД + 10% нефти / CMD + 10% oil	20,9	40,4	44,2	49,2	54,5
Б 6 т/га + 10% нефти / B 6 ton/ha + 10% oil	24,0	31,7	32,1	40,3	41,6
Б 12 т/га + 10% нефти / B 12 ton/ha + 10% oil	17,2	34,5	36,5	47,8	52,6
КМД + Б 6 т/га + 10% нефти / CMD + B 6 ton/ha + 10% oil	25,9	44,2	45,8	48,9	51,6
КМД + Б 12 т/га + 10% нефти / CMD + B 12 ton/ha + 10% oil	24,9	33,8	36,1	43,4	54,8
НБ 0,6 т/га + 10% нефти / NB 0,6 ton/ha + 10% oil	23,6	35,1	37,6	41,0	53,2
НБ 1,2 т/га + 10% нефти / NB 1,2 ton/ha + 10% oil	22,8	39,1	47,8	51,1	54,1
КМД + НБ 0,6 т/га + 10% нефти / CMD + NB 0,6 ton/ha + 10% oil	23,2	40,2	43,4	44,2	57,2
КМД + НБ 1,2 т/га + 10% нефти / CMD + NB 1,2 ton/ha + 10% oil	24,6	39,9	51,1	52,2	60,1

Примечание: КМД – консорциум микроорганизмов-деструкторов; Б – бентонит; НБ – нанобентонит.  
Note: CMD – consortium of microorganisms-destructors; B – bentonite; NB – nanobentonite.

в дозе 12 т/га и нанобентонита в дозе 1,2 т/га содержание УВ на 90 сут уменьшилось практически одинаково (44,4 и 44,2% соответственно). Наиболее эффективно содержание УВ снизилось в вариантах с внесением КМД и бентонита в дозе 12 т/га, а также КМД с НБ в дозе 1,2 т/га – на 53,1 и 54,4% соответственно.

О том, что 5%-ное нефтезагрязнение в меньшей степени ингибирует некоторые физиолого-биохимические параметры растений *P. arundinacea* по сравнению с 10%-ным, отмечено в исследованиях [15].

В почве, при 10% загрязнении нефтью, содержание УВ к концу эксперимента за счёт самоочищения уменьшилось на 32,9% (табл. 2). Если при 5% загрязнении нефтью уже на 30 сут получены высокие показатели снижения содержания УВ, то при увеличении концентрации вносимой нефти только на 45 сут в ряде вариантов наблюдали существенное снижение УВ. На 30 сут содержание УВ уменьшилось при внесении в почву НБ в дозах 0,6 и 1,2 т/га. В почве, при 10% загрязнении нефтью, наибольшее снижение содержания УВ в динамике отмечено при совместном внесении КМД с НБ в дозе 1,2 т/га, что сопоставимо с 5% загрязнением. Применение автохтонной микрофлоры для биоремедиации почвенных экосистем встречается во многих публикациях [16–18].

Следующим этапом исследований стала оценка состояния почвенного микробиоценоза, для которой использовали показатель присутствия УОМ как один из наиболее информативных критериев состояния загрязнённой среды. В контрольной незагрязнённой почве их численность в течение всего эксперимента

находилась в пределах  $(3,0–5,5) \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы. При 5% загрязнении нефтью на 15 сут количество УОМ составило  $10,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г, на 45 сут – увеличилось в 4,5 раза, а к концу эксперимента уменьшилось до  $30,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы. При внесении в загрязнённую почву КМД численность изучаемой группы микроорганизмов на 15 сут была в два раза выше по сравнению с почвой, при 5% загрязнении нефтью. К 45 сут их количество увеличилось в 4,3 раза, достигнув  $86,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы и затем практически не менялось до конца эксперимента. При внесении в почву бентонита в дозах 6 и 12 т/га численность УОМ в этот период была ниже в 1,6 и 1,4 раза соответственно по сравнению с вариантом, где вносили только КМД, но выше в 1,2 и 1,4 раза по сравнению с загрязнённой почвой, что, вероятно, связано с тем, что бентонит не только сорбирует УВ нефти, но и является источником питания для микроорганизмов. На 45 сут их численность составила  $100,0 \cdot 10^3$  и  $121,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы, что выше, чем в варианте с внесением консорциума УОМ в 1,2 и 1,4 раза соответственно. Однако к концу эксперимента их количество снизилось до  $60,0 \cdot 10^3$  и  $70,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы, что немного ниже показателей в варианте с внесением КМД.

Необходимо отметить, что во всех вариантах с добавлением в почву бентонита максимальная численность УОМ была отмечена на 45 сут. Наибольшее увеличение численности по сравнению с контрольными вариантами отмечено при внесении КМД совместно с бентонитом 12 т/га и составило  $160,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы, что в 5,3 раза выше по сравнению с 15 сут. К концу эксперимента численность УОМ

несколько уменьшилась ( $112,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы). При комплексном использовании КМД и бентонита в дозе 6 т/га наблюдали уменьшение численности микроорганизмов-деструкторов в 1,1–1,2 раза, что меньше по сравнению с таковым, где вносили КМД совместно с бентонитом в дозе 12 т/га. Инновационный сорбент влиял на численность УОМ следующим образом. При внесении в почву НБ в дозах 0,6 и 1,2 т/га численность этой группы микроорганизмов на протяжении всего эксперимента была немного ниже по сравнению с вариантами с внесением КМД, а также бентонита в дозах 6 т/га и 12 т/га. Только при внесении НБ (дозы 0,6 и 1,2 т/га) было отмечено резкое увеличение численности к 45 сут в 7,3 и 7,0 раза. В этих же вариантах зафиксировали снижение количества УОМ к 90 сут в 3,2 и 2,6 раза соответственно. При совместном внесении в почву КМД и НБ численность УОМ была выше по сравнению с вариантами, где данные компоненты вносились по отдельности. Наибольшее количество УОМ отмечено на 45 сут в варианте КМД + НБ 1,2 т/га ( $120,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы). Однако по сравнению с вариантами, где вносили КМД с бентонитом, численность была ниже в 1,3–1,5 раза. Это, вероятно, связано со значительно меньшей дозой внесения нанобентонита. Таким образом, при 5% загрязнении нефтью при комплексном внесении в почву КМД и НБ численность микроорганизмов-деструкторов была выше по сравнению с вариантами, где данные компоненты вносились по отдельности.

При 10% загрязнении почвы нефтью численность УОМ на 15 сут была выше в 1,3 раза по сравнению с 5% загрязнением нефтью. Однако к 45 сут их количество увеличилось только в 1,6 раза (до  $20,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы) и было в 2,3 раза ниже, чем при 5% загрязнении. К 90 сут количество УОМ резко уменьшилось (в 5,7 раза). При внесении в нефтезагрязнённую почву КМД их количество на 15 сут увеличилось в 1,6 раза и было сопоставимо с данными при 5% загрязнении почвы. К 45 сут их численность увеличилась в 1,5 раза, а к концу эксперимента упала до  $15,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы. При внесении в почву бентонита в дозах 6 и 12 т/га, как и в предыдущем случае, пик численности УОМ был отмечен на 45 сут, однако эти показатели значительно ниже таковых при 5% загрязнении. В вариантах с комплексным внесением в почву КМД с бентонитом на 15 сут показатели были немного выше, чем при отдельном

внесении каждого из компонентов. Однако на 45 сут их количество увеличилось в 2,0–2,4 раза и превысило показатели численности при отдельном внесении бентонита и КМД. Во всех вариантах с внесением НБ численность УОМ была меньше или аналогичной вариантам с внесением бентонита. На 90 сут отмечено резкое снижение их количества в 3,4 раза в вариантах НБ 0,6 т/га и в 1,9 раза – НБ 1,2 т/га. Максимальную численность наблюдали на 45 сут в варианте КМД с НБ 1,2 т/га ( $45,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г почвы), а к 90 сут отмечали снижение их количества в 3 раза. Сравнивая численность УОМ при различной степени загрязнения нефтью можно констатировать, что большее их количество наблюдается при меньшем загрязнении. Среди исследований, посвящённых микробиоценозу нарушенных почв, отметим работу [19], в которой приводятся данные почвенно-экологического состояния и биологических параметров таких земель, и сообщается, что в результате загрязнения происходит угнетение микробного сообщества.

В оценке экологического состояния почв за комплексный показатель загрязнения почвы принимают фитотоксичность, то есть её свойство подавлять прорастание семян, рост и развитие высших растений [20]. При изучении фитотоксичности серой лесной почвы при 5% и 10% загрязнении нефтью было установлено их разное действие на развитие корней и побегов. Стимулирующее влияние почвенной вытяжки при исследованных уровнях загрязнения на все изучаемые показатели отмечали только в варианте с внесением КМД. Несколько меньшее стимулирование наблюдали в варианте КМД + НБ 1,2 т/га при 5% загрязнении. Во всех опытных вариантах отмечали стимулирующий эффект почвенной вытяжки на морфометрические показатели к 90 сут при 5% загрязнении. При увеличении концентрации до 10% усиливался фитотоксический эффект. При этом стимулирующий эффект был отмечен только в варианте с внесением КМД + НБ 1,2 т/га. Максимальный положительный эффект на биомассу корней и побегов отмечали в варианте с совместным применением КМД и бентонита в дозе 12 т/га при 5% загрязнении нефтью. Подобные исследования о влиянии нефтезагрязнённой почвы на тест-растения приведены в работе [21], где представлен ряд параметров растений пшеницы и гороха по степени их чувствительности: длина корней > биомасса корней > биомасса побегов > длина побегов.

## Заклучение

При сравнении показателей содержания УВ в серой лесной нефтезагрязнённой почве установлено, что высокий процент их утилизации отмечен на 45 сут при использовании по отдельности КМД и бентонита. Применение наносорбента, а также комплексное внесение консорциума с сорбентами в нативной и наноразмерной формах ускоряет этот процесс на 15 сут. Тенденция, отмеченная при 5% загрязнении нефти, сохраняется и при увеличении загрязнения до 10%. Экологотоксикологический анализ нефтезагрязнённой почвы на морфометрические показатели позволил выстроить ряд эффективности вносимых компонентов: КМД > КМД + НБ > КМД + бентонит.

Бентонит и нанобентонит не только сорбируют УВ, но и являются источником минерального питания для автохтонной микрофлоры, улучшая структуру почвы. Нанобентонит при меньшей в 10 раз дозе внесения способствует повышению эффективности очистки загрязнённой почвы по сравнению с бентонитом. Совместное применение КМД и сорбента в нативной и наноразмерной формах позволяет обеспечить скорость деструкции нефтяного загрязнения на более высоком уровне по сравнению с использованием каждого компонента по отдельности.

## References

1. Kireeva N.A., Bakaeva M.D. Reclamation of disturbed land. Ufa: RIO BashGU, 2005. 208 p. (in Russian).
2. Yapparov A.Kh., Degtyareva I.A., Ezhkova A.M., Yapparov I.A., Sharonova N.L., Davletshina A.Ya., Shaydullina I.A. Remediation of oil contaminated dark gray forest soil using nanosorbent and a consortium of native hydrocarbon-oxidizing microorganisms // Oil industry. 2016. No. 1. P. 115–117 (in Russian).
3. Abbasian F., Lockington R., Megharaj M., Naidu R. The biodiversity changes in the microbial population of soils contaminated with crude oil // Current Microbiology. 2016. V. 72. No. 6. P. 663–670. doi: 10.1007/s00284-016-1001-4
4. Desforjes J.W., Sonne C., Levin M., Siebert U., Guise S.D., Dietz R. Immunotoxic effects of environmental pollutants in marine mammals // Environ. Int. 2016. No. 86. P. 126–139.
5. Adgate J.L., Goldstein B.D., McKenzie L.M. Potential public health hazards, exposures and health effects from unconventional natural gas development // Environ Sci Technol. 2014. No. 48. P. 8307–8320.
6. Chandra S., Sharma R., Singh K., Sharma A. Application of bioremediation technology in the environ-

ment contaminated with petroleum hydrocarbon // Ann. Microbiol. 2013. No. 63. P. 417–431. doi: 10.1007/s13213-012-0543-3

7. Costa A.S., Romao L.P., Araujo B.R., Lucas S.C., Maciel S.T., Wisniewski Jr.A., Alexandre M.R. Environmental strategies to remove volatile aromatic fractions (BTEX) from petroleum industry wastewater using biomass // Bioresour. Technol. 2012. No. 105. P. 31–39.

8. Ezhkov V.O., Yapparov A.Kh., Nefedev E.S., Nanostructured minerals: formation, chemical and mineral composition, structure and physico-chemical properties // Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta. 2014. V. 17. No. 11. P. 41–45 (in Russian).

9. Degtyareva I.A., Ezhkova A.M., Yapparov A.K., Yapparov I.A., Ezhkov V.O., Davletshina A.Ya., Motina T.Y., Babynin E.V., Yapparov D.A. Production of nanobentonite and the study of its effect on mutagenesis in bacteria *Salmonella typhimurium* // Nanotechnologies in Russia. 2016. V. 11. No. 9–10. P. 663–670. doi: 10.1134/S1995078016050050

10. Ezhkova A.M., Yapparov A.Kh., Ezhkov V.O., Yapparov I.A., Sharonova N.L., Degtyareva I.A., Khisamutdinov N.Sh., Bikkinina L.M.-Kh. Fabrication of nanoscale bentonite, study of its structure and toxic properties, and determination of safe doses // Nanotechnologies in Russia. 2015. V. 10. No. 1–2. P. 120–127. doi: 10.1134/S1995078015010061

11. Degtyareva I.A., Hidiyatullina A.Ya. Remediation of oil-contaminated soil using microorganisms-destroyers and bentonite // Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta. 2012. V. 15. No. 5. P. 134–136 (in Russian).

12. Method of measuring the mass fraction of petroleum products in soils and bottom sediments by IR spectrometry. MON F 16.1:2.2.22-98. Moskva, 1998. 35 p. (in Russian).

13. Zenova G.M., Stepanov A.L., Likhacheva N.Ah. Practice on soil biology. Moskva: Izdatelstvo Moskovskogo universiteta, 2002. 120 p. (in Russian).

14. Alimova F.K., Zakharova N.G., Egorov Y.S. Methodical instructions to performance of laboratory works on the topic: Ecology of microorganisms. Kazan: KSU Publishing house, 1993. 42 p. (in Russian).

15. Sharapova I.E., Lapteva E.M., Maslova S.P., Tabalenkova G.I., Garabadjiu A.V. Using the integral coefficient of soil biological activity and the phytotoxicity index for accessing phytoremediation of oil-polluted soils // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 2. P. 67–73 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-2-042-067-073

16. Tumanov A.S., Ashikhmina T.Ya., Leshchenko A.A., Pogorelsky I.P., Sharov S.A., Teterin V.V., Lazykin A.G., Filimonova G.V., Ezhov A.V., Permyakov R.G. Bio-preparation with a broad spectrum of bio-degradative activity for soil remediation in the chemical weapons destruction plant “Maradykovsky” // Theoretical and Applied Ecology. 2015. No. 3. P. 61–69 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-3-042-061-069

17. Korshunova T.Yu., Chetverikov S.P., Loginov O.N. Prospects of using a consortium of hydrocarbon oxidizing microorganisms for cleaning oil polluted soil of the extreme north // *Theoretical and Applied Ecology*. 2016. No. 1. P. 88–94 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2016-1-095-097

18. Lazykin A.G., Leshchenko A.A., Ashikhmina T.Ya., Pogorelsky I.P., Darmov I.V., Lundovskikh I.A., Ustyuzhanin I.A., Sharov S.A. Assessment of the possibility of using plant-microbial associations in biotechnology of soil remediation at the facility “Maradykovskiy” // *Theoretical and Applied Ecology*. 2016. No. 4. P. 96–104 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2016-4-096-104

19. Pigareva T.A., Abakumov E.V. Biological parameters of soil and anthropogenic substrates of tailing dumps

of an iron ore mine // *Theoretical and Applied Ecology*. 2015. No. 1. P. 28–33 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2015-1-028-033

20. Kulikova O.A., Terekhova V.A., Mazlova E.A., Nishkevich Yu.A., Kydraliev K.A. Ecotoxicological characteristics of oil-contaminated soils (sludges) after their reagent treatment // *Theoretical and Applied Ecology*. 2019. No. 3. P. 120–126 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-3-120-126

21. Rakhmanova G.F. Agrochemical and biological properties of oil-contaminated gray forest soil in the process of remediation under the action of nanostructured bentonite: Diss. ... candidate of agricultural Sciences: 06.01.04. Kazan, 2019. 205 p. (in Russian).