

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

_____ Т. Г. Волова

« » 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СОРБЕНТОВ СЕРИИ «УНИСОРБ» НА
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕФТЕЗАГРЯЗНЁННОЙ
ПОЧВЫ**

Руководитель _____ проф., д-р биол. наук Прудникова С. В.

Выпускник _____ Туркин К. А.

Красноярск 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1. 1 Проблема загрязнения окружающей среды нефтепродуктами.....	5
1. 2 Вредное воздействие компонентов нефти на биоту.....	6
1. 3 Способы очистки почвы от нефтяных загрязнений.....	8
1. 3. 1 Очистка поверхностных слоёв почвы.....	8
1. 3. 2 Очистка нижних слоёв почвы.....	9
1. 3. 3 Очистка почвы с помощью сорбентов.....	9
1. 4 Ферментативная активность почв.....	10
1. 5 Характеристика почвенных ферментов.....	13
2. 1 Характеристика исследуемых сорбентов.....	18
2. 2 Объект исследования и характеристика района исследования.....	20
2. 3 Метод отбора проб.....	22
2. 4 Метод определения общей численности микроорганизмов.....	23
2. 5 Метод определения инвертазной активности почвы.....	23
2. 6 Метод определения уреазной активности почвы.....	24
3. 1 Численность микроорганизмов в образцах почв с экспериментальной площадки.....	25
3. 2 Влияние сорбентов на уреазную активность почвы.....	27
3. 3 Влияние сорбентов на инвертазную активность почвы.....	28
3. 4 Влияние сорбентов на фитотоксичность исследуемых почв.....	28
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	30
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	31

ВВЕДЕНИЕ

Нефть и нефтепродукты признаны приоритетными загрязнителями окружающей среды. Известно, что при попадании нефтепродуктов в почву происходят глубокие и часто необратимые изменения морфологических, физико-химических, микробиологических свойств почвенного покрова, а иногда и существенная перестройка всего почвенного профиля, что приводит к потере плодородия загрязненных почв [1].

Основными деструкторами нефти в почве являются аэробные хемогетеротрофные микроорганизмы – бактерии, грибы, дрожжи [2]. Однако высокие концентрации загрязнителя угнетают микробную активность и замедляют процессы самоочищения, поэтому необходимо удалять избыток нефтепродуктов доступными методами. На данный момент одним из наиболее перспективных методов ликвидации нефтяных загрязнений является механическая очистка с использованием сорбентов.

Поскольку актуальной экологической задачей является освоение и преобразование природных ресурсов, которое бы не сопровождалось ухудшением состояния окружающей среды, важно понять и оценить, какое влияние оказывают нефтяное загрязнение и ремедиационные мероприятия на почву.

В связи с этим в работе была поставлена **цель** – оценить влияние сорбентов линии «Унисорб» на общую численность микрофлоры и ферментативную активность почвы при очистке от нефтяных загрязнений.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

- оценить влияние сорбентов на общую численность бактерий и микровицетов в нефтезагрязнённой почве и почве без загрязнителя;
- исследовать влияние сорбентов на уреазную и инвертазную активность нефтезагрязнённой почвы и почвы без загрязнителя;
- провести сравнительный анализ показателей общей численности микроорганизмов, ферментативной активности почвы и биомассы растений на

экспериментальных участках с разными типами сорбентов: «Унисорб», «Унисорб-БИО», «Унисорб-Ф»;

Работа выполнялась на базовой кафедре биотехнологии ИФБиТ в рамках хоздоговора №31174 НИЧ СФУ по проекту «Исследование процесса биоразложения полимерных сорбентов «Унисорб», «Унисорб-Био», «Унисорб-Ф» в почвогрунтах»

1 Обзор литературы

1.1 Проблема загрязнения окружающей среды нефтепродуктами

В последние десятилетия XX в. в промышленно развитых странах серьезной стала проблема загрязнения почв и донных осадков. В связи с этим для улучшения качества почв, повышения их плодородия начали разрабатывать процессы ремедиации (от англ. remediation – излечение, исправление, реабилитация) – удаления загрязнений и восстановление multifunctionality природных сред способами, безопасными для экосистем и человека [1].

В двадцать первом веке состояние окружающей среды оставляет желать лучшего. С каждым днём загрязняющих производств становится всё больше. Эта проблема наиболее актуальна в России, поскольку одним из приоритетных направлений развития экономической политики Российской Федерации является экспорт нефтепродуктов, добыча и переработка которых зачастую приводит к вредному воздействию на окружающую среду. Разливы нефти и нефтепродуктов встречаются на различных этапах: производство, транспортировка, переработка, хранение, отпуск, реализация и использование товарных продуктов. Причиной возникновения может быть как несоблюдение технологической дисциплины, так и изношенность используемого оборудования [2].

Возрастающее в городах число автотранспорта приводит к росту количества заправочных станций, что также повышает вероятность возникновения разливов нефтепродуктов и создает опасную ситуацию с точки зрения пожарной и экологической безопасности.

1.2 Вредное воздействие компонентов нефти на биоту

Нефть — природная горючая маслянистая жидкость со специфическим запахом, распространенная в осадочной оболочке Земли, представляющая собой смесь около 1000 индивидуальных веществ, из которых большая часть — жидкие углеводороды и гетероатомные органические соединения (4–5%), преимущественно сернистые (около 250 веществ), азотистые (> 30 веществ) и кислородсодержащие (около 85 веществ), а также металлоорганические соединения (в основном ванадиевые и никелевые).

Минорные компоненты — растворённые углеводородные газы (0,1–4%), вода (0–10%), минеральные соли (0,1–4000 мг/л и более), растворы солей органических кислот и механические примеси (частицы глины, песка, известняка) [3].

Легкая фракция нефти (наиболее подвижная часть) включает низкомолекулярные алканы, нафтены и ароматические углеводороды. Метановые углеводороды, находясь в почвах, водной или воздушной средах, оказывают наркотическое и токсическое действие на живые организмы. Особенно быстро действуют нормальные алканы с короткой углеводородной цепью. Они лучше растворимы в воде, легко проникают в клетки организмов через мембраны, дезорганизуют цитоплазматические мембраны организма. Легкая фракция мигрирует по почвенному профилю и водоносным горизонтам, значительно расширяя ареал первичного загрязнения.

Ароматические углеводороды — наиболее токсичные компоненты нефти: в концентрации всего 1% в воде они убивают все водные растения. Бензол и его гомологи оказывают более быстрое токсическое действие на организм, чем полициклические ароматические углеводороды. Последние действуют медленнее, но более длительное время, являясь хроническими токсинами. В основе практически всех их техногенных источников лежат термические процессы, связанные со сжиганием и переработкой органического сырья: нефтепродуктов, угля, древесины, мусора, пищи, табака

и др. Такие соединения, как бензантрацен, бензапирен и овален, обладают ярко выраженными канцерогенными, мутагенными и тератогенными свойствами.

Еще одна фракция нефти — *парафины* — сама по себе не токсична для живых организмов и в условиях земной поверхности переходят в твердое состояние, лишая нефть подвижности. Твердый парафин очень трудно разрушается, с трудом окисляется на воздухе. Он надолго может «запечатать» все поры почвенного покрова, лишив почву возможности свободного влагообмена и дыхания, что, в конечном счете, приводит к полной деградации биоценоза.

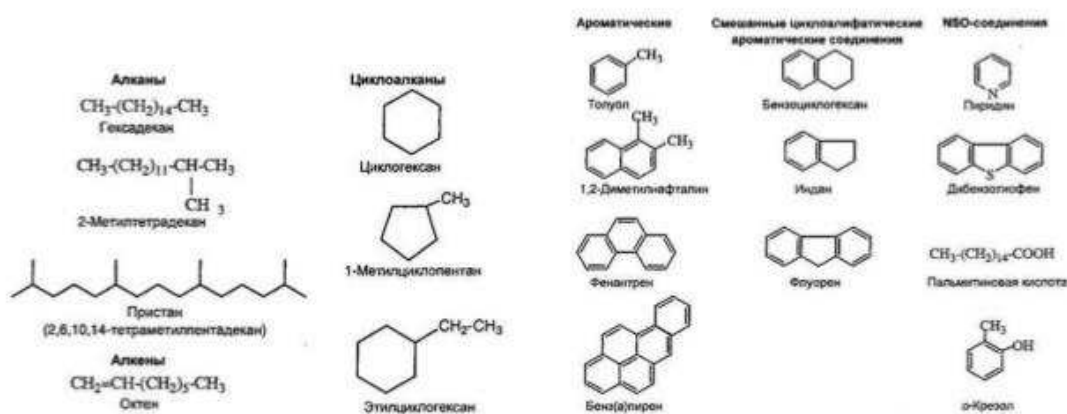


Рисунок 1 – Вещества, входящие в химический состав нефти.

Вредное экологическое влияние смолисто-асфальтеновых компонентов на почвенные экосистемы заключается не в химической токсичности, а в значительном изменении водно-физических свойств почв. Если нефть просачивается сверху, ее смолисто-асфальтеновые компоненты сорбируются в основном в верхнем, гумусовом горизонте иногда прочно цементируя его. При этом уменьшается поровое пространство почв. Обволакивая корни растений, они резко ухудшают поступление к ним влаги, в результате чего растения погибают. Эти вещества малодоступны микроорганизмам, процесс их метаболизма идет очень медленно — иногда десятки лет [4].

1.3 Способы очистки почвы от нефтяных загрязнений

1.3.1 Очистка поверхностных слоёв почвы

Биоремедиация почвы – сложный многостадийный процесс, зависящий от многих факторов: интенсивности загрязнения, типа почвы, погодных и климатических условий и т.д. Согласно научной литературе [4, 5, 6], при очистке поверхностного слоя почвы глубиной до 30 см проводится рыхление загрязненного слоя: на небольших территориях подручными средствами (лопаты, грабли, мотыги), на больших площадях - с помощью трактора с подвесными орудиями (плуги, бороны, культиваторы).

Если территория, подвергшаяся нефтяному загрязнению, имеет небольшую площадь, то её обрабатывают рабочей суспензией биохимического препарата, состоящего из вспомогательных компонентов и живых бактерий, при помощи различных поливочных приспособлений. Если же территория имеет большую площадь, то используют дождевальные установки, брандспойт пожарных или поливочных машин.

Очищаемый слой почвы необходимо обязательно рыхлить и увлажнять не реже двух раз в неделю. Уровень влажности, который необходимо поддерживать в процессе очистки, равен 65-70% полной влагоёмкости. При необходимости можно повторить обработку почвы рабочей суспензией биопрепарата.

В том случае, если отсутствует возможность постоянного рыхления почвы и при дополнительном поступлении загрязнителя на её поверхность, возникает необходимость вносить рабочую суспензию биопрепарата и поддерживать влажность почвы а уровне около 70% её полной влагоёмкости на протяжении всего вегетационного периода при температуре > 10 °С. В таком случае деструкция нефтепродуктов и других загрязнителей производится в слое почвы глубиной 30-50 мм [5].

1.3.2 Очистка нижних слоёв почвы

Биологическую очистку нижних слоёв почвы проводят с учетом рельефа местности и глубины проникновения загрязнителя. При этом прокладывается дренажная траншея или колодец-водоприемник на глубину ниже уровня загрязнения. При сильном загрязнении нефтепродукты поступают в дренажную систему, откуда возникает необходимость их откачивать.

Производят бурение скважин на глубину загрязнения на расстоянии 2-5 м друг от друга по периметру "пятна" и внутри него. На кожухе перфорированных труб, помещаемых внутрь скважин, располагают отверстия для воздуха и водных растворов; верхние части труб снабжают резьбой для подсоединения к компрессору.

Благодаря наличию скважин, появляется возможность для осуществления промывки толщи загрязнённой почвы рабочей суспензией биопрепарата. При этом одновременно в скважины подают сжатый воздух. В дренажной системе промывочные воды дополнительно обрабатывают рабочей суспензией биопрепарата. Окончательную очистку почвенного слоя осуществляют многократным прокачиванием через скважины полученных промывных вод, содержащих биопрепарат с минеральными питательными элементами, и воздуха, подогретого до температуры 25-30 °С.

На конечном этапе промывные воды направляют в специальные емкости для последующей обработки биопрепаратом. Накапливающуюся в дренажной системе водно-нефтяную смесь также направляют в емкости для дальнейшей утилизации [6].

1.3.3 Очистка почвы с помощью сорбентов

Для того, чтобы сделать процесс очистки более безопасным и менее угнетающим по отношению к окружающей среде и с целью снижения

энергоёмкости, в настоящее время большее применение находят сорбенты различного происхождения [7].

Основными преимуществами сорбентов являются: отсутствие токсичности, высокая эффективность очистки, дешевизна, возможность многократного использования, плавучесть, легкость утилизации и возможность использования отходов производства [8].

Существует три основных показателя, по которым определяют качество нефтяных сорбентов: водопоглощение, плавучесть, нефтепоглощение.

При производстве сорбентов применяют разнообразное сырьё: природные (солома, шелуха, опилки) и синтетические (пенополистирол, полипропилен, каучуковая крошка) органические материалы и неорганические материалы (вспененный никель, стекловолокно, перлит) [6].

В настоящее время для ликвидации последствий нефтяных загрязнений самым часто используемым типом сорбентов являются пористые синтетические органические сорбенты, поскольку существует возможность их производства в промышленных масштабах и зачастую они являются отходами производства. Высокая лиофильность и открытая пористая структура этих материалов делает их эффективными нефтепоглопителями. Типичными примерами таких сорбентов являются: карбамидные пенопласты, поролон, полиуретановая пена и её производные и другие [2, 8].

1.4 Ферментативная активность почв

Ферменты играют важную роль в мобилизации элементов почв, поскольку все процессы превращения энергии и вещества в почве осуществляются с их помощью. Синтез и распад гумуса, гидролиз органических соединений, окислительно-восстановительный режим почвы – важные биохимические процессы, направленность и интенсивность которых обуславливается действием ферментов.

Многофакторный и сложный процесс представляет собой формирование и функционирование ферментативной активности почвы. Системно-экологическая концепция гласит, что этот процесс представляет собой единство экологически обусловленных процессов поступления, стабилизации и проявления активности ферментов в почве [9]. Три упомянутые выше этапа определены как элементы продуцирования, иммобилизации и действия ферментов [10].

Ферменты в почве – это продукты метаболизма почвенного биоценоза [11]. Существуют различные противоречивые мнения о том, какие компоненты играют более значительную роль в их накоплении. Некоторые исследователи [12] отдают главенствующую роль в обогащении почвы ферментами корневым выделениям растений. Другие [13] ставят во главу этого процесса почвенных животных. Большинство научной литературы [14, 15, 16, 17, 18] описывает происхождение ферментативного пула почвы от внутриклеточных и внеклеточных ферментов микробного происхождения.

Почвенные энзимы вносят свой вклад в распад микробных, животных и растительных остатков, синтез гумуса, биоремедиацию. Ферментативное влияние заключается в том, что вещества ранее труднодоступные для усвоения переходят в более простую форму, доступную для растений и микроорганизмов. Отличительные особенности ферментов: строгая специфичность, высокая активность, зависимость от различных условий внешней среды. Активность ферментов в почве регулируется главным образом последним названным фактором.

Согласно Д. Г. Звягинцеву [19] ферментативная активность почв складывается из:

1. внеклеточных свободных ферментов;
2. внеклеточных иммобилизованных ферментов;
3. внутриклеточных ферментов мёртвых клеток;
4. внутриклеточных и внеклеточных ферментов, образованных в искусственных условиях эксперимента и не характерных для данной почвы;

Строгая специфичность ферментов проявляется в том, что каждый фермент оказывает воздействие либо на определённое вещество или определённую группу веществ и тип химической связи.

Управление протекающими в почве ферментативными процессами осуществляется благодаря изменениям внутренних и внешних факторов при помощи факторной или аллостерической регуляций [20]. При внесении в почву химических соединений, включая сорбенты и удобрения, возникает аллостерическая регуляция. Факторная регуляция осуществляется под воздействием различных факторов среды, каковыми могут выступать температура, влажность, химический и физический состав, кислотность среды, водно-воздушный режим и другие. Использование других факторов, например, содержание гумуса, биомасса, специфика почвы и другие для описания ферментативной активности почв слишком неоднозначны [18, 19].

Активность энзимов почвы можно использовать в качестве диагностического показателя плодородия, поскольку эта активность имеет взаимосвязь не только с биологическими свойствами почвы, но и с их изменениями под влиянием агроэкологических факторов [21, 22].

Выделение ферментов в почву микроорганизмами происходит в виде адаптивной реакции на присутствие или отсутствие субстрата, на который направлен фермент или продукта реакции. Данное явление хорошо отслеживается с фосфатазами. Если в среде мало подвижного фосфора, то микроорганизмы начинают активно выделять ферменты. На такой корреляции основывается использование величины фосфатазной активности почвы в качестве показателя обеспеченности растений доступным фосфором.

При попадании ферментов извне в почву не происходит их разрушения. Они сохраняются в активном состоянии. Предполагается, что из-за того, что ферменты являются наиболее активным компонентом почвы, они сосредоточены там, где наиболее активно протекает жизнедеятельность микроорганизмов. Таким местом является раздел между почвенными

коллоидами и почвенным раствором. Существуют эксперименты, которые доказывают, что ферменты в почве находятся в твёрдой фазе [16].

Уреаза и инвертаза – это ферменты, которые с течением времени осуществляют трансформацию субстрата [23].

Актуальная биологическая активность – это показатель, который необходимо знать для диагностики состояния почвенных процессов. Её можно определить через какой-то всеобщий процесс, который создаётся всеми микроорганизмами или всей почвенной биотой. Интенсивность подобного процесса возможно измерить в естественных условиях. Подобным интегральным показателем может служить, к примеру, «почвенное дыхание», которое определяется интенсивностью выделения CO_2 или общая численность микроорганизмов [24].

1. 5 Характеристика почвенных ферментов

Очищение и окультуривание земель повышает активность почвенных ферментов, которые в ней содержатся. Вместе с возрастающим уровнем очистки почвы обычно наблюдается рост активности оксидоредуктаз и ферментов азотного и фосфорного обмена. В чистой и окультуренной почве по сравнению со слабокультурной в 3 раза больше активность протеазы, а уреазы и дегидрогеназы в 2 раза [25]. Различные загрязнения и эрозии оказывают воздействие на почвенно-экологические параметры, которые контролируют ферментативное объединение, в худшую сторону, это приводит к снижению энзимной активности почв. Лучше всего это явление отслеживается при рассмотрении протеазной активности почв, которая уменьшается вместе с увеличением степени эродированности.

Исходя из вышеперечисленного, можно сделать вывод о том, что допускается возможность использования относительного уровня ферментативной активности почв в качестве показателя направленности и

интенсивности почвообразовательных процессов в случаях различных антропогенных воздействий и в естественных условиях [24].

Динамика ферментативных процессов сильно варьирует, завися от географического положения и типа почвы. Во время сезона вегетации эта активность значительно изменяется. Самый низкий уровень биологических каталитических реакций почвы обычно фиксируется весной и осенью, самый высокий – в июле и августе. Такого рода показатели отражают уровень биологической активности почв [26].

Согласно некоторым исследованиям, уровень биологической активности в почвах может отражать интенсивность распада растительных остатков. В то же время, повышение уровня ферментативной активности, увеличивает активность биогеоценотической системы [26, 27].

В качестве надёжного показателя, отражающего процессы почвы, как сложной биогеоценотической системы, используется ферментативная активность. К примеру, если в почве наблюдается высокое отношение инвертазы к каталазе, можно сделать вывод о том, что в ней преобладают реакции гидролиза органических соединений [26].

Этот показатель является особенно важным при рекультивации земель, поскольку является объективным биоиндикатором индикатором для выбора метода восстановления нарушенных почв.

Согласно литературе, самыми изученными почвенными ферментами являются гидролазы. Гидролазы – это достаточно обширный класс разнообразных ферментов, осуществляющих реакции гидролиза сложных органических соединений. При этом механизмы действия этих ферментов достаточно различны, поскольку воздействие может осуществляться на разные типы связей: пептидные, глюкозидные, амидные, сложноэфирные и др.

В почве гидролазы разрушают высокомолекулярные органические соединения, обогащая их необходимыми для растений и микроорганизмов питательными веществами. Продуцируют гидролазы специальная функциональная группа микроорганизмов – гидролитики. Предполагается,

что нефтяное загрязнение в значительной степени ингибирует активность гидролитических ферментов [28]. К классу гидролаз относятся ферменты инвертаза и уреазы, уровень активности которых изучался в данной работе, поскольку данный показатель является важным при рассмотрении биологической активности почв [29].

Уреазы – это фермент, регулирующий азотный обмен в почве. Азот, в свою очередь, является важным биогенным элементом, играя ведущую роль в формировании биомассы растений. Последовательные превращения азота в почве происходят при участии гидролитических и окислительно-восстановительных ферментных систем [30].

Загрязнение нефтепродуктами приводит к изменению структуры биоценоза, путём нарушения биологического равновесия почвы, это отражается и на азотном обмене. Ферментативная активность азотного обмена – важный диагностический показатель для определения интенсивности мобилизации почвенного азота [31].

В почве уреазы осуществляют гидролиз мочевины, продуктами такой реакции являются аммиак и углекислый газ. Считается, что высокий уровень нефтяного загрязнения соответствует высокому уровню активности уреазы, а так же росту численности аммонифицирующих микроорганизмов. Имеются данные о прямой зависимости активности уреазы от степени загрязнения почвы [32].

Высокая активность уреазы наблюдается обычно при среднем и иногда значительном загрязнении, сильное и очень сильное загрязнение уменьшает её активность. Подобное явление обнаруживается и на фоне слабого и сильного засоления [33].

Факторами, оказывающими влияние на снижение активности уреазы, могут выступать тип почвы, тип нефти и доза [34].

Наиболее чувствительным показателем по отношению к нефтяному загрязнению и рекультивационным мероприятиям, например, внесению сорбентов, является активность уреазы. Интересным фактом является то, что

в сравнении с другими ферментами, экологические факторы оказывают на уреазу наименьшее влияние. Высокое содержание нефти и избыток солевого компонента в почве – факторы оказывающие влияние на эту активность. Как следствие, можно сделать вывод о том, что уреазная активность – это достоверный биодиагностический показатель нефтяного загрязнения и восстановления функционального состояния загрязнённых почв [35].

Различные углеводороды по-разному влияют на активность уреазы, например, отмечается, что ингибирующий эффект имеют фенол и толуол, а стимулирующий – парафиновые углеводороды. Помимо этого, толуол ингибирует и почвенные бактерии [36].

Инвертаза – гидролитический фермент, катализирующий расщепление сахарозы до глюкозы и фруктозы. Отмечено так же воздействие на другие углеводы, результатом расщепления которых является фруктоза. Фруктоза необходима в почве для катализа фруктозотрансферных реакций и жизнедеятельности микроорганизмов. Отмечается, что активность инвертазы напрямую отражает плодородие и биологическую активность почв. Помимо этого эта активность считается хорошим показателем коррелятивной связи с воздействующими факторами. Так же была обнаружена прямая зависимость между показателем инвертазной активности и численности микроорганизмов, соответственно, можно сделать вывод о том, что большая часть фермента в почве микробного происхождения, значит, отражает процесс ремедиации [37].

При загрязнении почвы нефтью и нефтепродуктами наблюдается снижение активности инвертазы. Исследователями замечено, что при большем нефтяном загрязнении почвы наблюдается меньшая инвертазная активность [38].

Показатель активности инвертазы зависит от концентрации нефтепродуктов в почве, высокие дозы – ингибируют активность, низкие и средние – стимулируют. Снижение активности инвертазы связывают с ингибирующим эффектом загрязнения на целлюлозоразлагающие

микроорганизмы, поскольку вместе со снижением их активности, снижается и содержание в почве дисахаридов [39].

2 Объекты и методы исследования

2.1 Характеристика исследуемых сорбентов

При выполнении данной работы использовались три вида полимерных сорбирующих материалов: «Унисорб», «Унисорб-БИО», «Унисорб-Ф».

«Унисорб» (рис. 2, рис. 3) является универсальным сорбентом. Он создан на основе вспененного карбамида (мочевины) для сбора нефтепродуктов на твёрдых и водных поверхностях. Согласно технологической характеристике, данный сорбент обладает высокой сорбирующей способностью и способен к биоразложению в природных условиях. По заявлению производителя, сорбент «Унисорб» является нетоксичным и непатогенным сорбирующим материалом, не вызывает нарушения экологического равновесия в экосистемах, не оказывает отрицательного воздействия на биотопы различного трофического уровня.

Сорбент «Унисорб-БИО» используется для сбора и разложения нефтепродуктов в природе (вода, почва, грунт). Не требует сбора и утилизации. Имеет в своём составе биопрепарат, благодаря которому разлагает нефтепродукты и разлагается сам. Применение этого сорбента наиболее эффективно в тех случаях, когда использование других методов очистки затруднено или может нанести ещё больший вред окружающей среде, т. к. единственным приемлемым методом в таких случаях является только биodeградация загрязнений, что особенно важно для заболоченных и труднодоступных районов. «Унисорб-БИО» имеет хлопьеобразную структуру, очень легко и быстро впитывает и удерживает большие количества нефти и нефтепродуктов. При использовании он разрыхляет почву, давая доступ воздуху и влаге вглубь почвы. Разлагаясь, насыщает почву азотом и фосфором, стимулируя рост и развитие растений и почвенной микрофлоры, что ускоряет процесс очистки от нефтяных загрязнений.

Сорбент «Унисорб-Ф» представляет собой вспененный карбамид, который быстро производит сорбцию агрессивных соединений. В своём составе имеет наполнитель – шелуха ореха фундук, включения до 15% мелкопомолотых частиц размером 0,1 мм.



а

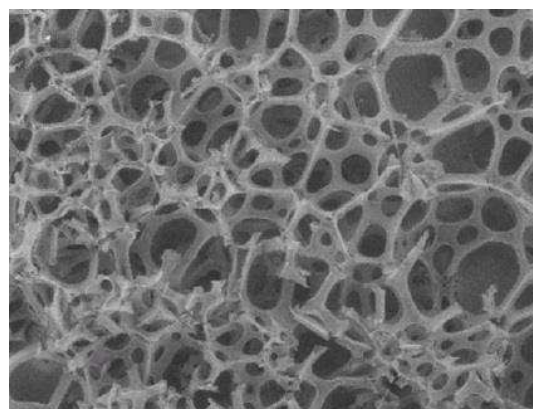


б

Рисунок 2 – Внешний вид сорбента «Унисорб»: а – в упаковке; б – сорбирующий материал. (Источник: официальный сайт научно-производственной фирмы «Экосорб» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ecosorb.su/>, свободный – (12.03.2020).)



а



б

Рисунок 3 – Структура сорбента «Унисорб»: а – внешний вид сорбирующего материала; б – поры сорбента при увеличении в 80 раз. (Источник: официальный сайт научно-производственной фирмы «Экосорб» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ecosorb.su/>, свободный – (12.03.2020).)

2.2 Объект исследования и характеристика района исследования

Объектами исследования в данной работе являлись бактерии и микромицеты, выделенные из почвы экспериментальной площадки, заложенной в черте города Красноярск, район «Ветлужанка».

В работе была исследована общая численность и ферментативная активность микроорганизмов почвы, отобранной с восьми экспериментальных участков: три участка с нефтезагрязнённой почвой, в каждый из которых были внесены различные разновидности сорбента «Унисорб»; три участка условно чистой почвы (без внесения нефти), в каждый из которых аналогично были внесены разновидности сорбента; два контрольных участка без внесения сорбента, в один из которых была добавлена нефть.

Всего было исследовано 56 образцов почвы, отобранных во время 7 плановых заборов образцов.

Экспериментальная площадка представляет собой территорию, разбитую на восемь экспериментальных участков размером 600×600×200 мм, расположенных на горизонтальной поверхности (рис. 4). Между ними, во избежание влияния вносимых загрязнений и сорбентов в почвогрунты, принято расстояние 250 мм в рядах, между рядами расстояние равно 700 мм.

Каждый экспериментальный участок содержал почвогрунт общей массой 49кг.

Экспериментальные участки были пронумерованы согласно схеме заложения натурного эксперимента от 1 до 8 (табл. 1).

В участки 1 – 4 была внесена нефть массой 5,879 кг в каждый, что в процентном содержании в почвогрунте всех участков составило 12%.

Площадки 5 – 8 содержат чистый грунт. Масса сорбента в участках составила 0,125 кг.



а



б

Рисунок 4 – Внешний вид экспериментального участка:

а – ячейка экспериментального участка, освобождённая от почвогрунта; б – ячейка экспериментального участка с почвогрунтом.

Посевы семян кресс-салата «Дукат» и гороха были произведены по истечении двух недель после внесения нефти в почвогрунты.

Таблица 1 – Схема заложения натурального эксперимента

1. Нефтезагрязнённый грунт Кресс-салат Дукат + горох	5. Чистый грунт Кресс-салат Дукат + горох
2. Нефтезагрязнённый грунт + Унисорб-БИО Кресс-салат Дукат + горох	6. Чистый грунт + Унисорб-Ф Кресс-салат Дукат + горох
3. Нефтезагрязнённый грунт + Унисорб Кресс-салат Дукат + горох	7. Чистый грунт + Унисорб Кресс-салат Дукат
4. Нефтезагрязнённый грунт + Унисорб-Ф Кресс-салат Дукат + горох	8. Чистый грунт + Унисорб-БИО Кресс-салат Дукат + горох

Закладка эксперимента производилась 12 мая 2019 года. Отбор проб почвы для посева на общую численность микроорганизмов и определения ферментативной активности проводился в течении вегетационного периода 2019 года, с мая по октябрь, согласно графику (табл. 2). Сбор биомассы с участков производился в конце эксперимента 04 октября 2019 года.

Таблица 2 – График отбора образцов почвы с экспериментальных участков

№	Дата отбора
1	29 мая 2019 года
2	11 июня 2019 года
3	26 июня 2019 года
4	17 июля 2019 года
5	7 августа 2019 года
6	6 сентября 2019 года
7	4 октября 2019 года

2.3 Метод отбора проб

Отбор образцов почвы проводился согласно общим требованиям [40]. Отбор производили в чистые герметичные плотные полиэтиленовые пакеты с застежкой асептически, используя стерильный шпатель, чтобы избежать вторичной контаминации (рис. 5). Для получения сравнительных результатов пробы незагрязненных и загрязнённых почв отбирали в идентичных естественных условиях.



Рисунок 5 – Образцы почвы в полиэтиленовых пакетах с застёжкой.

Для исследования отбирался смешанный образец из пяти точек (метод конверта) каждого экспериментального участка. Отбор производился из верхнего слоя почвы 0-5 см. Отобранные пробы сразу нумеровались в соответствии с номером экспериментального участка с пометкой даты проведения отбора и фамилии исследователя. Пробы после отбора в течение двух часов были транспортированы в лабораторию. Хранение проб производилось при температуре + 4°C не более двух суток.

2.4 Метод определения общей численности микроорганизмов

Для определения общей численности микроорганизмов использовался метод высева микроорганизмов на плотные питательные среды из почвы [41]. Общую численность микроорганизмов определяли на мясопептонном агаре, для выделения микромицетов использовали среду Сабуро.

После высева чашки поместили в термостат с температурой 30 °C для бактерий и 25 °C для микромицетов. Подсчёт колоний производили на 5-7 день культивирования.

2.5 Метод определения инвертазной активности почвы

Исследуемые образцы почвы высушивали до воздушно-сухого веса. Для исследования брали 5 г образца, к которому в колбе добавляли 5 мл 20 % сахарозы и 5 мл ацетатного буфера. После чего ставили в термостат на 3 часа при температуре 37 °C. После извлекали колбу из термостата и добавляли 40 мл воды при температуре 40 °C, фильтровали раствор.

От полученного фильтрата брали 10 мл и вносили в мерную колбу на 50 мл. В эту же колбу добавляли 4 мл медного реактива (50 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, растворённого в 500 мл воды смешанного в соотношении 1:25 с раствором

состоящим из 25 г сегнетовой соли, 20 г NaHCO_3 , 200 г Na_2SO_4 , доведённого водой до объема 1 л).

Полученный раствор кипятили на водяной бане в течение 25 минут, затем быстро охлаждали водопроводной водой, добавляли 2 мл 0,2М Na_2HPO_4 и 5 мл молибденового раствора (5% раствор молибдата аммония смешанный в пропорции 1:1 с 200 мл H_2SO_4 , растворённого в 800 мл воды), после взбалтывали колбу и оставляли на час. Через час доливали в раствор воду до объема 50 мл и колориметрировали в 1 см кювете при длине волны 620 нм [42].

2.6 Метод определения уреазной активности почвы

В колбу вносили 5 г исследуемой воздушно-сухой почвы, приливали 20 мл 2 % раствора мочевины в фосфатном буфере и 200 мкл толуола. Колбы плотно закрывали и помещали в термостат на 4 часа при температуре 37 °С.

После экспозиции приливали по 1 мл 50% раствора трихлоруксусной кислоты. Для вытеснения из почвы поглощённого аммиака добавляли по 50 мл 1М раствора хлористого калия. Содержимое колб фильтровали, 2 мл фильтрата помещали в колбы объёмом 50 мл, разводили водой до 30 мл, затем приливали по 2 мл 50 % раствора сегнетовой соли и по 2 мл реактива Несслера. Колбы доливали водой до метки, перемешивали и окрашенный раствор колориметрировали при длине волны 400 нм.

Содержание аммиака в фильтрате рассчитывали по стандартной кривой с использованием серии разведений стандартного раствора (NH_4Cl в концентрации 0,005 мг N- NH_4 в 1 мл) [42].

3 Результаты исследования

3.1 Численность микроорганизмов в образцах почв с экспериментальной площадки

Исследование общей численности микроорганизмов образцов почвы с участков экспериментальной площадки показало, что на протяжении проведения исследований общая численность бактерий и микромицетов варьировала. Подсчёт бактерий производился по разведению 10^{-6} , микромицетов – 10^{-2} .

Результаты исследования общей численности бактерий контрольных образцов (чистая и нефтезагрязнённая почва без внесения сорбентов) показаны на рисунке 6.

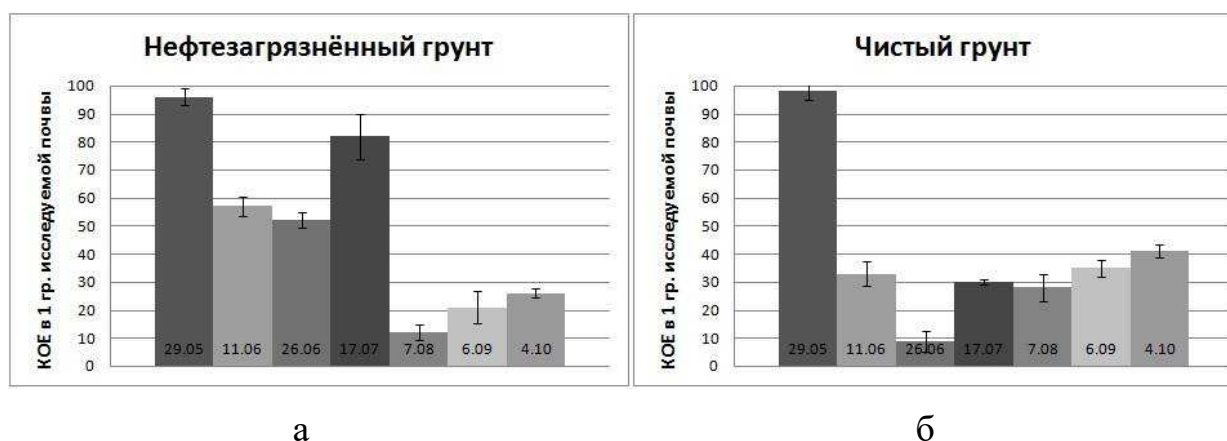


Рисунок 6 – Общая численность бактерий на контрольных участках:
а – нефтезагрязнённый грунт; б – чистый грунт.

Сравнивая образцы чистого и нефтезагрязнённого грунта, можно отметить, что в первые два месяца внесение нефти в почву оказывает стимулирующий эффект, так как она используется бактериями в качестве дополнительного субстрата [43].

В дальнейшем этот эффект заменяется на обратный, что может быть связано с образованием токсичных для микроорганизмов соединений при трансформации углеводов нефти [44].

Если рассматривать общую численность микромицетов в контрольных образцах (рис. 7), то можно заметить, что подобного стимулирующего эффекта на ранних этапах не наблюдается.

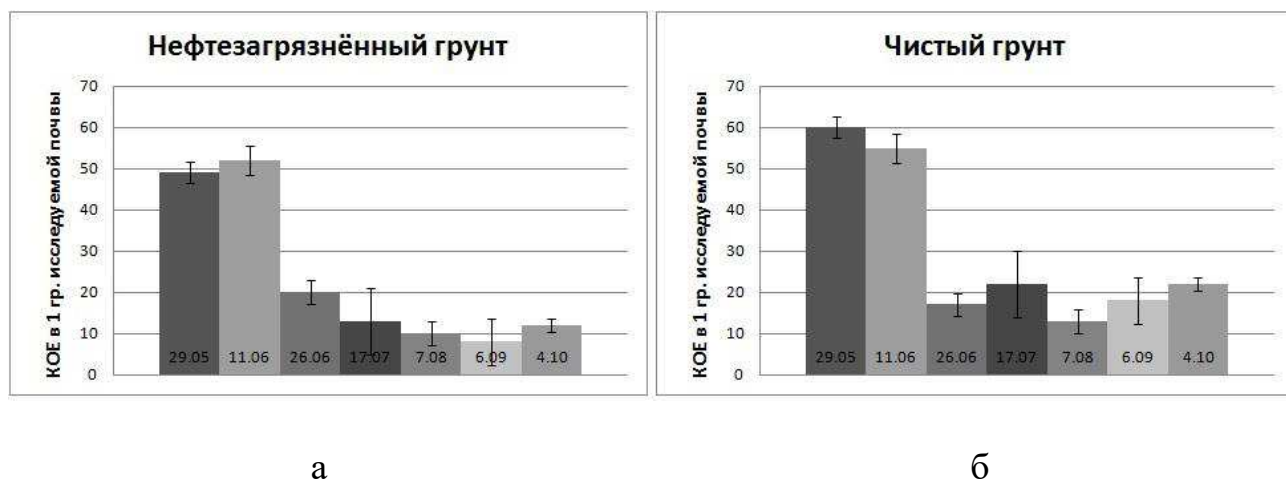


Рисунок 7 – Общая численность микромицетов на контрольных участках: а – нефтезагрязнённый грунт; б – чистый грунт.

Численность микроскопических грибов в образцах почвы с внесением нефти и в чистом грунте не имела достоверных отличий. Значения находились приблизительно на одном уровне в пределах ошибки. На основании полученных результатов, можно сделать вывод о том, что внесение нефти в почву в использованной концентрации не оказывает существенного влияния на популяцию микромицетов. Такую высокую устойчивость микромицетов к техногенным загрязнениям можно связать с их мощной ферментативной системой и активным спорообразованием, в результате чего возникает эффективная адаптация к условиям нефтяного загрязнения [45, 46].

Анализируя полученные результаты, можно заметить, что во всех образцах почвы с внесением сорбента численность бактерий и микромицетов

была выше, чем на контрольных участках. Это говорит о том, что вещества, входящие в состав сорбентов оказывают благоприятное влияние на почвенную микрофлору и стимулируют её рост. Также, опираясь на полученные данные, можно говорить о том, что внесение сорбирующих материалов благоприятно сказывается на процессе ремедиации нефтезагрязнённой почвы. Этот вывод следует из того, что средняя численность микроорганизмов на протяжении всего эксперимента в образцах с сорбентами была выше, чем в его отсутствие.

3. 2 Влияние сорбентов на уреазную активность почвы

Как отмечается в литературе [47], ферментативная активность почвы может выступать в качестве интегрального показателя, отражающего потенциальную активность почвенных микроорганизмов. Это связано с тем, что процессы разложения органических веществ в почве происходят благодаря деятельности эндо- и экзоферментными системами, т. е. имеют биокаталитический характер.

Воздействие нефти на ферментативную активность почвы может быть прямым и косвенным. Прямое воздействие может быть как ингибирующим, так и стимулирующим, а косвенное связано со стимуляцией или подавлением роста почвенной микрофлоры.

В результате исследования уреазной активности почвы с контрольных участков (с добавлением нефти и без), в которые не было произведено внесение сорбентов, было отмечено, что существует прямая зависимость активности фермента от степени загрязнения. Внесение в почву нефти концентрацией 12% значительно снизила уреазную активность в сравнение с активностью чистого почвогрунта, особенно в начале эксперимента (рис. 10).

Поскольку уреазы является одним из важнейших ферментов азотного обмена и показателем интенсивности процессов мобилизации почвенного азота, можно говорить о том, что попадание в почву нефти и продуктов её

переработки оказывает негативное влияние на все почвенные процессы, в том числе и ремедиацию.

3.3 Влияние сорбентов на инвертазную активность почвы

Известно, что инвертазная активность почвогрунта может служить показателем плодородия и биологической активности [44].

При исследовании инвертазной активности в динамике на чистых почвогрунтах (рис. 12) были отмечены флуктуации, которые, вероятнее всего, обуславливались сезонным поступлением растительных остатков в почву и активизацией деятельности гидролитиков, которые используют сложные углеводы. Схожая тенденция отмечалась при использовании всех типов сорбентов. Распределение активности оказалось следующим: наибольшие показатели были отмечены в августе, близкие к ним значения - в середине июля и в начале сентября. Анализируя полученные данные исследования чистых почвогрунтов с внесением сорбента и без него, можно говорить о том, что в эксперименте не наблюдалось существенного влияния сорбентов на инвертазную активность, её динамика подчинялась природным закономерностям [48].

3.4 Влияние сорбентов на фитотоксичность исследуемых почв

Известно, что наличие в почве легких фракций нефти оказывает гербицидное действие, что сопровождается усилением её фитотоксичности [53].

Посев растений на экспериментальной площадке показал, что нефтезагрязнённые почвогрунты обладают высокой фитотоксичностью. В течение всего вегетационного периода роста какой-либо растительности на

загрязнённом участке не наблюдалось, как в контрольном участке, так и в присутствии всех типов сорбентов (рис. 13).



Рисунок 13 – Фото растительности на экспериментальной площадке
(от 17.07.2019 г.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Исследование микрофлоры контрольных участков почвы показало, что добавление нефти в количестве 12 вес.% увеличивало общую численность бактерий в течение первых 7 недель и не оказывало значимого влияния на численность микромицетов.
2. В нефтезагрязнённой почве внесение сорбента «Унисорб» достоверно не изменяло численность микроорганизмов; «Унисорб-Ф» и «Унисорб-БИО» увеличивали численность бактерий в 1,3-8,0 раз по сравнению с почвой без сорбентов; также при внесении сорбента «Унисорб-БИО», как в чистой, так и загрязненной почве, численность микроорганизмов была сопоставима.
3. Анализ ферментативной активности почвы показал, что внесение сорбентов не оказывало значительного влияния на показатели инвертазной активности в чистой почве, тогда как в нефтезагрязнённой почве был отмечен стимулирующий эффект и восстановление естественной динамики инвертазной активности.
4. Использование всех сорбентов серии «Унисорб» повышало уреазную активность нефтезагрязнённых почв. Самая высокая уреазная активность отмечена при внесении сорбента «Унисорб-БИО» (4,2 мг N-NH₄ на 1 г почвы), который наиболее эффективно стимулировал азотный метаболизм в почве.
5. Сорбенты не проявляли фитотоксичности и стимулировали развитие надземных частей растений, увеличивая показатели биомассы в 1,9-2,2 раза в сравнение с контрольным участком.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Кузнецов, А. Е. Научные основы экобиотехнологии: учебное пособие для студентов / А. Е. Кузнецов, Н. Б. Градова – М.: Мир, 2006. – 8-10 с.
2. Сорбент для очистки почвы от нефтепродуктов: пат. 2318592 Рос. Федерация: МПК В01J 20/24 В. В. Чаков; заявитель и патентообладатель В. В. Чаков. - № 2006142599/15; заявл. 01.12.06; опубл. 10.03.08, Бюл. № 7. – 3 с.
3. «Состав нефти и классификация»// *Сайт нефтеперерабатывающей установки класса МНПУ* — [URL <https://moluch.ru/archive/133/37456/>] (дата обращения: 15.12.2019).].
4. Иваненко, Н.В. Экологическая токсикология. Учебное пособие. Владивосток: Изд-во ВГУЭС, 2006. – 108 с.
5. ВРД 39-1.13-056-2002 Технология очистки различных сред и поверхностей, загрязненных углеводородами. – Москва, 2002.
6. Куликова, И. Ю. Микробиологические способы ликвидации последствий аварийных разливов нефти в море / И. Ю. Куликова, И. С. Держинская // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. — 2008. — Вып. 5. — С. 24–29.
7. In Situ Bioremediation. When does it work?//Committee on In Situ Bioremediation – National Academy Press, Washington, D.C., 1993.
8. Mnif, S., et al. Simultaneous hydrocarbon biodegradation and biosurfactant production by oilfield-selected bacteria. // J.Appl. Microbiol. – 2011, 111, 434–436.
9. Каменщиков, Ф.А., Богомольный, Е.И. Удаление нефтепродуктов с водной поверхности и грунта. М. – Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2006. 528 с
10. Хазиев, Ф.Х. Ферментативная активность почв – М., 1976 – 179 с.;

11. Козлов, К.А. Ферментативная активность почв как показатель биологической активности // Докл. сиб. почвоведов VIII Междунар. почвенному конгрессу. Новосибирск, 1964 - С. 96-106;
12. Красильников, Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. М.: Наука, 1958 – 456 с.;
13. Кацнельсон, Р.С., Ершов В.В. Исследование микрофлоры целинных и окультуренных почв Карельской АССР // Биологическая активность почв КАССР / Микробиология. 1958 – 90 с.;
14. Галстян, А.Ш. Некоторые вопросы почвенной ферментологии / Тезисы докл. симп. «Ферменты почв», 1968, янв. – Минск, 1968 – 55 с.;
15. Пейве, Я.В. Биохимия почв / Я. В. Пейве. - М.: Сельхозгиз, 1961 – 422 с.;
16. Звягинцев, Д.Г. Имобилизованные ферменты в почвах // Микробные метаболиты. М.: Изд-во МГУ, 1979 – 215 с.;
17. Hoffmann, G. Verteilung und Herkunft einiger Enzyme im Boden // Z. Pflanzenernahr. Dung. Bodenkunde, 1959 p. 97–104;
18. Kiss, S., Dragan-Bularda M., Pasca D. Enzymology of technogenic soils. Cluj, 1993 - V. 42. - P. 229-278;
19. Галстян, А.Ш. Ферментативная активность почв Армении. Ереван: Айастан, 1974 – 185 с.;
20. Галстян, А.Ш. Унификация методов определения ферментативной активности почв. Почвоведение, 1978 - №2. - С. 107-114;
21. Галстян, А.Ш. Влияние температуры на активность ферментов почвы / Доклад АН Арм.ССР, 1965 - т. 40 - № 3 – С. 177-181;
22. Чундерова, А. И. Биохимическая деятельность микрофлоры и плодородие почвы // Агрономическая микробиология: научные труды ВАСХНИЛ. Ленинград: Колос, 1976 - С. 47-82;
23. Звягинцев, Д.Г. Биология почв и их диагностика / Проблемы и методы биологической диагностики и индикации почв / М.: Наука, 1976 – 216 с.;

24. Кондакова, Г.В. Биоиндикация. Микробиологические показатели: учеб. пособие; Яросл. гос. ун-т. – Ярославль: ЯрГУ, 2007 – 135 с.;
25. Тульская, Е.М. Специфика иммобилизованных ферментов почв. / Е.М. Тульская, Д.Г. Звягинцева. -М.: Изд-во МГУ, 1986 – 248 с.;
26. Напрасникова, Е.В. Функциональный аспект антропогенных ландшафтов / Е.В. Напрасникова, С.С. Дубынина // Институт географии им. В.Б. Сочавы Со РАН, г. Иркутск, 2006 - № 3. — С. 162-166;
27. Узбек, И. Х. Целлюлозоразрушающие микроорганизмы как компонент биологического фактора почвообразования / И. Х. Узбек // Экология та ноосферология, 2006 – С. 11-16;
28. Киреева, Н.А., Новосёлова Е.И. Влияние нефтепродуктов на биологическую активность серой лесной почвы // II съезд общества почвоведов: Тез. докл. С.- Петербург. 1996. Кн. 1. С. 261.
29. Звягинцев Д.Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых ее показателей / Почвоведение, 1978 - № 2. С. - 106-113;
30. Купревич В.Ф., Щербакова Т.А. Почвенная энзимология. Минск: Наука и техника, 1966. 275 с.
31. Хазиев, Ф.Х. Почвенные ферменты. М.: Знание, 1972. 32 с.
32. Медведева, Е.И. Биологическая активность нефтезагрязнённых почв в условиях Среднего Поволжья: Автореф. дис. канд. биол. наук. Тольятти. 2002. 18 с.
33. Габбасова, И.М. Деградация и рекультивация почв Южного Приуралья. Автореф. дис. докт. биол. наук. Москва. 2001. 45 с.
34. Сафонникова С.М., Магжанова С.А., Яхина М.Р., Максимова Г.Ф., Ларина Е.А. Санитарногигиенические аспекты загрязнения почвы города крупным нефтехимическим комплексом // Гигиена произв. и окруж. среды, охрана здоровья рабочих в нефтегазодобыв. и нефтехим. пром-ти: Тр. Моск. НИИ гигиены. М. 1992. С. 128-132.
35. Киреева Н.А., Водопьянов В.В., Мифтахова А.М. Биологическая активность нефтезагрязнённых почв. Уфа: Гилем, 2001. 376 с.

36. Gonzales G. S., Perez M. M., Fuente Marcos M. A. Actividad ureasica y poblaciones microbianas: efecto del tolueno // An edafol. y agrobiol. 1982. V.41. № 11-12. P. 2345-2355.
37. Козлов, К.А. Ферментативная активность почв как показатель биологической активности // Докл. сиб. почвоведов VIII Междунар. почвенному конгрессу. Новосибирск, 1964 - С. 96-106;
38. Popa, A. Inductia enzimatica in sol ca test ecotoxicologic pentru poluanti anorganici si organici // Stud. Univ. Babes-Bolyai. Biol. 2000. № 45 (1). P. 129-138.
39. Kandeler E., Kampichler C., Horak O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities // Biol. Fert. Soils. 1994. V. 23. P. 299-306.
40. ГОСТ 17.4.3.01-83 Охрана природы (ССОП). Почвы. Общие требования к отбору проб
41. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии/А.И. Нетрусов, М.А. Егорова и др.; под ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2005. 608 с.
42. Хазиев, Ф.Х. Методы почвенной энзимологии / Ф.Х. Хазиев; Ин-т биологии Уфим. НЦ.-М.:Наука, 2005 – 252 с.;
43. Розанова, Е.П. Углеродородокисляющие бактерии и их активность в нефтяных пластах. / Е.П. Розанова, Т.Н. Назина // Микробиология. 1982. Т. 51.
44. Zobell, C.E. Bacterial Release of Oil From Sedimentary Materias / Oil and Gaz J.-Vol.43.2000g -№ 13. –P. 62-65
45. Nichols, T. D. Rhizosphere microbial populations in contaminated soils/ Nichols T. D., Wolf D.C., Rogers H.B., Beyrouty C.A., Reynolos C.M.// Water, Air, and Soil Pollution. 1997. - №95. - P.153-164.
46. Lee, E. Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: a microbial study/ Lee E., Banks M.K // J. Environ. Sci. and Health. 1993. - V.28, №10. - P.2195-2198.

47. Новосёлова, Е.И. Ферментативная активность почв в условиях нефтяного загрязнения и её биодиагностическое значение / Е. И. Новосёлова, Н.А. Киреева //Теоретическая и прикладная экология. - 2009. - № 2. - С. 4-12.
48. Швакова, Э. В. Использование показателей ферментативной активности почв в почвенно-экологическом мониторинге / Э.В Швакова. //Потенциал современной науки. - 2015. - №. 4. - С. 62-66.
49. Buckley, E. N. Characterization of microbial isolates from an estuarine ecosystem: relationship of hydrocarbon utilization to ambient hydrocarbon concentrations / E.N. Buckley, R.B. Jonas, F.K. Pfaender //Applied and Environmental Microbiology, 1976. – Т. 32. – №. 2. – С. 232-237.
50. Каримуллин, Л. К. Биохимическая активность дерново-подзолистых почв в условиях нефтяного загрязнения / Л. К. Каримуллин, А.М. Петров, А.А. Вершинин //Устойчивое развитие регионов: опыт, проблемы, перспективы. – Казань, 2017. - С. 296-300.
51. Исмаилов, Н.М. Микробиология и ферментативная активность нефтезагрязнённых почв // Восстановление нефтезагрязнённых почвенных экосистем. М.: Наука, 1988. С. 42-57.
52. Селявкин, С. Н. Оценка биологического состояния почвы по микробиологической и ферментативной активности. / С. Н. Селявкин, О. Б. Мараева, А.Л. Лукин // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. - 2015 - №2 - С. 36-39.
53. Синдирева, А. В. Оценка фитотоксичности почвы, загрязненной нефтепродуктами. /А.В. Синдирева, С.Б. Ловинецкая //Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). - 2017. - № 1. - С. 116-121.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

/ Заведующий кафедрой


 Т. Г. Волова

«16» 06 2020 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 Биология

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СОРБЕНТОВ СЕРИИ «УНИСОРБ» НА
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ НЕФТЕЗАГРЯЗНЁННОЙ
ПОЧВЫ

Руководитель  проф., д-р биол. наук Прудникова С. В.

Выпускник  Туркин К. А.

Красноярск 2020