

УДК 565.14

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕКУЛЬТИВАЦИЯ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ  
ОТРАБОТАННЫМ МАШИНЫМ МАСЛОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ  
ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ EISENIA ANDREI И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО  
ПРЕПАРАТА «БАЙКАЛ-ЭМ»**

**Чачина С.Б.**

*ГОУ ВПО Омский государственный технический университет, Омск, e-mail: ksb3@yandex.ru*

Проведена оценка выживаемости дождевых червей в почве, загрязненной отработанным машинным маслом в количестве 20–100 г/кг в течение четырех месяцев и изучена эффективность биоремедиации маслосодержащей почвы при использовании дождевых червей *Eisenia andrei* в присутствии микробиологического препарата Байкал-ЭМ. Высокие показатели разложения отработанного масла отмечены в присутствии червей *E. andrei*. Причем содержание масла в почве в этом случае снижалось на 60–90%. При содержании масла в почве в количестве 60–100 г/кг и введении в почву калифорнийских червей (*Eisenia andrei*) – в 12 раз. При внесении микробиологического препарата, содержащего бактерии, дрожжевые клетки и грибы, в дополнение калифорнийским червям, содержание масла в почве снижалось в 58 раз и составило 1,1 г/кг, т.е. эффективность рекультивации почвы в этом случае составляет 99,9%.

**Ключевые слова:** загрязнение почвы, отработанное масло, дождевые черви, калифорнийский червь *Eisenia andrei*, биологическая рекультивация

**BIOLOGICAL RECULTIVATION OF SOILS POLLUTED WITH SPENT  
ENGINE OIL USING THE EARTHWORM EISENIA ANDREI  
AND MICROBIOLOGICAL PREPARATION «BAIKAL-EM»**

**Chachina S.B.**

*GOU VPO «Omsk state technical University», Omsk, e-mail: ksb3@yandex.ru*

Evaluated survival of earthworms in soil contaminated with spent lubricating oil in the amount of 20–100 g/kg for four months and studied the effectiveness of bioremediation massagrande the soil using the earthworm *Eisenia andrei* in the presence of microbial drug Baikal EM. High rates of decomposition of waste oil observed in the presence of earthworms *E. andrei*. Moreover, the oil content in the soil in this case was reduced by 60–90%. When the content of oil in soil in amounts of 60–100 g/kg and the introduction in the soil of Californian worms (*Eisenia andrei*) – 12 times. When making microbial product containing bacteria, yeast cells and fungi, in addition Californian worms, the oil content in the soil decreased in 58 times and amounted to 1,1 g/kg, i.e. the effectiveness of remediation in this case is 99,9%.

**Keywords:** soil pollution, waste oil, earthworms, California worm *Eisenia andrei*, biological recultivation

Дождевые черви могут ускорить процесс удаления загрязняющих веществ из почвы. Дождевые черви изменяют физические и химические свойства почвы, смешивая ее с органическим веществом, они улучшают аэрацию и делают загрязняющие вещества доступными для микроорганизмов. Присутствие дождевых червей в загрязненной почве указывают на то, что они могут выжить в широком спектре различных органических загрязнителей, таких, как полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), полихлорированные бифенилы (ПХБ), и нефть. [1].

Установлено, что дождевые черви могут сохранять жизнеспособность при высокой концентрации загрязняющих веществ. Например, *E. fetida* выжил в почве, загрязненной нефтью 3500 мг/кг [2], а *E. andrei* при концентрации карбендазима 100 мг/кг, поэтому они могут быть использованы для ремедиации загрязненных почв, хотя выживание их зависит от продолжительности экспозиции, и метаболизма [3, 4]. 6. Natal-

Da-Luz, 2012 сообщили о выживании червей в загрязненной почве, но о снижении их биомассы [5]. Удаление полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в почве отмечено в большинстве исследований и выживаемость дождевых червей не изменилась даже при высоких концентрациях загрязняющих веществ (< 100 мг/кг). В эксперименте отмечена высокая выживаемость червей *E. andrei* (87,5%), но снижение веса на 17,3% по сравнению с начальным весом дождевых червей.

Исследования показали, что внесение органического материала оказывало положительное влияние на выживаемость дождевых червей в загрязненных почвах, но отмечено снижение веса дождевых червей. Buch et al., 2013 отметил 90% выживаемость *Eisenia andrei* при концентрации карбендазима в почве от 1 до 100 мг/кг и снижение веса на 60% без добавления органического вещества [6].

Цель исследования: Оценка способности дождевых червей к ремедиации почв,

загрязненных отработанным машинным маслом.

Нашей задачей является установление максимальной концентрации масел в почве, при которой сохраняется жизнедеятельность дождевых червей и сроки полной очистки почвы от нефтепродуктов.

### Материалы и методы исследования

#### Тест-субстрат

Тест субстратом для трех экспериментов была луговая почва стерильна для лабораторных испытаний «Питательный грунт Живая Земля (Terra Vita) Универсальный» Содержание гумуса 46%, pH 5,9-6,0 и емкость поглощения 28–40 мг-экв на 100 г почвы; азот ( $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$ ) – 150 мг/л, фосфор ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) – 270 мг/л, калий ( $\text{K}_2\text{O}$ ) – 300 мг/л. Почва была загрязнена в эксперименте отработанным машинным маслом (начальные концентрации: 20 г/кг, конечные – 100 г/кг).

#### Виды дождевых червей

##### Калифорнийский червь *Eisenia andrei*

Красные калифорнийские черви способны переработать любую органику (навоз, кухонные отходы, осадки сточных вод, прошлогодняя листва, бумага и многое другое), очень быстро размножаются (в 100 раз быстрее, чем другие виды) и в 4 раза дольше живут по сравнению с дикими червями. Средняя масса червей составляла 0,5-0,9 гр.

#### Микробиологический препарат

В качестве источника молочнокислых, азотфиксирующих и фотосинтезирующих бактерий использовали биопрепарат «Байкал – Эм» (Изготовлен ООО «НПО ЭМ-Центр», Россия) (Номер государственной регистрации 226-19,156-1) в количестве 5 мл на 1 кг субстрата при уровне загрязнения нефтепродуктами выше 50 г/кг почвы. Биопрепарат содержит большое количество анабиотических микроорганизмов, обитающих в почве: молочнокислые, азотфиксирующие, нитрифицирующие бактерии, актиномицеты, дрожжи и ферментирующие грибы.

#### Методики анализа содержания в почве нефтепродуктов и органических веществ

Отбор проб почвы для анализа содержания нефтепродуктов и органических веществ проводили по ГОСТ 28168, ГОСТ 17.4.3.01 и ГОСТ 17.4.4.02. Почву размалывали в ступке. Из размолотой почвы отбирали пробу массой 3 – 5 г и дополнительно измельчали до размера частиц менее 0,3 мм и просеивали через сито с размерами ячеек 0,25 мм. Для определения содержания нефти или нефтепродуктов в почве была использована методика, предложенная институтом экспериментальной метрологии (ссылка). Данный метод основан на экстракции нефтепродуктов из почвы четыреххлористым углеродом с одновременной очисткой элюатов на окиси алюминия в хроматографической колонке. Концентрацию нефтепродуктов в элюате определяли методом ИК-спектрофотометрии на анализаторе нефтепродуктов ИКН-025 при длине волны 3,4 мкм.

#### Протоколы испытаний

Исследования проводились в течение 4 месяцев. В полипропиленовые сосуды, объемом 2 литра, на дно укладывали дренаж. Затем засыпали слой почвы толщиной 15 см (1 кг). В каждый вариант вносили по 10 половозрелых червей в каждый сосуд и поливали дистиллированной водой 1 раз в неделю по 100 мл. Червей подкармливали свежим тертым кар-

тофелем 1 раз в неделю по 5 гр. и увлажняли почву 2 раза в неделю по 100 мл дистиллированной воды. Разбор червей проводили через 14 дней вручную послойно. Червей инкубировали при температуре + 15°C в течение 4 месяцев. Процесс контролировали по следующим показателям: численность общая, численность половозрелых особей, Полученные результаты были обработаны с использованием рангового метода Фридмана. Протоколы испытаний представлены в таблице.

### Результаты исследования и их обсуждение

Калифорнийский червь показал высокую устойчивость к загрязнению почвы машинным маслом. При внесении концентраций масла от 20 до 60 г/кг отмечалась 100% выживаемость червей. Внесение микробиологического препарата при высоких концентрациях масла более 50 г/кг снизило выживаемость до 46–70% калифорнийского червя. В контрольном варианте и при внесении микробиологического препарата выживаемость червей составила 100%.

*Общая численность E. andrei.* В контрольном варианте общая численность составила 78 экз./сосуд, а при внесении микробиологического препарата возросла до 275 экз./сосуд. В варианте с концентрацией масла 20 г/кг общая численность увеличилась в 6,7 раз, а при внесении микробиологического препарата в 3,8 раза. При концентрации масла 40 г/кг, общая численность увеличилась в 3 раза, как при внесении микробиологического препарата, так и без него. При внесении в почву 60–100 г/кг масла общая численность увеличилась в 1,5–3 раза, как при внесении микробиологического препарата так и без него.

#### *Общая продуктивность E. andrei.*

Максимальная общая продуктивность 17–18 коконов/сосуд отмечена в контрольном варианте, при внесении микробиологического препарата и при внесении низких концентраций масла 20–40 г/кг. Увеличение концентрации масла оказывало токсический эффект на *E. andrei* и снижало откладку коконов, причем внесение микробиологического препарата усиливало токсический эффект.

#### *Индивидуальная продуктивность E. andrei*

Максимальная индивидуальная продуктивность 1,6–1,7 коконов на червя отмечена в контрольном варианте, при внесении микробиологического препарата и при внесении низких концентраций масла 20–40 г/кг. Увеличение концентрации снижало откладку коконов до 1,06 при концентрации 60 г/кг, а при внесении микробиологического препарата до 0,6 и при концентрации 80 г/кг – 0,35, а с микробиологическим препаратом до 0,23 коконов на червя.

Выживаемость, общая численность, общая продуктивность и индивидуальная продуктивность дождевых червей при различных концентрациях отработанного масла в почве. Протоколы испытаний

		Выживаемость %	Общая численность	Общая продуктивность	Индивидуальная продуктивность
1	контроль	100	78	17,1	1,6
2	Микробиологический препарат	100	275,6	16,66	1,7
3	почва, загрязненная маслом 20 г/кг	100	67,33	18,33	1,61
4	почва, загрязненная маслом 20 г/кг и микробиологический препарат	100	38,33	16,66	0,49
5	почва, загрязненная маслом 40 г/кг	100	31,66	15,00	1,36
6	почва, загрязненная маслом 40 г/кг и микробиологический препарат	100	38,66	17,33	1,62
7	почва, загрязненная маслом 60 г/кг	90	18,00	7,00	1,05
8	почва, загрязненная маслом 60 г/кг и микробиологический препарат	66	17,33	5,33	0,61
9	почва, загрязненная маслом 80 г/кг	90	29,66	13,33	0,35
10	почва, загрязненная маслом 80 г/кг и микробиологический препарат	46	27,33	11,66	0,23
11	почва, загрязненная маслом 100 г/кг	70	15,00	7,00	1,4
12	почва, загрязненная маслом 100 г/кг и микробиологический препарат	70	20,66	8,00	1,09
	Ранговый ДА и конкордация Кендалла	—	0,81	0,73	0,67

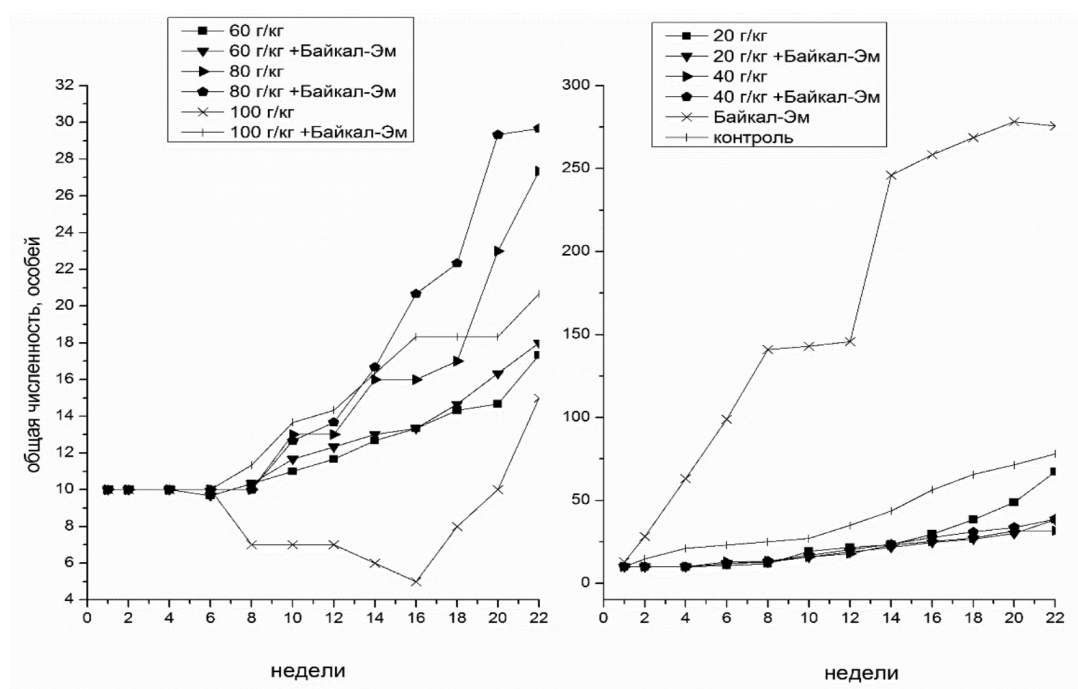


Рис. 1. Общая численность *E. andrei*

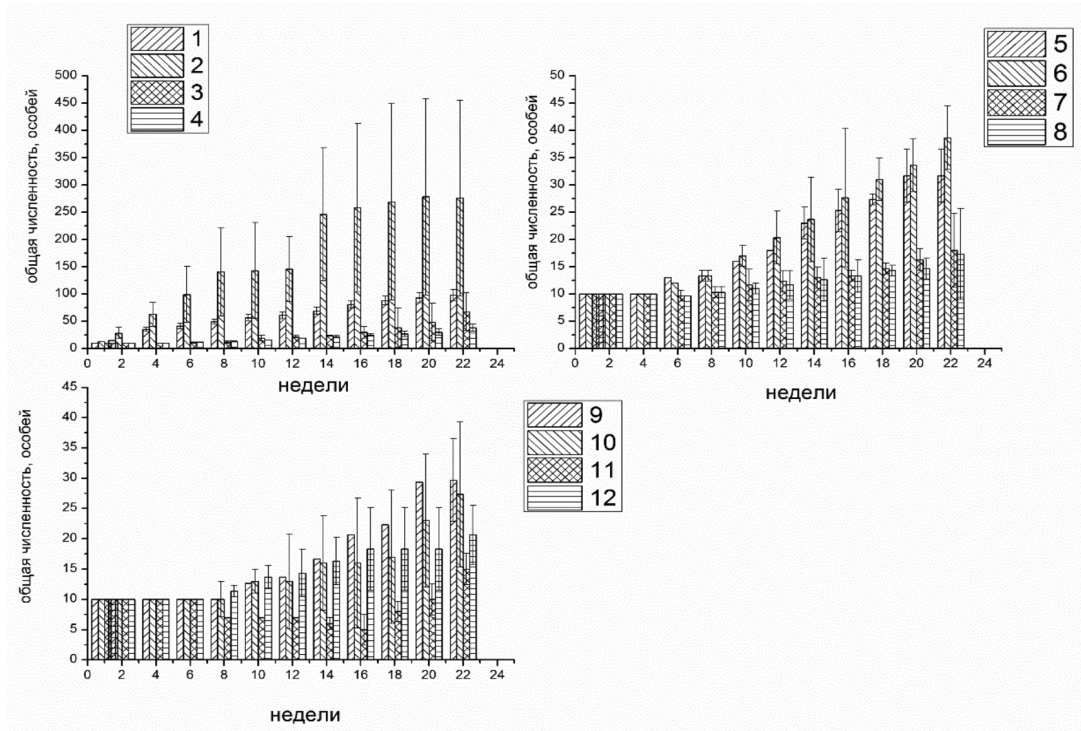


Рис. 2. Изменение общей численности *E. andrei* при культивировании в почвах, загрязненных отработанным автомобильным маслом ( $p < 0,05$ ) (с указанием величины абсолютной погрешности с достоверностью 95%). Цифры от 1 до 12 соответствуют вариантам эксперимента 1, указаны в таблице

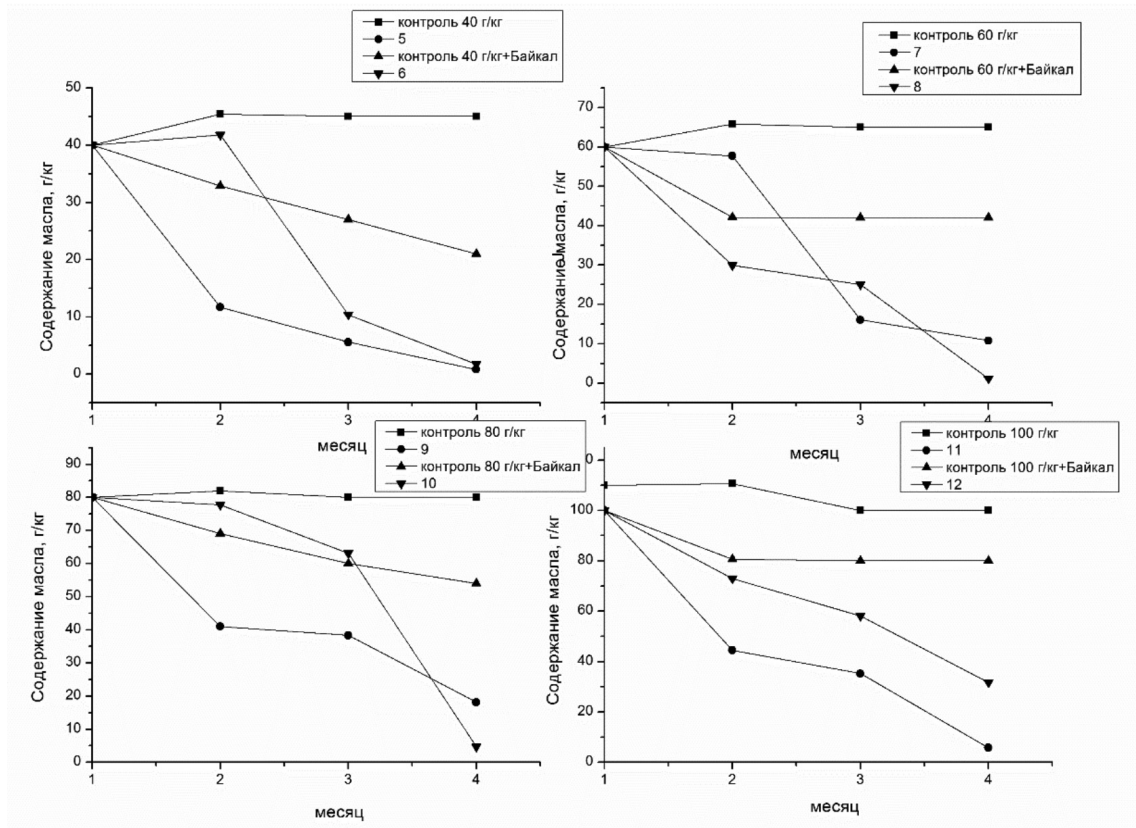


Рис. 3

В контрольном образце (обр. 1) без внесения биопрепарата «Байкал – Эм-1» общая численность *E. andrei* увеличилась в 7,8 раз ( $p < 0,001$ ) и достигла 78 особи в одном образце, (относительная погрешность составила 10–20%, рис. 2, а) а при внесении микробиологического препарата «Байкал Эм-1» общая численность червей возросла в 28 раз и составила 275 особи (относительная погрешность составила от 5 до 10%). При введении в состав почвы 20 г/кг отработанного автомобильного масла (обр. 3 и 4) общая численность червей увеличилась в 6 раз и достигла 67 особей (относительная погрешность составила 20–40%), а при внесении биопрепарата «Байкал – Эм-1» – 38 особей (относительная погрешность составила 10%). При внесении отработанного автомобильного масла 40 г/кг, общая численность червей увеличилась в 3 раза, а при внесении биопрепарата «Байкал – Эм-1» при том же содержании масла (обр. 6) в 4 раза (относительная погрешность 20%) ( $p < 0,05$ ).

При внесении в почву 60–100 г/кг отработанного автомобильного масла отмечалась 90% выживаемость червей, а при внесении микробиологического препарата «Байкал Эм-1» выживаемость снизилась до 66%. Для образцов 8, 10, 12 содержание отработанного автомобильного масла в каждом образце составляло 60–100 г/кг ( $p < 0,05$ ). Общая численность в варианте 8, при внесении отработанного автомобильного масла 60 г/кг увеличилась в 1,8 раз и составляла 18 особей на сосуд (рис. 1) (относительная погрешность составила 25%) ( $p < 0,05$ ). В варианте с концентрацией отработанного автомобильного масла 80 г/кг общая численность навозных червей увеличилась в 3 раза (относительная погрешность 40%) ( $p < 0,05$ ). А при внесении отработанного автомобильного масла 100 г/кг общая численность навозных червей увеличилась в 2 раза (относительная погрешность 50%) ( $p < 0,05$ ).

*Разложение углеводов отработанного масла*

При внесении низких концентраций масла 20 г/кг эффективность разложения 90% (0,8 г/кг), а при внесении микробиологического препарата «Байкал-Эм» – 92% (1,62 г/кг). При внесении масла в почву 40 г/кг в варианте с калифорнийским червем концентрация масла снизилась до 0,8 г/кг (эффективность 99%), а при внесении микробиологического препарата эффективность разложения углеводов составила 96% (1,7 г/кг). При внесении масла в почву 60 г/кг в варианте с навозным червем концентрация снизилась до 10,8 г/кг, эффективность – 81%, а при внесении микробиологического препарата эффективность составила 99% (1,1 г/кг). При внесении масла в почву

80 г/кг в варианте с навозным и калифорнийским червем концентрация снизилась до 18,1 г/кг, эффективность – 77%, а при внесении микробиологического препарата содержание масла снизилось до 4,7 г/кг (эффективность 94%). При концентрации масла 100 г/кг в варианте с навозным червем концентрация масла снизилась до 5,7 г/кг, эффективность 94%, а при внесении микробиологического препарата содержание масла снизилось до 31,7 г/кг (эффективность 68%).

### Заключение

В нашем исследовании отмечена высокая выживаемость дождевых червей до 100% при низких концентрациях отработанного масла до 50 г/кг. Низкие концентрации масла 20–40 г/кг оказывают стимулирующее влияние на все виды дождевых червей, стимулируя откладку коконов. Внесение микробиологического препарата снижало выживаемость и репродуктивный потенциал *E. andrei* до 70%.

Наиболее устойчивым к загрязнению почвы отработанным машинным маслом оказался *E. andrei*. При внесении различных концентраций масла отмечался значительный рост численности в 3 раза. При внесении концентраций масла от 20 до 80 г/кг отмечалась 100% выживаемость *E. andrei* и стабильный рост численности червей, при концентрации масла 100 г/кг выживаемость составила 70%. Эффективность и скорость деградации масла зависит от концентрации его в почве. При внесении низких концентраций отработанного масла 20–40 г/кг почвы процесс рекультивации занимал 4 месяца, в ходе которого концентрация углеводов снижалась на 97–99%. Внесение микробиологического препарата оказывало существенное влияние на процесс деградации масла. В процессе вермикюльтивирования содержание масла снижалось на 60–90%.

### Список литературы

1. Jacobo Rodriguez-Campos, Luc Dendooven, Dioselina Alvarez Bernal, Silvia Maribel Contreras-Ramos, Potential of earthworms to accelerate removal of organic contaminants from soil: A review *Applied Soil Ecology* 79 (2014) 10–25.
2. Geissen V., Gomez-Rivera P., Lwanga E., Mendoza R., Narcias A.T., Marcias E.B., 2008. Using earthworms to test the efficiency of remediation of oil-polluted soil in tropical Mexico. *Ecotox. Environ. Saf.* 71, 638–642.
3. Brown S.A.E., Simpson A.J., Simpson M.J., 2009. H-1NMR metabolomics of earth-worm responses to sub-lethal PAH exposure. *Environ. Chem.* 6, 432–440.
4. Brulle F., Morgan A.J., Cocquerelle C., Vandenbulcke F., 2010. Transcriptomic underpinning of toxicant-mediated physiological function alterations in three terrestrial invertebrate taxa. A review. *Environ. Pollut.* 158, 2793–2808.
5. Natal-Da-Luz T., Verweij L.I., Morais R.A., Van Velzen P.V., Sousa M.J.M., Van Gestel, J.P.C.A.M., 2012. Influence of earthworm activity on microbial communities related with the degradation of persistent pollutants. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 794–803.
6. Buch A.C., Brown G.G., Niva C.C., Sautter K.D., Sousa J.P., 2013. Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontosclex corethrurus* (Muller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché 1972). *Appl. Soil Ecol.* 69, 32–38.