

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.В.ДВ.02.01 Современные методы рекультивации и биоремедиации

Направление подготовки 05.04.06 Экология и природопользование

Профиль образовательной программы Экологический мониторинг и безопасность
окружающей среды

Форма обучения заочная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций.....	3
1.1 Лекция № 1 Классификация методов и технологий ремедиации и основные факторы, влияющие на выбор методов. Биологические методы – биостимулирование, биоконцентрирование и локализация, биомобилизация и биовыщелачивание, реакционно-активные барьеры.....	3
1.2 Лекция № 2 Биоаугментация. Специализированные биопрепараты для ликвидации загрязнений.....	5
1.3 Лекция № 3 Почвенные грунты и различные органические отходы, модифицированные в процессе компостирования и вермокультивирования. Специализированные биопрепараты на основе микроорганизмов и ферментов. Этапы рекультивационных работ. Биопрепараты для рекультивации нарушенных земель.....	9
2. Методические указания по выполнению лабораторных работ (не предусмотрено РУП).....	13
3. Методические указания по проведению практических занятий	13
2.1 Практическое занятие № ПЗ-1 Классификация методов и технологий ремедиации и основные факторы, влияющие на выбор методов.....	13
2.2 Практическое занятие № ПЗ-2 Биологические методы – биостимулирование, биоконцентрирование и локализация, биомобилизация и биовыщелачивание, реакционно-активные барьеры.....	13
2.3 Практическое занятие № ПЗ- 3 Биоаугментация. Специализированные биопрепараты для ликвидации загрязнений.....	13
2.4 Практическое занятие № ПЗ-4 Почвенные грунты и различные органические отходы, модифицированные в процессе компостирования и вермокультивирования. Специализированные биопрепараты на основе микроорганизмов и ферментов.....	14
2.5 Практическое занятие № ПЗ-5 Этапы рекультивационных работ.....	14
4.Методические указания по проведению семинарских занятий (не предусмотрено РУП).....	14

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1. 1 Лекция № 1 (2 часа).

Тема: «Классификация методов и технологий ремедиации и основные факторы, влияющие на выбор методов. Биологические методы – биостимулирование, биоконцентрирование и локализация, биомобилизация и биовыщелачивание, реакционно-активные барьеры»

1.1.1 Вопросы лекции:

1. Классификация методов и технологий ремедиации
2. Небиологические методы и технологии ремедиации
3. Биомобилизация
4. Биовыщелачивание
5. Реакционно-активные барьеры биовыщелачивания

1.1.2 Краткое содержание вопросов:

1. Классификация методов и технологий ремедиации

В почвах загрязняющие вещества претерпевают различные превращения, в результате которых они могут накапливаться, переходить из одной среды в другую, трансформироваться, распадаться, минерализоваться в абиотических и биотических процессах, полимеризоваться с образованием связанных остатков.

Целью ремедиационных технологий являются контроль и использование всех этих превращений для удаления и обезвреживания загрязнений.

Методы ремедиации можно разделить на небиологические (механические, физико-химические, химические), биологические и комбинированные.

По месту обработки почвы или другого загрязненного материала принято различать методы *on site*, *ex situ* (*off site*), *in situ*.

Методы *on site* (рядом с местом загрязнения) требуют изъятия загрязненного материала, методы *ex situ* (или *off site*) его транспортировки на полигоны или специальные площадки и очистные установки. Методы *in situ* проводятся по месту загрязнения без изъятия загрязненного материала.

2. Небиологические методы и технологии ремедиации

От уровня загрязненности, площади, глубины проникновения и концентрации загрязнения, структуры экосистемы, характера загрязненного ландшафта, фильтрационных свойств пород, типа источника загрязнения (точечный, площадно-диффузный), климатических, гидрогеологических, гидрохимических условий, сроков очистки, требований к срокам очистки и к остаточному содержанию загрязнений, хозяйственного использования земель, технических и финансовых возможностей зависит выбор способов ремедиации, физических, химических, биологических или комбинированных методов. При концентрации загрязнения на уровне или выше уровня токсичности для живых организмов не могут быть использованы биологические методы.

3. Биомобилизация

Биомобилизация предусматривает перевод загрязнений в подвижную форму. В той или иной степени биомобилизация загрязнений может наблюдаться: при использовании метода промывки почв; при солубликации гидрофобных соединений, металлов в результате образования продуктов жизнедеятельности организмов, био-ПАВ с хелатирующими свойствами (ди- и трикарбоновых кислот, гидрокси- и кетокислот, ароматических кислот, аминокислот, многоатомных спиртов, белков и др.); при разрушении организмами почвенного вещества, деполимеризации и расщеплении ковалентных связей ксенобиотиков с молекулами почвенного вещества и т. п. В результате десорбции органических загрязне-

ний может повыситься их биодоступность, ускориться деградация из процессов, увеличивающих подвижность металлов и других химических элементов в природных средах, наиболее значимым является выщелачивание.

4. Биовыщелачивание

В результате биовыщелачивания тяжелые металлы из малоподвижной инертной формы переходят в более подвижную водорастворимую форму непосредственно под действием микроорганизмов или в результате изменения условий среды (например, pH). В природе этот процесс протекает наиболее интенсивно при биовыщелачивании сульфидных минералов железа. Сера сульфидов окисляется растворенным молекулярным кислородом или ионами Fe^{3+} при участии сероокисляющих микроорганизмов (*Thiobacillus ferrooxidans*, *T. thiooxidans* и др.), которые наиболее активны в среде с pH 1,0–3,5 и устойчивы к высокой концентрации тяжелых металлов. Железо высвобождается и переходит в растворимые формы в виде ионов Fe^{2+} . В свою очередь, железоокисляющие микроорганизмы катализируют окисление $Fe(II)$ в $Fe(III)$ кислородом. Наряду с биовыщелачиванием сульфидных руд возможно растворение карбонатов, выщелачивание силикатов и алюмосиликатов под действием низкомолекулярных продуктов метаболизма, обладающих хелатирующими свойствами, автотрофных и гетеротрофных микроорганизмов. При выщелачивании окисленные минералы, в частности $Mn(IV)$, восстанавливаются с переводом выщелоченных металлов в растворимые формы. При биоремедиации процессы биовыщелачивания используют для удаления металлов и радионуклидов из загрязненных почв или других твердых материалов методами *insitu*, *onsite* и *exsitu*. Участок территории, загрязненный тяжелыми металлами, орошается раствором, содержащим органические вещества, комплексообразователи, ПАВ, с низким pH. В результате активизации жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, реакций комплексообразования и других процессов металлы выщелачиваются из твердой фазы почвы, растворяются в жидкой и становятся более подвижными. Дренируемые растворы собираются в коллектор и далее биологически обрабатываются.

5. Реакционно-активные барьеры биовыщелачивания

Реакционно-активные биобарьеры – это варианты барьеров, сооружаемых *insitu* на пути миграции загрязнений для их локализации и обезвреживания. В биобарьерах протекают биологические процессы, благодаря которым в основном и реализуются защитные функции. Типичный реакционно-активный биобарьер содержит водо- и воздухопроницаемую загрузку или сорбент (минеральные материалы, активный уголь и др.), на поверхности которых естественным образом или в результате внесения в загрузку специализированных биопрепаратов развивается биопленка микроорганизмов-деструкторов. Показаны и другие способы формирования биопленки, например, на обводненных субстратах в результате миграции бактерий под действием электрического поля. При движении грунтовых вод через биобарьер загрязнения окисляются микроорганизмами, подобно тому как это происходит при очистке сточных вод на биофильтрах, биосорберах, в биотенках. При миграции органических загрязнений барьер может быть сооружен на основе пористого, хорошо дренируемого и аэрируемого материала с железными опилками, на поверхности которых развиваются железобактерии. Образующиеся ионы Fe^{3+} окисляют органические загрязнения в потоках, движущихся через барьер. При использовании сорбента присутствие микроорганизмов позволяет повысить его адсорбционную емкость и срок действия. Для снабжения микроорганизмов акцепторами электронов наряду с воздухом могут использоваться и другие источники кислорода, в частности пероксиды, нитраты и др. Недостаток *insitu* биобарьеров с перколяцией заключается в постепенном засорении загрузки вследствие процессов химического осаждения (например, отложения оксидов железа) и биологического обрастания. Вариантами активных биобарьеров, в которых биологическое обрастание и засорение не играют существенной роли, являются искусственные

биогеохимические барьеры и биоэкраны. Для предотвращения миграции тяжелых металлов сооружается анаэробный барьер. Для этого в траншею по периметру участка, загрязненного тяжелыми металлами, загружают материалы, содержащие большое количество сульфатов (например, гипс) и органический субстрат (например, опилки, солому и т. п.). Сверху траншею изолируют для ограничения поступления воздуха. В траншее со временем развивается процесс анаэробной сульфатредукции. Ионы металлов, мигрирующие через такой барьер, образуют нерастворимые сульфиды в результате реакции с выделяющимся сероводородом и обездвиживаются. Такой искусственный геохимический барьер может быть сооружен вблизи свалок, иловых площадок, районов локального загрязнения радионуклидами и т. п. и предотвращает миграцию загрязнений.

1.2 Лекция № 2 (2 часа)

Тема: «Биоаугментация. Специализированные биопрепараты для ликвидации загрязнений»

1.2.1 Вопросы лекции:

1. Биопрепараты на основе селективированных штаммов микроорганизмов.
2. Появление и роль аллохтонной микрофлоры.
3. Биопрепараты и их получение
4. Биопрепараты для ликвидации загрязнений

1.2.2 Краткое содержание вопросов:

1. Биопрепараты на основе селективированных штаммов микроорганизмов.

Биоаугментация – внесение экзогенного биологического материала в природную среду. В загрязненные среды вносятся выделенные из естественных источников специально отобранные, селекционированные микроорганизмы (в виде биопрепаратов), обладающие необходимой биodeградирующей активностью, устойчивые к высоким концентрациям поллютанта и не обладающие нежелательными побочными эффектами (экологическими санитарно-гигиеническими). Внесенные микроорганизмы разлагают основную массу загрязнений, снижают негативное их воздействие на биоту и тем самым стимулируют процессы самоочищения. Биоаугментация используется, если содержание загрязнений не превышает величин, угнетающих развитие внесенных микроорганизмов. Биоразнообразие и соотношение определенных групп микроорганизмов в биоценозах определяются многими физико-химическими факторами и прежде всего характером и количеством источников углерода и энергии, поступающих в систему. Попадание загрязнения создает условия для развития микроорганизмов, характеризующихся определенными экологическими нишами, способных усваивать поллютанты в определенных условиях, сменяющие друг друга в процессе сукцессии.

Микробиологические препараты (МБП) представляют из себя живые клетки отселектированных по полезным свойствам микроорганизмов, которые находятся или в культуральной жидкости, или адсорбированы на нейтральном носителе. Такой препарат позволяет создать огромную концентрацию полезных форм микроорганизмов (в 1 миллилитре или грамме препарата содержится до 1-5 млрд. клеток бактерий) в нужном месте и в нужное время. За счет этого внесенные формы могут успешно конкурировать с аборигенной микрофлорой и захватывать экологические ниши, предоставляемые им растением.

Источником получения исходных штаммов микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности служит, как правило, природная среда: активное начало биопрепаратов выделяют из почвы, с поверхности растений, из больных и погибших насекомых. Природные штаммы селективируют для отбора наиболее активные.

При применении биопрепаратов следует обращать внимание на природу действующего начала. Действие препарата, в состав которого входит микробный метаболит

(токсин, антибиотик), меньше зависит от экологических факторов внешней среды, чем препарата на основе спор или клеток микроорганизмов. Эффективность грибных препаратов в большей степени зависит от влажности, чем бактериальных и вирусных.

Ведущими функциональными видами МБП для земледелия являются микробиологические удобрения, фунгициды, стимуляторы роста, ризобияльные инокулянты для бобовых культур (биоинсектициды и родентициды в данной статье не рассматриваются). Собственно под МБП мы понимаем препараты, содержащие живые клетки отселектированных по полезным свойствам микроорганизмов, а также продукты их метаболизма, которые находятся или в культуральной жидкости, или адсорбированы на нейтральном носителе.

2. Появление и роль аллохтонной микрофлоры.

Появление аллохтонной микрофлоры (т. е. специально внедренной извне с биопрепаратом) сдвигает плавный ход сукцессии в ту или иную сторону в зависимости от стадии сукцессии, доминирующих видов и численности аборигенных микроорганизмов, характера взаимоотношений (конкурентных, симбиотических и др.) между ними и интродуцированными микроорганизмами. На ранних стадиях сукцессии (загрязнение незастарелое) к ускорению биодegradации может привести резкое увеличение численности биодеструкторов за счет привнесенных микроорганизмов, способных расти с высокой скоростью (г-стратегов) на субстрате-загрязнении при подходящих физико-химических условиях окружения. На поздних стадиях сукцессии (загрязнение застарелое) эффективно внесение микроорганизмов, способных более полно усваивать загрязнение-субстрат (К-стратегов, олиготрофов), его наиболее устойчивую составляющую или промежуточные продукты метаболизма и уменьшать, таким образом, их остаточные количества в загрязненной среде. Добавляя специфические субстраты для кометаболизма, корректируя pH, механическую структуру почвы, ее проницаемость, влажность или вводя различные акцепторы электронов, можно изменить условия обитания, создать возможность для функционирования внедряемого организма. Учитывая различные ситуации, в целом внесение специализированных микроорганизмов целесообразно в случаях, если: концентрация загрязнения в почве относительно высока, скорость и/или остаточные концентрации загрязнителя при разложении его аборигенной микрофлорой неудовлетворительны; загрязнение свежее, незастарелое; физико-химические условия места загрязнения неблагоприятны для роста природной микрофлоры (например, в холодных климатических зонах); загрязнение трудно поддается разложению естественной микрофлорой даже в том случае, если для нее созданы оптимальные условия (биостимуляция неэффективна); интродуцируемые микроорганизмы обладают физиолого-биохимическими свойствами, отличными от аборигенных популяций (например, созданы генетически модифицированные организмы, способные расти на ПХБ, а не просто кометаболизировать их, микроорганизмы с повышенной активностью орто-расщепления фенолов, а не мета-расщепления, что позволяет избежать накопления промежуточных продуктов катаболизма этих соединений, найдены природные организмы, гидролизующие четыреххлористый углерод без образования хлороформа в отличие от большинства организмов, трансформирующих CCl_4 и т. п.); имеется реальная возможность уменьшить время биоремедиации и/или улучшить качество очистки (т. е. достигнуть более низких значений остаточных концентраций загрязнения); • необходимо гарантировать надежность достижения конечного результата. На практике биоаугментация чаще всего применяется при ликвидации незастарелых поверхностных загрязнений нефтью и нефтепродуктами, при очистке почв при возможности обеспечить хорошую аэрацию, оптимальную влажность (в песчаных обводненных почвах или на участках, где возможно механическое перемешивание почвы).

В настоящее время выделено из природных сред, отобрано, селекционировано в лабораторных условиях большое число штаммов микроорганизмов – деструкторов органических ксенобиотиков, ассоциативных и смешанных культур, развивающихся при разных

условиях окружающей среды. Многие из этих микроорганизмов практически используются для очистки почвы от нефти и нефтепродуктов, ароматических и полиароматических соединений, хлорированных производных, пестицидов и других групп ксенобиотиков.

В основном отобранные микроорганизмы для получения биопрепаратов для биоремедиации относятся к бактериям (псевдомонады, родококки).

3. Биопрепараты и их получение.

Среди биопрепаратов, разработанных для решения задач охраны окружающей среды, можно выделить следующие группы по их назначению:

- для ликвидации загрязнений;
- для рекультивации территорий и восстановления плодородия почв;
- для переработки отходов;
- для очистки природных водоемов;
- для биомониторинга и биотестирования.

Специализированные биопрепараты для ликвидации аварийных загрязнений, очистки загрязненных территорий, оборудования, переработки отходов, использования в быту и других целей находят в настоящее время все более широкое применение. В ряде случаев они позволяют существенно снизить затраты, повысить скорость и эффективность биологических методов очистки загрязненных почв, стоков и водоемов, стабилизировать работу очистных сооружений, решить задачу нейтрализации вредных токсикантов, переработки нетоксичных отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности с получением кормовых продуктов и биологически активных добавок. При входе биопрепарата в процесс очищения до 50–75% стоимость его может не превышать 7–10% от общей стоимости работ.

В России биопрепаратами называют препараты, полученные на основе штаммов микроорганизмов, имеющих разрешения санитарно-эпидемиологических служб на их производство и применение. Подавляющее большинство этих штаммов прототрофные, природного происхождения, т. е. не относятся к генетически модифицированным и не содержат мутаций, требующих дополнительных источников ростовых факторов.

Выпускаемые коммерческие биопрепараты, предназначенные для очистки природных сред, представляют в основном массу жизнеспособных клеток микроорганизмов-биодеструкторов. Они различаются используемыми для их получения штаммами, имеющими различные физиолого-биохимические свойства, такие как термотолерантность, осмофильность, оптимальные для роста значения pH, способность включать в метаболические процессы разные классы загрязнений. Эти физиолого-биохимические свойства штаммов-биодеструкторов определяют эффективность применения биопрепаратов в разных почвенно-климатических зонах и средах, для удаления различных по химическому составу загрязнений. Конечным продуктом биотрансформации загрязнений являются простые минеральные вещества и микробная биомасса, которая в природных условиях легко вовлекается в биогеохимические циклы превращения веществ.

Препараты для очистки природных сред должны отвечать ряду требований:

- быть получены на основе непатогенных штаммов, выделенных из природных ценозов или селекционированных в лаборатории; не содержать патогенных инфицирующих микроорганизмов;
- микроорганизмы биопрепаратов должны иметь высокие технологические показатели: способность к росту и накоплению биомассы в промышленных ферментерах больших объемов; высокая конкурентоспособность по отношению к сопутствующей микрофлоре ферментера, позволяющая проводить процесс в не строго асептических условиях; сохранение жизнеспособности при высушивании и длительном хранении;
- быть технически простыми в использовании и экономически приемлемыми;

- обеспечивать эффективное снижение уровня загрязнения без образования опасных промежуточных и конечных продуктов трансформации и не оказывать неблагоприятного воздействия на окружающую среду;

- дозы препаратов, интродуцированных в окружающую среду, должны активировать самоочищающую способность природных биоценозов, не разрушать их структуру и функции, не стимулировать рост патогенных микроорганизмов.

Технология получения сухих товарных форм биопрепаратов и используемое технологическое оборудование типичны для биотехнологических процессов получения биомассы живых клеток микроорганизмов (например, при выпуске пекарских дрожжей, микробиологических средств защиты растений и т. д.). Технология включает следующие стадии:

- прием, хранение и подготовка сырья, органического субстрата, растворов минеральных солей;

- обеспечение ферментационного процесса источником кислорода, технологической водой, паром, моющими и дезинфицирующими средствами, пеногасителями;

- выращивание посевного материала;

- накопление биомассы в рабочем аппарате – ферментере;

- концентрирование суспензии микроорганизмов сепарацией, микрофильтрацией, адсорбцией на инертных материалах-наполнителях;

- сушка;

- если предусмотрено, гранулирование, компаундирование препарата с различными наполнителями и внесение добавок;

- расфасовка, упаковка, складирование, отправка готового продукта;

- очистка сточных вод, газовоздушных выбросов со стадии ферментации, сепарации и сушки.

При выпуске жидких форм препаратов стадия сушки отсутствует

4. Биопрепараты для ликвидации загрязнений

Большое количество биопрепаратов разработано для биодеструкции нефти и продуктов ее переработки, загрязняющих природные среды в результате утечек, проливов, разного масштаба экологических катастроф.

В России накоплен большой опыт в области применения биопрепаратов нефтедеструкторов, что связано с большими масштабами нефтезагрязнений, размером загрязненных площадей и ущербом от этих загрязнений.

Ежегодная потребность в биопрепаратах нефтедеструкторов оценивается в 100–1000т. Такие биопрепараты могут применяться с разной целью:

- для обеззараживания воды и почвы от сырой нефти, продуктов ее переработки и некоторых видов топлив;

- для очистки ливневых и сточных вод при использовании нефтеловушек, отстойников, блочно-модульных установок;

- очистки и глубокой доочистки сточных вод от углеводородных загрязнений;

- глубокой доочистки балластных вод от промывки морских и речных транспортных средств;

- при запуске в эксплуатацию и стабилизации работы очистных сооружений при залповых попаданиях в сточные воды нефтепродуктов;

- депарафинизации нефти в нефтяных скважинах;

- очистки буровых шламов от углеводородов;

- очистки территорий аэропортов, локомотивных депо, моечных и заправочных станций, акваторий морских и речных портов;

- очистки небольших и сильнозагрязненных пожарных водоемов для предотвращения самовозгорания на поверхности;

- территорий военных баз;

- очистки оборудования, емкостей и хранилищ, сепараторов, насосных станций, внутренней поверхности трубопроводов, канализационных коллекторов, колодцев, жирословителей;

- для обезвреживания шламов, сорбентов и других отходов, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, утилизации осадка очистных сооружений автомоек и автотранспортных предприятий с получением песка, который может быть реутилизирован, например, в строительной индустрии и при прокладке автомобильных дорог, для послойной засыпки и рекультивации полигонов.

Потенциальными потребителями биопрепаратов могут быть промышленные предприятия, нефтедобывающая и нефтеперерабатывающая промышленность, нефтеналивные и заправочные станции ГСМ, подразделения МЧС, автотранспортные предприятия и станции технического обслуживания, предприятия по транспортировке нефти и нефтепродуктов, морские и речные порты, фирмы, специализирующиеся на продаже недвижимости и земельных участков, городские и муниципальные службы и др.

В настоящее время на рынке представлена широкая номенклатура биопрепаратов на основе моно- и смешанных культур микроорганизмов для ликвидации загрязнений нефтью и нефтепродуктами. Многие препараты выпускаются российскими фирмами. При этом, как правило, фирмы, занимающиеся производством биопрепаратов, сами проводят очистные и рекультивационные мероприятия, так как эффективность использования препарата существенно зависит от технологии его применения.

1.3 Лекция № 3 (2 часа)

Тема: «Почвенные грунты и различные органические отходы, модифицированные в процессе компостирования и вермокультивирования. Специализированные биопрепараты на основе микроорганизмов и ферментов. Этапы рекультивационных работ»

1.3.1 Вопросы лекции:

1. Влияние на структурирование почвы
2. Влияние на микробиологическую активность
3. Биопрепараты на основе деструкторов для удаления загрязнений
4. Биопрепараты для сельского хозяйства
5. Гидрогеологическая разведка. Полевые исследования. Деление участка на категории загрязненности
6. Составление проектной документации и проведение рекультивационных и биоремедиационных работ

1.3.2 Краткое содержание вопросов

1. Влияние на структурирование почвы

Внесение в почву вермикомпоста способствует структурированию почвы, повышает ее биологическую и ферментативную активность, увеличивает содержание доступных элементов питания. Так, внесение в серую лесную почву северной Лесостепи Украины вермикомпоста (3 т/га) и навоза (15 т/га) при выращивании томатов способствовало увеличению численности микроорганизмов, которые утилизируют минеральный азот. Коэффициент минерализации азота во всех вариантах применения вермикомпоста и навоза находился в пределах от 1,4 до 1,8, тогда как в варианте внесения одних минеральных удобрений он составил 2,58. Более низкий коэффициент указывает на сбалансированность в почве деструкционных и иммобилизационных процессов.

Дальнейшими исследованиями установлено, что содержание свободноживущих азотфиксаторов возрастало при внесении вермикомпоста и превышало контрольное на 24...30%.

Численность микроорганизмов рода Нокардия, участвующих в разложении гумусовых соединений, в вариантах применения вермикомпоста (3 т/га) была в 1,3 раза меньше по сравнению с контрольной. Однако при внесении 25 т/га навоза этот показатель был выше в 1,9 раза. Численность сапрофитных грибов в вариантах применения вермикомпоста была в 1,2...2 раза ниже, чем в других вариантах опыта.

Подобные результаты положительного влияния вермикомпоста на активность почвенной микрофлоры получены в полевых опытах, проводимых на дерново-подзолистой супесчаной почве опытного поля во Владимирской области. Численность целлюлозоразлагающих микроорганизмов, осуществляющих первую стадию гумификации органического вещества, возрастала в 1,6...2 раза. Степень разложения ткани в вариантах внесения вермикомпоста была в 2,1 раза выше контрольной. Последствие вермикомпоста на биологическую активность почвы более продолжительное, нежели навоза.

2. Влияние на микробиологическую активность

Четырехлетний опыт изучения влияния вермикомпоста (1,5-3 т/га) на микробиологическую активность черноземной почвы при выращивании кукурузы был проведен в Дебреценском аграрном университете под руководством профессора ХелмециБелажа (Венгрия). По его результатам, с применением вермикомпоста увеличилась численность наиболее важных физиологических групп микроорганизмов (общее количество бактерий, аммонифицирующих, нитрифицирующих, целлюлозоразлагающих). Наиболее заметное увеличение, за исключением нитрифицирующих бактерий, наблюдалось при внесении 3 т/га вермикомпоста.

С внесением вермикомпоста изменяется и ферментативная активность почвы, так как почвенные ферменты являются биологическими катализаторами превращений органического вещества почвы. Каждому виду ферментативной активности в почве соответствует определенный оптимум pH. Поскольку получаемый вермикомпост в большинстве случаев имеет Рн в пределах от 6,8 до 7,2, то при его внесении создаются благоприятные условия для развития уреаз, протеза, дегидрогеназ, полифенолоксидаз и каталаз, оптимальная активность которых наступает при pH от 6,3 до 7,2.

Под влиянием вермикомпоста улучшаются питательный и азотный режимы, возрастает содержание в почве подвижных форм фосфора и обменных форм калия, стимулируются прорастание семян, развитие сельскохозяйственных и декоративных растений.

3. Биопрепараты на основе деструкторов для удаления загрязнений

На биологическом факультете МГУ и в НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов в результате скрининга коллекции углеводородокисляющих бактерий отобран штамм *Rhodococcus erythropolis* E-15, хорошо растущий на углеводородах при низких положительных температурах. Осуществлена интродукция этого штамма в тундровую почву, искусственно загрязненную нефтью (1 кг/м). Естественная углеводородокисляющая микрофлора незагрязненной тундровой почвы, определенная в жидкой среде, составила 10^4 кл/г и была представлена, главным образом, родококками. Все без исключения аборигенные родококки относились к S-варианту, слабо активному в отношении окисления углеводородов. Стимуляция естественной нефтеокисляющей микрофлоры внесением удобрений приводила лишь к незначительному (около 10%) усилению биodeградации углеводородов. Интродукция активного штамма приводила к уменьшению содержания углеводородов в почве на 40% за пять недель. Родококки-интродуценты сохраняли высокую численность (10 кл/г) даже через семь недель после начала эксперимента.

4. Биопрепараты для сельского хозяйства

Показано, что обработка семян пшеницы суспензиями бактерий и полученными из них препаратами повышала энергию прорастания и всхожесть семян, ограничивала развитие болезни в условиях вегетационных и полевых опытов, способствовала повышению

продуктивности растений. Эти препараты были эффективнее, чем ТМТД или не уступали ему. Говоря об эффективном использовании биологических средств защиты нельзя не остановиться на проблеме, связанной с разработкой для них таких препаративных форм, которые бы обеспечивали стабильность защитного эффекта и при этом были бы высокотехнологичными. Авторы биопрепаратов предлагают разные пути решения этой проблемы. В бактериальный препарат Агат-25К со сравнительно невысоким сроком хранения -18 месяцев дополнительно вносят гидролизат бактерий *Bacillus megaterium*, содержащий биополимер поли- γ -гидроксимасляную кислоту, а вместо живых бактерий *P. aureofaciens* ВКМ В-1973 также вносят их гидролизат. Полученный препарат в отличие от прототипа имеет более длительный срок хранения (3 года против 1,5 лет) и на протяжении всего срока хранения не снижает свою биологическую активность. Существенным недостатком стандартной суспензии планриза является очень непродолжительный период жизнеспособности бактерий на поверхности семян. При 18-20° он не превышает 3 сут., при хранении в холодильнике (4°) достигает 20 суток. Чтобы продлить его, к суспензии препарата добавляли 5% ПВП. Это обеспечивало удовлетворительную прилипаемость бактериальных клеток к семенам. Жизнеспособность псевдомонад сохранялась на близком к исходному уровню в течение 1 месяца, тогда как в контроле титр бактерий резко снижался через 2 недели после изготовления суспензии препарата.

Препарат фитоспорин содержит в качестве основы живые клетки *Bacillus subtilis* ВНИИСХМ 128 и наполнитель в количестве 8+2% об. Необходимость наполнителя обусловлена его защитным действием для бактериальных клеток при дальнейшем лиофильном высушивании препарата. В качестве наполнителя препарат может содержать сыворотку крови крупного рогатого скота (КРС), молоко, обрат и т.д., предпочтительно сахарозожелатиновую смесь (4% сахарозы, 1% желатины). Для получения препарата фитоспорин в жидком виде КЖ сливают и добавляют стабилизатор биомассы (гуми — 0,5-2% или сульфит натрия - 2-6%). Стабилизатор обеспечивает сохранение количества живых клеток в препарате. Таким образом, перечень отечественных бактериальных препаратов, предназначенных для борьбы с инфекциями растений, на сегодняшний день весьма невелик. Поэтому проблемы разработки новых эффективных биологических средств защиты растений остаются приоритетными задачами прикладной микробиологии и сельскохозяйственной биотехнологии. Необходимо также упомянуть, что в связи с отходом в другие суверенные государства биохимических заводов «Прогресс» (Казахстан), Запорожского и Новгород-Волынского (Украина), Унгенского (Молдова), научно-исследовательских учреждений ВНИИБМЗР (Молдова), ВНИИГИНТОКС и ВНИИЦ «Биотехника» (Украина) актуальной становится организация регионального производства микробиологических средств.

На Биолого-почвенном институте Дальневосточного отделения РАН с использованием аборигенных штаммов микробных популяций, приспособленных к местным условиям, получено несколько комплексных нефтеокисляющих препаратов. Установлено, что наиболее эффективным приемом, улучшающим интродукцию в почву и почвогрунты выделенных микробных комплексов, является периодическое насыщение экосистем этими микроорганизмами по фону дополнительного питания.

5. Гидрогеологическая разведка. Полевые исследования. Деление участка на категории загрязненности

Рекультивация земель - это комплекс работ, направленных на восстановление продуктивности и народнохозяйственной ценности нарушенных и загрязненных земель, а также на улучшение условий окружающей среды.

Рекультивация земель должна проводиться с учетом местных почвенно-климатических условий, степени повреждения и загрязнения, ландшафтно-геохимической характеристики нарушенных земель, конкретного участка.

Полевые исследования

При осмотре земель исполнитель проекта определяет географическое положение нарушенного участка, его площадь, причину, источник и характер нарушения и загрязнения почв, делает заключение о возможных способах рекультивации, составляет «Акт осмотра земель» и «Задание на составление проектно-сметной документации (ПСД)». В Задании указываются: основание для производства работ; порядок и объем проведения почвенных изысканий и исследований; состав ПСД с указанием сроков выполнения работ.

Деление участка на категории загрязненности

На участках, подлежащих рекультивации, специалист по охране окружающей природной среды совместно с представителем организации, имеющей лицензию на проведение обследования по выявлению деградированных и загрязненных земель, проводят почвенно-мелиоративные изыскания и исследования. Выбор состава показателей по контролю за загрязненностью и деградацией почв для разработки мероприятий по охране, повышению плодородия и рациональному использованию земель, производится согласно ГОСТ 17.4.2.03-86 и РД 39-0147098-015-90. Инструментальные почвенно-мелиоративные изыскания и исследования проводятся в соответствии с ГОСТ 17.4.3.01-83, ГОСТ 17.4.4.02-84, Временными методологическими рекомендациями ГОСТ 28168-89, РД 390147098-015-90 и настоящей Инструкцией.

Отбор проб осуществляют с учетом рельефа и степени нарушенности и загрязненности почвенного покрова с таким расчетом, чтобы в каждом случае была представлена часть почвы, типичная для генетических горизонтов или слоев данного типа почв. Пробы отбирают на исходных (загрязненных и незагрязненных, нарушенных и ненарушенных) участках (не менее 1 объединенной пробы с площади 0,5-1,0 га) по координатной сетке, указывая их номера и координаты в почвенно-мелиоративной картограмме. На каждую пробу заполняют сопроводительную этикетку (приложение 4) и составляют «Ведомость отбора проб и химического анализа почв». Анализы почвенных образцов проводятся в лабораториях, аттестованных для проведения подобных работ.

Общие требования к методам определения загрязняющих веществ приведены в ГОСТ 17.4.3.03-85. Оценка устойчивости почв к химическим загрязняющим веществам устанавливается по ГОСТ 17.4.3.06-86.

Почвенно-мелиоративные картограммы составляют по степени нарушенности, содержанию загрязнения. Элементарные участки, относящиеся к одной группе, объединяют в один контур и отмечают соответствующим условным обозначением. На каждом контуре обозначают точки отбора проб, площадь контуров, место аварийного порыва, экспозицию. По результатам обобщенных данных исследований и изыскательских работ выбирается способ рекультивации, выполняется расчет норм внесения химических мелиорантов, бактериальных препаратов и норм посева семян для биологической рекультивации, разрабатывается ПСД.

6. Составление проектной документации и проведение рекультивационных и биоремедиационных работ

Разработке проекта предшествует получение от землевладельцев технических условий на приведение нарушенных земель в состояние, пригодное для последующего использования.

В технических условиях должны быть определены: границы угодий, в пределах которых необходимо проведение рекультивации; мощность снимаемого плодородного слоя почвы по каждому нарушенному участку; ширина зоны рекультивации в пределах полосы отвода; срок нанесения плодородного слоя почвы с учетом уплотнения грунта, уложенного в траншею; место расположения отвала для временного хранения плодородного слоя почвы; способ снятия, хранения, транспортировки и нанесения плодородного слоя почвы; мощности наносимого плодородного слоя почвы; меры по восстановлению плодородия земель; план земельного участка, отведенного под ремонт нефтепровода с планировочны-

ми данными, позволяющими определить объем земляных работ по рекультивации земель и их сметную стоимость.

2.МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ (НЕ ПРЕДУСМОТРЕ- НО РУП)

3. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

3.1 Практическое занятие №1 (2 часа).

Тема: «Классификация методов и технологий ремедиации и основные факторы, влияющие на выбор методов»

3.1.1 Задание для работы:

1. Ориентироваться в ремедиационных технологиях и использовать их для удаления и обезвреживания загрязнений.

3.1.2 Краткое описание проводимого занятия:

Объяснение нового материала, презентация по теме вопроса, закрепление материала.

3.1.3 Результаты и выводы:

Изучение уровня загрязненности позволяет сделать выбор метода ремедиации.

3.2 Практическое занятие № 2 (2 часа).

Тема: «Биологические методы – биостимулирование, биоконцентрирование и локализация, биомобилизация и биовыщелачивание, реакционно-активные барьеры»

3.2.1 Задание для работы:

Изучить суть каждого биологического метода

3.2.2 Краткое описание проводимого занятия:

Объяснение нового материала, презентация по теме вопроса, закрепление материала.

3.2.3 Результаты и выводы:

Изучение биологических методов позволяет сделать вывод о целесообразности их применения.

3.3 Практическое занятие № 3 (2 часа).

Тема: «Биаугментация. Специализированные биопрепараты для ликвидации загрязнений»

3.3.1 Задание для работы:

1. Ознакомиться с методом биаугментации.
2. Изучить наиболее известные микробиологические препараты для ликвидации нефтяных и других загрязнений

3.3.2 Краткое описание проводимого занятия:

Объяснение нового материала, презентация по теме вопроса, закрепление материала.

3.3.3 Результаты и выводы:

Внесение специализированных микроорганизмов целесообразно в случаях, если: концентрация загрязнения в почве относительно высока, скорость и/или остаточные концентрации поллютанта при разложении его аборигенной микрофлорой неудовлетворительны; загрязнение свежее, незастарелое; физико-химические условия места загрязнения

неблагоприятны для роста природной микрофлоры (например, в холодных климатических зонах); загрязнение трудно поддается разложению естественной микрофлорой даже в том случае, если для нее созданы оптимальные условия (биостимуляция неэффективна). Микробиологические препараты способствуют более эффективному удалению загрязнений, однако они не во всех случаях достаточно эффективны, их активность зависит от многих факторов и производство таких препаратов достаточно дорогостоящее.

3.4 Практическое занятие № 4 (2 часа).

Тема: «Почвенные грунты и различные органические отходы, модифицированные в процессе компостирования и вермокультивирования. Специализированные биопрепараты на основе микроорганизмов и ферментов»

3.4.1 Задание для работы:

1. Изучить механизмы действия процессов компостирования и вермикомпостирования на почвенные грунты и органические отходы.
2. Изучить эффективность использования бактериальных и грибных препаратов для повышения продуктивности земледелия.

3.4.2 Краткое описание проводимого занятия:

Объяснение нового материала, презентация по теме вопроса, закрепление материала.

3.4.3 Результаты и выводы:

Внесение в почву вермикомпоста способствует оструктурированию почвы, повышает ее биологическую и ферментативную активность, увеличивает содержание доступных элементов питания. Содержание свободноживущих азотфиксаторов возрастало при внесении вермикомпоста и превышало контрольное на 24...30%. Говоря об эффективном использовании биологических средств защиты нельзя не остановиться на проблеме, связанной с разработкой для них таких препаративных форм.

3.5 Практическое занятие № 5 (2 часа).

Тема: «Этапы рекультивационных работ»

3.5.1 Задание для работы:

Выбор состава показателей по контролю за загрязненностью и деградацией почв для разработки мероприятий по охране, повышению плодородия и рациональному использованию земель, производится согласно ГОСТ 17.4.2.03-86 и РД 39-0147098-015-90. Инструментальные почвенно-мелиоративные изыскания и исследования проводятся в соответствии с ГОСТ 17.4.3.01-83, ГОСТ 17.4.4.02-84, Временными методологическими рекомендациями ГОСТ 28168-89, РД 390147098-015-90 и настоящей Инструкцией.

3.5.2 Краткое описание проводимого занятия:

Объяснение нового материала, презентация по теме вопроса, закрепление материала.

3.5.3 Результаты и выводы:

Рекультивация земель должна проводиться с учетом местных почвенно-климатических условий, степени повреждения и загрязнения, ландшафтно-геохимической характеристики нарушенных земель, конкретного участка.

4.МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ПРОВЕДЕНИЮ СЕМИНАРСКИХ ЗАНЯТИЙ (НЕ ПРЕДУСМОТРЕННО РУП)