

## ИЗМЕНЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЗАГРЯЗНЕНИЯ НЕФТЕПРОДУКТАМИ

*А. С. Заушинцен*

### CHANGE IN CELLULASIC ACTIVITY OF SOIL UNDER THE INFLUENCE OF OIL POLLUTION

*A. S. Zaushintsen*

В работе исследована динамика целлюлазной активности постагрессивной серой лесной почвы. Предварительно она загрязнена отработкой минерального масла и дизельным топливом. Загрязнение почвы нефтепродуктами оказывает сильное давление нефтепродуктов на биоту почвы. После внесения углеводов существенно блокируется использование микробоценозами почвы азота нитратного, подвижного фосфора и калия обменного, что подтверждается снижением коэффициентов корреляции ( $r = -0,44 - 0,52$ ) между содержанием данных макроэлементов и целлюлозолитической активностью. Выявлена также сильная зависимость целлюлазной активности от количества осадков и температуры воздуха ( $r = 0,71 - 0,87$ ), особенно в годы с аномально неустойчивой погодой (2012 – 2013).

Soil pollution by oil products has serious influence on the soil biota. Pollution with hydrocarbons blocks the use of nitrate nitrogen, mobile phosphorus and exchange potassium by the soil microbial, as evidenced by a decrease in the correlation coefficient ( $r = -0.44 - 0.52$ ) between the content of these macronutrients and cellulolytic activity. The study also revealed a strong dependence of the cellulosic activity on rainfall and temperature ( $r = 0.71 - 0.87$ ), especially in years with abnormally unstable weather (2012 – 2013).

**Ключевые слова:** почва, целлюлазная активность, нитратный азот, дизельное топливо, минеральное масло.

**Keywords:** soil, cellulosic activity, nitrate nitrogen, diesel, mineral oil.

Почвы характеризуются не только составом и численностью разных групп биологических видов, но и их взаимодействием, суммарной и биохимической активностью. Это обусловлено наличием в почве определённого запаса (пула) ферментов, поступивших в качестве метаболитов в процессе жизненного цикла растений и микроорганизмов и аккумулированных почвой после разложения отмерших тканей и клеток. Другими словами, совокупность микробиологических и биохимических процессов в почве, связанных с жизнедеятельностью её фауны, микрофлоры и растений представляет собой её биологическую активность. Биологическая активность почв характеризует масштабы и направление процессов превращения вещества в природных экосистемах суши, интенсивность переработки органических остатков и разрушения минералов [3]. Среди различных биологических критериев оценки антропогенного влияния на почвы наиболее оперативными и перспективными являются показатели, дающие сведения о динамике важнейших ферментативных процессов в почве, например, о синтезе или разложении органического вещества микробоценозами [1; 7; 8].

Надёжным критерием оценки техногенного стресса является целлюлазная почвенная активность [4]. Это способность микроорганизмов разлагать наиболее распространенное в природе углеродное соединение – целлюлозу. Её в основном создают высшие растения, которые на 40 – 70 % состоят из клетчатки, а также многие грибы, представители класса *Oomycetes* и некоторые виды бактерий, например – *Acetobacter xylinum*. Разложение целлюлозы считается единственным большим по своим масштабам естественным деструкционным процессом, в котором задействованы в основном микроорганизмы, продуцирующие фермент целлюлазу, так как ни растения, ни животные не способны её разлагать.

**Цель исследований:** оценка влияния нефтепродуктов на целлюлазную активность почв. В процессе реализации поставленных задач необходимо было определить динамику целлюлазной активности и влияние макроэлементов её активность на фоне загрязнения почвы отработкой минерального масла и дизельного топлива.

#### **Материалы и методы исследования**

В качестве материалов для исследования использована постагрессивная серая лесная почва, загрязненная отработкой минерального масла и дизельного топлива концентрациях 1 %, 5, 10 %. Целлюлозолитическую активность определяли с помощью бязевых аппликаторов на глубине 0 – 20 см [6].

#### **Результаты исследований и обсуждение**

В числе микроорганизмов, которые продуцируют фермент целлюлазу, могут быть некоторые грибы (*Trichoderma viride*, *Mirrothecium verrucaria*, виды из родов *Penicillium*, *Aspergillus*), многие виды аэробных и анаэробных бактерий из родов *Clostridium*, *Pseudomonas* и другие. В почвах под луговой растительностью активно воздействуют на клетчатку и вызывают её мацерацию вибрионы *Celvibrio* [3]. Степень очистки почвы от нефти и нефтепродуктов зависит от того, – насколько активно происходит разложение органических веществ [5].

В результате загрязнения почвы отработкой минерального масла и дизельным топливом выявлено резкое подавление целлюлазной активности микробоценозов (2010 г.). Пик её активности сместился на сентябрь. Это обусловлено сочетанием двух факторов, – избытком влаги по сравнению со средней многолетней нормой и техногенным давлением внесённых в почву нефтепродуктов. Аналогичные результа-

ты получены в условиях загрязнения почвы дизельным топливом (соляркой).

В большинстве источников научной литературы отражено, что пик активности приходится на самое теплое время года и в период пополнения фонда органического материала растительным опадом [2]. В нашем эксперименте лишь в 2011 г. пик активности целлюлозоразрушающих микроорганизмов наблюдался в июле и достигал 77,8 %. В острозасушливом 2012 г. он сместился на октябрь (46,5 %), когда повысилась количество почвенной влаги и микробоценозы смогли активизироваться. Этому способствовала длительная теплая погода, хорошо прогретый воздух, когда сумма активных температур сложилась достаточно высокой.

Динамика работы целлюлозоразрушающих микроорганизмов показала, что в 2010 г. наблюдалась активизация этих процессов на фоне загрязнения от-

работкой минерального масла от 3,3 % до 16,3 % (рис. 1). При загрязнении дизельным топливом близкие к контрольному варианту показатели отмечены только на варианте с 1 % содержанием углеводов в почве. Приконцентрации загрязнителя 5 % и 10 % установлено резкое снижение активности микроорганизмов (на 41,3 – 43,2 %). В 2012 г. на фоне жесткой засухи 2012 г. целлюлозолитическая активность на контрольном варианте была ниже предыдущих лет на 20,1 – 31,2 % ниже, чем в предыдущие годы. На фоне загрязнения отработкой минерального масла достигала 19,3 – 44,2 %, на фоне дизельного топлива, – не более 10 %. В 2013 г. отмечен практически продолжительный период активности – август и сентябрь (66,8 – 68,4 %). Это связано с сильным переувлажнением почвы в летние месяцы и отсутствием достаточной теплообеспеченности почв.

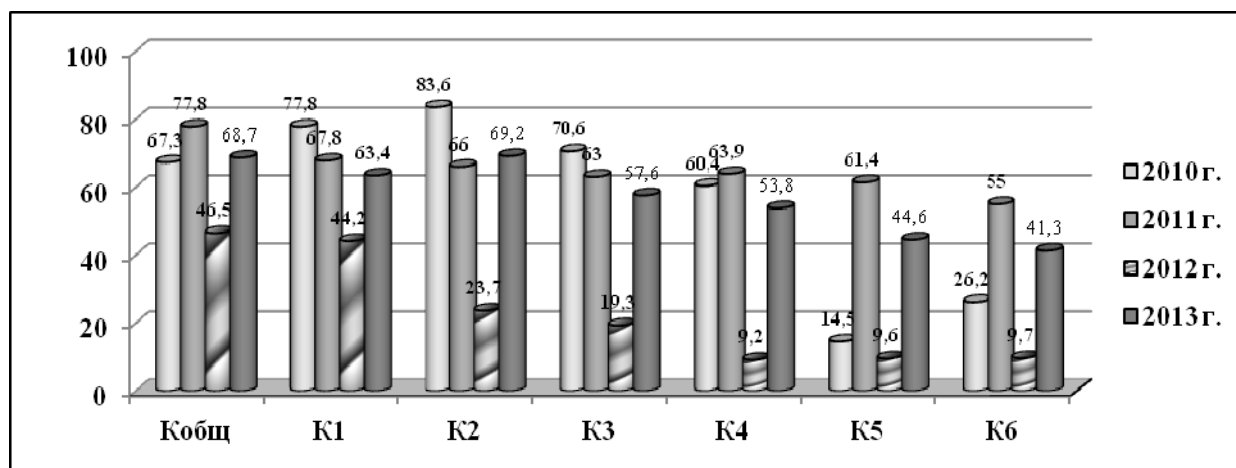


Рис. 1. Влияние нефтепродуктов на целлюлазную активность почвы, %

Примечание: \*К общ. – контрольный вариант, не загрязненный нефтепродуктами (НП); K1 – K3 – варианты, загрязненные ММ в концентрациях 1 %, 5 %, 10 %; K4 – K6 – варианты, загрязненные ДТ в концентрациях 1 %, 5 %, 10 %.

Таблица 1

Зависимость целлюлазной активности от тепло- и влагообеспеченности

Корреляционные связи	Годы	Коэффициент корреляции ( $r \pm Sr$ )
Процент разложения льняного полотна – температура воздуха	2010	0,83 ± 0,19
	2011	0,87 ± 0,25
	2012	0,71 ± 0,22
	2013	0,55 ± 0,18
Процент разложения льняного полотна – количество осадков	2010	0,70 ± 0,19
	2011	0,86 ± 0,21
	2012	0,66 ± 0,16
	2013	0,54 ± 0,16

Результаты корреляционного анализа подтвердили, что целлюлазная активность сильно зависит от гидротермического режима (таблица 1). Наиболее благоприятными по температуре и количеству осадков он сложился в 2010 – 2011 гг. Коэффициенты корреляции между показателями разложения льняного полотна и названными метеофакторами оказались

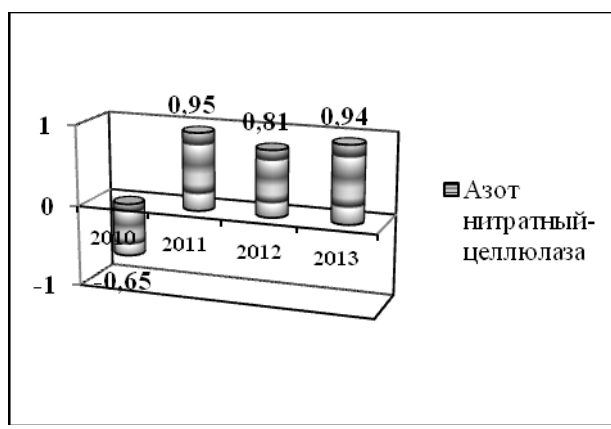
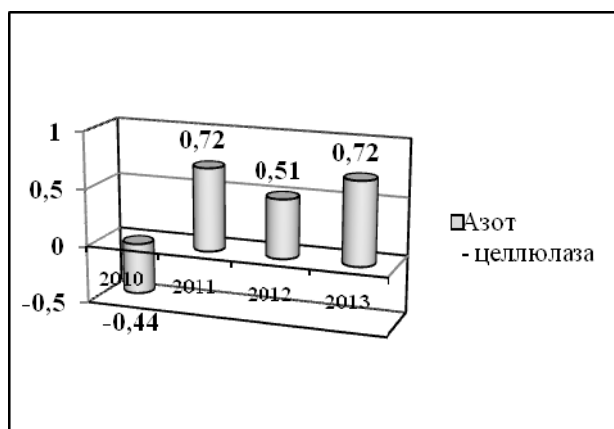
самыми высокими (0,83 – 0,86) за весь период исследований (2010 – 2013 гг.).

В 2013 г. отмечен практически продолжительный период активности в августе и сентябре (66,8 – 68,4 %). Это связано с сильным переувлажнением почвы в летние месяцы (июнь, июль), прекращением к августу и отсутствием достаточной для развития микроорганизмов теплообеспеченности.

Для выяснения факторов, которые ограничивают активность ферментов, нами рассчитаны корреляционные связи между целлюлазной активностью и активностью макроэлементов в почве (азота, фосфора и

калия) и накоплением биомассы к концу вегетационного периода.

Установлено, что, несмотря на высокое содержание азота в почве, сразу после внесения углеводов существенно блокируется его активность (рис. 2).



а)

б)

Рис. 2. Взаимовлияние азота нитратного и целлюлазной активности на фоне загрязнения почвы отработкой минерального масла (а) и дизельного топлива (б)

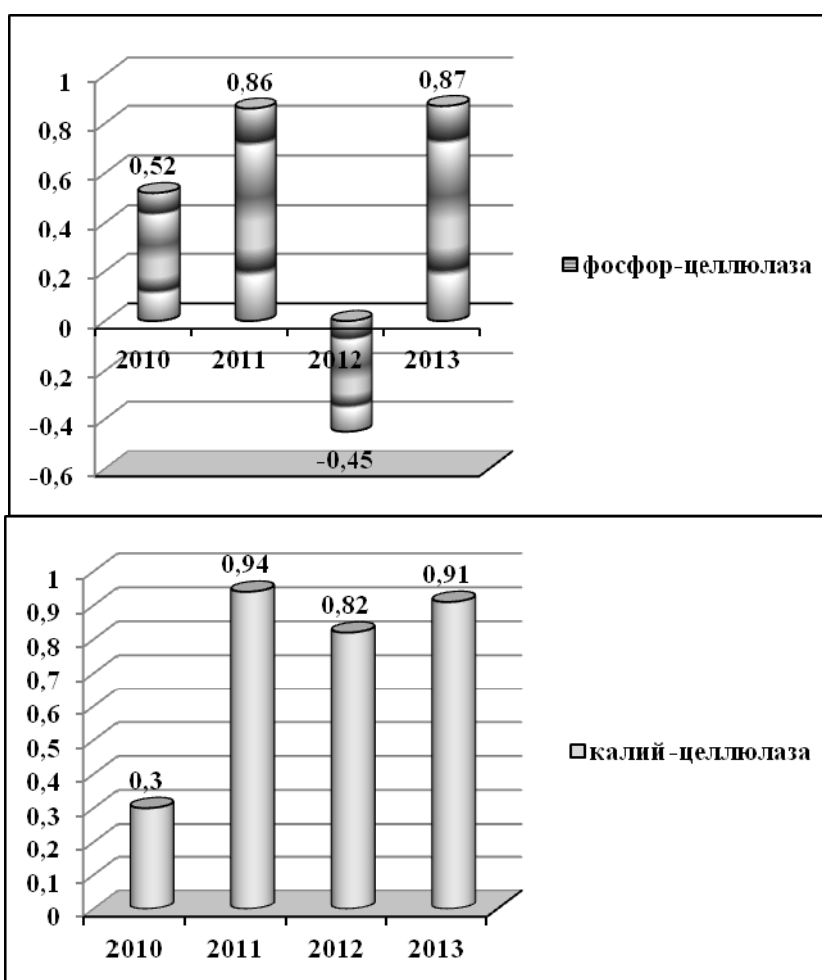


Рис. 3. Влияние подвижного фосфора и калия обменного на целлюлазную активность на фоне загрязнения почвы дизельным топливом

В последующие годы это взаимодействие становится высоко значимым ( $r = 0,72 - 0,95$ ) и может несколько понижаться из-за недостатка влаги в почве (2012 г.), но сохранять положительную зависимость средней силы ( $r = 0,51$ ). При изучении взаимодействия фосфора с ферментами целлюлазы выявлена четкая взаимосвязь только в условиях загрязнения почвы дизельным топливом (рис. 3). Эта связь средней силы после загрязнения и в отсутствие влаги с повышенной обеспеченностью среды теплом. Аналогично проявляется взаимодействие целлюлазы с калием обменным.

Наряду с этим большой вклад в активизацию целлюлазных ферментов вносит органика из растительного опада ( $r = 0,72 - 0,97$ ). Её доля может варьировать по годам, как в 2011 и 2012, когда корреляционные связи несколько ослабели, но оставались положительными (рис. 4).

Это подтверждает уже известное правило, что микроорганизмы имеют гибкие механизмы регуляции

метаболизма, которые позволяют им быстро адаптироваться к меняющимся условиям окружающей среды, а ферментативная активность микробоценозов является одним из критериев оценки почвы, загрязненной поллютантами.

#### Заключение

Загрязнение почвы нефтепродуктами оказывает сильное давление нефтепродуктов на биоту почвы. После внесения углеводов существенно блокируется использование микробоценозами почвы азота нитратного, подвижного фосфора и калия обменного, что подтверждается снижением коэффициентов корреляции ( $r = -0,44 - 0,52$ ) между содержанием данных макроэлементов и целлюлозолитической активностью. Выявлена также сильная зависимость целлюлазной активности от количества осадков и температуры воздуха ( $r = 0,71 - 0,87$ ), особенно в годы с анамально неустойчивой погодой (2012 – 2013).

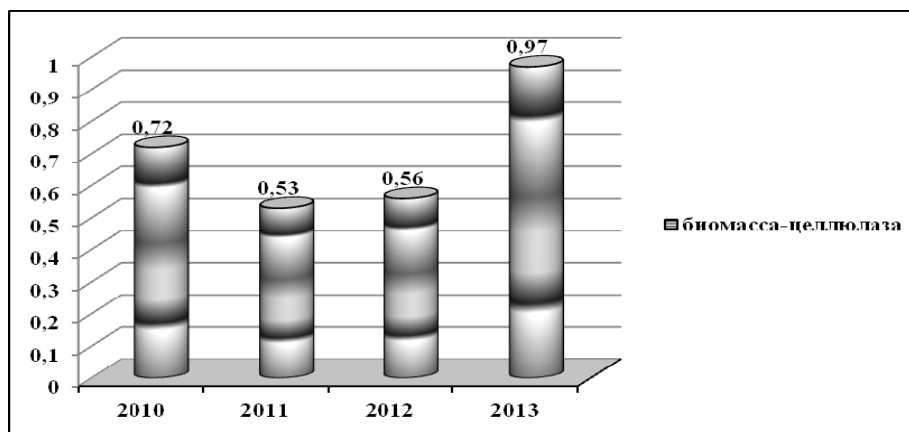


Рис. 4. Влияние органической биомассы растений на целлюлазную активность на фоне загрязнения почвы отработкой минерального масла

#### Литература

1. Абромян С. А. Изменение ферментативной активности почв под воздействием естественных и антропогенных факторов // Почвоведение. 1992. № 7. С. 70 – 82.
2. Артамонова В. С. Микробиологические особенности антропогенно преобразованных почв Западной Сибири. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. 225 с.
3. Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв: учебник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во МГУ, 1989. С. 292 – 293.
4. Гусаков А. В. Биокатализаторы на основе грибных целлюлаз: фундаментальные и прикладные аспекты: дис. ... д-ра хим. наук. М., 2007. 385 с
5. Киреева Н. А., Водопьянов В. В., Мифтахова А. М. Влияние нефтяного загрязнения на целлюлазную активность почв // Почвоведение. 2000. № 6. С. 748 – 753.
6. Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 1990. 189 с.
7. Kampf P., Neef A., Schacht B. Mikrobiologische Charakterisierung von unterschiedlich landwirtschaftlich genutzten Boeden // Band. 1999. № 89. S. 305.
8. Klimanek E.-M. Einfluss organischer und mineralischer Duengung auf die mikrobielle Aktivitaet in Abhaengigkeit vom C-org Gehalt des Bodens im statischen "duengungsversuch" bad Lauchstaedt // Band 91. Heft 2. 1999. S. 646 – 650.

#### Информация об авторе:

*Заушинцен Антон Сергеевич* – соискатель кафедры зоологии и экологии КемГУ, alexaz58@yandex.ru.

*Anton S. Zaushintsen* – post-graduate student at the Department of Zoology and Ecology, Kemerovo State University.

Статья поступила в редколлегию 21.09.2015 г.