

УДК 631.46.631.445.41:631.84

І.М.Малиновська, доктор сільськогосподарських наук
ННЦ «ІНСТИТУТ ЗЕМЛЕРОВСТВА УААН»

Н.А.Зінов'єва, аспірант
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ВПЛИВ ЗАБРУДНЕННЯ СІРОГО ЛІСОВОГО ҐРУНТУ НАФТОПРОДУКТАМИ НА ЙОГО ФІТОТОКСИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ І СТАН МІКРОБІОЦЕНОЗУ

Інтенсивне та багаторічне використання нафтопродуктів у господарській діяльності людини призводить до забруднення навколишнього середовища різноманітними вуглеводнями. Складові компоненти нафтопродуктів є високотоксичними для ґрунтових біоценозів, змінюють агрофізичні та агрохімічні показники ґрунту і роблять його непридатним для ведення сільського господарства [1].

Відомо, що ґрунтова мікрофлора приймає активну участь у процесах природної деструкції вуглеводнів [2]. Ефективність біодеградації нафтопродуктів залежить від величини антропогенного навантаження, глибини проникнення нафтопродуктів, агрохімічних характеристик, складу мікробіоценозу ґрунту, тривалості його очищення та інших чинників [3]. Разом з тим, у літературі відсутні дані щодо впливу нафтопродуктів на спрямованість і напруженість процесів мікробіологічної трансформації сполук азоту, вуглецю та гумусу, накопичення токсичних речовин у забруднених ґрунтах.

Матеріали і методи. Модельний дослід був проведений з використанням сірого лісового крупнопилувато-легкосуглинкового ґрунту моніторингового полігону лабораторії інтенсивних технологій колосових культур і кукурудзи ННЦ «Інститут землеробства УААН» (дослідне господарство «Чабани», Києво-Святошинський район Київської області). У його 0-20 см шарі містилося: гумусу 2,74%, легкогідролізованого азоту 9,33 мг, рухомого фосфору 36,8 мг та обмінного калію 15,3 мг на 100 г сухого ґрунту, $pH_{(KCl)}$ – 5,6. Фітоценоз ділянок перелогу сформувався у результаті спонтанного заростання і представлений в основному злаковими травами. Ґрунт відбирали восени і перед проведенням дослідів відновлювали його біологічну активність

шляхом зволоження та термостатування за 25°C протягом 21 доби. Нафтопродукти вносили у концентраціях від 1 до 20%. За 8 діб до внесення нафтопродуктів у частину судів висівалося насіння злакової травосуміші, а за добу додавалася глюкоза (1%).

Як контроль виступав ґрунт без нафтопродуктів. Стан мікробіоценозу вивчали через добу після внесення нафтопродуктів. Чисельність мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп оцінювали методом висіву на відповідні поживні середовища [4]. Показники інтенсивності мінералізації сполук азоту, органічної речовини і гумусу, а також вірогідність формування бактеріальних колоній (ВФК) розраховували як указано раніше [5]. Фітотоксичні властивості ґрунту визначали з використанням рослинних біотестів (пшениця озима) за Н.А.Красильниковим [6].

Результати та їх обговорення. Внесення нафтопродуктів і компостування ґрунту протягом однієї доби призводить до суттєвих змін у стані мікробного ценозу. Кількість мікроорганізмів окремих груп зростає, а інших – зменшується. Зокрема при внесенні 1% нафтопродуктів кількість амоніфікаторів зростає порівняно з контролем на 115,3%, імобілізаторів мінерального азоту – 91,7, денітрифікаторів – 216,1, педотрофів – 62,2, целюлозоруйнівних – 147,7, стрептоміцетів – 157,5, мобілізаторів мінеральних фосфатів – 238,8, мобілізаторів орґанофосфатів – на 69,4% (табл. 1).

Разом з тим, зменшується чисельність олігонітрофілів, нітрифікувальних і полісахаридсинтезувальних бактерій. Однак внесення нафтопродуктів у концентрації призводить в основному до зменшення фізіолого-біохімічної активності мікроорганізмів порівняно з контрольним варіантом. Так, ВФК амоніфікаторів зменшується на 87,6%, автохтонних – 84,3, целюлозоруйнівних – 158,9, мікроміцетів – 274,3, мобілізаторів орґанофосфатів – на 122% (табл. 2). З підвищенням концентрації нафтопродуктів фізіолого-біохімічна активність мікроорганізмів зростає внаслідок негативної дії молекул нафтопродуктів на метаболізм клітин. Відомо, що леткі ароматичні вуглеводні (толуол, ксилол, бензол), нафталіни, нафтенові кислоти, феноли та інші складові нафти зумовлюють токсичність щодо мікробіоти і рослин [7], тому клітини застосовують додаткові механізми й енергію для подолання негативної дії нафтопродуктів, що знаходить відображення у підвищенні їхньої фізіолого-біохімічної активності. Зменшення ВФК мікроорганізмів при високій (10-20%)

Таблиця 1. Чисельність мікроорганізмів у сірому лісовому ґрунті за внесення нафтопродуктів у зростаючих концентраціях, млн. КУО*/ г абсолютно сухого ґрунту.

| Варіант | Амоніфікатори | Імобілізатори мінерального азоту | Олігонітрофіли | Азотобактер. % обростання грудочок ґрунту | Денітрифікатори | Нітрифікатори | Пелотрофи | Целюлозоруйнівні бактерії | Полісахаридсинтезу-вальні | Автотонні | Стрептоміцети | Мікроміцети | Мобілізатори мінеральних фосфатів | К _c | Мобілізатори органічних фосфатів |
|--------------------------------|---------------|----------------------------------|----------------|---|-----------------|---------------|-----------|---------------------------|---------------------------|-----------|---------------|-------------|-----------------------------------|----------------|----------------------------------|
| Контроль, оброблення водою | 86,8 | 65,3 | 67,8 | 0,67 | 55,8 | 1,04 | 47,1 | 28,5 | 6,61 | 11,4 | 7,03 | 0,23 | 10,3 | 0,68 | 1,24 |
| 1% нафтопродуктів | 186,9 | 125,2 | 25,2 | 0,00 | 176,4 | 0,81 | 76,4 | 70,6 | 5,46 | 10,0 | 18,1 | 0,22 | 34,9 | 1,20 | 2,10 |
| 5% нафтопродуктів | 125,2 | 220,7 | 57,7 | 0,00 | 180,7 | 0,78 | 66,4 | 83,1 | 3,87 | 9,12 | 18,9 | 0,21 | 24,5 | 1,06 | 5,59 |
| 10% нафтопродуктів | 69,5 | 86,0 | 49,5 | 0,00 | 182,4 | 0,77 | 62,1 | 77,3 | 4,34 | 12,4 | 17,4 | 0,20 | 21,7 | 0,78 | 0,87 |
| 20% нафтопродуктів | 39,0 | 74,7 | 38,2 | 0,00 | 143,4 | 0,45 | 51,3 | 79,9 | 3,48 | 10,9 | 13,5 | 0,15 | 10,4 | 1,12 | 0,10 |
| Фітоценоз (контроль) | 237,6 | 713,6 | 288,1 | 0,00 | 182,0 | 0,64 | 803,7 | 522,1 | 210,6 | 56,7 | 5,63 | 0,20 | 26,4 | 0,95 | 40,3 |
| Фітоценоз+5% нафтопродуктів | 546,8 | 516,4 | 170,0 | 3,33 | 190,9 | 1,50 | 600,0 | 600,0 | 67,7 | 17,5 | 53,2 | 0,51 | 190,5 | 2,33 | 30,0 |
| 1% глюкози + 5% нафтопродуктів | 183,3 | 248,7 | 148,2 | 2,67 | 182,0 | 0,87 | 205,4 | 173,7 | 22,1 | 12,7 | 19,5 | 0,21 | 24,3 | 1,14 | 5,63 |
| НІР ₀₅ | 12,0 | 10,5 | 9,84 | 0,06 | 10,9 | 0,05 | 9,65 | 9,52 | 1,58 | 0,91 | 0,84 | 0,04 | 3,02 | | 0,84 |

Примітка: КУО*- колонієутворююча одиниця

Таблиця 2. Вірогідність формування колоній мікроорганізмів (λ_1 , год⁻¹·10⁻²) у сірому лісовому ґрунті за внесення нафтопродуктів у зростаючих концентраціях

| Варіант | Амоніфікатори | Імобілізатори мінерального азоту | Олігонітрофіли | Нітрифікатори | Денітрифікатори | Пелотрофи | Автохтонні | Целлозолоруїючі | Мікроміцети | Мобілізатори органічних фосфатів | Мобілізатори мінеральних фосфатів |
|--------------------------------|---------------|----------------------------------|----------------|---------------|-----------------|-----------|------------|-----------------|-------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| Контроль: оброблення водою | 0,87 | 0,16 | 1,02 | 0,13 | 0,19 | 6,27 | 0,94 | 2,33 | 4,09 | 1,49 | 2,89 |
| 1% нафтопродуктів | 0,46 | 0,15 | 2,89 | 0,17 | 0,64 | 6,93 | 0,51 | 0,90 | 1,09 | 1,84 | 1,30 |
| 5% нафтопродуктів | 1,49 | 0,14 | 1,64 | 0,22 | 1,62 | 5,23 | 0,45 | 0,99 | 1,82 | 0,62 | 1,01 |
| 10% нафтопродуктів | 5,10 | 0,40 | 3,05 | 0,20 | 17,7 | 4,93 | 0,43 | 1,14 | 1,73 | 0,52 | 0,96 |
| 20% нафтопродуктів | 0,38 | 0,39 | 1,93 | 0,26 | 16,7 | 4,31 | 0,55 | 1,16 | 1,63 | 0,56 | 2,40 |
| Фітоценоз (контроль) | 5,65 | 1,58 | 4,46 | 17,7 | 4,23 | 0,86 | 7,89 | 13,1 | 4,11 | 2,95 | 0,45 |
| Фітоценоз+5% нафтопродуктів | 8,96 | 0,58 | 2,14 | 0,06 | 17,7 | 8,03 | 0,42 | 2,56 | 5,96 | 9,08 | 7,62 |
| 1% глюкози + 5% нафтопродуктів | 1,46 | 0,10 | 3,34 | 0,24 | 17,7 | 5,21 | 0,39 | 1,47 | 2,48 | 1,38 | 4,40 |
| НІР ₀₅ | 0,22 | 0,10 | 0,55 | 0,05 | 1,05 | 0,62 | 0,08 | 1,05 | 0,20 | 1,06 | 1,08 |

концентрації нафтопродуктів можна пояснити тим, що частина клітин при високому вмісті нафтопродуктів у ґрунті гине, що підтверджується даними табл. 1.

Внесення нафтопродуктів у концентрації 1% призводить до уповільнення мікробіологічних процесів у ґрунті. Так, індекс педотрофності зменшується порівняно з контролем на 31,7%, коефіцієнти опідзоленості і мінералізації азоту у 6,0 і 1,12 раза відповідно, активність мінералізації гумусу – на 85,4% (табл. 3). Однак внесення зростаючих концентрацій нафтопродуктів інтенсифікує мінералізаційні процеси і за концентрації нафтопродуктів 20% індекс педотрофності перевищує контрольний показник у 2,45 раза, коефіцієнт опідзоленості – 1,26, мінералізації азоту – у 2,56 раза, активність мінералізації гумусу сягає рівня показника контрольного варіанта.

Внесення нафтопродуктів сприяє суттєвому збільшенню фітотоксичності ґрунту. За концентрації нафтопродуктів 1% вона зростає в 2,42 раза (табл. 3). Подальше збільшення вмісту нафтопродуктів у ґрунті стає причиною пригнічення процесу проростання насіння тест-культури.

Внесення 5% нафтопродуктів у варіанті досліді з бобово-злаковим фітоценозом призвело до загибелі рослин. Проте через 24 години мікробіоценоз цього варіанта досліді характеризувався підвищеною чисельністю мікроорганізмів усіх вивчених екологічних груп. Так, чисельність амоніфікаторів перевищувала чисельність мікроорганізмів відповідної групи ґрунту без рослин у 4,37 раза, імобілізаторів мінерального азоту – 4,29, олігонітрофілів – 2,95, нітрифікаторів – 1,92, педотрофів – 6,22, целюлозоруйнівних – 4,87, полісахаридсинтезувальних – 17,5, автохтонних – 1,92, стрептоміцетів – 2,81, мікроміцетів – 2,43, мобілізаторів мінеральних фосфатів – 7,78, мобілізаторів органофосфатів – у 5,37 раза (табл. 1). Мікроорганізми рослинної ризосфери характеризуються вищою фізіолого-біохімічною активністю, ніж мікроорганізми ґрунту без рослин. Зокрема, ВФК амоніфікаторів ризосферного ґрунту перевищує відповідний показник ґрунту без рослин у 6,01 раза, амоніфікаторів мінерального азоту – 4,23, олігонітрофілів – 1,3, денітрифікаторів – 10,9, педотрофів – 1,54, целюлозоруйнівних – 2,59, мікроміцетів – 3,27, мобілізаторів мінеральних фосфатів – 7,54, мобілізаторів органофосфатів – у 14,6 раза (табл. 2). Отже, мікроорганізми ризосферного ґрунту загиблого фітоценозу володіють вищою

Таблиця 3. Показники інтенсивності мінералізаційних процесів і фітотоксичних властивостей сірого лісового ґрунту за внесення нафтопродуктів у зростаючих концентраціях

| Варіант | Індекс педотрофності | Коефіцієнт опідзоленості | Коефіцієнт мінералізації азоту | Активність мінералізації гумусу, % | Маса 100 рослин тест-культури пшениці озимої, г | | |
|--------------------------------|----------------------|--------------------------|--------------------------------|------------------------------------|--|---------|---------------|
| | | | | | стебло | коріння | загальна маса |
| Контроль: оброблення водою | 0,54 | 0,78 | 0,75 | 24,1 | 5,44 | 6,71 | 12,2 |
| 1% нафтопродуктів | 0,41 | 0,13 | 0,67 | 13,0 | 2,13 | 2,91 | 5,04 |
| 5% нафтопродуктів | 0,77 | 0,46 | 1,76 | 13,7 | Внаслідок великої токсичності ґрунту насіння тест-культури не проросло | | |
| 10% нафтопродуктів | 0,89 | 0,71 | 1,24 | 19,9 | | | |
| 20% нафтопродуктів | 1,32 | 0,98 | 1,92 | 21,3 | | | |
| Фітоценоз (контроль) | 3,38 | 1,21 | 3,00 | 7,05 | 8,95 | 3,54 | 12,49 |
| Фітоценоз+5% нафтопродуктів | 1,10 | 0,31 | 0,94 | 2,91 | Внаслідок великої токсичності ґрунту насіння тест-культури не проросло | | |
| 1% глюкози + 5% нафтопродуктів | 1,12 | 0,81 | 1,36 | 6,20 | | | |
| НІР ₀₅ | | | | | 0,54 | 0,71 | 1,02 |

біохімічною активністю, що дає їм змогу активніше деструктувати молекули політанту.

Інтенсивність мінералізації органічної речовини у ризосферному ґрунті перевищує відповідний показник ґрунту без рослин на 42,9% (табл. 3). Доступність органічних речовин у ризосферному ґрунті дає можливість знизити активність мінералізації гумусу порівняно з ґрунтом без рослин у 4,7 раза.

Внесення нафтопродуктів і загибель рослин, яка відбувається внаслідок цього – це два вагомні фактори, які одночасно впливають на стан мікробіоценозу, і тому важко розрізнити, де закінчується вплив одного і починається вплив іншого. Так, внаслідок внесення нафтопродуктів у ризосферному мікробіо-ценозі загиблого фітоценозу порівняно з мікробіоценозом ризосфери вегетуючого фітоценозу суттєво зростає чисельність амоніфікаторів, нітрифікаторів, целюлозоруйнівних бактерій, стрептоміцетів, мікроміцетів, мобілізаторів мінеральних фосфатів, що можна розглядати як вторинний ріст мікроорганізмів на залишках відмерлих рослин (табл. 1). Паралельно у ґрунті ризосфери загиблого фітоценозу порівняно з вегетуючим зменшується чисельність іmobilізаторів мінерального азоту, олігонітрофілів, педотрофів, автохтонних бактерій та інших (табл. 1).

Чисельність полісахаридсинтезувальних бактерій, які приймають участь у емульгації і підвищенні доступності молекул політанту клітинам мікроорганізмів-деструкторів, зменшується як і чисельність мікроорганізмів інших досліджуваних екологічних груп унаслідок внесення нафтопродуктів і припинення екскреції корневих ексудатів (табл. 1).

Необхідно відмітити, що доза нафтопродуктів 10% є інгібуючою для розвитку амоніфікаторів, іmobilізаторів мінерального азоту, педотрофів, целюлозоруйнівних мікроорганізмів, мобілізаторів органофосфатів. Для нітрифікаторів, денітрифікаторів, стрептоміцетів, мікроміцетів, мобілізаторів мінеральних фосфатів інгібуючою виявилась доза нафтопродуктів 20%.

Фізіолого-біохімічна активність мікроорганізмів вегетуючого фітоценозу вища за фізіологічну активність мікроорганізмів загиблого фітоценозу (табл. 2). Виключенням з цієї закономірності є амоніфікатори, мікроміцети, мобілізатори мінеральних та органофосфатів. Мікробіоценоз вегетуючих рослин характеризується напруженішим та інтенсивнішим протіканням освоєння органічної речовини ґрунту, опідзолення, мінералізації сполук

азоту й гумусу (табл. 3). Зокрема, індекс педотрофності мікробіоценозу ґрунту вегетуючого фітоценозу перевищує відповідний показник варіанта відмерлого фітоценозу у 3,07 раза, коефіцієнт опідзоленості – 3,90, коефіцієнт мінералізації азоту – 3,19, коефіцієнт мінералізації гумусу – у 2,42 раза.

Внесення глюкози як легкодоступного джерела живлення для мікроорганізмів і можливого кометаболіту при розкладанні нафтопродуктів було проведено у варіанті «ґрунт без рослин + 5% нафтопродуктів». Протягом доби після внесення нафтопродуктів глюкоза не вплинула на чисельність мікроорганізмів циклу азоту, однак, викликала суттєве збільшення кількості мікроорганізмів циклу вуглецю: педотрофів на 209,3%, целюлозоруйнівних – 109,0, полісахаридсинтезувальних – 471,0, автохтонних – на 39,3% (табл. 1).

Внесення глюкози вже через добу сприяло активізації мікробіологічних процесів у ґрунті: підвищувала інтенсивність опідзолення і деструкції органічних речовин у ґрунті – на 76,1 і 45,5% відповідно (табл. 3). Інтенсивність мінералізації сполук азоту зростала на 41,7%. Активність мінералізації гумусу за внесення глюкози також, як і у ризосферному ґрунті, знижувалася порівняно з ґрунтом без глюкози у 2,2 раза. Разом з тим, потрібно відмітити, що вирощування рослин і продукування ними кореневих ексудатів призводить до істотнішого уповільнення мінералізації гумусу (в 4,7 раза).

Отже, вирощування рослин і внесення у ґрунт легкодоступних для споживання мікроорганізмами субстратів дає змогу сформувати потужніший і активніший мікробний ценоз порівняно з ґрунтом без рослин. Формування фізіологічно активнішого мікробного ценозу є запорукою інтенсивнішої деградації нафтопродуктів у подальшому.

1. Bourquin, A. W. *Bioremediation of hazardous waste* / A. W. Bourquin // *Biofutur*. – 1990. – № 93. – P. 24-35.

2. Bachoon, D.S. *Microbial community dynamics and evaluation of bioremediation strategies in oil-impacted salt marsh sediment microcosms* / D.S.Bachoon, R.Araujo, M.Molina and R.E. Hodson // *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. – 2001. – Vol. 27. – P. 72-79.

3. Звягинцев, Д.Г. *Диагностические признаки различных уровней загрязнения почвы нефтью* / Д.Г. Звягинцев, В.С. Грев, С.В. Левин [та інші]. // *Почвоведение*. – 1989. – № 1. – С. 72-78.

4. Теннер, Е.З. *Практикум по микробиологии* / Е.З. Теннер,

- В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. – М.: Дрофа. – 2004. – 256 с.
5. Малиновська, І.М. Формування мікробіоценозів ґрунту за різних способів відтворення рослинних угруповань / І.М. Малиновська, А.В. Боговін, М.М. Пташнік // Землеробство. – К.: Нора Принт. – 2009. – Вип.81. – С.105-118.
6. Методы изучения почвенных микроорганизмов и их метаболитов / Под ред. Н.А. Красильникова. – М.: МГУ. – 1966. – 162 с.
7. Екологія мікроорганізмів: посібник / В.П.Патики, Т.Г. Омелянець, І.В.Гририк, В.Ф.Петриненко; за ред. В.П.Патики. – К.: Основа, 2007. – 192 с.

Забруднення ґрунту нафтопродуктами протягом однієї доби призводить до кількісних і якісних змін у стані мікробного ценозу, суттєво підвищується фітотоксичність ґрунту. За низьких концентрацій нафтопродуктів (1%) перебігання мікробіологічних процесів у ґрунті уповільнюється, за високих (20%) – інтенсифікується. Внесення глюкози (1%) у забруднений нафтопродуктами ґрунт сприяє збільшенню кількості мікроорганізмів циклу вуглецю, підвищенню інтенсивності мінералізації органічних речовин і сполук азоту та уповільненню деструкції гумусу в 2,2 рази.

Ключові слова: мікробіоценоз, еколого-трофічні групи, мінералізація гумусу, токсичність ґрунту, сірий лісовий ґрунт, забруднення нафтопродуктами.

Загрязнение почвы нефтепродуктами в течении одних суток приводит к количественным и качественным изменениям в состоянии микробного ценоза, существенно повышается фитотоксичность почвы. При низких концентрациях нефтепродуктов (1%) протекание микробиологических процессов в почве замедляется, при высоких (20%) – интенсифицируется. Внесение глюкозы (1%) в загрязненную нефтепродуктами почву приводит к увеличению численности микроорганизмов цикла углерода, возрастанию интенсивности минерализации органических веществ, соединений азота и замедлению деструкции гумуса в 2,2 раза.

Ключевые слова: микробиоценоз, еколого-трофіческие группы, мінералізація гумусу, токсичність ґрунту, сірий лісовий ґрунт, забруднення нафтопродуктами.

Oil product soil pollution during one day leads to quantitative and qualitative changes in the microbial coenosis, its phytotoxicity significantly increases. In case of low oil product concentrations (1%), the course of microbial processes in soil slows down, in case of high ones (20%) it intensifies. The glucose application (1%) into oil product polluted soil promotes the increase of carbon cycle microorganism number, the intensity of organic

substance and nitrogen compound mineralization and slowing down the humus destruction 2.2 fold.

Key words: *microbiocoenosis, ecological-trophic groups, humus mineralization, soil toxicity, grey forest soil, oil product pollution.*