

На правах рукописи

СКВОРЦОВА ИРИНА АНАТОЛЬЕВНА

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ
БИОТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ТОРФЯНЫХ
ПОЧВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ НЕФТИНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

Специальность 03.02.08 – экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Тюмень – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ижевская ГСХА»

Научный руководитель: доктор сельскохозяйственных наук, профессор **Леднёв Андрей Викторович**

Официальные оппоненты: **Околелова Алла Ароновна**, доктор биологических наук, профессор кафедры промышленной экологии и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный технический университет»

Гаевая Елена Викторовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры техносферной безопасности ФГБОУ ВО «Тюменский индустриальный университет»

Ведущая организация: **ФГБОУ ВО «Нижегородская ГСХА»**

Защита диссертации состоится «21» мая 2019 г. в 13-30 часов на заседании диссертационного совета Д 999.114.02 при ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья» по адресу:

625003, г. Тюмень, ул Республики, 7

Телефон/факс: 8(3452) 29-01-52,

e-mail: dissgausz@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Государственного аграрного университета Северного Зауралья и на сайте университета <http://www.tsaa.ru>.

Автореферат разослан «19» марта 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор с-х. наук

Турсумбекова Галина Шалкаровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований. Нефтегазовая промышленность играет ключевую роль в экономике России, однако по опасности воздействия на окружающую среду она занимает третье место в числе 130 отраслей современного производства. В настоящее время в России добывается ежегодно около 450 млн. тонн нефти, при этом, каждый год происходит 50-60 тыс. случаев прорыва трубопроводов (Сейронян, 2017). Удмуртия является нефтедобывающим регионом РФ – ежегодная добыча нефти превышает 9 млн. т. На её территории функционируют более 60 месторождений, число аварийных ситуаций на которых измеряется в пределах 0,04 – 0,70 шт./год (Саламатова, 2002). В результате аварий происходит сброс чужеродных и, как правило, геохимически активных соединений, что вызывает трансформацию и последующее разрушение земельных угодий, вплоть до полной деградации и отчуждение их на длительный срок из сельскохозяйственного или лесохозяйственного производства. Нефтедобывающие предприятия несут большие затраты по восстановлению загрязнённых почв и выплате длительный период штрафных санкций. Необходимость скорейшего возвращения земельных участков в хозяйственный оборот требует оперативного устраниния последствий нефтяного загрязнения почвенного покрова. Это достигается проведением комплекса работ по их рекультивации, для повышения эффективности которых требуется четко понимать процессы, происходящие в почве после её загрязнения. Кроме того, в настоящее время в официальных документах отсутствуют реальные критерии экологической оценки уровней загрязнения нефтью и нефтепродуктами почв, не утверждены нормативы допустимого остаточного содержания нефти в почве (ДОСНП). Всё это придаёт исследованиям нефтезагрязнённых почв высокую степень актуальности.

Цель исследований – экологическая оценка биотического комплекса торфяных почв Удмуртии по состоянию биологических и токсикологических свойств под действием нефтяного загрязнения.

Задачи исследований:

1. Изучить влияние различных уровней загрязнения торфяных почв нефтью на их ферментативную активность, численность аборигенной микрофлоры и педобионтов.
2. Изучить влияние различных уровней загрязнения торфяных почв нефтью на их токсикологические свойства.
3. Определить норматив допустимого остаточного содержания нефти для торфяных почв Удмуртской Республики.

Научная новизна. Впервые в условиях Удмуртской Республики на территории типичной для восточно-европейской части южной таёжной подзоны таёжно-лесной зоны изучены биологические, токсикологические и агрохимические свойства торфяных почв, загрязненных нефтью, определен видовой состав почвенной зоофауны, степень токсичности на различные группы живых организмов (*Triticum aestivum*, *Daphnia magna*, *Paramecium caudatum*, бактериальный препарат «Эколюм»). Определен норматив

допустимого остаточного содержания нефти в торфяных почвах Удмуртской Республики.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установлены закономерности влияния различных доз нефтяного загрязнения на биологические и токсикологические свойства торфяных почв. Разработан норматив допустимого остаточного содержания нефти в торфяных почвах Удмуртской Республики, который является региональным нормативно-правовым документом для нефтедобывающих предприятий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Влияние нефти на численность актиномицетов, микроскопических грибов, целлюлозоразлагающих и аммонифицирующих микроорганизмов в торфяных почвах определяется дозой загрязнения. Низкая степень загрязнения нефтью увеличивает их численность, а при достижении определённого для каждого вида микроорганизмов уровня, их количество в почве резко уменьшается.

2. Нефтяное загрязнение вызывает снижение ферментативной активности торфяных почв. Наиболее негативное действие нефти проявляется на ферментативную активность уреазы и инвертазы.

3. В результате нефтяного загрязнения торфяных почв нарушается видовая структура сообществ педобионтов, снижается их численность, биологическое разнообразие, изменяется качество почвенной среды.

4. При мониторинге, диагностике и нормировании загрязнения торфяной почвы нефтью целесообразно совместное использование комплекса биохимических, микробиологических и токсикологических показателей.

Апробация работы и публикации. Основные результаты исследований докладывались на ежегодных научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава ФГБОУ ВО «Ижевская ГСХА» (2014-2016). По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе в журналах, рекомендованных ВАК РФ, опубликовано 4 работы.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 134 стр. компьютерного текста, состоит из введения, 5 глав, заключения. Содержит 27 таблиц, 18 рисунков, 8 приложений. Список использованных источников включает 296 наименований, в том числе 22 – на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Анализ литературных источников показал, что в настоящее время накоплен большой материал по влиянию нефтепродуктов на свойства минеральных почв (Пиковский, 1993; Солнцева, 1998; Киреева, 2002; Гилязов, 2003; Колесников, 2007; Леднев, 2008; Новоселова, 2008 и др.). Установлено, что характер и степень влияния напрямую зависит от вида нефтепродуктов, от уровня загрязнения и типа почв. Имеющиеся данные по влиянию нефтепродуктов на торфяные почвы единичные и весьма противоречивые (Елин, 2002; Сухов и др., 2004; Киреева, 2008 и др.).

Глава 2. ОБЪЕКТ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

Основным объектом исследований в диссертационной работе являются аллювиальные торфяные почвы, загрязнённые различными дозами нефти. Для

повышения объективности экспериментальных данных, исследования по теме диссертационной работы проведены в три этапа: лабораторный, полевой и производственный.

Лабораторный опыт проведен с торфяной почвой, искусственно загрязнённой товарной нефтью. В опыте изучалось 11 уровней загрязнения (с очень низкого до очень высокого).

Схема лабораторного опыта: 1) контроль (без нефти); 2) загрязнение нефтью – 5 г/кг почвы; 3) загрязнение – 10 г/кг; 4) загрязнение – 20 г/кг; 5) загрязнение – 30 г/кг; 6) загрязнение – 40 г/кг; 7) загрязнение – 50 г/кг; 8) загрязнение – 100 г/кг; 9) загрязнение – 150 г/кг; 10) загрязнение – 200 г/кг; 11) загрязнение – 250 г/кг; 12) загрязнение – 300 г/кг.

Опыт заложен в мае 2014 г. в полиэтиленовых сосудах ёмкостью 1,5 литра, в которых было размещено одинаковое количество торфа, взятого из верхнего слоя (0-50 см) незагрязнённой аллювиальной иловато-торфяно-перегнойной почвы. Торф характеризовался нейтральной реакцией (pH_{KCl} 6,1), очень высокой суммой обменных оснований (200 ммоль/100г), очень низким содержанием обменного калия (20 мг/кг), повышенным – подвижного фосфора (134 мг/кг). Опыт заложен в 4-х кратной повторности. Подготовка почвы и исследования проведены по методике закладки вегетационного опыта, предложенной А. В. Соколовым (1975). Из каждого сосуда дважды (через 5 и 90 дней компостирования) отобраны почвенные образцы для определения микробиологических и токсикологических свойств.

Полевой опыт проведён в 2014-2016 гг. на месторождении торфа «Вожайское» в Завьяловском районе Удмуртской Республики. Почва – осущененная аллювиальная иловато-перегнойно-торфяная среднемощная. Схема полевого опыта аналогична лабораторному опыту. Он заложен в 4-х кратной повторности. Размер делянок $1,0 \times 1,0$ м. Размещение делянок систематическое со смещением в 4 яруса. На каждую делянку с помощью лейки было вылито расчётное количество товарной нефти согласно схемы опыта. После этого все делянки были перекопаны лопатой на глубину 20 см.

Научные исследования в условиях производства проведены в первой декаде августа 2014 г. В качестве объекта исследования выбрана притеррасная часть поймы р. Кама в Камбарском районе Удмуртской Республики. Источник загрязнения – Камбарская нефтебаза (протечка ёмкостей хранения нефтепродуктов). Угодье – заболоченный лес. Почва – пойменная болотная иловато-перегнойно-торфяная на средних торфах. На обследуемом участке были выявлены три ключевые площадки, на которых заложены почвенные разрезы: 1 разрез располагался на сильно загрязнённом нефтепродуктами участке, 2 разрез – на слабо загрязнённом участке, 3 разрез – на незагрязнённом (контрольном) участке.

В опытах и на ключевых площадках изучались микробиологические, ферментативные, токсикологические и агрохимические свойства загрязнённых торфяных почв. Кроме того, на ключевых площадках было определено видовое разнообразие мезофаунистического комплекса педобионтов.

Почвенные образцы отобраны по ГОСТ 17.4.3.01-83 (СТ СЭВ 3847-82) и

проанализированы в лаборатории РЦ ГЭКМ ОХ УХО УР АУ «Управление Минприроды УР» и химико-биологической лаборатории ФГБНУ «Удмуртский НИИСХ» гостирами и общепринятыми методиками: определение массовой доли нефтепродуктов – по ПНД Ф 16.1:2.2.22-98; определение активности каталазы – по методу А. Ш. Галстяна (Титова В.И. и др., 2011); определение активности инвертазы – весовым методом по методике В.Ф. Купревича (Титова В.И. и др., 2011); определение активности уреазы – фотоколориметрическим методом (Казеев К.Ш. и др., 2003); определение хронической фитотоксичности в отношении высших растений – по ГОСТ Р ИСО 22030-2009; определение острого токсичного действия с использованием тест-объекта – *Daphnia magna* (ФР.1.39.2007. 03222), *Paramecium caudatum* (ФР.1.39.2015.19243) и тест-системы ЭКОЛЮМ (ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04); определение группового состава микроорганизмов – методом высея на селективные среды (ГОСТ 54653-2011). Для сбора мелких почвенных членистоногих из образцов использовали эклектор. Математическая обработка материала проведена с помощью статистического пакета «Statistica 5,5». Для интерпретации полученных результатов использовался дисперсионный многофакторный анализ (по перекрестно-иерархической схеме, при последующей оценке различий методом множественного сравнения LSD-test). Сравнительный анализ видового разнообразия проводился с использованием индексов Чекановского-Серенсена, Шеннона, Маргалефа.

Глава 3. ИЗМЕНЕНИЕ ПОЧВЕННОГО БИОТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ТОРФЯНЫХ ПОЧВ, ПОДВЕРГНУВШИХСЯ НЕФТИНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ

Наиболее объективным показателем, характеризующим общее экологическое состояние загрязнённых территорий, является численность микробиологического сообщества.

Изменение численности микробиологического сообщества аллювиальных торфяных почв под действием различных уровней загрязнения нефтью нами изучалось в полевом опыте. Группа микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, представлена в основном бактериями и актиномицетами. Установлено, что слабая степень нефтяного загрязнения (5-20 г/кг) способствовала увеличению численности актиномицетов в 1,5-2 раза по сравнению с отсутствием загрязнения (рис. 1). Наиболее существенные различия в численности актиномицетов наблюдали через 15 мес. от начала эксперимента. Учитывая достаточно высокую долю деградации нефти в вариантах с её исходной концентрацией 5-20 г/кг, можно предположить, что небольшая стимуляция развития актиномицетов при невысоком уровне нефтяного загрязнения обусловлена их ростом за счет дополнительного источника питания, каким являются отдельные углеводороды нефти.

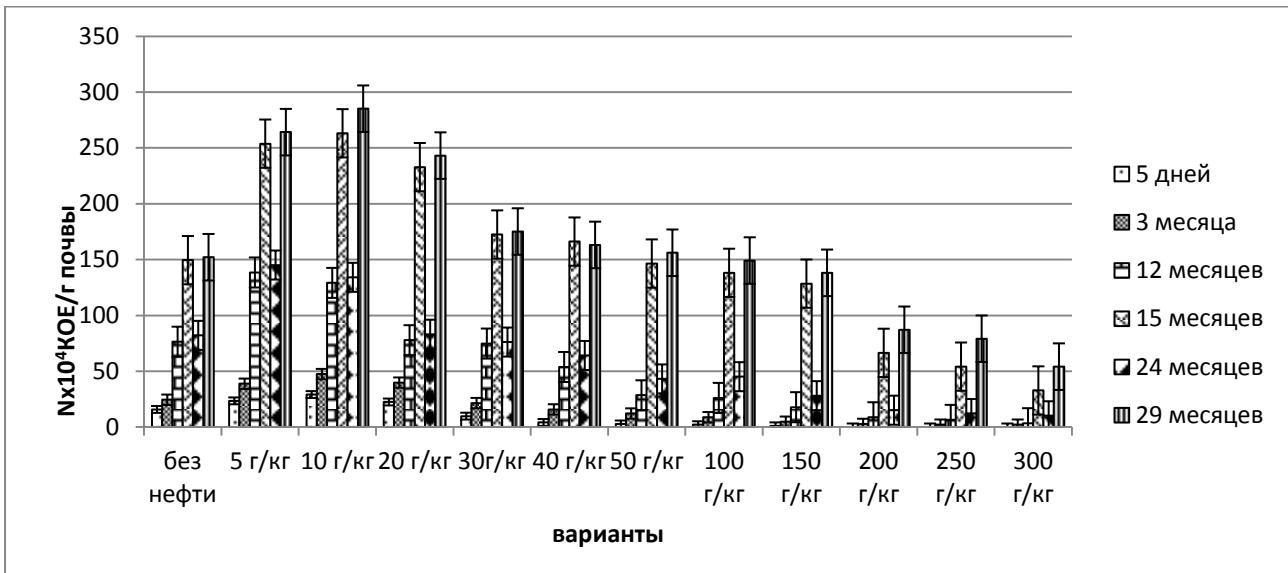


Рис. 1 - Влияние нефтяного загрязнения на численность (N) актиномицетов в торфяной почве.

Дальнейшее повышение уровня загрязнения почвы нефтью до 30-40 г/кг несколько снижало численность актиномицетов по сравнению с уровнем загрязнения 5-20 г/кг. При дозе нефти 200-300 г/кг восстановления комплекса актиномицетов за 15 мес. не происходило, и только при наблюдении через 29 мес. начался рост актиномицетов.

Влияние нефтяного загрязнения на количество микроскопических грибов показано на рис. 2.

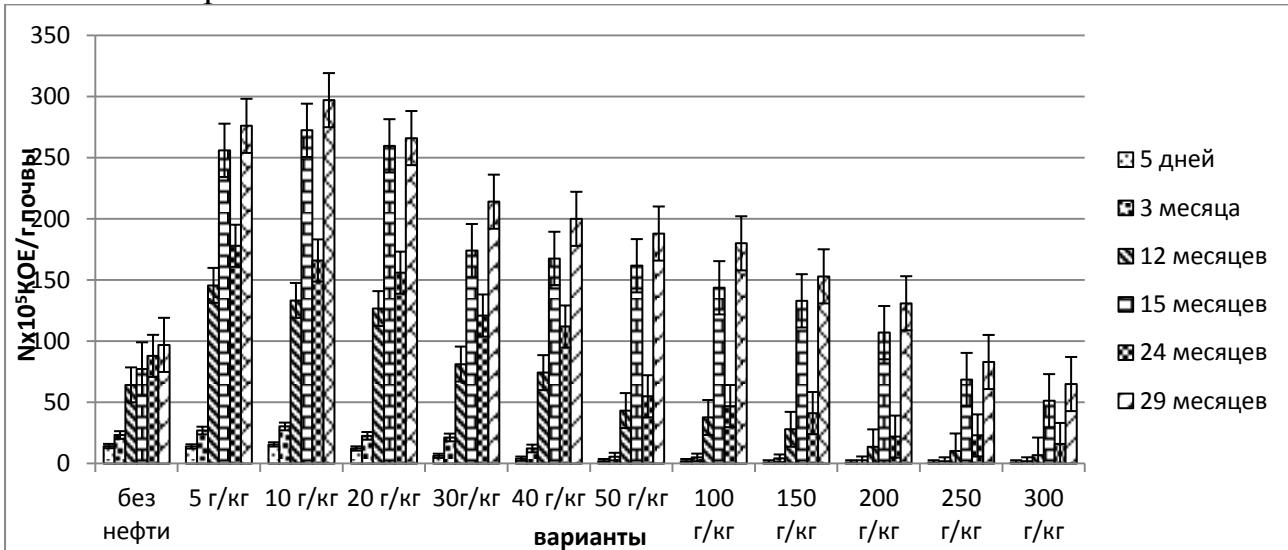


Рис. 2 - Влияние нефтяного загрязнения на численность (N) микроскопических грибов в торфяной почве

Комплекс микромицетов, в отличие от мицелиальных прокариот, оказался способным к самовосстановлению за 29 мес. наблюдений во всех вариантах опыта, в том числе с высоким уровнем загрязнения (200-300 г/кг): численность грибов в сентябре 2016 г. была либо достоверно выше, либо на уровне этого показателя в контроле без загрязнителя. Это свидетельствует о большей устойчивости сообщества микромицетов, чем актиномицетов, к сильному нефтезагрязнению почвы.

Как и в случае с мицелиальными микроорганизмами (актиномицетами и грибами), небольшое нефтяное загрязнение (5-20 г/кг) стимулировало, хотя и менее значительно (на 38-40%), рост аммонифицирующих бактерий (рис. 3). Они оказались более чувствительными к присутствующим в почве нефтепродуктам, чем актиномицеты и грибы, поскольку восстановления уровня их численности по окончании эксперимента до такового в контроле не происходило даже при степени загрязнения 50 г/кг нефти в торфе.

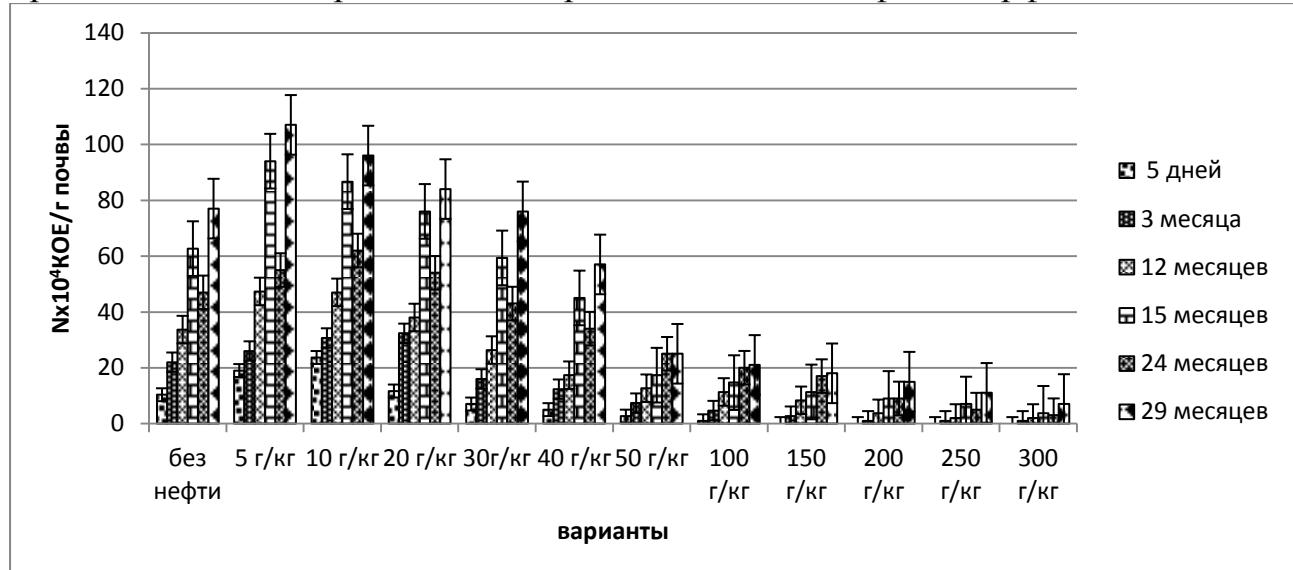


Рис.3-Влияние нефтяного загрязнения на численность (N) аммонифицирующих бактерий в торфяной почве

Важнейшей группой микроорганизмов, участвующих в процессах разложения органического вещества, являются целлюлозоразлагающие бактерии (ЦРБ). Динамика их численности представлена на рис. 4.

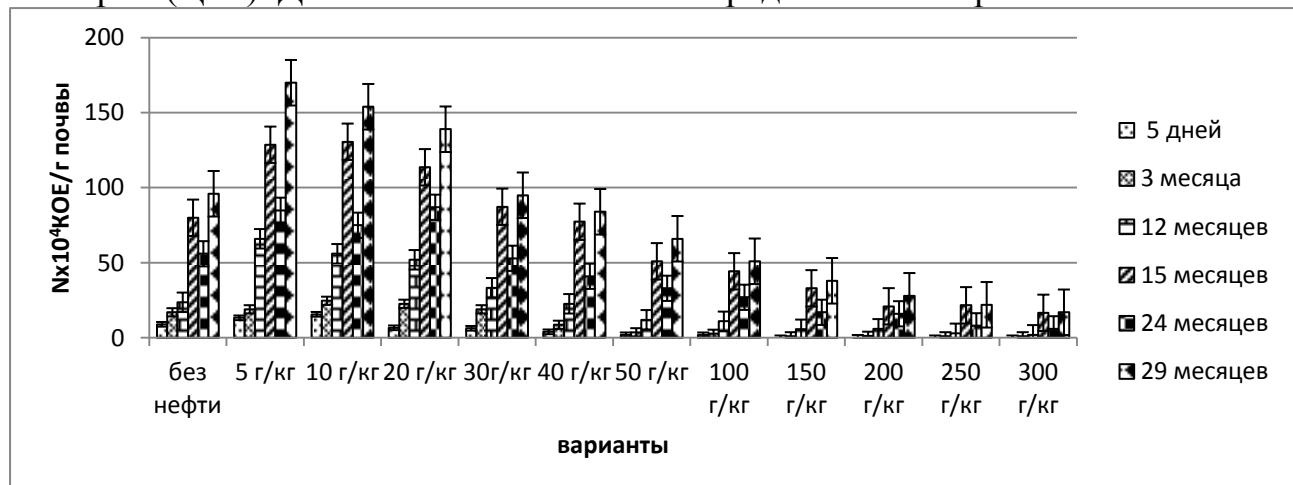


Рис. 4 - Влияние нефтяного загрязнения на численность (N) ЦРБ бактерий в торфяной почве

Экспериментальные данные, полученные в 2014-2016 гг. в условиях техногенного загрязнения торфяных почв нефтепродуктами, подтвердили сильную зависимость численности микроорганизмов от степени их загрязнения. Наиболее чувствительной группой микроорганизмов к загрязнению почвы нефтепродуктами были целлюлозоразлагающие. Они снизили свою численность при слабой её степени – в 6,1 раза (с $78,7 \cdot 10^4$ до $13,0 \cdot 10^4$), при сильной степени – в 17,1 раза (до $4,6 \cdot 10^4$). Наименее

чувствительными к нефтепродуктам являлись микроскопические грибы. Они при слабой степени загрязнения снизили свою численность только в 2,6 раза (с $33,6 \cdot 10^3$ до $13,0 \cdot 10^3$), а при сильной степени – в 3,7 раза (до $9,0 \cdot 10^3$). Вторым важнейшим фактором, определяющим численность аэробных микроорганизмов, была степень увлажнения торфяных почв. В горизонтах с оптимальным увлажнением наблюдалась максимальная их численность. Однако, по мере переувлажнения почвы, которое постепенно возрастало вниз по профилю, она резко снижалась.

Одним из важнейших показателей биологической активности почв, характеризующих потенциальную способность системы сохранять гомеостаз, является ферментативная активность почв (Звягинцев, 1987).

Влияние разных уровней нефтяного загрязнения на ферментативную активность торфяных почв изучалось в лабораторном опыте, полевом опыте и на ключевых площадках с техногенным загрязнением. В табл. 1 показаны экспериментальные данные лабораторного опыта.

Таблица 1 – Влияние нефтяного загрязнения торфяной почвы на её ферментативную активность через 90 дней после загрязнения (опыт 1)

| Доза нефти, г/кг | Каталаза, $O_2 \text{см}^3/\text{г}\cdot\text{мин}$ | Уреаза, мг $\text{NH}_3/10 \text{ г}/24 \text{ ч}$ | Инвертаза, мг глюкозы /1г/24ч |
|------------------|--|---|----------------------------------|
| без нефти | $0,036 \pm 0,023$ | 91 ± 32 | 16 ± 21 |
| 5 | $0,038 \pm 0,025$ | 104 ± 4 | 18 ± 4 |
| 10 | $0,066 \pm 0,033$ | 83 ± 24 | 19 ± 10 |
| 20 | $0,110 \pm 0,040$ | 83 ± 10 | 16 ± 11 |
| 30 | $0,057 \pm 0,033$ | 75 ± 23 | 14 ± 4 |
| 40 | $0,082 \pm 0,012$ | 77 ± 23 | 13 ± 8 |
| 50 | $0,130 \pm 0,015$ | 80 ± 28 | 13 ± 6 |
| 100 | $0,130 \pm 0,008$ | 70 ± 22 | 12 ± 1 |
| 150 | $0,160 \pm 0,015$ | 55 ± 20 | 11 ± 2 |
| 200 | $0,190 \pm 0,013$ | 53 ± 23 | 11 ± 4 |
| 250 | $0,180 \pm 0,023$ | 40 ± 15 | 10 ± 2 |
| 300 | $0,120 \pm 0,022$ | 38 ± 14 | 9 ± 4 |

Приведённые данные свидетельствуют, что нефтяное загрязнение резко увеличило каталазную активность торфа, так как именно с этим ферментом связан спад нефтяных углеводородов в почве. Уровень его активности является показателем состояния почвы по отношению к её самоочистительной способности от нефтяных ингредиентов. Максимальное количество каталазы – $0,190 \text{ O}_2 \text{см}^3/\text{г}\cdot\text{мин}$ – выделялось при дозе нефти в торфе 200 г/кг и только при более высокой дозе загрязнения стало постепенно снижаться.

Нефтяное загрязнение до уровня 10 г/кг торфа увеличило инвертазную активность с 16 до 19 мг глюкозы /1 г/24 ч. Дальнейшее увеличение степени загрязнения нефтью обусловило её постепенное снижение. При достижении загрязнения торфа нефтью выше 50 г/кг, снижение инвертазной активности стало превышать 20 % уровень, что свидетельствует о проявившемся их токсичном действии. Этот же уровень загрязнения почвы (выше 50 г/кг) обусловил снижение и урезанной активности.

Для проверки результатов, полученных в лабораторном опыте, в 2014-2016 гг. по аналогичной схеме был проведён полевой опыт. Данные,

приведённые на рис. 5, свидетельствуют, что на каталазную активность оказал влияние, как срок, прошедший после загрязнения, так и уровень загрязнения нефтью.

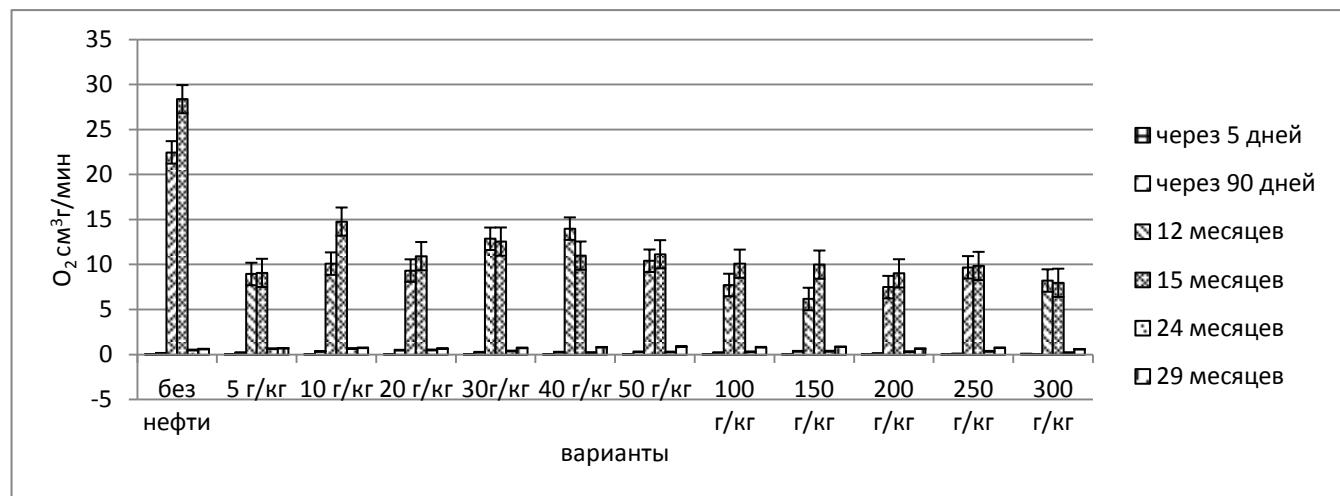


Рис. 5 - Динамика каталазной активности в полевом опыте, O_2 см³ /1 мин/г почвы (2014-2016 гг.)

Через 5 дней после загрязнения каталазная активность во всех вариантах опыта была очень низкой. Это объясняется особенностью изучаемой почвы (торфа), а также анаэробными процессами, которые господствовали в почве опытного участка в этот период (первая декада июня). Нефтяное загрязнение, в одних случаях, дополнительно снизило каталазную активность торфяной почвы, в других случаях, несколько её увеличило. Самая высокая активность наблюдалась при степени загрязнения 300 г/кг почвы ($0,93 O_2$ см³ /1 мин/г почвы), минимальная – при загрязнении 10 г/кг и 250 г/кг нефти ($0,035 O_2$ см³ /1 мин/г почвы; $0,029 O_2$ см³ /1 мин/г почвы). Через 90 дней после загрязнения каталазная активность резко возросла, что связано, как с улучшением аэрации и теплового режима почвы, так и адаптацией микроорганизмов к нефтяному загрязнению. Нефтяное загрязнение способствовало увеличению каталазной активности с достижением максимума при дозе 20 г/кг почвы ($0,505 O_2$ см³ /1 мин/г почвы), а после дозы 150 г/кг наблюдалось её резкое снижение. Таким образом, в полевом опыте подтвердилась возможность использования активности каталазы для определения степени нефтяного загрязнения торфяных почв, так как изменения этих показателей достаточно хорошо коррелируют друг с другом.

В 2015 г. каталазная активность во всех вариантах опыта резко возросла, особенно на контроле. Это объясняется, как улучшением водно-воздушного режима торфяных почв в результате их осушения в 2013 г., так и разложением наиболее токсичных низкомолекулярных фракций нефти. В 2016 г. тенденция увеличения каталазной активности в нефтезагрязнённых вариантах сохранилась. Через 29 месяцев, даже при высоких дозах загрязнения нефтью, она стала превышать контрольный показатель (рис. 5).

Ферментативная активность уреазы значительно менялась в течение вегетационных периодов 2014 - 2016 гг. (рис. 6).

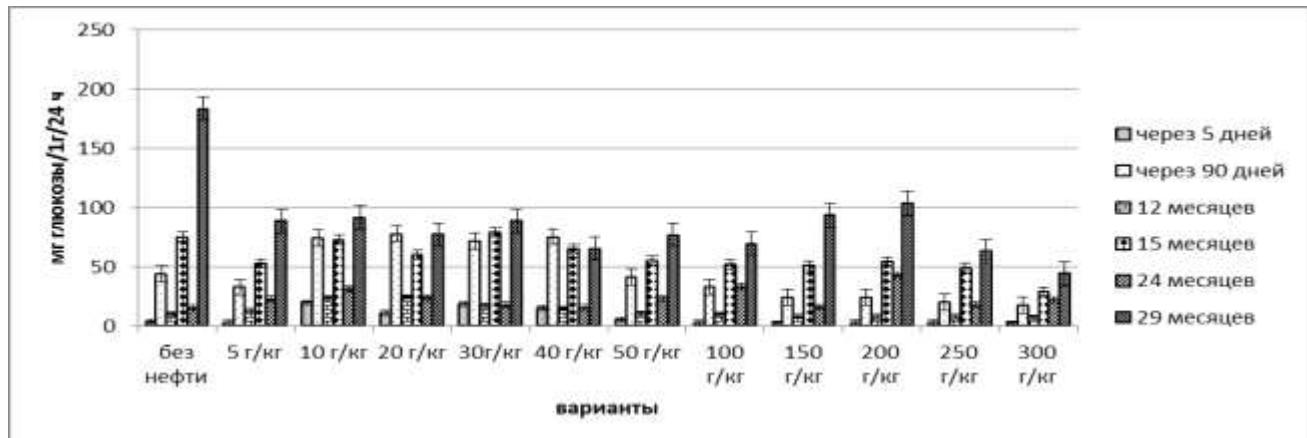


Рис. 6 - Динамика уреазной активности в полевом опыте, мг NH_3 /10г/24ч почвы в сутки (2014-2016 гг.)

Самые низкие её показатели наблюдались в почвенных образцах, отобранных в 1 декаду июня (через 5 дней и 12 мес. после загрязнения). В конце вегетации (срок отбора 24 дней и 29 мес.), в зависимости от вариантов опыта, она возросла в 4-10 раз, что подтверждает сильную зависимость активности этого фермента от теплового и водно-воздушного режима почвы. Нефтяное загрязнение оказало четко выраженное влияние на активность уреазы. Низкие её дозы (до 20-40 мг/кг) увеличивали этот показатель по сравнению с контролем, как в начале, так и в конце вегетационных периодов. Наибольший показатель активности уреазы в 2014 г. был отмечен при дозе загрязнения 20 г/кг во второй срок отбора образцов (77,5 мг NH_3 /10 г почвы 24 ч), в 2015 г. – при дозе загрязнения 30 г/кг, также во второй срок отбора образцов (78,7 мг NH_3 /10 г почвы 24 ч). Устойчивое снижение уреазной активности наблюдалось при дозе загрязнения нефтью 50 г/кг почвы с достижением минимума при дозе загрязнения 300 г/кг (в 2014 г. – 17,5 мг NH_3 /10 г почвы 24 ч., в 2015 г. – 28,7 мг NH_3 /10 г почвы 24 ч.).

Изменение инвертазой активности в полевом опыте показано на рис. 7.

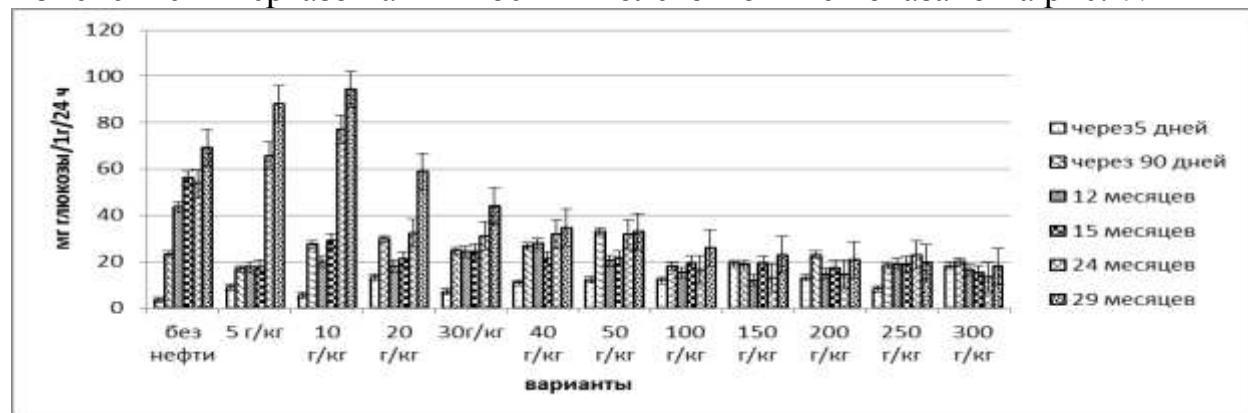


Рис. 7 - Динамика инвертазной активности в полевом опыте, мг глукозы/1г/24ч (2014-2016 гг.)

В 2014 г. в первый срок взятия пробы наибольший показатель был при дозе загрязнения 150 г/кг (19,11 мг глукозы/1 г почвы/24 ч.). Наименьший показатель – на контроле (3,43 мг глукозы/1г почвы/24 ч); во второй срок взятия пробы наибольший показатель был отмечен при дозе загрязнения 50 г/кг (33,12 мг глукозы/1 г почвы/24 ч.), наименьший показатель – при дозе

загрязнения 250 г/кг (12,02 мг глюкозы/1г почвы/24 ч.). Нефтяное загрязнение до 50 г/кг повышало инвертазную активность, дальнейшее увеличение степени загрязнения нефтью обусловило ее постепенное снижение.

В 2015 г. на активность инвертазы, в отличие от уреазы, определяющее влияние оказало нефтяное загрязнение, которое обусловило её снижение в 2,5-3,2 раза по сравнению с контролем без нефти. Срок отбора почвенных образцов оказал выраженное действие только в контроле и в ряде вариантов с нефтяным загрязнением. Самые высокие показатели инвертазной активности наблюдались в варианте без нефти в начале сентября (58 мг глюкозы/1г почвы/24 ч.), самые низкие – в начале июня при дозе загрязнения 150 мг/кг (12 мг глюкозы/1г почвы/24 ч.). В целом, за весь период наблюдения, инвертазная активность во всех вариантах опыта возросла.

Таким образом, на ферментативную активность почвы оказывает влияние, как срок отбора почвенных образцов, так и доза нефтяного загрязнения, однако степень проявления этих факторов зависела от вида фермента. Срок отбора почвенных образцов для торфяных почв играет особую роль, что объясняется их гидрологическим режимом. В отличие от автоморфных минеральных почв, они только к середине июля приобретают относительно благоприятные водно-воздушные и тепловые свойства, что способствует резкой активации в этот период её микробиологической и ферментативной активности.

Наиболее контрастные изменения ферментативной активности наблюдались в первый год после загрязнения. Невысокие дозы нефти вызывали повышение её активности, с достижением максимальных значений каталазы при уровне загрязнения 20 мг/кг, уреазы – при уровне загрязнения 10-40 мг/кг и инвертазы – при уровне загрязнения 10-50 мг/кг почвы. При более высоких дозах загрязнения происходило значительное снижение интенсивности работы всех ферментов, что свидетельствует о проявившемся токсичном действии нефти. На второй год после загрязнения аналогичная картина наблюдалась только у фермента уреазы. Активность каталазы и инвертазы при всех дозах загрязнения нефтью была невысокая и мало зависела от периода взятия образцов.

Влияние нефтяного загрязнения на ферментативную активность изучалось и на ключевых площадках в условиях производственного загрязнения нефтепродуктами торфяных почв.

Дисперсионный многофакторный анализ результатов исследований показал, что на интенсивность каталазной активности достоверное влияние оказали условия загрязнения ($P=2,49 \cdot 10^{-21}$), глубина взятия пробы ($P=1,42 \cdot 10^{-23}$) и их взаимодействие ($P=1,9 \cdot 10^{-24}$).

Зависимость ферментативной активности от глубины взятия проб объясняется особенностями гидрологического режима торфяных почв. Уже в средней части профиля у них наблюдалась смена аэробных процессов на анаэробные и поэтому на глубине 30-40 см активность фермента каталазы снизилась во всех разрезах до 0,2-0,4 $O_2 \text{ см}^3/1 \text{ мин}/\text{г почвы}$, а на глубине 150-160 см она не была обнаружена. Подтвердилась высокая чувствительность

этого фермента к нефтезагрязнению, поэтому самые высокие показатели его активности отмечались в контрольном разрезе № 1 на глубине 4-26 см (11,22 O_2 см³/1 мин/г почвы). Слабое нефтяное загрязнение привело к её снижению на 10,15 O_2 см³/1мин/г почвы (разрез № 2), а сильное нефтяное загрязнение на 11,02 O_2 см³/1 мин/г почвы (разрез № 3).

Наблюдалось резкое снижение активности уреазы с глубиной. Уже в слое 90-100 см она во всех разрезах не превышала 30-60 мг NH_3 /10 г почвы. Нефтяное загрязнение снизило уреазную активность, но не так значительно, как каталазную: слабая степень загрязнения (разрез № 2) – на 4,8 мг NH_3 /10 г почвы, сильная степень – на 231,7 мг NH_3 /10г почвы 24 ч.

Фермент инвертаза оказался наиболее инертным среди других ферментов. При слабом и сильном загрязнении на глубине 0-24 см наблюдается повышение активности инвертазы на 1,98 и 1,62 мг глюкозы/1г почвы/24 ч по сравнению с контролем (разрез 1). Даже при глубине в 160 см отмечается активность фермента, хотя и ниже чем при оптимальной глубине в 24 см на 8,73 мг глюкозы/1г почвы/24 ч на фоновом участке.

Оценка видового состава разнообразия педобионтов проведена на техногенно загрязнённой аллювиально-торфяной почве, расположенной в притеррасной части поймы р. Кама. Среди учтенных нами почвенных организмов основу составляли микрофауна (мелкие клещи, личинки клещей и мелких насекомых) и мезофауна (клещи, насекомые и их личинки). Всего было выявлено 655 особей, принадлежащих к 17 видам, 14 семействам и 6 отрядам.

Наибольшим числом особей в целом в выборках были представлены членистоногие отряда ногохвостки ($n = 177$; 27 %), отряда жестокрылые ($n = 99$; 16,8 %), отряда клещи ($n = 142$; 24 %). Большим видовым составом отличались представители отряда клещи (*Acariformes*): 8 видов из 6 семейств; отряда ногохвотки (*Podura*): 5 видов из 3 семейств.

Наиболее широко распространенными на исследованных территориях оказались представители ногохвосток и плоские клещи. Их высокая численность не только на чистых участках, но и на подвергнувшихся загрязнению нефтепродуктами, свидетельствует об их высокой пластичности и малой чувствительности к загрязнению почвы этим поллютантом. Доля ногохвосток по количеству особей в образцах почв на ключевом участке № 1 (без загрязнения) составляла 31,2%, на участке № 2 (слабое загрязнение) – 12,8%, на участке № 3 (сильное загрязнение) – 40,0%. Доля клещей на участке № 1 составляла 13,5%, на участке № 2 – 14,2%, на участке № 3 – 10,7%.

Для сравнительного анализа общности видового состава педобионтов в районе исследования были использованы: индексы Чекановского-Серенсена, Маргалефа и Шеннона. Они свидетельствовали, что загрязнение нефтепродуктами торфяных почв нарушило видовую структуру сообществ педобионтов, снижало их численность, влияло на биологическое разнообразие, изменяло качество почвенной среды. На участках, загрязненных нефтепродуктами, обитало в два раза меньше видов, а общими для сравниваемых участков являлись ногохвостки и почвенные клещи.

Одним из наиболее объективных методов оценки биолого-экологических свойств загрязнённых почв является определение их токсичности. Использовались следующие тест-системы: инфузории (*Paramecium caudatum Ehrenberg*); планктонные раки (*Daphnia magna Straus*); бактериальный препарат «ЭКОЛЮМ»; яровая пшеница (*Triticum aestivum*).

Результаты токсикологического тестирования торфяных почв в условиях модельного лабораторного опыта показали, что наиболее чувствительным тест-объектом на нефтезагрязнение оказались инфузории (*Paramecium caudatum*). Они снижали свою численность уже при содержании нефтепродуктов в торфе на уровне выше 50 г/кг (табл. 2).

*Таблица 2 – Определение токсичности загрязненных торфяных почв с использованием тест-объектов *Paramecium caudatum Her*, *Daphnia magna Straus*, «Эколюм» (лабораторный опыт 1, 90 дней после загрязнения)*

| Доза нефти, г/кг | <i>Paramecium caudatum Her</i> | | <i>Daphnia magna Straus</i> | | «Эколюм» | |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|-------------------------|--------------------------------|
| | Индекс токсичности, ед. | Оценка | Индекс токсичности, ед. | Оценка | Индекс токсичности, ед. | Оценка |
| без нефти | 0,36±0,22 | допустимая степень токсичности | 10,0±4,0 | не оказывает острое токсич. действие | 0 | допустимая степень токсичности |
| 5 | 0,36±0,21 | допустимая степень токсичности | 10,0±4,0 | не оказывает острое токсич. действие | 0 | допустимая степень токсичности |
| 10 | 0,37±0,22 | допустимая степень токсичности | 10,0±4,0 | не оказывает острое токсич. действие | 0 | допустимая степень токсичности |
| 20 | 0,27±0,16 | допустимая степень токсичности | 10,0±4,0 | не оказывает острое токсич. действие | 0 | допустимая степень токсичности |
| 30 | 0,38±0,23 | допустимая степень токсичности | 10,0±4,0 | не оказывает острое токсич. действие | 0 | допустимая степень токсичности |
| 40 | 0,31±0,18 | допустимая степень токсичности | 10,0±4,0 | не оказывает острое токсич. действие | 0 | допустимая степень токсичности |
| 50 | 0,39±0,23 | допустимая степень токсичности | 10,0±4,0 | не оказывает острое токсич. действие | 0 | допустимая степень токсичности |
| 100 | 0,40±0,24 | умеренная степень токсичности | 10,0±4,0 | не оказывает острое токсич. действие | 4,8±1,4 | допустимая степень токсичности |
| 150 | 0,40±0,24 | умеренная степень токсичности | 8,42±3,3 | оказывает острое токсич. действие | 13,9±1,7 | допустимая степень токсичности |
| 200 | 0,53±0,32 | умеренная степень токсичности | 5,5±2,2 | оказывает острое токсич. действие | 14,5±4,3 | допустимая степень токсичности |
| 250 | 0,51±0,31 | умеренная степень токсичности | 4,7±1,9 | оказывает острое токсич. действие | 23,8±7,1 | токсична |
| 300 | 0,47±0,28 | умеренная степень токсичности | 6,25±3,3 | оказывает острое токсич. действие | 25,7±7,7 | токсична |

Дафнии (*Daphnia magna Straus*) оказались более устойчивыми к нефтяному загрязнению (благодаря наличию защитного панциря). Заметное снижение их численности наблюдалось только при содержании

нефтепродуктов в торфе на уровне выше 100 г/кг торфа. Отрицательное влияние нефтяного загрязнения торфа на изменение интенсивности биолюминесценции препарата «Эколюм» проявилось при достижении дозы загрязнения более чем 50 г/кг, хотя достоверная степень токсичности установлена только при превышении её уровня – 200 г/кг торфа.

В полевом опыте, в отличие от лабораторного опыта, наблюдался более значительный разброс содержания нефтепродуктов, что привело к более значительным колебаниям показателей токсичности. В полевых условиях наиболее чувствительным к нефтезагрязнению оказался тест-объект инфузории *Paramecium caudatum*. Они значительно снижали свою численность при содержании поллютанта в торфе выше 100 г/кг.

Результаты, полученные в опытах, были подтверждены данными ключевых площадок, заложенных на техногенно загрязненном нефтепродуктами участке осушенного торфяника.

Для полноты оценки степени фитотоксичности нефтезагрязнённых почв мы в своих исследованиях использовали и высшие растения. Согласно ГОСТ Р ИСО 22030-2009 в качестве тест-культуры взята яровая пшеница сорта Нижнеуральская. Загрязнение нефтью торфа оказалось отрицательное влияние на её рост, особенно контрастно это проявилось на 14 день вегетации. Далее, выжившие растения развивались относительно нормально. Тем не менее, и через 14 и через 36 дней вегетации, критическим содержанием нефтепродуктов в загрязнённом торфе являлась величина – 100 г/кг, при превышении которой наблюдалось резкое снижение массы проростков.

Глава 4. ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И АГРОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОРФЯНЫХ ПОЧВ, ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ИХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ

Установлено, что слабая степень загрязнения нефтепродуктами практически не отразилась на морфологических признаках торфяных почв. В профиле сильнозагрязнённых почв выделяются тёмные маслянистые мажущиеся пятна, имеющие специфический запах нефти. Травянистая растительность на таких участках отсутствует.

Ключевым показателем, который определяется в нефтезагрязнённых почвах, является содержание в них нефтепродуктов. Нефтяное загрязнение обусловило снижение зольности торфа, статистически достоверное начиная с уровня 150 г/кг (табл. 3). При максимальном уровне загрязнения (300 г/кг) снижение составило 4 абс.%. Это вызвало уменьшение гидролитической кислотности на 5,6-10,6 ммоль/100 г торфа (на 19-36%) и чётко выраженное снижение суммы обменных оснований (вследствие блокировки обменных позиций почвенных коллоидов нефтяными пленками).

Нефть оказывает негативное влияние на пищевой режим торфов, она образует вокруг почвенных агрегатов гидрофобные плёнки, препятствующие проникновению в них водных растворов, что резко снижает подвижность элементов питания.

Наибольшее снижение наблюдалось у нитратного азота, даже низкая доза загрязнения (нефть – 10 г/кг торфа) уменьшила его количество на 33%.

Остальные элементы минерального питания снизили свое содержание при более высоких дозах загрязнения.

Таблица 3 – Изменения агрохимических показателей торфа под действием различных доз загрязнения нефтью (лаб. опыт 1, 90 дней после загрязнения)

| Доза нефти, г/кг | Содержание нефтепродуктов, г/кг | Зольность, % | рН _{KCl} | Физико-химические показатели, ммоль/100 г | | Химические показатели, мг/кг | | | |
|-------------------|---------------------------------|--------------|---------------------------------|---|------------|-------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | | | | H _r | S | P ₂ O ₅ | K ₂ O | N-NH ₄ | N-NO ₃ |
| Без нефти | 0,07±0,01 | 21 | 6,2 | 29,7 | 201 | 144 | 194 | 3,9 | 10,7 |
| Нефть – 5 | 0,26±0,07 | 21 | 6,3 | 24,1 | 205 | 120 | 183 | 3,8 | 5,3 |
| Нефть – 10 | 0,50±0,12 | 20 | 6,2 | 22,4 | 197 | 131 | 203 | 5,6 | 3,5 |
| Нефть – 20 | 0,67±0,55 | 20 | 6,2 | 19,7 | 204 | 145 | 200 | 8,0 | 2,6 |
| Нефть – 30 | 2,25±1,52 | 20 | 6,3 | 19,1 | 200 | 142 | 180 | 8,7 | 1,7 |
| Нефть – 40 | 2,40±0,45 | 20 | 6,2 | 20,4 | 196 | 142 | 179 | 9,7 | 1,7 |
| Нефть – 50 | 3,11±1,72 | 20 | 6,2 | 20,3 | 193 | 138 | 133 | 9,4 | 1,9 |
| Нефть – 100 | 13,73±7,06 | 20 | 6,3 | 20,5 | 154 | 131 | 176 | 2,5 | 2,3 |
| Нефть – 150 | 25,15±8,59 | 18 | 6,2 | 21,2 | 142 | 139 | 167 | 1,5 | 1,8 |
| Нефть – 200 | 48,08±22,56 | 17 | 6,2 | 20,6 | 139 | 128 | 169 | 1,5 | 1,6 |
| Нефть – 250 | 51,62±30,24 | 17 | 6,2 | 19,8 | 140 | 123 | 150 | 2,1 | 1,2 |
| Нефть – 300 | 57,75±15,43 | 17 | 6,2 | 21,6 | 132 | 113 | 149 | 1,7 | 1,1 |
| HCP ₀₅ | - | 1 | F _φ <F ₀₅ | 3,7 | 12 | 19 | 24 | 3,0 | 2,9 |

Отмеченные закономерности нашли своё подтверждение, как в условиях полевого опыта, так и на ключевых площадках, заложенных на загрязнённом нефтью торфянике.

Глава 5. ОБОСНОВАНИЕ НОРМАТИВА ДОПУСТИМОГО СОДЕРЖАНИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ В ЗАГРЯЗНЁННЫХ ТОРФЯНЫХ ПОЧВАХ УДМУРТСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

Для изучения свойств торфяных почв, загрязнённых нефтью, использовался комплекс химических, физико-химических, биологических и токсикологических показателей.

Перечень показателей, имеющих тесную корреляцию со степенью загрязнения торфов нефтепродуктами, используемые для определения нормативов их допустимого содержания, приведены в табл. 4. Данные таблицы свидетельствуют, что каждый показатель характеризуется своими параметрами, при превышении которых происходит их изменение в негативную сторону более чем на 20 %. Для определения нормативов допустимого содержания нефти и нефтепродуктов использованы самые жёсткие параметры – **3,0 г/кг торфа** (определение нефтепродуктов по ПНД Ф 16.1:2.2.22-98), что соответствует дозе загрязнения нефтью – **50 г/кг торфа**.

Вышеприведённый норматив является граничным показателем, отделяющим слабый уровень загрязнения нефтепродуктами торфяных почв от среднего.

В качестве показателя, характеризующего наступление сильной степени загрязнения, предлагаем использовать уровень содержания нефтепродуктов в торфе – 200 г/кг, что соответствует уровню 48 г/кг, определённого с помощью гостированной методики (ПНД Ф 16.1:2.2.22-98).

Таблица 4 – Показатели, использованные для разработки Нормативов, и содержание нефти, при превышении которого наблюдалось резкое отклонение их параметров в негативную сторону

| Показатели | Показатели | |
|---|------------------|---------------------|
| | доза нефти, г/кг | нефтепродукты, г/кг |
| 1. Результаты токсикологического тестирования водных вытяжек, тест-объект - <i>Daphnia magna</i> | 100 | 13,6 |
| 2. Результаты токсикологического тестирования водных вытяжек, тест-объект – <i>Paramecium caudatum</i> | 50 | 3,1 |
| 3. Результаты токсикологического тестирования с использованием тест-системы ЭКОЛЮМ | 50 | 3,1 |
| 4. Результаты токсикологического тестирования почвы с использованием тест-культуры – <i>Triticum aestivum</i> | 50-100 | 4,8-19,5 |
| 5. Ферментативная активность уреазы | 50 | 3,1 |
| 6. Ферментативная активность инвертазы | 50 | 3,1 |
| 7. Ферментативная активность каталазы | 200 | 48,0 |

При превышении этого показателя в почве резко снижается численность целлюлозоразлагающих и аммонифицирующих микроорганизмов, которая не восстанавливается даже через 15 мес. после загрязнения, и результаты токсикологического тестирования с использованием тест-системы ЭКОЛЮМ показывают, что почва становится токсичной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Уровень загрязнения аллювиальных торфяных почв нефтью до 5-20 г/кг торфа стимулировал развитие актиномицетов, микроскопических грибов, целлюлозоразлагающих и аммонифицирующих микроорганизмов. Дальнейшее увеличение уровня загрязнения привело к снижению численности всех изученных представителей микробного сообщества, наиболее заметное при уровне нефтезагрязнения торфа, равном 50 г/кг.

2. Наиболее чувствительными к изучаемому поллютанту оказались аммонификаторы и целлюлозоразлагающие бактерии, численность которых при достижении уровня загрязнения нефтью ≥ 50 г/кг даже через 29 мес. от начала эксперимента не восстановилась до их численности на контроле.

3. Нефтяное загрязнение оказывает влияние на все виды ферментативной активности торфяных почв. Установлено, что наибольшее влияние оно оказывает на ферментативную активность уреазы и инвертазы. При достижении уровня загрязнения торфяных почв выше 50 г/кг (3,0 г/кг по данным вытяжки н-гексана) их ферментативная активность начинает устойчиво снижаться по сравнению с незагрязнённым торфом, что свидетельствует о проявившемся токсичном действии нефти.

4. Загрязнение нефтепродуктами торфяных почв нарушает видовую структуру сообществ педобионтов, снижает их численность, влияет на биологическое разнообразие, изменяет качество почвенной среды. На участках, загрязненных нефтепродуктами, обитает в два раза меньше видов, а общими для сравниваемых участков являются ногохвостки и почвенные клещи.

5. Наиболее чувствительными тест-системами на нефтезагрязнение являются *Paramecium caudatum* и лиофилизированные люминесцентные

бактерии «Эколюм», которые фиксировали повышение степени токсичности при содержании нефтепродуктов в торфе на уровне 50 г/кг (3,0 г/кг по данным вытяжки н-гексана).

6. Средние и повышенные дозы нефтяного загрязнения статистически достоверно снизили показатель зольности торфа, уменьшили сумму обменных оснований и содержание подвижных форм элементов минерального питания. При максимальной изучаемой дозе загрязнения – 300 г/кг снижение зольности составило 19-39%, суммы обменных оснований – 34-42%, элементов минерального питания – 26-100%.

7. На основании комплекса показателей, имеющих тесную корреляцию со степенью загрязнения торфов нефтепродуктами, установлен норматив допустимого содержания нефти и нефтепродуктов для аллювиальных торфяных почв Удмуртской Республики. Для земель сельскохозяйственного назначения он равен 3,0 г/кг торфа (определение нефтепродуктов по ПНД Ф 16.1:2.2.22-98), что соответствует дозе загрязнения нефтью – 50 г/кг торфа.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

В журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Леднев, А.В. Влияние нефтяного загрязнения на степень токсичности почв / А.В. Леднев, **И.А. Скворцова** // Вестник Казанского государственного аграрного университета. – № 4. – 2015. – С. 70-76.

2. **Скворцова, И.А.** Почвенно-зоологическое обследование аллювиальных торфяных почв, загрязнённых нефтепродуктами / И.А. Скворцова, А.В. Леднев // Вестник Новосибирского ГАУ. – 2016. – № 4. – С. 56-67.

3. Леднев, А.В. Влияние нефтяного загрязнения на микробное сообщество торфяных почв среднего Предуралья / А.В. Леднев, **И.А. Скворцова** // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2017. – № 1. – С. 47-53.

4. Леднев, А.В. Влияние нефтяного загрязнения и мелиоративных добавок на агрохимические свойства аллювиальных торфяных почв / А.В. Леднев, **И.А. Скворцова** // Агрохимический вестник. – 2017. – № 3. – С. 49-54.

В прочих изданиях и сборниках научных трудов:

1. **Скворцова, И.А.** Интенсивность выделения углекислого газа из городских почв (на примере г. Набережные Челны) / И.А. Скворцова // Материалы международной научно-практической конференции «Наука, инновации и образование в современном АПК». – Ижевск: ФГБОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2014. – С. 195-197

2. Леднев, А.В. Влияние нефтяного загрязнения на ферментативную активность торфяных почв / А.В. Леднев, **И.А. Скворцова** // Почва – национальное богатство. Пути повышения ее плодородия и улучшения экологического состояния: материалы Всероссийской научно-практической конференции, 2-3 июля 2015 г. – Ижевск: ООО «Союз оригинал», 2015 – С. 194-199.

3. **Скворцова, И.А.** Основные научно-методические подходы в разработке нормативов допустимого остаточного содержания нефти в почвах Удмуртской Республики / И.А. Скворцова, А.В. Леднев // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Роль молодых ученых - инноваторов в решении задач по ускоренному импортозамещению сельско-хозяйственной продукции». – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2015. – С. 14-17

4. **Скворцова, И.А.** Роль педобионтов в оценке степени загрязнения торфяных почв нефтепродуктами / И.А. Скворцова, А.В. Леднев // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Научное и кадровое обеспечение АПК для продовольственного импортозамещения». – Ижевск: ФГБОУ ВО Ижевская ГСХА, 2016. – С. 81-84.