

*На правах рукописи*



**МИННИКОВА ТАТЬЯНА ВЛАДИМИРОВНА**

**ВЛИЯНИЕ МЕЛИОРАНТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ  
ЧЕРНОЗЕМА ПРИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИИ**

*03.02.08 – экология (биологические науки)*

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Ростов-на-Дону – 2018

Работа выполнена на кафедре экологии и природопользования Академии биологии и биотехнологии имени Д.И.Ивановского Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет»

**Научный руководитель:** **Колесников Сергей Ильич**,  
доктор сельскохозяйственных наук, профессор,  
ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»,  
кафедра экологии и природопользования, заведующий

**Официальные оппоненты:** **Сулейманов Руслан Римович**,  
доктор биологических наук, доцент,  
Уфимский Институт биологии – обособленное  
структурное подразделение ФГБНУ Федерального  
исследовательского центра РАН, лаборатория  
почвоведения, главный научный сотрудник

**Жаркова Мария Геннадьевна**,  
кандидат биологических наук, ФГБОУ ВО «Донской  
государственный технический университет», кафедра  
безопасности жизнедеятельности и защиты  
окружающей среды, доцент

**Ведущая организация:** **ФГБУН Институт проблем экологии и  
эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва**

Защита диссертации состоится **21 декабря 2018 г. в 15:00** на заседании диссертационного совета Д 212.208.32 по биологическим наукам на базе Южного федерального университета по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1, к. 603.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке им. Ю.А. Жданова Южного федерального университета по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, ул. Р. Зорге, 21Ж и на сайте <http://hub.sfedu.ru/diss/>.

Объявление о защите и текст автореферата размещен на официальном сайте Южного федерального университета [www.sfedu.ru](http://www.sfedu.ru) и на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru).

Отзывы на автореферат в 2-х экз., заверенные печатью, просим направлять по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1, к.803а, ученому секретарю совета Д212.208.32 Акименко Ю.В. e-mail: [jvakimenko@sfedu.ru](mailto:jvakimenko@sfedu.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_» ноября 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Акименко Юлия Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Ежегодно в мире загрязнению нефтью и нефтепродуктами подвергаются миллионы гектаров почвы. Многими исследователя установлено, что при загрязнении нефтью происходит ухудшение биологического состояния почв, и, как следствие, нарушение их сельскохозяйственных и экологических функций (Исмаилов, Пиковский, 1985; Хазиев и др., 1988; Габбасова и др., 1997; Киреева и др., 1998; 2009, Трофимов и др., 2000; Пиковский и др., 2003; Геннадьев, Пиковский, 2007; Колесников и др., 2006, 2011, 2012, 2013; Эркенова и др., 2016; Serrano et al., 2009; Mikkonen et al., 2011; Minnikova et al., 2018; Polyak et al., 2018).

В настоящее время для ликвидации загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами используют различные способы мелиорации. В качестве мелиорантов используют разные по природе и механизмам вещества: бактериальные препараты, удобрения, минеральные сорбенты (Каниськин и др., 2007; Колесников и др., 2011; Филатов и др., 2011; Ефремова и др., 2016; Dindar et al., 2013). При этом основное внимание уделяется эффективности разложения нефти, а изменение состояния почвы остается малоизученным. Наиболее информативными показателями для оценки состояния почвы при нефтезагрязнении, как и при других антропогенных воздействиях, являются биологические показатели и первыми реагируют на внешнее воздействие на почву и коррелируют с концентрацией загрязняющего вещества в почве (Хазиев, Фатхиев, 1981; Кайгородова, 1996; Киреева и др., 2009; Колесников и др., 2006, 2007, 2011; Петров и др., 2015; Казеев и др., 2016; Serrano et al., 2009; Mikkonen et al., 2011).

**Цель работы** — изучить влияние мелиорантов различной природы (мочевина, глауконита, гумата калия и «Dop-Uni») на биологическое состояние чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью.

### **Задачи исследования:**

1. Установить закономерности влияния мелиорантов на биологическое состояние нефтезагрязненного чернозема в зависимости от их природы (источник азота — мочевина, минеральный сорбент — глауконит, гуминовый препарат — гумат калия, бактериальный препарат — «Dop-Uni»).
2. Оценить эффективность разложения нефти разными мелиорантами в зависимости от их природы и механизма действия (связывание или разложение нефти).
3. Изучить раздельное и совместное воздействие мелиорантов на биологические свойства чернозема при нефтезагрязнении.
4. Выявить наиболее информативные и чувствительные показатели для оценки биологического состояния нефтезагрязненной почвы после применения мелиорантов.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. По стимулирующему действию на биологическую активность нефтезагрязненного чернозема исследованные мелиоранты располагаются в следующей последовательности: *гумат калия* > *глауконит* > «Dop-Uni» > *мочевина*.
2. По эффективности разложения нефти, исследованные мелиоранты образуют следующий ряд: *гумат калия (гуминовый препарат)* > «Dop-Uni» (*бактериальный препарат*) > *мочевина (источник азота)*.
3. При совместном использовании мочевины и гумата калия наблюдается синергетический эффект, что свидетельствует о целесообразности их совместного применения. При внесении мочевины с «Dop-Uni» проявляется антагонистический эффект.
4. По чувствительности к применению мелиорантов при нефтезагрязнении чернозема биологические показатели образуют следующую последовательность: *активность инвертазы* > *активность каталазы* > *активность фосфатазы*  $\geq$  *активность уреазы* > *длина корней*  $\geq$  *длина побегов*  $\geq$  *пероксидаз*  $\geq$  *полифенолоксидаз*  $\geq$  *численность бактерий*.
5. По информативности использованные биологические показатели состояния почвы образуют ряд: *активность инвертазы* > *активность каталазы* > *пероксидаз* > *полифенолоксидаз* > *длина корней* > *высота побегов* > *активность фосфатазы*  $\geq$  *активность уреазы* > *численность бактерий*.

**Научная новизна.** Впервые дана оценка влияния мелиорантов различной природы (источник азота — мочевина, минеральный сорбент — глауконит, гуминовый препарат — гумат калия, бактериальный препарат — «Dop-Uni») и с различными механизмами действия (связывание или разложение нефти) на биологическое состояние чернозема. Исследованы совместное и раздельное применение мелиорантов, динамика восстановления биологического состояния почвы, разные уровни нефтезагрязнения. Дана оценка чувствительности и информативности биологических показателей чернозема после применения мелиорантов.

**Практическая значимость.** Результаты могут быть использованы при выборе способа восстановления почвы после нефтезагрязнения. Обоснована целесообразность использования каждого конкретного мелиоранта в зависимости от их природы, механизма действия, сочетаемости с другими мелиорантами. Полученные результаты используются для преподавания в Южном федеральном университете при преподавании дисциплин: «Экология, природопользование и охрана окружающей среды» бакалаврам, «Оценка антропогенного воздействия на экосистемы» аспирантам, в проектной деятельности бакалавров и магистров, при подготовке курсовых и выпускных квалификационных работ бакалавров и магистров.

**Личный вклад автора.** В диссертации представлены результаты диссертационного исследования, проведенные за 2015-2018 гг. Название, цель, задачи, объекты и методы исследования определены и проанализированы автором лично и совместно с научным руководителем. Лабораторные модельные эксперименты и аналитические исследования проведены автором лично. Обобщение результатов, формулировка выводов и защищаемых положений были сделаны автором лично при участии научного руководителя.

**Апробация работы.** Полученные результаты были доложены на научных конференциях: «Эволюция и деградация почвенного покрова» (Ставрополь, 2015, 2017); «Докучаевские молодежные чтения» (Москва, 2017); «Проблемы деградации и охраны почв», Вильямсовские чтения (Москва, 2017); «Красная книга почв и ее значение для охраны почвенного покрова» (Ялта, 2015); Международной конференции молодых ученых стран БРИКС (Ростов-на-Дону, 2015); «Радиационная и промышленная экология» (Ростов-на-Дону, 2016); «Техногенные системы и экологический риск» (Обнинск, 2015-2018); «Проблемы природоохранной организации ландшафтов» (Новочеркасск, 2017); «Современные технологии в изучении биоразнообразия и интродукции растений» (Ростов-на-Дону, 2017); «Актуальные вопросы экологии и природопользования» (Ростов-на-Дону, 2015-2017); «Ломоносов» (Москва, 2016-2018); «Экология и биология почв» (Ростов-на-Дону, 2014-2017); «Современное состояние черноземов» (Ростов-на-Дону, 2018) и другие.

**Соответствие паспорту специальности.** Диссертация соответствует подразделу паспорта специальности «Прикладная экология»: разработка принципов и практических мер, направленных на охрану живой природы как на видовом, так и экосистемном уровне; исследование влияния антропогенных факторов на экосистемы различных уровней с целью разработки экологически обоснованных норм воздействия хозяйственной деятельности человека на живую природу.

**Публикации.** Опубликовано 58 научных работ, объемом 12,5 п.л., из них 5 статьи в изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus, 10 статей в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК). Процент участия автора в публикациях составляет 60%.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, 5 глав, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 107 страницах печатного текста и содержит 11 таблиц и 28 рисунков. Список литературы включает 160 источников, в том числе 31 источник на английском языке.

**Конкурсная поддержка работы.** Исследование выполнено при государственной поддержке ведущих научных школ РФ (гранты Президента РФ НШ-2449.2014.4, НШ-9072.2016.11, НШ-3464.2018.11), Президента РФ для молодых кандидатов наук (МК-326.2017.11) и Минобрнауки России (6.345.2014/К, 5.5735.2017/8.9).

**Благодарности.** Автор благодарен за помощь в работе своему научному руководителю, зав. кафедрой экологии и природопользования ЮФУ, д.с.-х.н.,

профессору С.И. Колесникову; профессору кафедры экологии и природопользования, д.б.н. Т.В. Денисовой; профессору кафедры экологии и природопользования, д.г.н, профессору К.Ш. Казееву за ценные советы и рекомендации при написании диссертации. За постоянную помощь и поддержку также автор благодарен всем сотрудникам кафедры экологии и природопользования Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В 5-ти подглавах представлен обзор отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, характеристика источников загрязнения нефтью. Рассмотрены экологические последствия загрязнения нефтью компонентов экосистем. Охарактеризовано влияния нефти на биологические свойства почв. Описаны современные подходы к рекультивации почв и применяемые мелиоранты.

### **ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Объектом исследования был выбран чернозем обыкновенный карбонатный. В общей структуре почвенного покрова России черноземы занимают 153 млн. га или 1,53 млн. км<sup>2</sup>, что составляет 52 % от мировых площадей земельного фонда. Почву отбирали из пахотного слоя (0-25 см) в Ботаническом саду Южного федерального университета. В главе 2 подробно рассмотрены биологические и физико-химические свойства черноземов обыкновенных. Содержание органического вещества — 1,3 %, лабильного органического вещества — 29,6 мг в 1 кг почвы, активность каталазы — 7,3 мл O<sub>2</sub> в 1г почвы за 1мин., пероксидаз и полифенолоксидаз — 0,85 и 0,77 мг 1,4 п-бензохинона в 1г почвы за 30 мин., инвертазы — 7,8 мг глюкозы в 10г почвы за сутки, уреазы — 10,4 мг NH<sub>3</sub> в 10г за сутки, фосфатазы — 2,8 мг P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> в 100г почвы за час.

### **ГЛАВА 3. МЕТОДИКА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

#### **3.1. Постановка эксперимента**

В работе исследовано влияние 4-х мелиорантов различной природы (источник азота — мочевины, минеральный сорбент — глауконит, гуминовый препарат — гумат калия, бактериальный препарат — «Dop-Uni») на биологические свойства чернозема обыкновенного при разных уровнях загрязнения нефтью (5 и 10% от массы почвы) в разные сроки с момента загрязнения (30, 60 и 90 суток).

Для моделирования нефтезагрязнения чернозема использовали нефть, с плотностью 0,818 г/м<sup>3</sup> с массовой долей серы – 0,43%, примесей – 0,0028%, воды – 0,03% при концентрации хлористых солей – 40,1 мг/дм<sup>3</sup>. Нефть вносили во влажную почву и перемешивали.

Мелиоранты вносили согласно нормам, рекомендуемым производителями (табл. 1), в незагрязненную и загрязненную нефтью почву. Контролем служила почва,

не подвергавшаяся загрязнению нефтью и внесению мелиорантов. Инкубацию сосудов осуществляли при температуре 20-25°C при поддержании оптимальной влажности почв 60%. Срок наблюдения составил 30, 60 и 90 суток. Эксперименты выполнены в 3-х кратной повторности.

Таблица 1

## Характеристика и нормы внесения мелиорантов

Вещество	Характеристика	Принцип действия	Нормы внесения, г /1 кг почвы
Глауконит	Серо-коричневый порошок мелкого помола	Минеральный природный глинистый адсорбент. Адсорбция нефти, при соотношении глауконит : нефть – 1:6	8,3
«Dop-Uni»	Порошок торфа с бактериальными штаммами	Источник бактериальных штаммов нефтеразрушающих бактерий. Содержит 3 вида бактерий-нефтедеструкторов	25,0
Гумат калия	Буро-черный раствор	Источник гуминовых веществ. Стимуляция аборигенной нефтеразрушающей биоты	5,0
Мочевина	Крупные белые плотные гранулы	Источник азота. Выравнивание соотношения С: N до 5:1	18,3

**Модельный эксперимент № 1.** Загрязнение нефтью - 5% от массы почвы. Вносимые мелиоранты: мочевина, гумат калия, глауконит, «Dop-Uni». Срок экспозиции составил 30 суток.

Схема эксперимента:

1. Контроль (К) – незагрязненный чернозем обыкновенный
2. К+глауконит
3. К+ «Dop-Uni»
4. К+мочевина
5. К+ гумат калия
6. К+ глауконит +«Dop-Uni»
7. К+ глауконит + мочевина
8. К+ глауконит + гумат калия
9. К+ «Dop-Uni» + мочевина
10. К+ «Dop-Uni» + гумат калия
11. К+ мочевина + гумат калия
12. К+ «Dop-Uni» + гумат калия + мочевина
13. К+ мочевина + гумат калия +глауконит
14. К+ «Dop-Uni» + гумат калия + мочевина+ глауконит
15. чернозем обыкновенный, загрязненный нефтью 5% от массы почвы (Н)
16. Н + Глауконит
17. Н + «Dop-Uni»
18. Н + мочевина
19. Н + гумат
20. Н + глауконит +«Dop-Uni»
21. Н + мочевина
22. Н +глауконит+ гумат калия
23. Н + «Dop-Uni»+мочевина
24. Н + «Dop-Uni»+ гумат калия
25. Н + мочевина+ гумат калия
26. Н + «Dop-Uni» + гумат калия + мочевина
27. Н + мочевина + гумат калия +глауконит
28. Н + «Dop-Uni» + гумат калия + мочевина + глауконит

**Модельный эксперимент №2.** Загрязнение нефтью - 10% от массы почвы. Вносимые мелиоранты: мочевины и гумат калия. Срок экспозиции составил 30, 60 и 90 суток.

Схема эксперимента:

1. Контроль - незагрязненный чернозем обыкновенный
2. К+ мочевины
3. К+ гумат калия
4. Чернозем обыкновенный, загрязненный нефтью 10% от массы почвы (Н)
5. Н +мочевина
6. Н +гумат калия

### 3.2. Лабораторно-аналитические методы исследования

Модельные эксперименты ставили в 3х-кратной повторности. Определение биологических показателей выполнено в 3-18-кратной аналитической повторности общепринятыми методами (Казеев и др., 2016).

Биологическое состояние почвы было определено по 12 показателям: эмиссию углекислого газа определяли с помощью газосигнализатора ПГА-7 (в %) и инфракрасного сенсорного зонда на газосигнализаторе CO<sub>2</sub> TESTO-535 с погрешностью ±50 ppm (в ppm/30 мин); содержание органического вещества — по И.В. Тюрину в модификации Б.А. Никитина, %; активность каталазы (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> — оксидоредуктаза, КФ 1.11.1.6.) — по скорости разложения перекиси водорода при контакте с почвой по А.Ш. Галстяну (1956), мл O<sub>2</sub> в 1 г за 1 мин.; активность пероксидаз (донор: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - оксидоредуктаза. КФ 1.11.1.7.) и полифенолоксидаз (О-дифенол: кислород-оксидоредуктаза. КФ 1.10.3.1.) по окислению гидрохинона в 1,4 бензохинона по Л.А. Карягиной, Н.А. Михайловой (1986), мг 1,4 п бензохинона в 1 г за 30 мин.; активность инвертазы (β-фруктофуранозидаза, сахараза, КФ 3.2.1.26) — по Ф.Х. Хазиеву (2005), мг глюкозы в 10 г за сутки; активность уреазы (карбамид - амидогидролаза, КФ 3.5.1.5.) — по А.Ш. Галстяну (1978) мг NH<sub>3</sub> в 10 г за 24 часа; активность фосфатазы (фосфогидролазы моноэфиров ортофосфорной кислоты. КФ 3.1.3.1-2) — по А.Ш. Галстяну и Э.А. Арутюняну (1966), мг P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> в 100г в час; фитотоксичность почвы определяли по изменению показателей роста редиса сорта «Французский завтрак» (Бабьева, Зенова, 1989; Казеев и др., 2016).

Интегральный показатель биологического состояния (ИПБС) почвы рассчитывали по наиболее информативным и чувствительным биологическим показателям: активность каталазы, инвертазы, фосфатазы, длина корней и побегов редиса.

Остаточное содержание нефти определяли методом инфракрасной спектроскопии, г/кг. В качестве экстрагента нефти из почвы использовали четыреххлористый углерод (тетрахлорметан). Степень извлечения нефти из почвы этим методом составляла 40%.



### 3.3. Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка данных выполнена с использованием Statistica 12.0. Использовали дисперсионный и корреляционный анализы.

## ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ МЕЛИОРАНТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЧЕРНОЗЕМА ПРИ 5% УРОВНЕ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЯ

В данной главе представлены результаты исследования влияния 4-х мелиорантов различной природы (мочевина, гумат калия, глауконит, «Dop-Uni») на биологические свойства чернозема.

### 4.1. Изменение содержания нефти в почве

На рис. 1 представлено остаточное содержание нефти в черноземе через 30 суток после внесения мелиорантов. Данное содержание определено методом экстракции нефти из почвы четыреххлористым углеродом. Как видно из рисунка, при внесении в почву глауконита резко снижается доля извлечения нефти из почвы (на 35%), что объясняется адсорбцией нефти глауконитом. Внесение трех других мелиорантов — «Dop-Uni», гумата калия и мочевины — привело к снижению содержания в почве нефти по сравнению с контролем (13, 12 и 12% соответственно). Это связано с активизацией аборигенной микрофлоры данными препаратами и усилением разложения нефти.

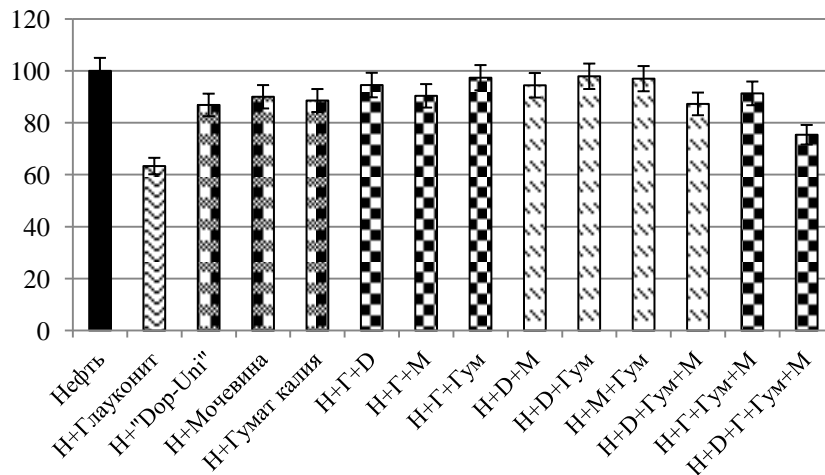


Рис. 1. Содержание нефти в черноземе через 30 суток после внесения нефти и мелиорантов, % от исходного содержания нефти

В остальных вариантах содержание нефти изменилось незначительно и достоверно не отличалось от исходного содержания. Полагаем, что такая слабая динамика снижения содержания нефти в почве вызвана малым сроком экспозиции и низкой концентрацией нефти. Это подтверждают результаты, полученные в работах других авторов (Сулейманов, Шорина, 2012).



*Изменение активности гидролаз.* На активность инвертазы, уреазы и фосфатазы загрязнение нефтью оказало подавляющее воздействие, активность ферментов снижалась на 30-80% (рис. 3). На активность инвертазы самостоятельное применение мелиорантов или не оказало достоверного влияния, или оказало подавляющее воздействие (мочевина и ее сочетание с другими мелиорантами).

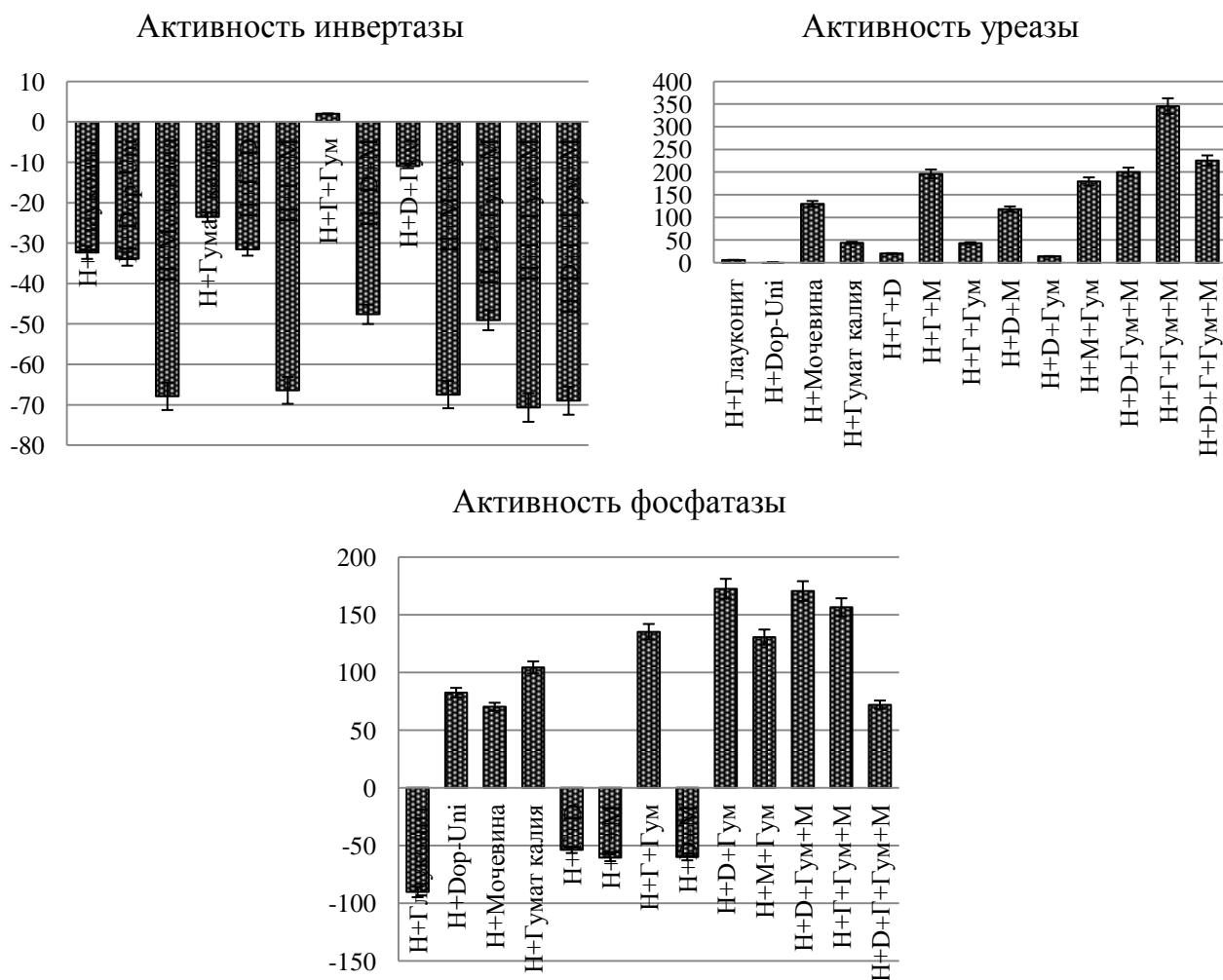


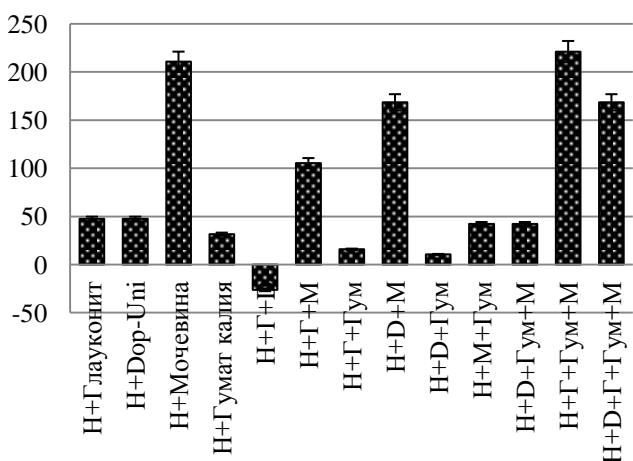
Рис. 3. Изменение активности гидролаз через 30 суток после внесения мелиорантов, % от нефтезагрязненного чернозема

На активность уреазы в некоторых вариантах (мочевина или сочетания других мелиорантов с мочевиной) наблюдали стимуляцию на 130-205% относительно нефтезагрязнения. На активность уреазы применение мочевины и сочетаний с ней мелиорантов оказало стимулирующий эффект: активность фермента была выше уровня нефтезагрязнения на 100-250%. Стимулирующее воздействие на активность фосфатазы оказывает внесение «Dop-Uni», мочевины и гумата калия на 82, 70 и 104% относительно нефтезагрязнения. На фоне нефтезагрязнения зафиксировано снижение активности инвертазы при внесении всех мелиорантов, кроме глауконита с гуматом калия, который достиг контрольных значений. Стимуляция активности уреазы при совместном применении нескольких мелиорантов, включая глауконит и гумат калия,

обусловлена методикой определения активности фермента. Поскольку методика определения активности уреазы в почве предполагает использование в качестве субстрата мочевины, то оценивать активность уреазы в вариантах опыта с мочевиной, внесенной в качестве мелиоранта, нецелесообразно.

Эмиссия  $\text{CO}_2$  – косвенный показатель микробиологической активности. Так, при загрязнении нефтью 5% через 3 и 20 суток эмиссия  $\text{CO}_2$  была выше контроля на 50 и 100% соответственно (рис. 4).

3-и сутки



20-е сутки

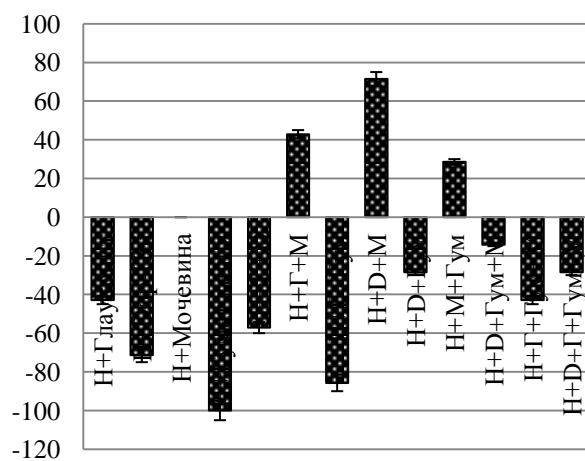


Рис. 4. Изменение эмиссии  $\text{CO}_2$  нефтезагрязненного чернозема обыкновенного после внесения мелиорантов, % от нефтезагрязненного чернозема

Применение мочевины и сочетаний других мелиорантов с ней, как самостоятельно, так и при загрязнении нефтью оказывало выраженный стимулирующий эффект как на 3-и, так и на 20-е сутки. Эмиссия  $\text{CO}_2$  была выше контроля на 100-300% относительно нефтезагрязнения. По-видимому, это связано с активизацией почвенной биоты, способствующей деградации нефти.

#### 4.3. Изменение фитотоксических свойств

Загрязнение нефтью оказало незначительный стимулирующий эффект на всхожесть и длину корней редиса (рис. 6). Применение мочевины самостоятельно и в сочетании с другими мелиорантами полностью подавило развитие редиса. Самостоятельное применение глауконита, «Dop-Uni», гумата калия и комплексов с гуматом калия оказало стимулирующий эффект на длину корней и побегов на 60-82% относительно контроля. Такая стимуляция обусловлена благоприятным воздействием на почвенную биоту, что способствовало деградации нефти.

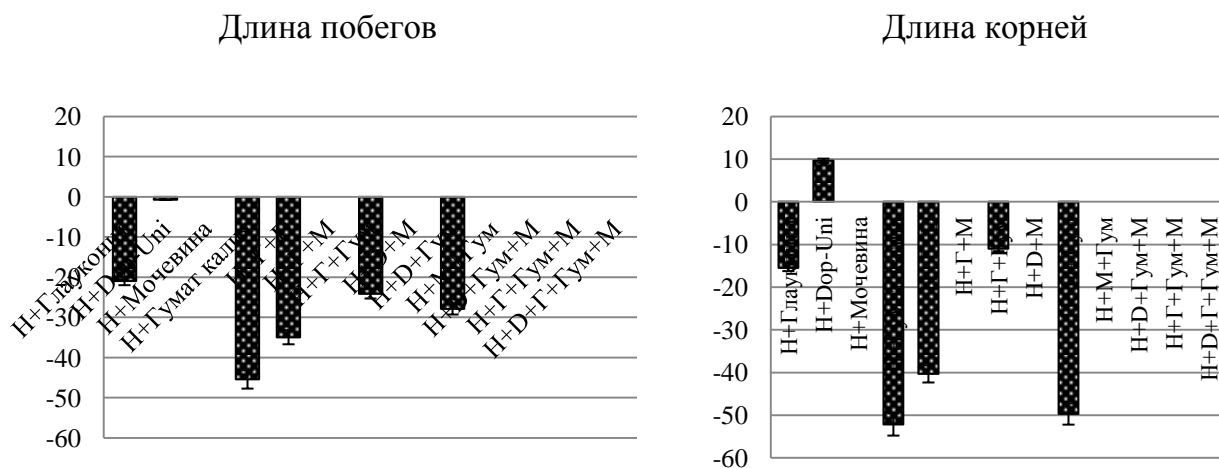


Рис. 5. Изменение фитотоксичности нефтезагрязненного чернозема обыкновенного после внесения мелиорантов, % от нефтезагрязненного чернозема

При внесении мелиорантов в нефтезагрязненный чернозем определена высокая токсичность в вариантах с мочевиной. При внесении «Dop-Uni» токсичность почв минимальная: на уровне контроля или выше на 10%.

#### 4.4. Интегральный показатель биологического состояния почвы

При 5% уровне нефтезагрязнения ИПБС чернозема снизился на 25% относительно контроля. Внесение «Dop-Uni» и гумата калия и мочевины в почву без нефти привело к увеличению ИПБС (рис. 6). Это свидетельствует об их биостимулирующей способности. Применение мочевины снижает биологическую активность чернозема. Аналогичную закономерность по воздействию мочевины на биологическую активность нефтезагрязненных почв наблюдалась ранее в опытах С.И. Колесникова с соавт. (2011). При внесении «Dop-Uni» в нефтезагрязненную почву наблюдали стимуляцию ИПБС на 50%. В то время как при внесении гумата калия и мочевины зафиксировано превышение варианта только с нефтью на 17,5 и 20,0% соответственно. Похожие тенденции к стимуляции установлены при совместном применении гумата калия с другими мелиорантами, «Dop-Uni» с другими мелиорантами.

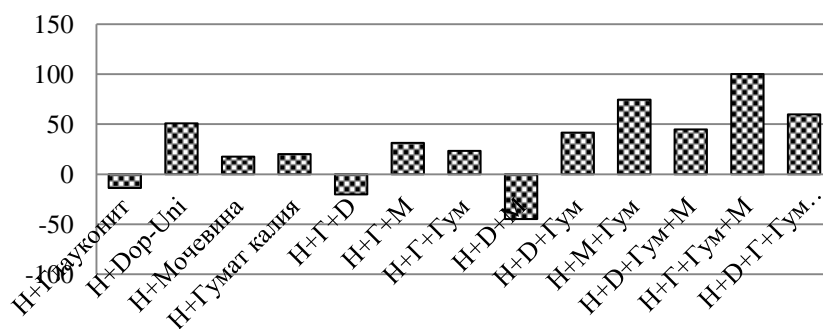


Рис. 6. Изменение ИПБС чернозема при 5% нефтезагрязнении через 30 суток, % от нефтезагрязненного чернозема

При совместном использовании мочевины и гумата калия наблюдается синергетический эффект, что свидетельствует о целесообразности их совместного применения. При внесении мочевины с «Dop-Uni» показан антагонистический эффект.

## ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ МЕЛИОРАНТОВ НА БИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЧЕРНОЗЕМА ПРИ 10% УРОВНЕ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЯ

Во второй части нашей работы было акцентировано внимание на изучении влияния мочевины и гумата калия. Данные вещества были выбраны, исходя из ранее полученных данных о благоприятном влиянии мочевины и гумата калия на биологические свойства нефтезагрязненного чернозема. Концентрация нефти в почве — 10%. Сроки экспозиции — 30, 60 и 90 суток.

### 5.1. Изменение содержания нефти в почве

Остаточное содержание нефти в почве (рис. 8) снизилось на 22, 40 и 50% через 30, 60 и 90 суток соответственно.

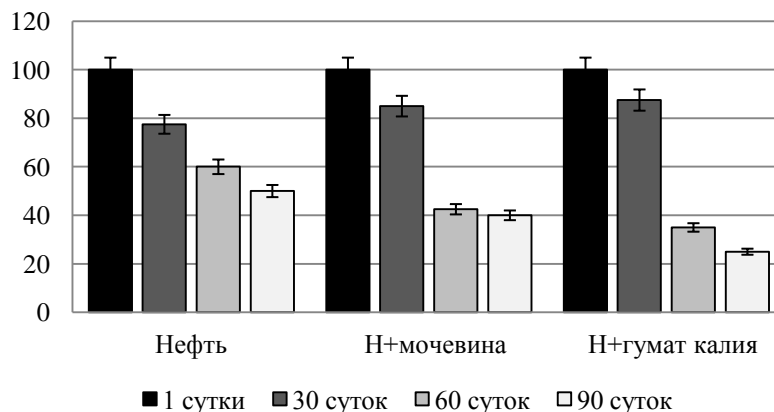


Рис. 8. Изменение содержания нефти в почве через 30, 60 и 90 суток после внесения нефти и мелиорантов, % от исходного содержания

Внесение мочевины и особенно гумата калия увеличивало степень разложения нефти на 60 и 90 сутки на 57 и 60% при внесении мочевины, на 65 и 75% при внесении гумата калия.

### 5.2. Изменение активности ферментов и эмиссии CO<sub>2</sub>

Загрязнение чернозема нефтью оказало подавляющее воздействие на активность каталазы, инвертазы и фосфатазы. Это снижение составило 18-80% относительно контроля (рис. 9). Наиболее чувствительным ферментом оказалась фосфатаза, подавление которой составило 40-80%.

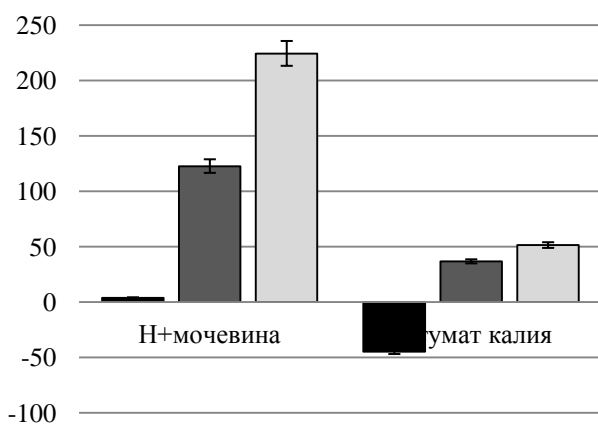
Применение мочевины снижало активность каталазы на 25-60% и стимулировало активность фосфатазы на 75-150%. Активность инвертазы

значительно варьировалась: наблюдались подавляющие эффекты через 30 и 90 суток на 62-39% и через 60 суток стимулирующие – на 25% выше контроля.

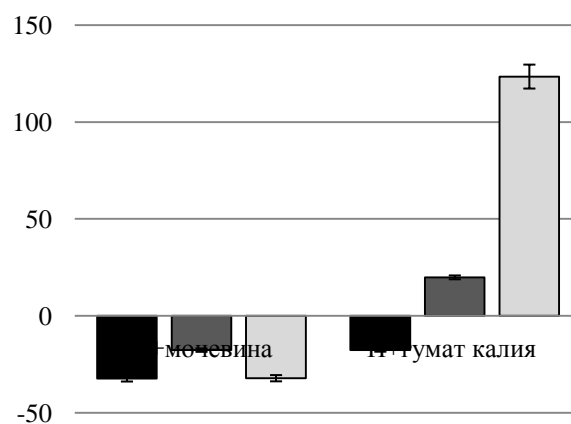
Внесение гумата калия не оказало достоверного влияния на активность каталазы и фосфатазы.

Применение мочевины при нефтезагрязнении увеличивало активность каталазы на 123-224% и фосфатазы на 203-629%, но подавляло активность инвертазы на 18-32% относительно контроля. Применение гумата калия при нефтезагрязнении не раскрывало восстанавливающего эффекта на активность каталазы и фосфатазы, но через 90 суток стимулировало активность инвертазы по сравнению с нефтезагрязнением на 117%.

Активность каталазы



Активность инвертазы



Активность фосфатазы

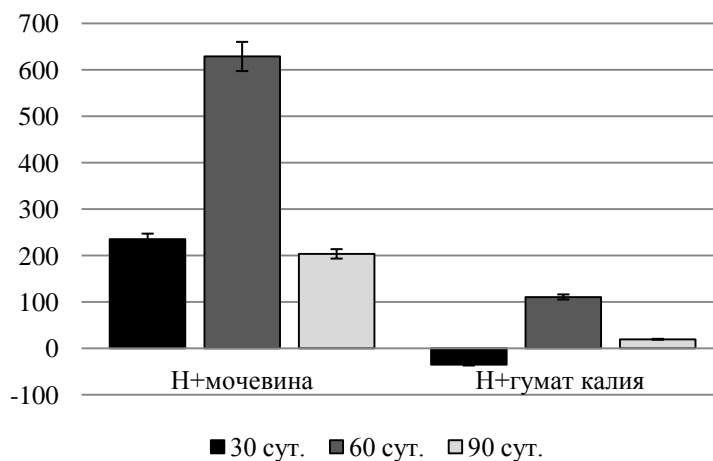


Рис. 9. Изменение ферментативной активности в черноземе при нефтезагрязнении после внесения гумата калия и мочевины через 30, 60 и 90 суток, % от нефтезагрязненного чернозема

Эмиссия  $\text{CO}_2$  при внесении нефти возрастала на 42% от исходного (рис. 10). После внесения мочевины и гумата калия в течение 90 суток также наблюдалось увеличение эмиссии с небольшим спадом.

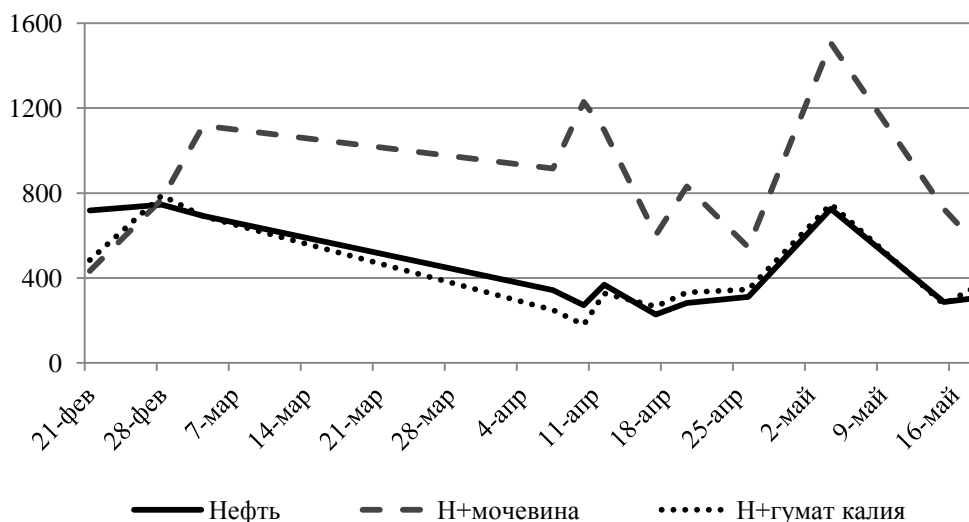


Рис. 10. Изменение интенсивности выделения (эмиссии) после внесения гумата калия и мочевины через 30, 60 и 90 суток, ppm/30 мин

Вероятно, спад интенсивности выделения  $\text{CO}_2$  обусловлен разложением нефти в почве, что показано на рис. 8. При внесении мочевины в нефтезагрязненный чернозем зафиксирован наибольший подъем эмиссии  $\text{CO}_2$  (на 67%) по сравнению с нефтезагрязненным черноземом.

### 5.3. Изменение фитотоксических свойств

Загрязнение нефтью оказало подавляющее воздействие на всхожесть, длину корней и длину побегов через 30 и 60 суток на 18-50% (рис. 11). Применение мочевины на фоне нефтезагрязнения через 30 и 60 суток оказало еще больший токсичный эффект, чем нефтезагрязнение. Но через 90 суток исследуемые показатели возросли. В частности, всхожесть и длина побегов восстановилась до уровня контроля.

Применение мочевины определило негативное воздействие на длину корней и побегов через 30 и 60 суток на 60-80% и на всхожесть через 60 и 90 суток на 78-80%. Внесение гумата калия через 30 и 90 суток стимулировало все исследуемые показатели на 20-65% относительно контроля. Применение гумата калия на фоне нефтезагрязнения действовало восстанавливающее: всхожесть редиса при внесении гумата калия возрастала на 30-е и 90-е сутки на 31 и 69%. Стимуляция длины побегов была продемонстрирована на 30 и 60-е сутки на 26 и 7% соответственно. Самый информативный фитотоксический показатель – длина корней редиса – был простимулирован на 30 и 90-е сутки относительно нефтезагрязнения на 31 и 69% соответственно.



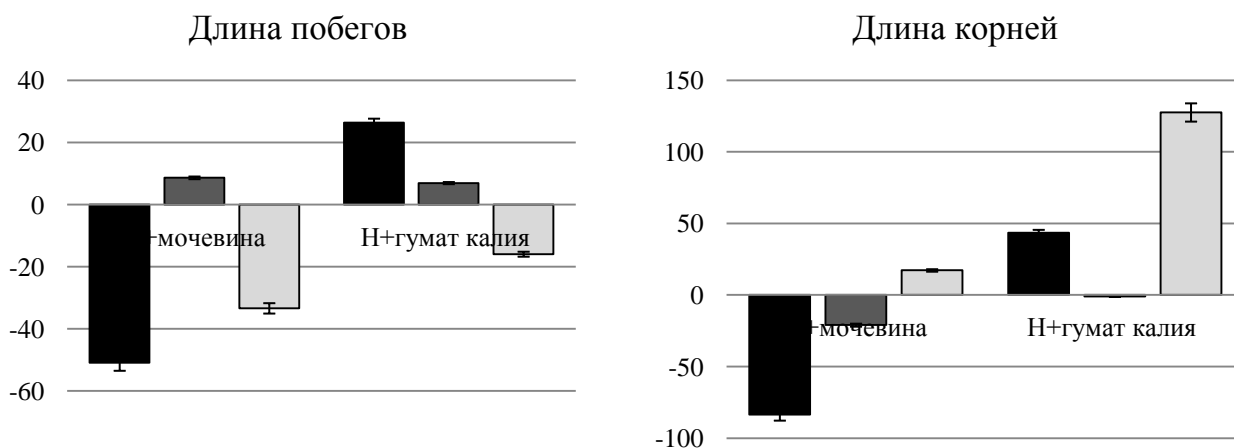


Рис. 11. Изменение фитотоксических показателей редиса в незагрязненном и нефтезагрязненном черноземе после внесения гумата калия и мочевины через 30, 60 и 90 суток, % от нефтезагрязненного чернозема

#### 5.4. Интегрального показателя биологического состояния почвы

При уровне загрязнения нефтью 10% от массы почвы через 30, 60 и 90 суток после внесения мочевины и гумата калия был рассчитан ИПБС чернозема (рис. 12). Подтверждено, что загрязнение нефтью снижает ИПБС на 30, 45 и 22% от контроля через 30, 60 и 90 суток соответственно.

На нефтезагрязненном черноземе наблюдалось увеличение ИПБС при внесении мочевины на 36 и 16% на 60 и 90-е сутки соответственно, а при внесении гумата калия на 14 и 42% на 60 и 90 суток соответственно.

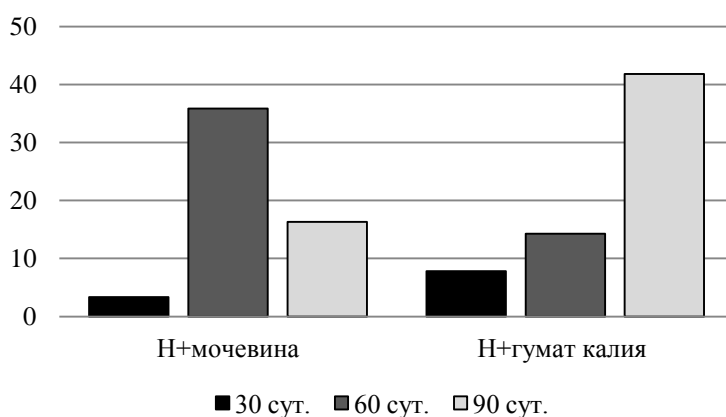


Рис. 12. Изменение ИПБС чернозема при 10% нефтезагрязнении через 30, 60 и 90 суток, % от нефтезагрязненного чернозема

### **5.5 Использование биологических показателей в целях биомониторинга и биодиагностики нефтезагрязненного чернозема после внесения мелиорантов**

Чувствительность биологических показателей к применению мелиорантов при нефтезагрязнении чернозема оценивали по степени снижения значений биологического показателя от контроля.

По чувствительности к применению мелиорантов при нефтезагрязнении чернозема биологические показатели образуют следующую последовательность: *активность инвертазы > активность каталазы > активность фосфатазы ≥ активность уреазы > длина корней ≥ длина побегов ≥ пероксидаз ≥ полифенолоксидаз ≥ численность бактерий.*

Об информативности биологических показателей к применению мелиорантов при нефтезагрязнении чернозема судили по степени корреляции биологического показателя с дозой мелиоранта.

По информативности использованные биологические показатели состояния почвы образуют ряд: *активность инвертазы > активность каталазы > пероксидаз > полифенолоксидаз > длина корней > высота побегов > активность фосфатазы ≥ активность уреазы > численность бактерий.*

## ВЫВОДЫ

1. Влияние на биологическую активность нефтезагрязненного чернозема зависит от природы мелиоранта. По стимулирующему действию на биологическую активность нефтезагрязненного чернозема исследованные мелиоранты располагаются в следующей последовательности: *гумат калия (гуминовый препарат) > глауконит (минеральный сорбент) > «Dop-Uni» (бактериальный препарат) > мочевина (источник азота)*. Гумат калия, как биостимулятор аборигенной нефтедеструктивной микробиоты, оказывает наиболее благоприятное воздействие на биологические свойства чернозема и при любом уровне нефтезагрязнения. Через 90 суток после нефтезагрязнения и применения гумата калия биологические свойства чернозема восстанавливались до уровня незагрязненной почвы.
2. По стимуляции разложения нефти исследованные мелиоранты образуют следующий ряд: *гумат калия (гуминовый препарат) > «Dop-Uni» (бактериальный препарат) > мочевина (источник азота)*. Глауконит не представлен в вышеуказанном ряду, поскольку механизм его действия основан не на стимулировании разложения нефти, а на ее связывании.
3. Действие мелиорантов зависело от срока экспозиции. Применение мелиорантов на 30-е сутки на скорость деструкции нефти, а на 60-е и 90-е сутки внесение мочевины ускорило естественное разложение нефти в 1,5 раза, а гумата калия — в 2 раза.
4. При совместном применении мелиорантов наблюдается как синергетический, так и антагонистический эффекты. При использовании мочевины с гуматом калия наблюдается синергетический эффект, при внесении мочевины с «Dop-Uni» - антагонистический эффект.
5. По чувствительности к применению мелиорантов при нефтезагрязнении чернозема биологические показатели образуют следующую последовательность: *активность инвертазы > активность каталазы > активность фосфатазы ≥ активность уреазы > длина корней ≥ длина побегов ≥ пероксидаз ≥ полифенолоксидаз ≥ численность бактерий*.
6. По информативности использованные биологические показатели состояния почвы образуют ряд: *активность инвертазы > активность каталазы > пероксидаз > полифенолоксидаз > длина корней > высота побегов > активность фосфатазы ≥ активность уреазы > численность бактерий*.
7. Интегральный показатель биологического состояния нефтезагрязненного чернозема после внесения мелиорантов был максимальным при внесении «Dop-Uni» и гумата калия. Максимальный ИПБС показан на 60 сутки при внесении мочевины и на 90-е сутки после внесения гумата калия.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

По теме диссертации опубликовано 58 научных работ. Ниже перечислены основные из них.

### Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Минникова Т.В., Денисова Т.В., Колесников С.И., Акименко Ю.В. Оценка агроэкологических показателей нефтезагрязненного чернозема Ростовской области при ремедиации мочевиной и гуматом калия // Российская сельскохозяйственная наука. 2018. №1. С. 44-48.
2. Минникова Т.В., Колесников С.И., Денисова Т.В., Акименко Ю.В. Интегральная оценка биологического состояния чернозема обыкновенного при ремедиации нефтезагрязнения // Проблемы агрохимии и экологии, 2018, № 3, С.56-60.
3. Минникова Т.В., Мокриков Г.В., Казеев К.Ш., Акименко Ю.В., Колесников С.И. Оценка зависимостей между гидротермическими показателями и ферментативной активностью черноземов Ростовской области при использовании различных агротехнологий // Агрофизика, 2018, №1. С. 9-17.
4. Минникова Т.В., Мокриков Г.В., Казеев К.Ш., Акименко Ю.В., Колесников С.И. Влияние технологии No-Till на нитрифицирующую активность черноземов Ростовской области // Агрохимия. 2017. № 9. С. 33-38.
5. Минникова Т.В., Денисова Т.В., Колесников С.И., Акименко Ю.В. Оценка активности оксидоредуктаз нефтезагрязненного чернозема при мелиорации глауконитом, «Dop-Uni» и гуматом калия // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2017. Т. 19. № 2-2. С. 307-311.
6. Минникова Т.В., Мокриков Г.В., Казеев К.Ш., Акименко Ю.В., Колесников С.И. Оценка ферментативной активности черноземов Ростовской области под бинарными посевами подсолнечника // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2017. №6. С.141-155.
7. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Минникова Т.В. Оценка устойчивости экологических функций почв к загрязнению антибиотиками // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2017. Т. 19. № 2-2. С. 207-210.
8. Минникова Т.В., Денисова Т.В., Колесников С.И. Фитотоксичность лугово-черноземных почв района влияния Новочеркасской ГРЭС (Ростовская область) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Т. 18, № 2 (2), 2016. С. 444-446.
9. Минникова Т.В., Денисова Т.В., Колесников С.И. Влияние совместного воздействия переменных магнитных полей промышленной частоты 50 Гц и загрязнения никелем на ферментативную активность и фитотоксичность чернозема южного Керченского полуострова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2015. – №08(112).
10. Минникова Т.В., Денисова Т.В., Колесников С.И., Трушков А.В. Влияние сочетанного воздействия оксида никеля и переменных магнитных полей на изменение биологических свойств чернозема солонцеватого полуострова Крым (Россия) // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета, 2014. №10(104).

**Статьи в изданиях, индексируемых в базах Web of Science и Scopus**

11. Minnikova T.V., Kolesnikov S.I., Denisova T.V., Akimenko Yu.V. Biodiagnosis of the state of oil-polluted chernozem during remediation with urea and potassium humate // 18<sup>th</sup> International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2018. Conference Proceedings. Volume 18. 2-5 July, 2018 Albena, Bulgaria. P.33-40.
12. Minnikova T.V., Denisova T.V., Mandzhieva S.S., Kolesnikov S.I., Minkina T.M., Chaplygin V.A., Burachevskaya M.V., Sushkova S.N., Bauer T.V. Assessing the effect of heavy metals from the Novocherkassk power station emissions on the biological activity of soils in the adjacent areas // Journal of Geochemical Exploration. 2017. V.174, P.70-78.
13. Kolesnikov S.I., Myasnikova M.A., Minnikova T.V., Ter-Misakyants T.A., Kazeev K.Sh., Akimenko Yu.V. Assessment of meadow soil resistance of the Azov Sea Region to pollution with heavy metals and oil // Ecology, Environment and Conservation. 2017. 23 (4), P.2346-2350.
14. Akimenko Yu.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I., Myasnikova M.A., Minnikova T.V. Assessing resistance of the microbial community in soils to pollution with antibiotics // Asian Journal of Pharmaceutics. 2017, 11 (4), P.798-804.
15. Denisova T.V., Kolesnikov S.I., Mazanko M. S., Minnikova T.V., Akimenko Yu.V. Influence of electromagnetic fields of different frequencies on biological properties of ordinary chernozem combined with lead and oil pollution // Source of the Document International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM 2 (3), 2015. P.183-190.

**Статьи и тезисы в других изданиях**

16. Минникова Т.В., Денисова Т.В., Минкина Т.М., Колесников С.И., Капралова О.А., Дмитриев П.А. Биологическая активность почв района влияния Новочеркасской ГРЭС Свидетельство о регистрации электронного ресурса № 23006 от 01.08.2017 г.
17. Минникова Т.В., Баранова Г.В. Влияние мелиорантов на интенсивность гумификации чернозема обыкновенного при загрязнении нефтью // Материалы Международной научной конференции XX Докучаевские молодежные чтения «Почва и устойчивое развитие государства» / Под ред. Б.Ф. Апарина. СПб., 2017. С. 252-253.
18. Минникова Т.В., Шишко Н.Ю., Архипова К.А. Протеолитическая активность нефтезагрязненных черноземов Ростовской области после применения мелиорантов // Экология и природопользование: ежегодный тематический сборник / Вып. 14. Ростов-на-Дону; Таганрог: Издательство Южного федерального университета, 2017. С. 76-78.
19. Минникова Т.В. Изменение содержания лабильного органического вещества в нефтезагрязненном черноземе при использовании бактериального препарата «Dop-Uni», мочевины и гумата калия // Ломоносов-2017. Тезисы докладов XXIV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Москва, 2017. С. 35-37.
20. Минникова Т.В., Макевнина С.В., Веропаха Д.Д., Денисова Т.В. Активность уреазы нефтезагрязненного чернозема обыкновенного после внесения глауконита, гумата калия и бактериального препарата «Dop-Uni» //

- Техногенные системы и экологический риск: Тезисы докладов I Международной (XIV Региональной) научной конференции / Под общ. ред. А.А. Удаловой. – Обнинск: НИЯУ МИФИ, 2017. С.129-131.
21. Минникова Т.В., Макевнина С.В., Денисова Т.В. Оценка фосфатазной активности нефтезагрязненного чернозема Ростовской области после ремедиации гуматом калия и мочевиной во временной динамике // Эволюция и деградация почвенного покрова. Сборник статей V Международной научной конференции. 2017. С. 344-346.
  22. Минникова Т.В., Макевнина С.В., Денисова Т.В. Изменение биологического состояния нефтезагрязненного чернозема после внесения «Dop-Uni» и гумата калия // Современные технологии в изучении биоразнообразия и интродукции растений: сборник материалов Международной научной конференции (17-21 октября 2017 г.) / Южный федеральный университет: – Ростов-на-Дону: Таганрог Изд-во ЮФУ, 2017. С. 159-161.
  23. Минникова Т.В., Макевнина С.В., Денисова Т.В. Оценка фосфатазной активности нефтезагрязненного чернозема Ростовской области после ремедиации гуматом калия и мочевиной во временной динамике // Эволюция и деградация почвенного покрова: сборник научных статей по материалам V Международной научной конференции. Ставрополь: СЕКВОЙЯ, 2017. С.344-345.
  24. Минникова Т.В., Шишко Н.Ю., Архипова К.А. Оценка биологической активности нефтезагрязненных черноземов после применения глауконита и гумата калия // Проблемы природоохранной организации ландшафтов Материалы международной научно-практической конференции. 2017. С. 282-287.
  25. Минникова Т.В., Баранова Г.В., Денисова Т.В., Колесников С.И. Влияние мелиорантов различной природы на активность каталазы нефтезагрязненной почвы // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии: Материалы международного симпозиума и школы, МГУ, 25–28 октября 2016 г. – М.: ГЕОС, 2016. – С. 375-377.