

Р. Х. Хузиахметов, А. Ф. Халилова, А. П. Денисова,
Д. Р. Мухаметшина, И. П. Бреус

ВЛИЯНИЕ ФОРМЫ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ НА АКТИВНОСТЬ МИКРОФЛОРЫ ЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ И СТЕПЕНЬ БИОДЕГРАДАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ

Ключевые слова: азотное питание, карбамид-формальдегидное удобрение, почва, углеводороды, загрязнение, *n*-тридекан, почвенные микроорганизмы, биodeградация.

*Исследован эффект разных форм азотных удобрений на активность почвенных микроорганизмов в отношении биodeградации *n*-тридекана в загрязненном выщелоченном черноземе. Показана важная роль азотного питания в усилении биodeградации. Наилучший эффект биоремедиации был достигнут на фоне использования карбамид-формальдегидного удобрения.*

Keywords: nitrogen nutrition, carbamide-formaldehyde fertilizer, soil, hydrocarbons, contamination, *n*-tridecane, soil microorganisms, biodegradation.

*The effect of different forms of nitrogen fertilizers on soil microbial activity against *n*-tridecane biodegradation in contaminated leached chernozem. The important role of nitrogen in enhancing biodegradation. The best effect of bioremediation has been made against the use of urea-formaldehyde fertilizer.*

Введение

Как известно, естественное пополнение запасов азота в почве происходит в результате азотфиксирующей деятельности свободноживущих и клубеньковых микроорганизмов, а также с атмосферными осадками. Однако основная масса азота (до 95%) в почве недоступна или малодоступна растениям, и лишь небольшое количество его находится в легкоусвояемой растениями минеральной форме [1]. Общее количество азота в почве зависит от типа почвы и содержания в ней органических веществ (в 1-метровом слое сероземов содержится около 50 т/га, в черноземах – до 800 т/га). Вынос азота из почв, по сравнению с фосфором и калием, значительно больше, и достигает 100-150 кг/га (в зависимости от вида культур и их урожайности). Восполнение азота осуществляется, в основном, внесением минеральных удобрений, в первую очередь, аммиачной селитры – АС (NH_4NO_3) и карбамида – К [$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$]. Однако из-за их высокой растворимости более половины внесенного минерального азота безвозвратно теряется, причем попадание его в водоемы вызывает другую серьезную экологическую проблему – эвтрофикацию водоемов.

В работах отечественных и зарубежных исследователей показана возможность получения на основе мочевины карбамид-формальдегидных удобрений (КФУ) с регулируемой скоростью высвобождения аммиачного азота в почве [2-4]. В вегетационных и полевых опытах, проведенных нами ранее в климатических условиях Республики Татарстан, показано положительное влияние КФУ на развитие как зерновых (пшеница, ячмень), так и технических культур (рапс, суданская трава и др.) [5,6]. Установлено также, что при применении КФУ содержание нитратов в продуктах было меньше, чем при внесении аммиачной селитры и карбамида.

Однако в этой области остается еще много вопросов, связанных с применением рассматриваемых форм удобрений. Среди них наиболее важными являются такие, как исследование влияния КФУ на

физико-химические свойства почв, а также на их биологическую активность, связанную с жизнедеятельностью почвенных микроорганизмов, особенно в условиях загрязнения углеводородами (УВ). Проблема загрязнения природной среды нефтью и сопутствующими загрязнителями является одной из наиболее острых как для России в целом, так и для Республики Татарстан, в частности (добыча нефти осуществляется на половине площадей РТ).

Целью данной работы было исследование влияния карбамид-формальдегидного удобрения на биологическую активность почв (по сравнению с другими формами азотных удобрений), а также на степень биodeградации углеводородов в загрязненных почвах.

Экспериментальная часть

Опыты по оценке активности почвенных микроорганизмов проводили в лабораторных сосудах на искусственно загрязненном выщелоченном черноземе. В качестве загрязнителя был выбран алифатический *n*-тридекан, как типичный представитель ряда дизельного топлива с молекулярной массой, наиболее соответствующей среднему значению молекулярно-массового распределения УВ моторных топлив (2 мас.% – как характеристика средней степени загрязнения почвы).

В исследованиях были использованы промышленные образцы азотных удобрений (в дозе 0,6 г N/кг почвы): аммиачная селитра (ГОСТ 2-85) и карбамид (ГОСТ 2081-92), а также один из образцов КФУ (N=39%) [7].

Биологическую активность почвы оценивали по показателям респираторной активности: базального (V_{basal}) и субстрат-индуцированного (V_{SIR}) почвенного дыхания, а также по численности углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ).

Почвенное дыхание определяли газохроматографическим методом (по скорости продуцирования CO_2). Для этого 2 г сырой почвы помещали в пенициллиновый флакон, добавляли 0,5 см³ сте-

рильной воды (для определения V_{basal}) или 10 % раствора глюкозы (для определения V_{SIR}), флаконы герметично закрывали и инкубировали в термостате (28°C, 1 час) [8]. Далее на газовом хроматографе определяли количество выделившегося CO_2 и рассчитывали скорость базального и субстрат-индуцированного дыхания (мг CO_2 на кг почвы в час).

Определение численности УОМ проводили методом высева на твердую синтетическую среду [состав, г/л: Na_2HPO_4 – 4,5; KH_2PO_4 – 3,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1,0; MgSO_4 – 0,25]. Количество микроорганизмов выражали как число колониеобразующих единиц (КОЕ) [9].

Анализ остаточного содержания н-тридекана в почве ($\text{C}_{\text{OУВ}}$, г/100 г почвы) проводили по разработанной нами методике (углеводороды экстрагировали из образцов с помощью CCl_4 , затем в экстракте определяли их количество методом газовой хроматографии) [10].

Отбор образцов почвы на анализ (V_{basal} , V_{SIR} , КОЕ, $\text{C}_{\text{OУВ}}$) проводили через 3 и 6 недель экспериментов (повторность в опытах – 5-кратная).

Обсуждение результатов

Основным индикатором состояния микрофлоры служит почвенное дыхание, которое доставляет информацию о минерализационной активности жизнеспособных микроорганизмов [8].

Как видно из рис. 1 и 2, в незагрязненной почве респираторная активность во всех вариантах была примерно на одном уровне.

При этом скорость субстрат-индуцированного дыхания существенно превышала скорость базального (через 3 недели – в 1,6-2,3 раза, через 6 недель – в 2,1-3,3 раза), что доказывает высокую минерализационную активность почвенного микробиоценоза.

В случае загрязнения почвы углеводородом в контрольном варианте (без удобрений) наблюдалось увеличение величин V_{basal} (в 3-5 раз) и V_{SIR} (до 2-х раз) относительно незагрязненного варианта. Это объясняется тем, что УВ является источником углерода для УОМ. Таким образом, в зависимости от условий, попадание углеводородов в почву может и угнетать, и стимулировать развитие почвенных микроорганизмов. Преобладание какого-либо из этих процессов определяется составом углеводородной смеси, ее количеством и сроком воздействия. Приводимые выше результаты по дыханию указывают на отсутствие стресса у почвенных микроорганизмов в ответ на внесение алифатического углеводорода (н-тридекана).

При внесении в почву азотных удобрений происходил резкий скачок величин почвенного дыхания. В случае V_{basal} респираторная активность почвы при внесении аммиачной селитры, карбамида и КФУ через 3 недели возросла в 2,7; 3,0 и 3,3 раза, соответственно. Через 6 недель опытов происходило снижение этого эффекта (соответственно в 1,8; 1,5 и 2,1 раза), что, вероятно, связано со снижением концентрации УВ в почве вследствие его активной деструкции.

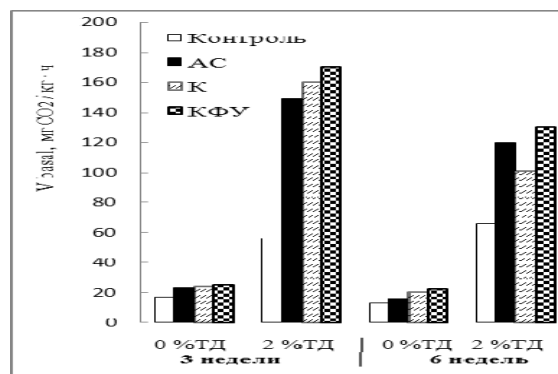


Рис. 1 – Скорость базального дыхания почвы

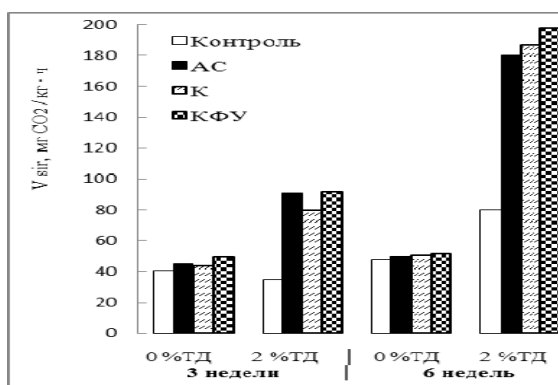


Рис. 2 – Скорость субстрат-индуцированного дыхания почвы

Последний вывод становится очевидным после определения остаточного содержания тридекана в загрязненном выщелоченном черноземе в разных вариантах опыта (табл. 1). Так, например, на фоне внесения азотных удобрений степень биодеградации возрастает в следующем ряду:

через 3 недели – контроль < АС=К < КФУ;

через 6 недель – контроль < АС<К < КФУ.

Таблица 1 – Остаточное содержание углеводородов в почве (исходная $\text{C}_{\text{УВ}}$ = 2 г/100 г почвы)

Продолжительность опытов	$\text{C}_{\text{OУВ}}$, г/100г почвы			
	Контроль	АС	К	КФУ
3 недели	1,88	1,36	1,35	1,22
6 недель	1,82	1,11	0,95	0,79

Из данных табл. 1 также следует, что эффективность удобрений повышается с увеличением времени воздействия загрязнителя и наиболее эффективным из них является КФУ.

Этот вывод подтверждают и данные по численности УОМ (рис. 3), а именно многократное увеличение количества микроорганизмов-деструкторов относительно контроля.

Как видно из полученных результатов, активность почвенных микроорганизмов при внесении азотных удобрений резко возрастает. Следовательно, можно констатировать, что в данном случае почвенные микроорганизмы получают сбалансированное по углероду и азоту питание, т.е. создаются благоприятные условия для их развития. В свою

очередь, в результате этого возрастает степень биодegradации углеводов.

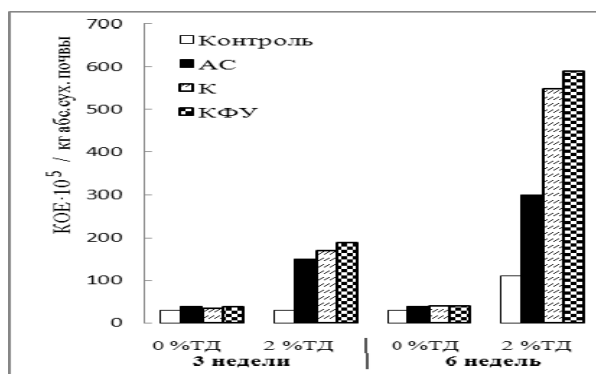


Рис. 3 – Численность УОМ в почве

Известно, что вынос азота из почвы происходит за счет частичного потребления его микроорганизмами, другая часть безвозвратно теряется. Прежде всего это касается NO_3^- формы азота аммиачной селитры, которая переходит в элементный азот и улетучивается. Напротив, NH_4^+ -форма азота может поглощаться почвой и стать недоступной для растений. В случае КФУ за счет его медленного растворения скорость потери азота уменьшается.

Стимулирующий эффект азотного удобрения связан, прежде всего, с увеличением доступности биогенного азота для микроорганизмов (следовательно, у них нет необходимости извлекать его из почвы). По мере снижения концентрации внесенного азота микроорганизмам приходится переходить, все в большей степени, к потреблению почвенного азота. При этом снижение скорости биодegradации в опытах с аммиачной селитрой, очевидно, связано с ее большей подверженностью к денитрификации.

Выводы

Средний уровень загрязнения почвы углеводородами (2 мас. %) не вызывает стресса у поч-

венных микроорганизмов; более того, происходит значительное увеличение их активности.

В присутствии азотных удобрений основные показатели жизнедеятельности микроорганизмов (базальное и субстрат-индуцированное дыхание, численность УОМ) значительно возрастают, а содержание загрязнителя в почве резко снижается.

По биостимулирующему действию на дegradацию углеводородного загрязнителя азотные удобрения располагаются в следующем ряду:

«Аммиачная селитра < Карбамид < КФУ».

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-01330-а

Литература

1. Б.А.Ягодин, И.Ю.Дерюгин, Ю.П.Жуков, В.А.Демин, *Практикум по агрохимии*, Агропромиздат, Москва, 1989. 655 с.
2. Авт. свид. СССР 697.556 (1979)
3. А.Е.Кузнецова, *Хим. пром.*, **30**, 1, 22-24 (1980)
4. В.Г.Синолицкий. Автореф. дисс. канд. техн. наук, Ташкент, 1985. 20 с.
5. Р. Х. Хузиахметов, А. М. Сабиров, В. В. Касимов, И.Г.Хабибуллин, *Вестник Казан. технол. ун-та*, **8**, 2, 56-59 (2005).
6. Р.Х.Хузиахметов, А.М.Сабиров, А.Р. Сафина, И.Ф. Бариев, *Вестник Казан. технол. ун-та*, **14**, 17, 113-116 (2011).
7. Р.Х.Хузиахметов, Р.И.Фазрахманов, А.М.Сабиров. В сб. *Образование и наука-производству*. Ч.1 Кн. 3, Кам. гос. инж.-экол. акад. Н.Челны, ИНЭКА, 2010. С.262-267
8. Е.В. Благодатская, Н.Д. Ананьева. *Почвоведение*. 11, 1341-1346 (1996).
9. Д.Г.Звягинцева, *Методы почвенной микробиологии и биохимии*, МГУ, Москва, 1991. 304 с.
10. Н. Л. Ларионова, Е. Н. Семенова, В. А. Бреус, С. А. Неклюдов, И. П. Бреус. *Технологии нефти и газа*. **34**, 4, 39-49 (2005).

© Р. Х. Хузиахметов – канд. хим. наук, доц. каф. технологии неорганических веществ и материалов КНИТУ; А. Ф. Халилова – инженер отдела химии окружающей среды К(П)ФУ; А. П. Денисова – науч. сотр. того же отдела; Д. Р. Мухаметшина – студ. КНИТУ; И. П. Бреус – д-р биол. наук, проф., зав. отделом химии окружающей среды К(П)ФУ, ibreus@ksu.ru.