

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 стерильной воды (для определения V_{basal}) или 10 % раствора глюкозы (для определения V_{SIR}), флаконы герметично закрывали и инкубировали в термостате (280С, 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 посева 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 (СОУВ, 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, СОУВ) 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 биодegradации возрастает в следующем ряду: через 3 недели – контроль АС=К КФУ; через 6 недель – контроль АСК КФУ. Таблица 1 – Остаточное содержание углеводов в почве (исходная СУВ = 2 г/100 г почвы) Продолжительность опытов СОУВ, г/100г почвы

Контроль	АС	К	КФУ
3 недели	1,88	1,36	1,35
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 почвенных 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 деградацию углеводородного загрязнителя азотные удобрения располагаются в следующем ряду: «Аммиачная селитра Карбамид КФУ».