

BIOLOGICAL SCIENCES

УДК 574.2

Исакова Е.А.*младший научный сотрудник Лаборатории медицинских и биологических технологий
Кольский научный центр РАН, Апатиты, Мурманская область, Россия*[DOI: 10.24411/2520-6990-2019-10325](https://doi.org/10.24411/2520-6990-2019-10325)**ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ НЕФТИ И НЕФТЕПРОДУКТОВ НА ПОЧВЕННУЮ БИОТУ****Isakova E.A.***junior researcher of medical and biological technologies laboratory
Kola Science Center of the Russian Academy of Sciences, Apatity, Murmansk Region, Russia***FEATURES OF INFLUENCE OF OIL AND OIL PRODUCTS ON SOIL BIOTA****Аннотация.**

В статье рассмотрено влияние углеводородов нефти на почву и почвенную биоту. Описаны процессы деградации почвенных экосистем, происходящие в результате добычи, транспортировки и переработки нефти и нефтепродуктов. Описаны изменения физических, физико-химических и микробиологических свойств почвы, а также поведение углеводородов нефти при попадании их в почвенную среду. В первые недели после загрязнения нефтью происходят в основном физические процессы миграции, рассеивания и фиксации углеводородов в результате испарения, эмульгирования, растворения, седиментации, сорбции и выщелачивания. Затем с течением времени при уменьшении концентрации загрязнителя физические свойства почв все больше определяются биотическими и физико-химическими процессами. Указано, что в результате нефтяного загрязнения нарушаются естественные биоценозы, изменяется их видовое разнообразие, снижается продуктивная способность, а также ферментативная активность почвы. Рассмотрено разнообразие углеводородокисляющих микроорганизмов, принимающих участие в деградации нефти. Описан таксономический состав углеводородокисляющего биоценоза почв. Указано, что в условиях загрязнения углеводородами происходит смена доминантов микробного сообщества. В статье также приведены сведения об основных механизмах разложения нефтепродуктов углеводородокисляющими микроорганизмами. Углеводородокисляющие бактерии обладают комплексом ферментов (оксигеназ), способностью к поглощению гидрофобного субстрата и выделению в среду биоэмульгаторов, способствующих окислению нефти и нефтепродуктов. Для некоторых углеводородокисляющих бактерий характерно наличие в клеточной стенке миколовых кислот, благодаря чему микробные клетки способны усваивать углеводороды при низких температурах. Показана связь метилбактерий с растениями, ассоциированных между собой функционированием «метанольного цикла». Указано, что почвенные микроскопические грибы, большинство из которых являются условно-патогенными формами, также участвуют в деградации нефти и играют важную роль в почвообразовании.

Abstract.

The article considers influence of oil hydrocarbons on soil and soil biota. Described degradation processes in soil ecosystems by a course of oil extraction, transportation, conversion of oil and oil products. Described physical, physical-chemical and microbiological changes in soil, and also behavior of oil hydrocarbons reached in soil medium. Physical migration processes, dispersion and fixation of hydrocarbons due to evaporation, emulsification, dissolution, sedimentation, sorption and leaching mostly occur by first weeks after oil pollution. Then over time with the reduction of a pollutant, physical properties of soil mostly defined by biological and physical-chemical processes. Shown, that the result of oil pollution disturbed natural biotic communities, changes species diversity, down of productivity and enzymatic activity in soil. Considered a variety of hydrocarbon-oxidizing microorganisms involved in the degradation of the oil. Described taxonomic composition of hydrocarbon-oxidizing biocenosis of soil. It is specified that in the conditions of pollution by hydrocarbons there is a change of dominants of microbial community. The article also provides information about the main mechanisms of decomposition of petroleum products by hydrocarbon-oxidizing microorganisms. Hydrocarbon-oxidizing bacteria have a complex of enzymes (oxygenases), the ability to absorb the hydrophobic substrate and release into the environment of bioemulgators that contribute to the oxidation of oil and petroleum products. Some hydrocarbon-oxidizing bacteria are characterized by the presence of mycolic acids in the cell wall, so that microbial cells are able to absorb hydrocarbons at low temperatures. Shown the relationships between methylbacteria and plants associated with the functioning of the "methanol cycle". It is indicated that soil microscopic fungi, most of which are conditionally pathogenic forms, also participate in oil degradation and play an important role in soil formation.

Ключевые слова: почва, физико-химические процессы в почве, почвенная биота, нефтезагрязнение, нефть, нефтяные углеводороды, углеводородокисляющие микроорганизмы, микроскопические почвенные грибы.

Key words: soil, physical-chemical processes in soil, soil biota, oil pollution, oil, petroleum hydrocarbons, hydrocarbon-oxidizing microorganisms, microscopic soil fungi.

В настоящее время в науке уделяется большое внимание изучению углеводородов (УВ) нефти в почвах. Это связано с тем, что обширные территории поверхности Земли оказываются загрязненными нефтью и нефтепродуктами (НП) в процессе добычи и транспортировки углеводородного сырья, а также продуктами его переработки [1, с. 1195]. Углеводороды нефти делят на метановые УВ (алканы и циклоалканы), нафтеновые УВ, ароматические УВ, смолы и асфальтены [2, с. 1000].

Нефтяные УВ при попадании в почву вызывают глубокие необратимые изменения физических, физико-химических и микробиологических свойств, что приводит к потере загрязненными почвами плодородия, к их засолению и отторжению площадей из сельскохозяйственного использования. [3, с. 50]. На первом этапе после загрязнения (дни, месяцы) содержание загрязнителя в почве наиболее значительно. Удерживаемая капиллярными силами нефть занимает поры в почве, вытесняя воздух и воду, нефтяные микро- и нанопленки окружают почвенные агрегаты и элементы скелета, увеличивая показатели дисперсности, гидрофобности и объемной массы. Почвенные агрегаты могут склеиваться, дисперсность уменьшаться, объемная масса почв – расти [4, с.1508]. Нефтепродукты (нафтеновые кислоты, смолы, асфальтены) в почве иммобилизуются с почвенным органическим и минеральным веществом, иногда прочно цементируя его. При этом уменьшается поровое пространство почв, что приводит к образованию гудрона, цементированию частичек почвы, образованию битуминозных солончаков, а далее к нарушению почвенного покрова и усилению эрозии почв [5, с. 96]. Затем с течением времени (месяцы, годы, десятилетия) содержание загрязнителя уменьшается с замедлением (по экспоненте) в разы и на порядки [4, с.1508]. Срок восстановления, саморекультивации почв, загрязненных нефтью, составляет от 1...2 до 10...15 лет [3, с. 50].

Глубина проникновения нефти в почвенном профиле зависит от свойств нефти и механического состава почвы. Нефть при попадании в почву, пропитывает ее, тем самым ухудшает доступ кислорода и влаги растениям [6, с. 643]. Этому способствует также обволакивание смолисто-асфальтеновыми веществами корней растений. Поступая в клетки и ткани растений, нефть вызывает токсические эффекты, проявляющиеся в подавлении образования завязей плодов и семян, в различных морфологических и биологических аномалиях, их отмирании. При попадании в почву 2—5% нефти почва оказывается непригодной для прорастания семян древесных растений и трав в течение не менее 5 лет [5, с. 94]. Даже небольшое содержание нефти в почве (0,15 %) снижает урожай зерновых культур.

Одновременно с угнетением растительности погибает большинство представителей почвенных беспозвоночных [3, с. 50]. Гибель животных наступает в первые дни после нефтяного загрязнения. Быстрая элиминация педобионтов и простейших

связана с прямым токсическим действием легких фракций нефти, а также со снижением почвенной аэрации. Показано, что даже при минимальном загрязнении НП 5 и 10 кг/м² основная масса дождевых червей погибает через 2 месяца после загрязнения, а при больших нагрузках не восстанавливается и через три года [7, с. 99]. Также известно, что почвенные животные принимают косвенное участие в разложении нефти. Земляные черви и роющие арthropоды улучшают дренаж почвы и облегчают обмен газов, перемещают органический материал к биологически активным поверхностным слоям почвы [5, с.105].

Несмотря на значительные изменения нефти и НП в результате физико-химических процессов, ведущее место в их разложении отводится микроорганизмам [4, с.1509]. Главную роль в деградации токсикантов в технологии фиторемедиации играют микроорганизмы ризосферы растений, где обычно присутствуют так называемые PGPR-штаммы (plant growth promoting rhizobacteria), стимулирующие рост растений. Однако подобные штаммы, как правило, не способны к утилизации УВ нефти [8, с.191]. Основными деструкторами нефти и НП являются аэробные хемогетеротрофные микроорганизмы – бактерии, грибы [9, с. 344], дрожжи. В аэробных условиях они способны использовать нефть и НП в качестве единственного источника углерода и энергии. За эту способность они получили название «углеводородокисляющие микроорганизмы» (УОМ). УОМ являются частью гетеротрофного сообщества и присутствуют как в загрязненных, так и в незагрязненных экосистемах [10, с.1-2].

Практически все УВ, входящие в состав нефти, могут быть объектом микробиологического воздействия. Почвенной микрофлорой УВ могут окисляться до CO₂ и воды или превращаться в промежуточные соединения, используемые другими микроорганизмами.

Компоненты нефти и НП по степени их доступности для окисления микроорганизмами располагаются в следующей последовательности [5, 94-95, 100]: алифатические > ароматические > смолы > асфальтены (почти не окисляются). Ароматические УВ наиболее токсичны для живых организмов [2, с.1001].

Установлено, что в низких концентрациях (до 10%) нефть оказывает стимулирующее действие на рост микроорганизмов и биологическую активность почвы, поскольку выступает в роли доступного органического субстрата [9, с. 344]. Сильно загрязненные почвы отличаются снижением видового разнообразия и доминированием микроорганизмов, устойчивых к нефтяному воздействию и обладающих углеводородокисляющей активностью [11, с. 892]. При этом нефть и НП подавляют жизнедеятельность азот- и нитрофиксирующих, целлюлозоразрушающих и других бактерий, снижается содержание азота и фосфора, исчезают нитраты. Всё это сказывается на питательной ценности почв [3, с. 50].

При благоприятных условиях для УОМ основной процесс биодеструкции нефти начинается через 1 – 4 недели после попадания УВ нефти в окружающую среду и может протекать в течение 3 – 4 недель, при этом численность УОМ увеличивается в 100 – 1000 раз, повышается численность и других гетеротрофных организмов [5, с. 99-100].

Микробиологическое разложение нефти и НП в почвах происходит за счет деятельности аборигенных УОМ, которые имеют широкое распространение практически во всех природных зонах. Для полной деструкции компонентов сырой нефти требуется участие целого ряда микроорганизмов-деструкторов различных таксономических групп [4, с. 1509]. Таксономический состав почвенных УОМ очень разнообразен. Разнообразие микроорганизмов, способных к утилизации нефти, обусловлено высокой конкуренцией и большим количеством путей деструкции различных фракций нефти [2, с. 999]. Описано 22 рода бактерий, 19 родов дрожжей и 24 рода микроскопических мицелиальных грибов [4, с. 1509]. В природных условиях микроорганизмы образуют консорциумы, составляя единую цепь окисления УВ нефти [2, с. 1000].

В биологическом окислении нефти участвуют почвенные бактерии родов: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Frankia* и др. [2, с. 1000, 10, с. 2].

От других гетеротрофных микроорганизмов, населяющих почвенные биоценозы, углеводородокисляющие микроорганизмы (УОМ) отличаются наличием двух основных физиологических механизмов: один из них – комплекс ферментов (оксигеназ), способных окислять углеводороды нефти; второй – способность микроорганизмов поглощать эти углеводороды как гидрофобный субстрат [6, с. 643]. Такая способность к поглощению при прямом контакте микробных клеток с субстратом зависит от состава и строения гидрофобной клеточной поверхности микроорганизма [10, с. 3]. Еще одной особенностью окисляющих нефть микроорганизмов является наличие цитоплазматических углеводородных включений. Штаммы бактерий *Bacillus cereus*, *Staphylococcus xylosum* и *Pseudomonas aeruginosa* вырабатывают биоэмульгаторы, способствующие окислению нефти и НП. Клетки нокардиоформных бактерий, содержащих ненасыщенные миколовые кислоты, способны усваивать углеводороды при низких температурах, характерных для арктических ландшафтов [4, с. 1509].

Среди активных биодеструкторов нефти и НП в природе широко распространены аэробные метиллобактерии. Эти бактерии ассоциированы с растениями, колонизируют с высокой плотностью листовую поверхность, а также присутствуют в ризосфере и на/в семенах. Эта связь объясняется образованием и выделением растениями метанола, который активно используется аэробными метиллобактериями как источник углерода и энергии.

Также, эти бактерии участвуют в биосферных циклах превращения биогенных макро- и микроэлементов [12, с. 113].

Известно, что микроскопические грибы также участвуют в деструкции нефти, являются важным компонентом микробного сообщества почвы [11, с. 892]. Среди активных биодеструкторов нефти и НП выделяют грибы родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Mortierella*, *Mucor*, дрожжи – *Candida*, *Dabayomyces*, *Leucosporidium*, *Saccharomycopsis*, *Trichosporon* и др. [4, с. 1509].

Почвенные грибы обладают мицелиальным строением, а поэтому имеют огромную адсорбционную поверхность и играют важную роль в формировании почвенного покрова и его функций вследствие способности к образованию больших запасов биомассы. Микромицеты участвуют в создании почвенной структуры, синтезе гумусовых веществ, а также специфических физиологически активных веществ, во влиянии на удержание влаги в почве и других физико-химических процессах [11, с. 892].

Устойчивость грибов к нефтяному загрязнению, а при больших концентрациях нефти увеличение численности грибов в почве, связаны с тем, что рН загрязненной почвы смещается в кислую область (рН 4,5 – 5,5), что благоприятствует росту грибов. Почвенные грибы используют УВ нефти в качестве источника углеродного питания и, благодаря высокой энзиматической активности, они очень быстро вырабатывают ферменты и разлагают нефть на низкомолекулярные соединения [13, с. 211-212].

Доминирующие в нефтезагрязненных почвах микромицеты в подавляющем большинстве являются условно-патогенными формами, обладающими способностью вызывать различные формы болезней человека и теплокровных животных при попадании в живой организм [11, 892].

Таким образом, нефтяные загрязнения оказывают существенное влияние на качество и свойства почвы, на макрофлору и мезофауну, а также на микробиальную почвенную сообщество.

Список литературы

1. Геннадиев А. Н., Пиковский Ю. И., Цибарт А. С., Смирнова М. А. Углеводороды в почвах: происхождение, состав, поведение (обзор) // Почвоведение, 2015, № 10. С. 1195–1209 DOI: 10.7868/S0032180X15100020.

2. Брянская А. В., Уварова Ю. Е., Слынько Н. М., Демидов Е. А., Розанов А. С., Пельтек С. Е. Теоретические и практические аспекты проблемы биологического окисления углеводородов микроорганизмами // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2014, том 18, №4/2. С. 999 – 1012.

3. Яковлев А. Л., Савенок О. В. Нарушения экологической безопасности при интенсификации добычи нефти на месторождениях Краснодарского края // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе, 2017, № 1. С. 50 – 54.

4. Замотаев И. В., Иванов И. В., Михеев П. В., Никонова А. Н. Химическое загрязнение и трансформация почв в районах добычи углеводородного сырья (обзор литературы) // Почвоведение, 2015, № 12. С. 1505–1518. DOI: 10.7868/S0032180X1512014X.
5. Прикладная экобиотехнология. Учебное пособие: в 2 т. Т.2 / А. Е. Кузнецов [и др.]. – 2-е изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2017. – 485 с.
6. Шармаев А. В., Шорина Т. С. Влияние нефти и нефтепродуктов на различные компоненты окружающей среды // Вестник Оренбургского государственного университета, 2009, №6(100). С.642 – 645.
7. Кибардин В. М., Артемьева Т.И., Жеребцов А.К. Влияние нефтяного загрязнения на дождевых червей разных природно-климатических зон // Ученые записки Казанского государственного университета, 2008, том 150, кн.1. С. 97 – 104.
8. Иванова А. А., Ветрова А. А., Филонов А. Е., Боронин А. М. Биодegradация нефти микробно-растительными ассоциациями // Прикладная биохимия и микробиология, 2015, том 51, № 2. С. 191–197. DOI: 10.7868/S0555109915020063.
9. Евдокимова Г.А., Корнейкова М.В., Мязин В.А. Оценка динамики выноса газового конденсата из Al-Fe-гумусового подзола и его воздействие на комплексы почвенных грибов. // Почвоведение, 2013, № 3. С. 1–7. DOI: 10.7868/S0032180X13030039.
10. Гоголева А. О., Немцова Н. В. Угледородоокисляющие микроорганизмы природных экосистем // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал), 2012, № 2. С. 1 – 7.
11. Донерьян Л.Г., Водянова М.А., Тарасова Ж.Е. Микроскопические почвенные грибы – организмы-биоиндикаторы нефтезагрязненных почв // Гигиена и санитария. 2016. Т. 95. № 9. С. 891 – 894.
12. Доронина Н. В., Торгонская М. Л., Федоров Д. Н., Троценко Ю. А. Аэробные метилобактерии – перспективные объекты современной биотехнологии (обзор). // Прикладная биохимия и микробиология, 2015, том 51, № 2. С. 111–121. DOI: 10.7868/S0555109915020051
13. Киреева Н. А., Галимзянова Н. Ф. Влияние загрязнения почв нефтью и нефтепродуктами на численность и видовой состав микромицетов // Почвоведение, № 2, 1995, С. 211 – 216.