

УДК (502.55:665.6)+(581.522.4:631.445.12) (571.56)

Трансформация нефтезагрязнения и формирование адаптивной реакции растений в модельном эксперименте с мерзлотной почвой Якутии

С. Х. ЛИФШИЦ¹, О. Н. ЧАЛАЯ¹, М. М. ШАШУРИН², Ю. С. ГЛЯЗНЕЦОВА¹, И. Н. ЗУЕВА¹, Б. М. КЕРШЕНГОЛЬЦ²¹Институт проблем нефти и газа Сибирского отделения РАН,
ул. Октябрьская, 1, Якутск 677891 (Россия)

E-mail: s.h.lifshits@ipng.ysn.ru

²Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН,
проспект Ленина, 41, Якутск 677891 (Россия)

(Поступила 20.04.10; после доработки 24.05.10)

Аннотация

Изложены результаты модельного эксперимента по изучению физиологических характеристик двух видов растений, активности почвенных ферментов, интенсивности накопления нефтезагрязнения и его состава в зависимости от количества внесенной в мерзлотную почву нефти. Сделано предположение, что по мере нарастания интенсивности нефтезагрязнения почвенно-растительная система последовательно формирует несколько стратегий адаптации с участием всех возможных механизмов защиты – от антиоксидантных и ДНК-репарационных систем до апоптоза и SOS-репараций. Внесение одинакового количества нефти в почву (0.16 %) в экспериментах с произрастанием растений и без них показало, что под действием микрофлоры почвы биодegradации подверглась приблизительно треть (32.2 %) внесенной нефти. В случае произрастания растений – полыни и клоповника – трансформация нефтезагрязнения оказалась более глубокой и составила 60.0 и 66.7 % соответственно. В присутствии растений в процессы деструкции наряду с *n*-алканами и 2- и 3-метилалканами вовлекается более широкий спектр структурных изомеров, включая 12- и 13-метилалканы и изопреноиды. В результате в углеводородном составе битумоидов прослеживаются изменения в сторону восстановления природного геохимического фона. Полученные результаты по изучению адаптивного потенциала растений и эффективности трансформации загрязнения позволяют установить предельно допустимое остаточное содержание нефтезагрязнения в почве, которое составило 0.1 %, или 1 г/кг почвы.

Ключевые слова: трансформация, биодegradация, нефтезагрязнение, адаптация, растения, почвенно-растительная система, предельно допустимое остаточное содержание нефтезагрязнения в почве

ВВЕДЕНИЕ

Разливы нефти и нефтепродуктов становятся в настоящее время наиболее частыми причинами загрязнения окружающей среды. В условиях криолитозоны биодegradация нефтезагрязнений в почвах почвенной микробиотой (энзимами) идет очень медленно, вследствие чего в местах аварий требуется проведение работ по рекультивации и восстановлению почв. Для эффективного контроля качества восстановительных работ необходима информация о допустимом уровне загрязнения почвогрунтов нефтью и нефтепродуктами.

Эта величина зависит от климатогеографических особенностей региона, ландшафта и других факторов. Небольшие количества нефти, попадая в почву, могут даже стимулировать рост растений [1–4]. Одновременно произрастание растений ускоряет процессы трансформации нефтезагрязнений, что способствует естественному самоочищению и восстановлению почв [4]. Вероятно, это связано с тем, что секретлируемые корешками растений в прикорневую зону (ризосферу) биологически активные вещества (БАВ) влияют на скорость процессов биодegradации нефти непосредственно и (или) через активность почвен-

ных энзимов. Выживаемость растений будет зависеть не только от количества попавшей в почву нефти, но и от видовой специфичности, толерантности того или иного растения к данному типу загрязнения.

Целью данной работы было изучение особенностей процессов трансформации нефти в мерзлотной почве Якутии в случае произрастания на ней двух видов дикорастущих растений: клоповника безлепестного (*Lepidium ruderale* L.) и полыни чернобильника (*Artemisia vulgaris* L.); исследование влияния нефтезагрязнения на формирование адаптивного потенциала проростков растений и активность почвенных энзимов; определение предельно допустимых остаточных содержаний нефти в почве в условиях криолитозоны.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для проведения лабораторных экспериментов были отобраны образцы мерзлотной дерново-луговой почвы (Центральная Якутия) со следующими основными характеристиками:

Гидровлага, %/100 г почвы	0.75
Плотность, г/см ³	2.61
Содержание гумуса, %	14.34
Доля частиц, %, с диаметром, мм:	
1.0–0.25	8.9
0.25–0.05	88.8
0.05–0.01	1.0
0.01–0.005	0.2
0.005–0.001	0.2
<0.001	0.9
Содержание подвижных форм, мг/100 г почвы:	
N (NH ₄)	2.4
N (NO ₃)	0
P ₂ O ₅	13.25
K ₂ O	10.23

Почву в равных количествах (по 400 мг) помещали в вегетационные сосуды и вносили в них нефть Талаканского месторождения со следующими характеристиками: плотность 842 кг/см³, вязкость 12.2 мм²/с, содержание в отбензиненной части нефти углеводородов 84.3 %, смол – 14.4 %, асфальтенов – 1.3 %.

Количество добавляемой нефти варьировало от 0.3 до 5.8 мл, что соответствовало диапозону концентраций 0.06–1.22 мас. %. Все тщательно перемешивали. В подготовленную почву высевали семена полыни чернобильника или клоповника безлепестного по 50 шт. в четырех повторностях. Определяли следующие физиологические характеристики растений: энергию прорастания (на 7-е сутки), всхожесть семян (на 10-е сутки), выживаемость проростков (на 60-е сутки, окончание эксперимента).

Образцы почв после эксперимента высушивали до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре, просеивали через сито (1 мм) и делили на две части. Одна часть использовалась для определения активности участвующих в утилизации ряда компонентов нефти почвенных ферментов (полифенолоксидазы, каталазы, уреазы и инвертазы) по методикам, приведенным в работе [5]. Вторую часть почвенных образцов исследовали с использованием комплекса геохимических методов анализа для определения уровня остаточного нефтезагрязнения и изучения процессов его трансформации под влиянием почвенно-растительного покрова. С этой целью проводили хлороформенную экстракцию почвенных образцов [6]. Выделенный хлороформенный экстракт (битумоид) изучали методом инфракрасной спектроскопии (ИК-Фурье-спектрометр Protege 460, фирма Nicolet). Фракционное деление битумоидов на углеводородные, смолистые и асфальтеновые компоненты проводили методом жидкостно-адсорбционной хроматографии [6]. Углеводородную фракцию изучали методом хромато-масс-спектрометрии. ГХ/МС-исследования проводили на системе, включающей газовый хроматограф Agilent 6890, интерфейс которого был оснащен высокоэффективным масс-селективным детектором Agilent 5973N. Хроматограф снабжен кварцевой капиллярной колонкой длиной 30 м, диаметром 0.25 мм, импрегнированной фазой HP-5MS. В качестве газа-носителя использовали гелий, скорость потока составляла 1 мл/мин. Температура испарителя 320 °С. Программирование подъема температуры осуществляли от 100 до 300 °С со скоростью 6 °С/мин. Ионизирующее напряжение источника 70 эВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены данные по физиологическим характеристикам растений (энергия прорастания и всхожесть семян, выживаемость проростков) в зависимости от количества добавленной нефти. Видно, что полученные зависимости носят сложный, нелинейный характер, указывающий на адаптивную природу данных изменений [7].

Для оценки процессов адаптации важны не только абсолютные значения физиологических характеристик, но и их соотношения, поэтому мы ввели такой показатель, как коэффициент выживаемости (отношение выживаемости проростков к их всхожести).

Как видно из данных рис. 1, для обоих видов растений зависимости коэффициента выживаемости от количества добавленной нефти имеют бимодальный характер с трендом к снижению. Каждая из двух областей максимумов на этих кривых, по-видимому, соответствует той или иной стратегии выживания растений. При внесении небольших количеств нефти в почву – до 0.16 % для клоповника и 0.25 % для полыни (область первого максимума) – коэффициент выживаемости сопоставим или даже превышает аналогичный показатель для растений, произрастающих в чистой почве. Вероятно, на данном этапе адаптации включаются антиоксидантные и ДНК-репарационные системы защиты, повышающие адаптивный потенциал растений [4, 7].

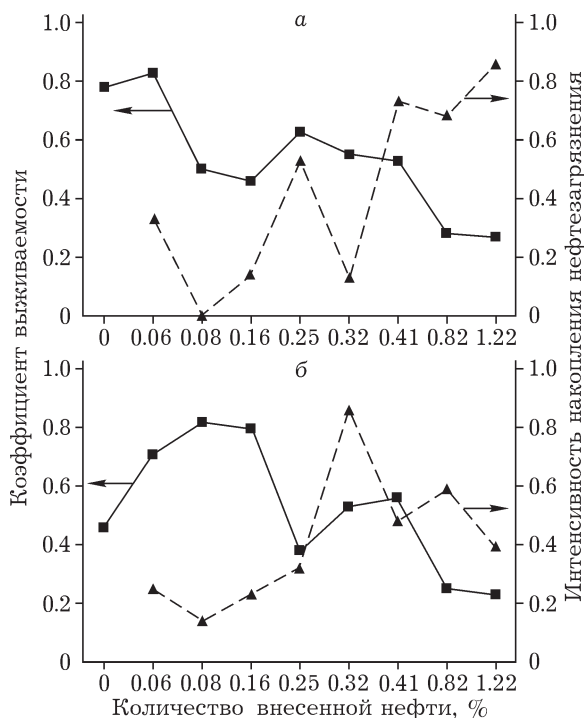


Рис. 1. Зависимости коэффициента выживаемости и интенсивности накопления нефтезагрязнения от количества внесенной в почву нефти для клоповника безлепестного (а) и полыни чернобыльника (б).

В области второго максимума, где количество добавленной нефти выше, коэффициент выживаемости хоть и возрастает после минимума, но не достигает прежних максимальных значений. Для адаптации (выживания популяции) в данных условиях у растений, по-видимому, включается следующий

ТАБЛИЦА 1

Физиологические характеристики растений в зависимости от количества внесенной в почву нефти

Массовая доля нефти в почве, %	Клоповник безлепестный			Полынь чернобыльник		
	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Выживаемость, %	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Выживаемость, %
0	42±4	46±5	36±4	70±7	70±7	32±3
0.06±0.01	32±3	36±4	30±3	66±7	70±7	50±5
0.08±0.01	42±4	40±4	20±2	54±5	56±6	46±5
0.16±0.01	24±2	26±3	12±1	50±5	52±5	42±4
0.25±0.01	38±4	38±4	24±2	22±2	26±3	10±1
0.32±0.01	20±2	22±2	12±1	28±3	34±3	18±2
0.41±0.01	28±3	30±3	16±2	22±2	32±3	18±2
0.82±0.01	10±1	14±2	4±1	24±2	24±2	6±1
1.22±0.01	26±3	30±3	8±1	28±3	44±4	10±1

механизм “обороны”, связанный с запуском апоптоза и ускоренного клеточного деления, что приводит к значительному истощению энергетических и функциональных ресурсов растительного организма [4, 7].

Дальнейшее увеличение количества добавленной нефти (0.82 % и выше) приводит к тому, что, несмотря на усилия популяции растений адаптироваться в токсичной среде путем увеличения энергии прорастания и всхожести (см. табл. 1), большинство проростков оказываются нежизнеспособными. Вероятно, на данном этапе включается механизм SOS-репараций [4, 7].

Изменение активности изученных почвенных ферментов с увеличением количества добавленной нефти также носит сложный, нелинейный характер. При равном количестве внесенной в почву нефти активность почвенных энзимов зависела от произрастания растений и их видовой принадлежности (табл. 2). Известно, что ферментативная активность почв складывается не только из активности энзимов почвенной микрофлоры, но и из активности ферментов, экскретируемых корешками растений в прикорневую область в целях подготовки потенциальных пищевых субстратов к всасыванию [1]. Это и определяет зависимость активности почвенных энзимов от вида растения. Для полифенолоксидазы, особенно в случае произрастания полыни чер-

нобыльника, наблюдалось довольно равномерное падение активности с повышением уровня загрязнения. На активность инвертазы (клоповник), уреазы (полынь) и, особенно, каталазы для обоих видов растений большое влияние оказывал сам факт произрастания растений. Активность этих ферментов также сильно изменялась по мере увеличения количества добавленной в почву нефти, проходя через максимумы, и снижалась при самых высоких уровнях загрязнения. Формирование в организмах растений той или иной стратегии адаптации, несомненно, оказывает влияние на активность почвенных энзимов, однако четких корреляций с физиологическими характеристиками растений не выявлено.

Прослеживающийся нелинейный характер изменения физиологических характеристик растений и активности почвенных энзимов в зависимости от количества добавленной нефти, по-видимому, свидетельствует о том, что почвенно-растительная система в процессе адаптации ведет себя как открытая и самоорганизующаяся система, с последовательным включением всех возможных механизмов защиты в ответ на усиление стресс-фактора – повышение концентрации внесенной нефти.

Хлороформенный экстракт почвенных проб характеризует битуминозную составляющую органического вещества почв. В эксперименте использовалась мерзлотная дерново-луго-

ТАБЛИЦА 2

Активность почвенных ферментов

Массовая доля нефти в почве, %	Произрастание растений	Клоповник безлепестный/Полынь чернобыльник			
		Инвертаза, мг _{г.л} /(г _п · ч)	Уреаза, мг NH ₄ ⁺ /(г _п · 24 ч)	Каталаза, мл O ₂ /(г _п · мин)	Полифенолоксидаза, мг _{б/х} /(10 г _п · ч)
0	–	2.7±0.2/2.6±0.2	2.6±0.1/2.6±0.1	1.0±0.1/1.0±0.1	2.1±0.1/2.1±0.1
0	+	3.8±0.2/2.5±0.2	2.7±0.1/2.2±0.1	3.3±0.2/3.5±0.2	1.9±0.1/1.8±0.1
0.06±0.01	+	4.4±0.3/4.5±0.3	2.4±0.1/2.3±0.1	2.3±0.1/2.0±0.1	1.2±0.1/1.6±0.1
0.08±0.01	+	3.7±0.2/3.4±0.2	2.5±0.1/2.3±0.1	2.0±0.1/1.2±0.1	1.6±0.1/1.5±0.1
0.16±0.01	–	2.9±0.2/2.8±0.2	2.8±0.1/2.8±0.1	2.2±0.1/2.2±0.1	1.5±0.1/1.5±0.1
0.16±0.01	+	5.1±0.3/3.8±0.2	3.1±0.2/2.5±0.1	2.8±0.1/1.5±0.1	1.5±0.1/1.2±0.1
0.25±0.01	+	4.7±0.3/3.2±0.2	3.2±0.2/2.2±0.1	2.0±0.1/1.5±0.1	1.2±0.1/1.4±0.1
0.32±0.01	+	4.4±0.3/3.4±0.2	2.9±0.2/2.3±0.2	3.0±0.2/1.8±0.1	1.2±0.1/1.3±0.1
0.41±0.01	+	3.2±0.2/2.4±0.2	2.7±0.2/1.9±0.2	2.2±0.1/0.5±0.1	1.5±0.1/1.2±0.1
0.82±0.01	+	3.0±0.2/2.1±0.2	2.2±0.2/2.0±0.2	1.8±0.1/1.2±0.1	1.4±0.1/1.0±0.1
1.22±0.01	+	2.5±0.2/2.0±0.2	2.0±0.2/1.5±0.2	1.0±0.1/1.0±0.1	1.4±0.1/1.0±0.1

Примечание. гл – глюкоза, п – почва, б/х – бензохинон.

ТАБЛИЦА 3

Характеристика битумоидов почвенных образцов

Массовая доля нефти в почве, %	Клоповник безлепестный/Полынь чернобыльник			
	Выход битумоида, мас. %	Групповой компонентный состав битумоида, %		
		Углеводороды	Сумма смол	Асфальтены
0.06±0.01	0.021±0.001/0.016±0.001	39.1±2.0/51.4±2.5	49.1±2.5/46.1±2.3	11.8±0.6/2.4±0.1
0.08±0.01	0.020±0.001/0.019±0.001	46.6±2.3/57.3±2.8	49.7±2.5/38.7±2.9	3.8±0.2/4.0±0.2
0.16±0.01	0.030±0.001/0.036±0.001	47.2±2.4/50.7±2.5	51.0±2.6/44.3±2.2	1.8±0.1/5.1±0.3
0.25±0.01	0.080±0.001/0.066±0.001	58.7±2.9/60.6±3.0	39.6±2.0/37.0±2.9	1.8±0.1/2.4±0.1
0.32±0.01	0.088±0.001/0.120±0.001	58.7±2.9/72.6±3.6	40.2±2.0/25.7±2.4	1.1±0.1/1.8±0.1
0.41±0.01	0.157±0.001/0.165±0.001	71.5±3.6/71.0±3.5	28.2±1.4/28.3±2.4	0.4±0.1/0.7±0.1
0.82±0.01	0.436±0.001/0.408±0.001	77.0±3.9/78.7±3.9	22.7±1.1/21.1±2.1	0.3±0.1/0.3±0.1
1.22±0.01	0.778±0.001/0.579±0.001	79.3±4.0/78.1±3.9	20.5±1.0/21.7±2.1	0.2±0.1/0.2±0.1

вая почва, выход битумоида для которой оказался в 20 и более раз меньше, чем для образцов, загрязненных нефтью (табл. 3 и 4). Вследствие этого в данном эксперименте можно принять, что выход битумоида или хлороформенного экстракта из почв, загрязненных нефтью, характеризует уровень нефтезагрязнения.

Из приведенных в табл. 3 данных следует, что с увеличением количества добавленной в почву нефти загрязнение возрастает. Введем показатель интенсивности накопления нефтезагрязнения как отношение прироста нефтезагрязнения к приросту добавленной нефти (показатель безразмерен, так как обе величины выражены в одинаковых единицах измерения, мас. %). Зависимость интенсивности накопления нефтезагрязнения от количества добавленной нефти (см. рис. 1) носит полимодальный характер. Первый максимум на кривой интенсивности накопления нефтезагрязнения в случае произрастания полыни отмечается при добавке нефти, равной 0.32 %, что соответствует остаточному загрязнению почвы в конце эксперимента (0.12 %), а в случае произрастания клоповника эти величины составляют 0.25 и 0.08 % соответственно. Следует отметить, что при этих же добавках нефти, как отмечалось выше, наблюдалось увеличение коэффициента выживаемости соответствующих растений после пройденного минимума.

Таким образом, реализуемая растениями стратегия адаптации при меньших количествах внесенной в почву нефти, включающая транс-

формацию нефти почвенными ферментами микробиологического и растительного происхождения и активацию антиоксидантных и ДНК-репарационных систем [4, 7], по-видимому, по мере роста нефтезагрязнения оказалась неэффективной. Как следствие, началась реализация следующей стратегии адаптации, заключающейся в активации апоптоза и интенсификации клеточного деления.

Результаты по изучению группового компонентного состава битумоидов (см. табл. 3) показали, что по мере увеличения количества внесенной в почву нефти доля углеводородных фракций в их составе возрастает, а асфальтово-смолистых компонентов – снижается. Вероятно, это связано с тем, что ферменты почвенно-растительной системы, включая ризосферу, перестают справляться с трансформацией нефтяных углеводородов, и битумоиды по составу становятся близки к отбензиненной нефти. Высокая доля углеводородных фракций в битумоидах отмечалась в случае произрастания обоих видов растений при добавках нефти в количестве 0.25 % и выше.

В табл. 4 представлены результаты изучения индивидуального состава углеводородных фракций битумоидов образцов почв, в которые было внесено одинаковое количество нефти (0.16 %). При этом в почву образцов А и Б растения не высевались, в почву образцов В и Г высевались полынь и клоповник соответственно. Образец Д представляет исходную почву, с которой проводился

ТАБЛИЦА 4

Характеристика углеводородных фракций битумоидов почвенных образцов А–Д

Показатели	А	Б	В	Г	Д
			(полынь)	(клоповник)	
Произрастание растений	–	–	+	+	–
Продолжительность эксперимента, сут	7	60	60	60	–
Количество добавленной нефти, мас. %	0.16	0.16	0.16	0.16	0
Выход битумоида, мас. %	0.090	0.061	0.036	0.030	0.001
Состав битумоида, %:					
углеводороды	64.4	65.2	50.7	47.2	9.4
смолы	31.4	30.5	44.3	51.0	74.2
асфальтены	4.1	4.3	5.0	1.8	16.4
Групповой состав алкановых УВ, % на сумму идентифицированных:					
<i>n</i> -алканы	50.5	38.8	69.1	68.0	87.9
изопреноиды	15.0	31.9	17.0	16.6	6.6
2- и 3-метилалканы	22.5	12.2	10.2	9.3	5.5
12- и 13-метилалканы	12.0	17.1	3.7	6.1	–
Изопреноиды/ <i>n</i> -алканы	0.3	0.8	0.3	0.2	0.1
Σ н.к.- <i>n</i> -C ₂₀ / Σ н.-C ₂₁ -к.к.	1.0	1.2	0.5	0.5	0.2
Максимум распределения <i>n</i> -алканов	<i>n</i> -C ₁₇	<i>n</i> -C ₁₅	<i>n</i> -C _{14,15} , <i>n</i> -C _{29,31}	<i>n</i> -C _{15,16} , <i>n</i> -C _{29,31}	<i>n</i> -C ₃₁
Коэффициент <i>n</i> ч/ <i>ч</i> *	1.3	1.3	2.1	1.9	5.2
$(i-C_{19} + i-C_{20})/(n-C_{17} + n-C_{18})$	1.0	3.3	1.4	1.7	1.1

Примечание. *i*-C₁₉ – пристан, *i*-C₂₀ – фитан.

* Отношение нечетных *n*-алканов к четным.

эксперимент. Почвенный образец А проанализирован через 7 сут после начала эксперимента, для остальных образцов продолжительность эксперимента составляла 60 сут. Для образца почвы А сравнение количества добавленной нефти с выходом экстракта позволяет определить количество испарившихся за время эксперимента нефтяных углеводородов в предположении, что процессы деструкции не успели оказать существенного влияния на состав и содержание битумоида. Количество испарившихся углеводородов составило 43.7 %. Для образца почвы Б выход битумоида оказался на 32.2 % ниже по сравнению с образцом А. Если предположить, что наиболее летучие углеводороды нефти успевают испариться за 7 сут, то различие в содержании битумоидов, по-видимому, отражает активность собственной микрофлоры почвы в процессах биодegradации нефтезагрязнения. В случае произрастания растений (образцы

В и Г) выход битумоидов и содержание углеводородных фракций оказались ниже, а количество асфальтово-смолистых компонентов выше по сравнению с контрольным вариантом эксперимента, без посева растений (образец Б). В эксперименте с полынью под действием проростков дополнительно подверглись трансформации 27.8 % нефтезагрязнения, а в случае клоповника – 34.5 %. При этом содержание углеводородных фракций в битумоидах уменьшилось на 22.2 % (в случае полыни) и 27.6 % (в случае клоповника) по сравнению с образцом Б. Таким образом, рост растений стимулирует протекающие в почве процессы трансформации нефтезагрязнения, сопровождающиеся деструкцией углеводородов.

Об этом свидетельствует и характер ИК-спектров битумоидов (рис. 2). В спектрах образцов В и Г имеются полосы поглощения, характерные для природного геохимического фона (образец Д). Это дуплет в области

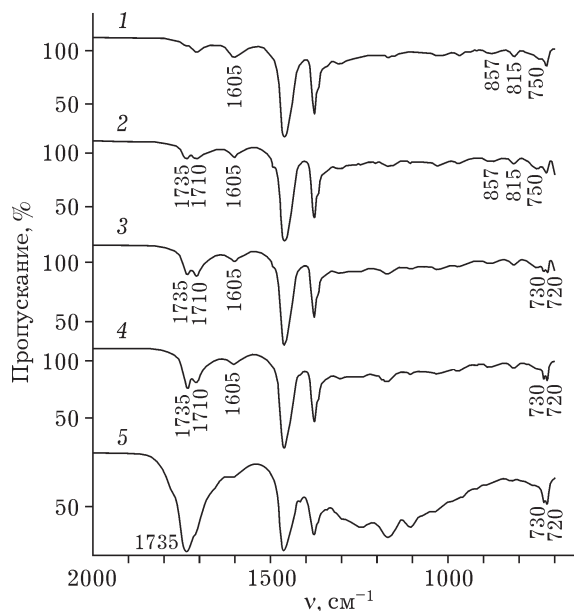


Рис. 2. ИК-спектры битумоидов для почвенных образцов: 1–5 – образцы А–Д соответственно. Обозн. см. текст.

720–730 cm^{-1} , обусловленный поглощением длинных метиленовых цепей, а также интенсивные полосы поглощения (1710–1735 cm^{-1}) карбонильных групп карбоновых кислот, кетонов и сложных эфиров, присущие органическому веществу современных осадков. Характер спектров образцов А и Б типичен для загрязненной нефтью почвы, о чем свидетельствует менее интенсивное поглощение карбонильных групп и более высокое – ароматических структур (1605, 887, 815, 750 cm^{-1}).

С использованием метода хромато-масс-спектрометрии изучен индивидуальный состав углеводородных фракций. Для оценки степени биодegradации нефтей часто используют коэффициент отношения суммарного содержания пристана и фитана к сумме элюирующихся рядом с ними нормальных алканов $n\text{-C}_{17}$ и $n\text{-C}_{18}$ ($(i\text{-C}_{19} + i\text{-C}_{20}) / (n\text{-C}_{17} + n\text{-C}_{18})$) [8]. Этот коэффициент для образца почвы Б оказался в 3.3 раза выше по сравнению с образцом А (см. табл. 4), что указывает на высокую степень биодegradации нефтезагрязнения под влиянием почвенной микрофлоры. Для образцов почвы В и Г, на которых произрастали растения, данный коэффициент увеличился только в 1.4 и 1.7 раза соответственно, хотя количество биодegradировавшей нефти составило 60.0 и 66.7 % по сравнению с образцом Б (32.2 %). Таким образом, в случае

произрастания растений данный коэффициент, по-видимому, не в полной мере отражает действительный уровень биодegradации. Под действием собственной микрофлоры почвы биодegradации в основном подвергались n -алканы и 2- и 3-метилалканы (см. табл. 4). Количество 2- и 3-метилалканов уменьшилось практически вдвое. Содержание n -алканов на сумму идентифицированных углеводородов сократилось с 50.5 до 38.8 %. В составе углеводородной фракции образца Б по сравнению с образцом А на фоне уменьшения содержания n -алканов и 2- и 3-метилалканов практически вдвое возросла доля изопреноидов, что свидетельствует о большей устойчивости изопреноидов в процессах биодegradации.

В случае произрастания растений (образцы В и Г) среди n -алканов биодegradации в большей степени подверглись $n\text{-C}_{17}$ – $n\text{-C}_{22}$: их содержание уменьшилось вдвое. В результате отношение количества относительно низкомолекулярных n -алканов к относительно высокомолекулярным ($\Sigma n\text{-C}_{20} / \Sigma n\text{-C}_{21}$ – к.к.) уменьшилось до 0.5 по сравнению с 1.0 для образца А. Следует отметить, что соотношение между содержанием изопреноидов и n -алканов в образцах В и Г значительно ниже по сравнению с образцом Б (см. табл. 4). Это может свидетельствовать о том, что в присутствии растений наряду с n -алканами в процессы биодegradации также вовлекаются и изопреноиды. В составе идентифицированных углеводородов в два раза уменьшилось содержание 2- и 3-метилалканов. Отличительный признак венд-кембрийских нефтей Непско-Ботубинской нефтегазоносной области, к которым относится и нефть Талаканского месторождения, – значительное содержание реликтовых углеводородов 12- и 13-метилалканов. Произрастание растений стимулировало трансформацию этих углеводородов, в результате чего содержание 12- и 13-метилалканов уменьшилось в два раза в присутствии клоповника и в 3.2 раза – в случае полыни.

Таким образом, выращивание растений ускоряет процесс восстановления почв, подвергшихся нефтезагрязнению. При этом не только уменьшается уровень загрязнения, но и увеличивается спектр затронутых биодegradацией углеводородов. На рис. 3 приведены масс-фрагментограммы углеводородных

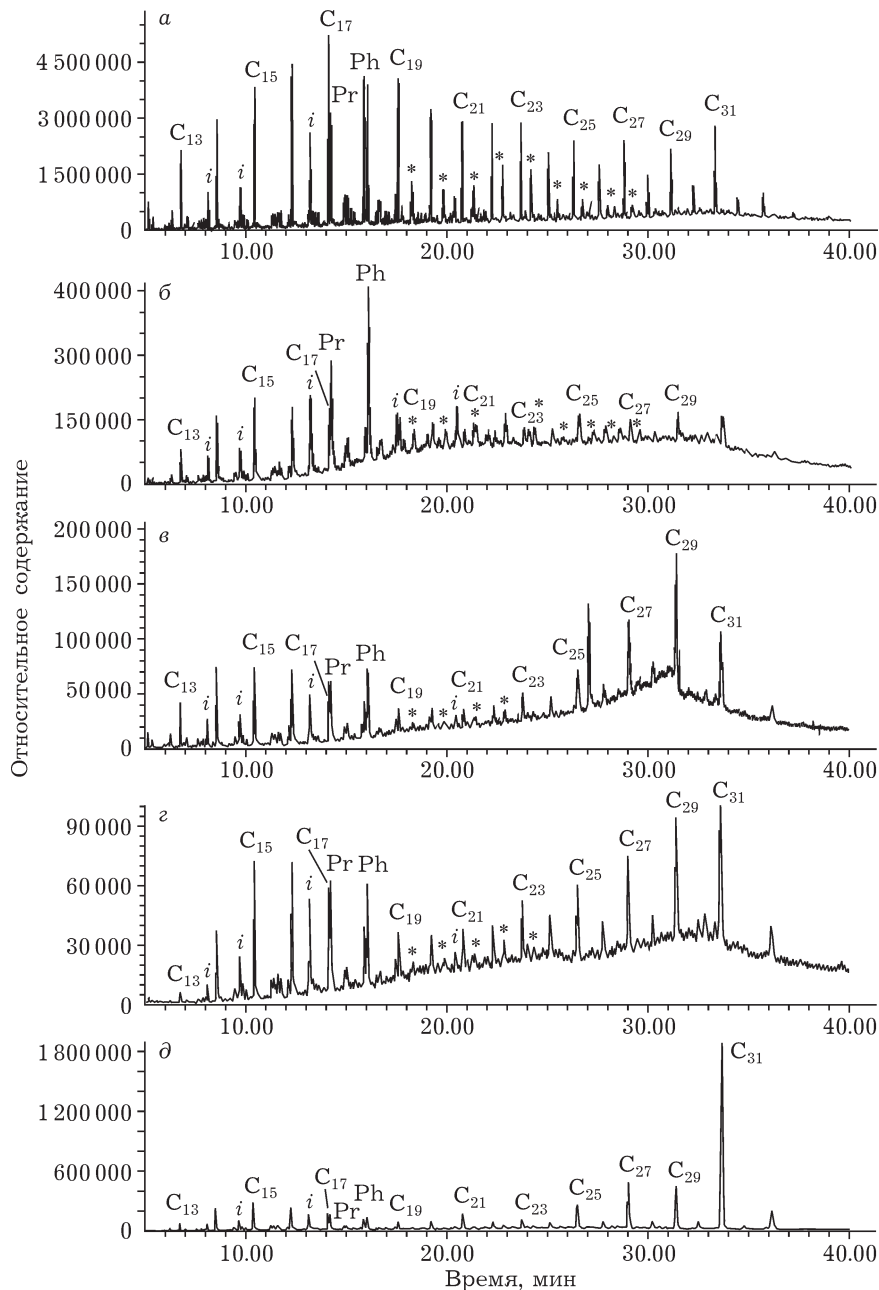


Рис. 3. Масс-фрагментограммы (m/z 57) углеводородных фракций почвенных образцов: а-д – образцы А-Д соответственно. Обозн. см. текст. C_{13} - C_{31} – нормальные алканы; Pr – пристан, Ph – фитан, i – изопреноиды, * – 12- и 13-метилалканы.

фракций битумоидов для образцов почв, в которые было внесено одинаковое количество нефти (0.16 %), сканированные по иону m/z 57, характерному для алканов. Здесь же приведена масс-фрагментограмма (m/z 57) углеводородной фракции исходного образца Д, характеризующего природный геохимический фон. Видно, что только для образцов В и Г, на которых произрастали растения, в распре-

делении индивидуальных углеводородов наряду с признаками нефтезагрязнения выявлены особенности, присущие органическому веществу современных осадков:

- повышенное содержание n -алканов и уменьшение доли 2- и 3-метилалканов;
- наличие дополнительного максимума в высокомолекулярной области n - C_{29-31} , характерного для распределения n -алканов современных осадков;

– повышенные значения отношения нечетных *n*-алканов к четным (2.1 и 1.9 для полыни и клоповника соответственно) по сравнению с нефтью (около 1.0);

– значительное уменьшение содержания реликтовых 12- и 13-метилалканов, нехарактерных для органического вещества современных осадков.

С увеличением количества добавленной нефти в почву, на которой произрастали растения, распределение индивидуальных углеводородов постепенно изменялось, утрачивая признаки, присущие органическому веществу современных осадков, и приобретая характер деградировавшей нефти (при высоких загрязнениях – и самой нефти). Так, при добавках нефти в количестве 0.25 % (в случае клоповника) и 0.32 % (в случае полыни) в распределении *n*-алканов максимум сместился в низкомолекулярную область *n*-C_{13–15}, отношение нечетных *n*-алканов к четным стало близко к 1.0 (1.0 и 1.3 соответственно), возросло количество относительно низкомолекулярных *n*-алканов ($\Sigma \text{н.к.} - \text{н-C}_{20} / \Sigma \text{н.к.} - \text{н-C}_{21}$ – к. к. составило 1.7 и 0.9 соответственно), увеличилась доля 12- и 13-метилалканов. Эти данные указывают на то, что растения больше не способны эффективно участвовать в процессах деструкции нефтяных углеводородов. Следовательно, соответствующие данным добавкам нефти концентрации остаточного нефтезагрязнения, равные 0.080 и 0.120 % для клоповника и полыни соответственно, следует принять за предельно допустимые для этих растений. Видно, что по сравнению с клоповником полынь характеризуется большей устойчивостью к нефтезагрязнению почвы. Определенные с учетом характера распределения индивидуальных углеводородов значения предельно допустимого содержания нефти в почве согласуются с данными по изучению физиологических характеристик растений, а также по выходу и составу битумоидов. Для мерзлотных почв значение предельно допустимого остаточного содержания нефти в почве можно принять в среднем равным 0.1 %, или 1 г/кг почвы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение поведения растений в модельном эксперименте с мерзлотной дерново-

луговой почвой Якутии, загрязненной нефтью, показало, что среди физиологических характеристик растений наиболее информативным в изучении процессов адаптации к нефтезагрязнению можно считать коэффициент выживаемости, определяемый как отношение выживаемости проростков к их всхожести. Его изменения в зависимости от количества внесенной в почву нефти для обоих растений носят бимодальный характер с трендом к снижению, вследствие чего на кривых зависимостей можно выделить две области максимумов, каждая из которых, по-видимому, соответствует той или иной стратегии адаптации растений к нарастающей интенсивности стресс-фактора.

Сравнение результатов экспериментов с произрастанием растений и без них при одинаковом количестве внесенной в почву нефти (0.16 %) показало, что в присутствии растений идет более глубокая трансформация нефтезагрязнения. Произрастание растений ускорило деструкцию нефтяных углеводородов, в результате уровень нефтезагрязнения сократился на 60.0 % (полынь) и 66.7 % (клоповник) по сравнению с исходным образцом, где биодegradация нефтезагрязнения осуществлялась только под влиянием почвенной микрофлоры (32.2 %). Изучение закономерностей в распределении индивидуальных углеводородов показало, что в присутствии растений наряду с увеличением степени трансформации нефтезагрязнения расширился спектр затронутых биодegradацией структурных изомеров алканов (помимо *n*-алканов и 2- и 3-метилалканов, трансформации дополнительно подверглись 12- и 13-метилалканы и изопреноиды). В результате в углеводородном составе битумоидов прослеживались изменения в сторону восстановления природного геохимического фона.

Добавка нефти в количествах 0.25 и 0.32 % (для клоповника и полыни соответственно) привела к резкому увеличению интенсивности накопления нефтезагрязнения почвы. В составе загрязнения доля углеводородных фракций стала приближаться к таковой в отбензиненной нефти, а распределение индивидуальных алканов стало близким к нефтяному. По-видимому, соответствующие этим добавкам нефти уровни нефтезагрязнения, со-

ставившие 0.080 % для клоповника и 0.120 % для полыни (т. е. около 0.1 %, или 1 г/кг почвы), следует принять за предельно допустимые значения для мерзлотных почв.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Хазиев Ф. Х. Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. М.: Наука, 1983. 190 с.
- 2 Русанова Г. В. // Почвоведение. 2000. № 2. С. 252–261.
- 3 Шадрина Е. Г., Вольперт Я. Л., Солдатова Ю. В., Протопопова В. В., Бурцева Н. Н., Федорова С. И. // Материалы науч.-практ. конф. “Экологическая безопасность реки Лена. Мониторинг и техногенные катаклизмы”. Якутск, 2001. С. 119–127.
- 4 Лифшиц С. Х., Кершенгольц Б. М., Чалая О. Н., Зуева И. Н., Шашурин М. М., Глязнецова Ю. С. // Хим. уст. разв. 2008. № 5. С. 537–545.
- 5 Хазиев Ф. Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 1990. 189 с.
- 6 Руководство по анализу битумов и рассеянного органического вещества горных пород / под ред. В. А. Успенского. Л.: Недра, 1966. 315 с.
- 7 Кершенгольц Б. М., Шаройко В. В., Нуреева Г. В., Журавская А. Н. // СЭЖ. 2002. № 2. С. 127–135.
- 8 Сваровская Л. И., Алтунина Л. К., Певнева Г. С., Овсянникова В. С. // Материалы V междунар. конф. “Химия нефти и газа”. Томск, 2003. С. 547–549.
- 9 Гольдберг В. М., Зверев В. П., Арбузов А. И., Казеннов С. М., Ковалевский Ю. В., Путилина В. С. Техногенное загрязнение природных вод углеводородами его экологические последствия. М.: Наука, 2001. 150 с.