



ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ВЛИЯНИЕ БИОПРЕПАРАТА “ЕЛЕНА” НА ЧИСЛЕННОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЕ И НА СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЯ ФИТОРЕМЕДИАНТА *MEDICAGO SATIVA L.*

Григориади А.С.*, Сотникова Ю.М.,
Фархутдинов Р.Г.

Башкирский государственный университет, Уфа
*E-mail: nysha111@yandex.ru

В исследовании была проведена оценка влияния неспецифического биопрепарата Елена с биофунгицидным действием как самостоятельно, так и совместно с посевом растения-фиторемианта *Medicago sativa L.* В присутствии нефти численность микромицет возрастала, а использование биопрепарата Елена снижало их численность на протяжении всего эксперимента. Увеличение количества гетеротрофных и углеводородокисляющих микроорганизмов наблюдалось в образцах нефтезагрязненной почвы как с использованием препарата, так и без него. Однако применение биопрепарата способствовало снижению содержания остаточных углеводов в почве в среднем на 5% на каждом этапе исследования. Было отмечено, что при использовании препарата для обработки растений и почвы происходила стимуляция роста численности почвенных микроорганизмов (гетеротрофов, азотфиксаторов и целлюлозолитиков) в условиях нефтяного загрязнения. Использование биопрепарата приводило к увеличению содержания каротиноидов на 60% относительно загрязненных образцов, что свидетельствовало об активации защитных механизмов у люцерны.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, фитореимедация, биопрепарат «Елена», пигменты растений, микромицеты, фунгицидная активность, *Medicago sativa L.*

INFLUENCE OF THE “ELENA” BIOLOGICAL PRODUCT ON THE NUMBER OF MICROORGANISMS IN OIL-CONTAMINATED SOIL AND ON THE PIGMENT CONTENT IN THE LEAVES OF THE PLANT *MEDICAGO SATIVA L.*

Grigoriadi A.S.*, Sotnikova Yu.M.,
Farkhutdinov R.G.

Bashkir State University, Ufa
*E-mail: nysha111@yandex.ru

The study assessed the effect of the non-specific biologic product Elena with biofungicidal action, both independently and together with sowing the plant-phytoremediant *Medicago sativa L.* In the presence of oil, the number of micromycetes increased, and the use of the biological product Elena decreased their number throughout the experiment. An increase in the number of heterotrophic and hydrocarbon-oxidizing microorganisms was observed in oil-contaminated soil samples both with and without the use of the preparation. However, the use of a biological product contributed to a decrease in the content of residual hydrocarbons in the soil by an average of 5% at each stage of the study. It was noted that when using the drug for treating plants and soil, there was a stimulation of growth in the number of soil microorganisms (heterotrophs, nitrogen fixers, and cellulite) under conditions of oil pollution. The use of a biological product led to an increase in the content of carotenoids by 60% relative to contaminated samples, which indicated the activation of protective mechanisms in alfalfa.

Keywords: oil pollution, phytoremediation, biological product "Elena", plant pigments, micromycetes, fungicidal activity, *Medicago sativa L.*

Поступила в редакцию: 13.03.2020

DOI: [10.31163/2618-964X-2020-3-1-74-78](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-1-74-78)

ВВЕДЕНИЕ

Развитие нефтедобывающей промышленности неизбежно приводит к загрязнению почвы. Естественное восстановление плодородия нефтезагрязненных территорий является длительным процессом, в связи с этим для активации очистки почвенного покрова

необходимо применение комплексных методов биоремедиации. При умеренной антропогенной нагрузке будет достаточным применение биопрепаратов неспецифического действия и/или фиторемедиации. Выбор препарата для данного исследования был обусловлен тем, что в условиях загрязнения нефтяными углеводородами в почве активно развиваются устойчивые к стрессу фитопатогенные виды микромицет, что может привести к вторичному токсикозу почвы [Донерьян и др., 2016]. Бактерии рода *Pseudomonas*, входящие в состав препарата Елена, относят к числу антагонистов фитопатогенных грибов и бактерий.

Цель работы: оценка влияния биопрепарата Елена с биофунгицидным действием как самостоятельно, так и совместно с посевом растения-фиторемедианта *Medicago sativa* L. на численность микроорганизмов в нефтезагрязненной почве и на содержание пигментов в листьях люцерны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве образцов использовали серую лесную почву, загрязненную товарной нефтью в концентрациях 3-4% от массы почвы. Препарат Елена вносили в виде суспензии из расчета 30 мл/кг почвы (титр микроорганизмов биопрепарата 10^6 КОЕ/мл). Биопрепарат Елена – препарат для защиты сельскохозяйственных культур от болезней, вызываемых грибами. Основу биопрепарата Елена составляет культуральная жидкость нового штамма-антагониста фитопатогенных грибов *Pseudomonas aureofaciens* ИБ 51. Препарат любезно предоставлен проф. О.Н. Логиновым.

Растения люцерны посевной (*Medicago sativa* L.) выращивали в вегетационных сосудах и когда растения достигали в длину 10-15 см, почву загрязняли нефтью, а через 3 дня растения и почву обрабатывали препаратом. Биологическая активность почв оценивалась по численности микроорганизмов разных эколого-физиологических групп методом посева на питательные среды [Методы почвенной..., 1991]. Пигменты растений экстрагировали ацетоном и снимали спектры поглощения на приборе UV-2401 PC Shimadzu [Шлык, 2011]. Содержание остаточных углеводов в почве определяли весовым методом [Mc Gill, Rowell, 1980]. Отбор почвенных проб проводился на 3, 30 и 60 сутки, а оценка содержания пигментов растений проводилась через 30 суток.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После внесения биопрепарата Елена численность микромицет была ниже, чем их количество в почве, загрязненной нефтью на всех этапах исследования (рис.1), что обусловлено фунгицидными свойствами препарата. Также было отмечено увеличение числа гетеротрофных микроорганизмов через 30 суток после загрязнения и обработки, что, вероятно, происходило за счет ингибирования развития микромицетов и преимущественного развития бактерий (рис 1). Однако в конце эксперимента (60 суток) мы наблюдали рост численности гетеротрофов и микромицетов в нефтезагрязненных образцах почвы. Увеличение числа бактерий происходит в результате поступления дополнительного источника углерода в виде нефтяных углеводов, а микроскопические грибы характеризуются высокой устойчивостью к антропогенному стрессу в целом [Марфенина, 2005].

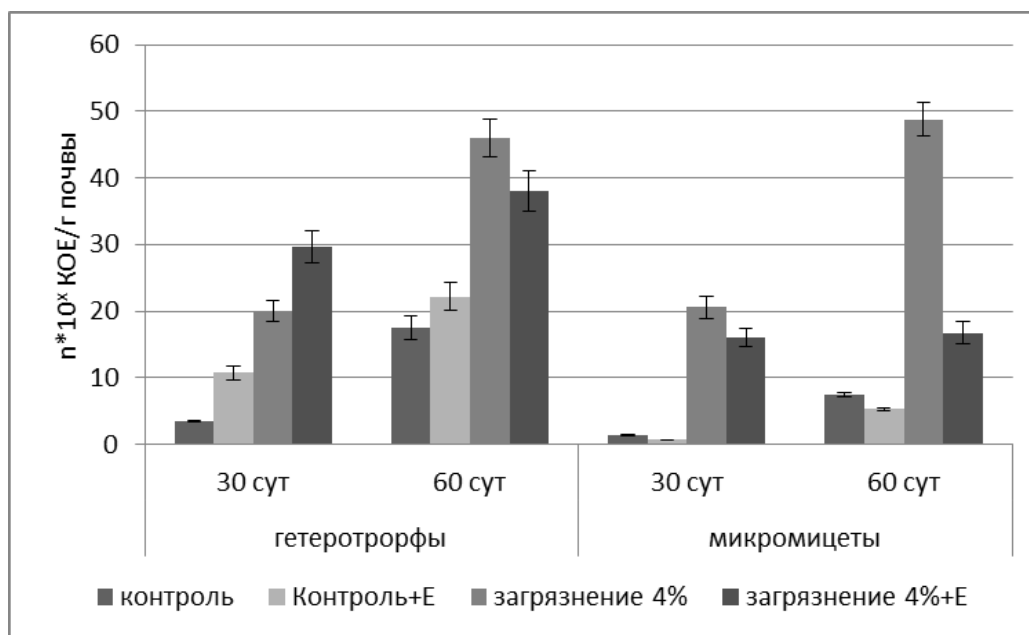


Рис. 1. Динамика численности гетеротрофных микроорганизмов ($n \cdot 10^5$) и микромицет ($n \cdot 10^3$) в серой лесной почве при ремедиации биопрепаратом Елена

Внесение биопрепарата Елена в почву приводило к возрастанию численности углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) через 30 суток после загрязнения (рис. 2) и снижению содержания остаточных углеводов в почве в среднем на 5% на каждом этапе исследования. Так, через 30 суток с начала эксперимента количество нефтяных углеводов составило 14,36 мг/г почвы без использования препарата и 12 мг/г – после обработки биопрепаратом Елена. В конце опыта показатель снизился на 71,7% и 76,7% соответственно от первоначального уровня загрязнения. Полученные результаты позволяют предположить, что штамм бактерий, входящий в состав биопрепарата перспективен для разработки комплексных препаратов, направленных не только на борьбу с фитопатогенными микромицетами, но и на устранение нефтяных загрязнений почвы.

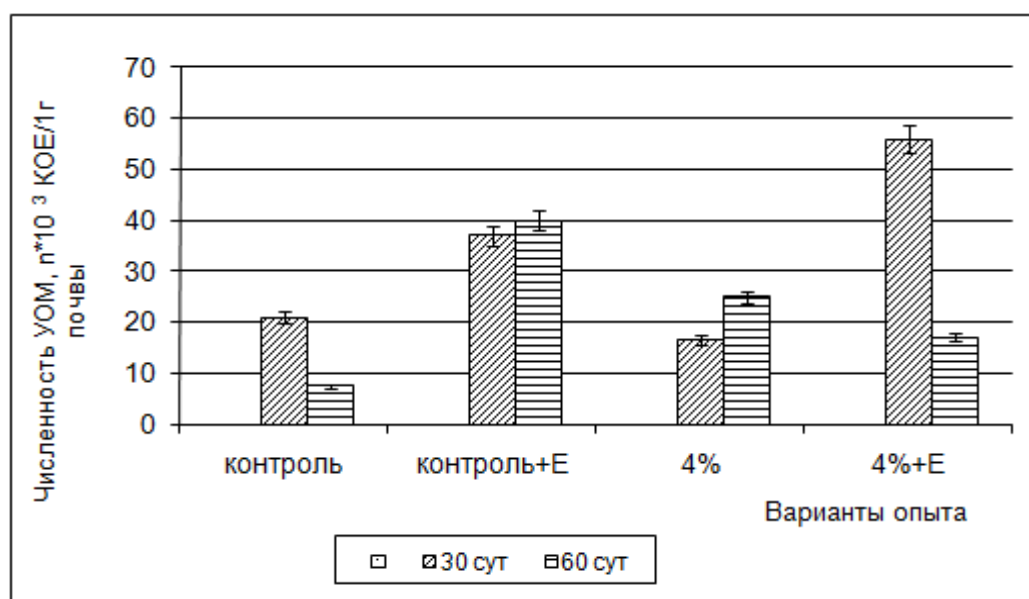


Рис. 2. Динамика численности углеводородокисляющих микроорганизмов в серой лесной почве после обработки биопрепаратом

Использование препарата для обработки растений, произрастающих в условиях нефтяного загрязнения, показало, что на 30 сутки от начала эксперимента происходила стимуляция роста гетеротрофных, азотфиксирующих и целлюлозолитических микроорганизмов в почве под растениями люцерны посевной по сравнению с контролем (табл.1). Количество гетеротрофных микроорганизмов увеличилось в образцах нефтезагрязненной почвы в 38 раз по сравнению с контролем, что может быть обусловлено адаптацией микробного сообщества к дополнительному источнику углерода [Ахметзянова, 2010]. Численность азотфиксаторов и целлюлозолитиков в обработанных почвенных образцах увеличилась в 1,6 и в 4,3 раза соответственно, а число гетеротрофов было меньше в 2 раза по сравнению данными показателями нефтезагрязненной почвы.

Таблица 1. Численность микроорганизмов разных эколого-физиологических групп в нефтезагрязненной почве под посевом люцерны

Проба	Гетеротрофные микроорганизмы ($n \cdot 10^4$ КОЕ/ г почвы)	Азотфиксаторы (% обрастания)	Целлюлозолитики ($n \cdot 10^4$ КОЕ/ г почвы)
Контроль	3,5±1,2	63%	29±1,2
Нефтяное загрязнение	136,0±61	50%	11±0,5
Нефтяное загрязнение + обработка биопрепаратом	76±3	82%	47,3±2,5

Примечание*: значения различаются при $P \leq 0.05$

Также отмечалось снижение численности микромицет в почве, обработанной биопрепаратом. В незагрязненной почве численность микроскопических грибов составляла $1,4 \cdot 10^3$ грибных спор/г почвы, в нефтезагрязненной – $21 \cdot 10^3$ грибных спор/г почвы, а в обработанной почве – $16 \cdot 10^3$ грибных спор/г почвы. Таким образом, обработка почвы и растений биопрепаратом привела к снижению количества мицелиальных грибов на 24% относительно нефтезагрязненных образцов почвы.

Важным параметром оценки влияния внешних факторов на развитие растений являются изменения в содержании пигментов в листьях растений. Использование биопрепарата приводило к увеличению содержания каротиноидов на 60% относительно загрязненных образцов, что, по данным литературы, может сказаться на активации защитных механизмов у растений люцерны [Tretyakova et al., 2019].

Таким образом, по результатам исследования микробиологической активности почвы было показано, что биопрепарат способствовал нормализации почвенного микробоценоза и стимулировал рост численности микроорганизмов (азотфиксаторов и целлюлозолитиков). Было установлено, что под влиянием биопрепарата Елена происходило увеличение содержания фотосинтетических пигментов во время роста растений люцерны в условиях нефтяного загрязнения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Донерьян Л.Г., Водянова М.А., Тарасова Ж.Е. Микроскопические почвенные грибы – организмы-биоиндикаторы нефтезагрязненных почв // Гигиена и санитария. 2016. Vol. 95, № 9. С. 891-894.
2. Mc Gill W.W., Rowell M.J. Determination of oil content of oil contaminated soil // Sci. Tot. Environ. 1980. V. 14, №3. P. 245-253. DOI: [10.1016/0048-9697\(80\)90026-1](https://doi.org/10.1016/0048-9697(80)90026-1)
3. Tretyakova M.S., Ivanova M.V., Belovezhets L.A., Markova Y.A. Possible use of oil-degrading microorganisms for protection of plants growing under conditions of oil pollution. International Scientific Conference on Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies, AGRITECH 2019; Krasnoyarsk State Agrarian University Krasnoyarsk; Russian Federation; 20 June 2019 до 22 June 2019; OP Conference Series: Earth and Environmental Science 2019. V. 315, I. 7, N 072046. DOI: [10.1088/1755-1315/315/7/072046](https://doi.org/10.1088/1755-1315/315/7/072046)
4. Ахметзянова Л.Г., Селивановская С.Ю., Латыпова В.З. Лабораторное моделирование рекультивации нефтезагрязненных почв для определения допустимого остаточного содержания нефтепродуктов // Ученые записки Казанского университета. Естественные науки. 2010. Т. 152, кн. 4. С. 68-78.
5. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 196 с.
6. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под. ред. Д.Г.Звягинцева. М.: МГУ, 1991. 304 с.
7. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука, 2011. С. 154-170.